



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

JULIANA DOS SANTOS SEVERIANO

**EFEITOS DO ZOOPLÂNCTON SOBRE O FITOPLÂNCTON E AS
CIANOTOXINAS: ABORDAGEM EXPERIMENTAL EM UM
RESERVATÓRIO TROPICAL EUTRÓFICO**

RECIFE

2017

JULIANA DOS SANTOS SEVERIANO

**EFEITOS DO ZOOPLÂNCTON SOBRE O FITOPLÂNCTON E AS
CIANOTOXINAS: ABORDAGEM EXPERIMENTAL EM UM
RESERVATÓRIO TROPICAL EUTRÓFICO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor (a) em Botânica.

Orientador (a): **Dra. Ariadne do Nascimento Moura**

Co-orientador (as): **Dra. Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira
Dra. Viviane Lúcia dos Santos Almeida**

RECIFE

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

S498e Severino, Juliana dos Santos
Efeitos do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas:
abordagem experimental em um reservatório tropical eutrófico /
Juliana dos Santos Severino. – 2017.
107 f.: il.

Orientadora: Ariadne do Nascimento Moura.
Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Recife,
BR-PE, 2017.
Inclui referências e anexo(s).

1. Cianobactérias filamentosas 2. Heterócitos 3. Herbívoros
4. Microcistina 5. Saxitoxina I. Moura, Ariadne do Nascimento,
orient. II. Título

CDD 581

**EFEITOS DO ZOOPLÂNCTON SOBRE O FITOPLÂNCTON E AS
CIANOTOXINAS: ABORDAGEM EXPERIMENTAL EM UM RESERVATÓRIO
TROPICAL EUTRÓFICO**

JULIANA DOS SANTOS SEVERIANO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica (PPGB) da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor(a) em Botânica. Tese defendida e aprovada pela banca examinadora:

Orientador(a): _____
Prof.^a. Dr.^a. Ariadne do Nascimento Moura
Titular/UFRPE

Examinadores: _____
Prof.^a. Dr.^a. Elba Maria Nogueira Ferraz Ramos
Titular/IFPE

Prof.^a. Dr.^a. Elcida de Lima Araujo
Titular/UFRPE

Prof. Dr. Ênio Wocyli Dantas
Titular/UFRPE

Prof.^a. Dr.^a. Paula Braga Gomes
Titular/UFRPE

Prof.^a. Dr.^a. Carmen Sílvia Zickel
Suplente/UFRPE

Prof. Dr. Mauro de Melo Júnior
Suplente/UFRPE

Data de aprovação: / /2017

RECIFE
2017

Dedicatória

À minha mãe, Salete Maria dos Santos, por todo o amor, carinho, dedicação e estímulo que me foram oferecidos nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela sabedoria, saúde e força de vontade para correr atrás dos meus objetivos. E por revelar a cada trabalho da minha profissão a importância de todas as criaturas.

A todos os meus familiares, especialmente aos meus pais, Salete Maria dos Santos e Josué Severiano de Araújo, por proporcionarem todas as condições para que eu chegasse até aqui e por todo o amor que me dedicaram; a minha madrastra Maria José da Cruz pelo imenso carinho e afeto; aos meus irmãos Jaqueline dos Santos Severiano, Carlos Henrique da Cruz, Jonatas da Cruz Araújo e Jonas da Cruz Araújo, pela amizade e amor; e aos meus amados, lindos e fofos sobrinhos, Luan Vitor dos Santos, Lucas Anderson dos Santos e Maria Julia Severiano, por toda a alegria que têm trazido a minha vida.

À minha orientadora, Dr^a Ariadne do Nascimento Moura, por colocar à minha disposição o Laboratório de Ficologia (LABFIC) para a realização das minhas análises. Às minhas co-orientadoras, Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira e Viviane Lúcias dos Santos Almeida, pelas valiosas contribuições a esta tese.

A Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) na figura da Dr^a Maria Tereza Buriel pela oportunidade de ingressar no curso de Doutorado em Botânica.

Ao CNPq pela concessão de bolsa.

Aos amigos e companheiros do LABFIC: Anamaria Diniz, Camila Amaral, Nísia Karine Cavalcanti Vasconcelos Aragão Tavares, Hermes Machado, Fábio Portela, Danilo Dias, Lucas Everson, Patrícia Campos Arruda, Leonardo, Rivaldo Júnior Lima, Cihelio Amorim, Paulo Mateus Martins Sobrinho, Alberes Santos da Cunha, Micheline Késia Cordeiro Araújo, Emanuel Cardoso do Nascimento, Helton Soriano, pela ajuda imprescindível, palavras de apoio e de incentivo, gestos de carinho, atenção, respeito e, principalmente, pela amizade. Vou sentir imensas saudades de todos os momentos que passamos juntos, em meio a risadas, choros, brigas e dores de cabeça que, no fim, provaram que "a união faz a força". Desejo para vocês o melhor caminho, sempre!

Aos colegas e amigos do PPGB, em especial a Talita Merieli Silva de Melo, Maria de Fátima de Oliveira Carvalho e Mayara Barbosa, obrigada pela amizade e companheirismo.

Aos colegas e funcionários da Área de Botânica/Departamento de Biologia/UFRPE: Sr. Manassés, Michele Silva, Elisama, Kênia Freire, pelo apoio e carinho.

As minhas queridas amigas Jana Glécia, Nathália Holanda Bezerra e Kássia Wanessa dos Santos pelos anos de amizade, por estarem sempre presentes e por me darem total apoio e incentivo.

Às minhas amigas Bruna Luiza Melo, Isabella Christina Carvalho de Lima, Mariana Lúcia Gomes e Silva, Maria Gabriela Holanda, Rafaela Nicácio, Bárbara Caboim e Diana Helena por todos os momentos maravilhosos que passamos juntas.

Às professoras Enaide Marinho de Melo Magalhães, Hilda Helena Sovierzoski e Tereza Cristina dos Santos Calado pelos ensinamentos que levarei para a vida inteira e de quem lembrarei sempre com muito carinho e respeito.

Aos Drs. Elba Maria Nogueira Ferraz, Elcida de Lima Araujo, Ênio Wocyli Dantas, Paula Braga Gomes, Carmen Sílvia Zickel e Mauro de Melo Júnior pela aceitação em compor a banca examinadora.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a concretização deste trabalho.

Muito Obrigada!

RESUMO

SEVERIANO, J. S. **Efeitos do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas: abordagem experimental em um reservatório tropical eutrófico.** 2017. 107 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2017.

O objetivo do presente estudo foi avaliar os efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre a biomassa do fitoplâncton, a produção das cianotoxinas (microcistina total e saxitoxina) e o tamanho dos filamentos e a abundância de heterócitos nas cianobactérias em um reservatório da região tropical com ocorrência de *blooms* de cianobactérias (reservatório Ipojuca, Brasil), utilizando mesocosmos *in situ*. Os mesocosmos foram sacos de polietileno (50 litros) mantidos em suspensão na água. Foram realizados tratamentos com biomassas zooplanctônicas de 2 (+ZOOx2), 3 (+ZOOx3) e 4 (+ZOOx4) vezes a encontrada no reservatório e o Controle sem a presença do zooplâncton. No início do experimento, vinte táxons fitoplanctônicos foram registrados, com dominância das cianobactérias *Planktothrix agardhii* e *Cylindrospermopsis raciborskii*. As concentrações de microcistina total e saxitoxina foram de 0,16 e 0,12 mg L⁻¹, respectivamente. A comunidade zooplanctônica esteve composta por treze táxons, com o rotífero *Brachionus rubens* e os náuplios de Crustacea registrando maiores biomassas. *P. agardhii* e *C. raciborskii* não responderam significativamente aos efeitos do aumento da biomassa zooplanctônica. Nos tratamentos +ZOOx3 e/ou +ZOOx4 foi observada redução da biomassa das cianobactérias *Aphanocapsa* sp., *Chroococcus* sp., *Dolichospermum* sp., *Merismopedia tenuissima*, *Microcystis aeruginosa* e *Pseudanabaena* sp.; da diatomácea *Cyclotella meneghiniana*; e da criptofíceia *Cryptomonas* sp. Efeitos sobre o tamanho dos filamentos das cianobactérias também foram observados. *C. raciborskii* (morfotipo reto) e *G. amphibium* reduziram significativamente o tamanho dos filamentos em +ZOOx3 e +ZOOx4, enquanto o morfotipo espiralado de *C. raciborskii* e *Dolichospermum* sp. aumentaram de tamanho. A concentração de microcistina total aumentou e reduziu em tempos diferentes durante o experimento e mostrou relação com o aumento da biomassa zooplanctônica. Saxitoxina não respondeu significativa aos tratamentos testados. Maior número de heterócitos foi constatado em *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) no tratamento +ZOOx4 e *Dolichospermum* sp. em +ZOOx3 e +ZOOx4. Os resultados do presente estudo mostram que o zooplâncton no reservatório de Ipojuca exerce papel importante como modificador da estrutura da comunidade fitoplanctônica, influenciado em fatores como biomassa das espécies algais, produção de cianotoxinas e tamanho dos filamentos e abundância de heterócitos nas cianobactérias. Porém, a ausência de efeitos significativos do aumento na biomassa zooplanctônica sobre a biomassa das cianobactérias filamentosas formadoras de *blooms* sugere que a aplicação da biomanipulação no controle dessas espécies pode não ser efetiva.

Palavras-chave: cianobactérias filamentosas, heterócitos, herbivoria, microcistina, saxitoxina

ABSTRACT

SEVERIANO, J. S. **Zooplankton effects on phytoplankton and cyanotoxins: experimental approach in a tropical eutrophic reservoir**. 2017. 107 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco, 2017.

The present study evaluated the effects of zooplankton biomass increase on phytoplankton biomass, cyanotoxin production (total microcystin and saxitoxin) and filament size and abundance of heterocytes in cyanobacteria in a reservoir of the tropical region with cyanobacterial blooms (Ipojuca reservoir, Brazil), using *in situ* mesocosms. The mesocosms were polyethylene bags (50 liters) kept in suspension in the water. Treatments with zooplanktonic biomass of 2 (+ ZOOx2), 3 (+ ZOOx3) and 4 (+ ZOOx4) times were found in the reservoir and Control without the presence of zooplankton. At the beginning of the experiment, twenty phytoplankton taxa were recorded, dominating the cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*. The concentrations of total microcystin and saxitoxin were 0.16 and 0.12 mg L⁻¹, respectively. The zooplankton community was composed of thirteen taxa, with the rotifers *Brachionus rubens* and the nauplii of Crustacea with larger biomasses. *P. agardhii* and *C. raciborskii* did not respond significantly to the effects of zooplankton biomass increase. In the treatments +ZOOx3 and/or +ZOOx4, biomass reduction of the cyanobacteria *Aphanocapsa* sp., *Chroococcus* sp., *Dolichospermum* sp., *Merismopedia tenuissima*, *Microcystis aeruginosa* and *Pseudanabaena* sp.; of the diatom *Cyclotella meneghiniana*; and cryptophyce *Cryptomonas* sp. Effects on the size of cyanobacteria filaments were also observed. *C. raciborskii* (right morphotype) and *G. amphibium* significantly reduced the size of the filaments at +ZOOx3 and +ZOOx4, while the spiral morphotype of *C. raciborskii* and *Dolichospermum* sp. increased in size. The total microcystin concentration increased and decreased at different times during the experiment and showed a relationship with the increase of zooplankton biomass. Saxitoxin did not respond significantly to the treatments tested. Greater numbers of heterocytes were found in *C. raciborskii* (spiral morphotype) in the treatment +ZOOx4 and *Dolichospermum* sp. in +ZOOx3 and +ZOOx4. The results of the present study show that zooplankton plays an important role as a modifier of phytoplankton community structure, influenced by factors such as biomass of algal species, cyanotoxin production and filament size, and abundance of heterocytes in cyanobacteria. However, the absence of significant effects of the increase in zooplanktonic biomass on the biomass of bloom-forming filamentous cyanobacteria suggests that the application of biomanipulation to the control of these species may not be effective.

Key words: filamentous cyanobacteria, heterocytes, herbivory, microcystin, saxitoxin

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I- Efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas: um estudo em mesocosmo em reservatório tropical

- Tabela 1.** Periodicidade das coletas das amostras para análise dos nutrientes, fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas durante o experimento. x= amostras coletas; - = amostras não coletadas..... 34
- Tabela 2.** Variáveis abióticas, biomassa das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica e concentração de microcistina totais e saxitoxina no reservatório Ipojuca, Pernambuco, Brasil, no dia 28 de julho de 2014..... 37
- Tabela 3.** Resultados da Anova fatorial AxB para os táxons fitoplanctônicos, cianotoxinas e nutrientes. Apenas os resultados significativos ($p < 0.05$) são mostrados. d.f. = graus de liberdade; F= fator; p = nível de significância; - = $p > 0,05$ 40
- Tabela 4.** Concentração dos nutrientes no experimento. *= difere significativamente do Controle. +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento..... 45

ARTIGO II- Influência do zooplâncton sobre o tamanho dos filamentos e a abundância dos heterócitos nas cianobactérias filamentosas em reservatório tropical

- Tabela 1.** Concentração dos nutrientes ($\mu\text{g L}^{-1}$) e razão NID/PT no reservatório Ipojuca em 28 de julho de 2014 (T_{inicial} do experimento) e nos tratamentos após 24 horas de experimentação. Valores com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0.05$). Dados são Média aritmética±Erro padrão..... 65
- Tabela 2.** Composição e biomassa da comunidade zooplanctônica no reservatório Ipojuca em 28 de julho de 2014 (T_{inicial} do experimento). Dados são Média aritmética±Erro padrão..... 66
- Tabela 3.** Biomassa, largura e comprimento das células, número de células por filamento, comprimento e volume dos filamentos e número de heterócitos das cianobactérias filamentosas no reservatório Ipojuca em 28 de julho de 2014. *= cianobactérias não produtoras de heterócito; -= ausências de dados; Dados são Média aritmética±Erro padrão..... 67

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Diagrama sintetizando a interação fitoplâncton-zooplâncton nos ecossistemas aquáticos continentais. Seta com linha contínua representa = efeitos da predação e ciclagem de nutrientes na interação fitoplâncton-zooplâncton; seta com linha tracejada= efeito da predação sobre algas pouco palatáveis. + = aumento da biomassa fitoplanctônica; - = redução da biomassa fitoplanctônica. Fonte: modificado de Haney (1987)..... 4
- Figura 2.** Células de *Micractinium pusillum* sem (A) e com (B) espinhos na presença e ausência, respectivamente, do rotífero *Brachionus calyciflorus*. Fonte: Luo et al. (2006)..... 7
- Figura 3.** *Chlamydomonas reinhardtii* na forma unicelular (A) e colonial (B) na ausência e na presença, respectivamente, do rotífero *Brachionus calyciflorus*. Fonte: Lürling e Beekman (2006)..... 8
- Figura 4.** *Scenedesmus subspicatus* unicelular (A) e colonial (B). Fonte: Hessen e van Donk (1993)..... 9
- Figura 5.** *Microcystis aeruginosa* unicelular em cultivo (A), colonial em cultivo (B) e colonial no lago Taihu (C). Yang et al. (2005)..... 10
- Figura 6.** Morfotipos reto e espiralado da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii*. Fonte: Fabbro et al. (2001)..... 11
- Figura 7.** Mucilagem em *Staurastrum*. Fonte: Wiltshire, Boersma e Meyer (2003)..... 12
- Figura 8.** Estrutura química das cianotoxinas. Microcistina (A); Nodularina (B); Cylindrospermopsina (C); Saxitoxina (D); e Anatoxina-a (E)..... 14

ARTIGO I- Efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas: um estudo em mesocosmo em reservatório tropical

- Figura 1.** Biomassa dos táxons de Cyanobacteria no experimento. (—◆—) Controle; (-▲-) +ZOOx2; (●●●●) +ZOOx3; (--✖--) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão; *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento..... 41
- Figura 2.** Biomassa dos táxons de Bacillariophyceae no experimento. (—◆—) Controle; (-▲-) +ZOOx2; (●●●●) +ZOOx3; (--✖--) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão; *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; 42

+ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.....

Figura 3. Biomassa dos táxons de Chlorophyceae no experimento. (—◆—) Controle; (-▲-) +ZOOx2; (●●●●) +ZOOx3; (--✕--) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão; *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento..... 42

Figura 4. Biomassa dos táxons de Dinophyceae, Chryptophyceae, Crysophyceae e do “Fitoflagelado não identificado” no experimento. (—◆—) Controle; (-▲-) +ZOOx2; (●●●●) +ZOOx3; (--✕--) +ZOOx4; *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento..... 43

Figura 5. Concentrações de microcistina total (A) e saxitoxina (B) no experimento. (■) Controle; (■) +ZOOx2; (■) +ZOOx3; (□) +ZOOx4; +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento; *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle..... 44

Figura 6. Participação relativa (%) dos principais grupos zooplancônicos no experimento, (■) *Brachionus rubens*; (□) *Lecane (Monostyla) bulla*; (⊞) Outros Rotifera; (□) Náuplio; (⊞) Copepoda; (■) Cladocera, +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento..... 45

Figura 7. Análise de Correspondência Canônica (A) e Análise de Componentes Principais (B) no experimento. Apha= *Aphanocapsa* sp.; Choo= *Choococcus* sp.; Cyra= *C. raciborskii*; Doli= *Dolichospermum* sp.; Gamp= *G. amphibium*; Met= *M. tenuissima*; Miar= *M. aeruginosa*; Pag= *P. agardhii*; Ppap= *P. papillaterminata*; Saph= *S. aphanizomenoides*; Cmen= *C. meneghiniana*; Uuln= *U. ulna*; Acth= *A. hantzschii*; Clos= *Closterium* sp.; Dicp= *D. pulchellum*; Lag= *L. genevensis*; Peri= *Peridinium* sp.; Cryp= *Cryptomonas* sp.; Rhod= *Rhodomonas* sp.; Mallo= *Mallomonas* sp.; Fitofl= “Fitoflagelado não identificado”; Mic= Microcistina; Sax= Saxitoxina; Brub= *B. rubens*; Lbul= *Lecane (M.) bulla*; Rot= Outros Rotifera; Naup= Náuplio; Cop= Copepoda; Clad= Cladocera; NH4= Amônia; NO2= Nitrito; NO3= Nitrato; DIN= nitrogênio total dissolvido; PT= Fósforo total; (●) Controle Dia 0; (●) Controle Dia 1; (○) Controle Dia 5; (○) Controle Dia 11; (▲) +ZOOx2 Dia 0; (▲) +ZOOx2 Dia 1; (Δ) +ZOOx2 Dia 5; (Δ) +ZOOx2 Dia 11; (■) ZOOx3 Dia 0; (■) ZOOx3 Dia 1; (□) ZOOx3 Dia 5; (□) ZOOx3 Dia 11; (◆) ZOOx3 Dia 0; (◆) ZOOx3 Dia 1; (◇) ZOOx3 Dia 5; (◇) ZOOx3 Dia 11..... 46

ARTIGO II- Influência do zooplâncton o tamanho dos filamentos e a abundância dos heterócitos nas cianobactérias em reservatório tropical

Figura 1. Volume dos filamentos de *Cylindrospermopsis raciborskii*, morfotipos reto (A) e espiralado (B), no experimento após 24 e 72 horas. As extremidades inferior e superior do “box-plot” são, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartis e a linha do centro representa a mediana. “Box” branco= após 24 horas de experimento; “Box” cinza= após 72 horas de experimento. “Boxes” com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$)..... **69**

Figura 2. Volume dos filamentos de *Dolychospermum* sp. (A), *Geitlerinema amphibium* (B), *Planktothrix agardhii* (C) e *Pseudanabaena papillaterminata* (D), no experimento após 24 e 72 horas. As extremidades inferior e superior do “box-plot” são, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartis e a linha do centro representa a mediana. “Box” branco= após 24 horas de experimento; “Box” cinza= após 72 horas de experimento. “Boxes” com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$)..... **70**

Figura 3. Número de heterócitos produzidos por *Cylindrospermopsis raciborskii*, morfotipos reto (A) e espiralado (B), e *Dolychospermum* sp. (C) no experimento após 24 e 72 horas. Barras brancas= após 24 horas de experimento; Barras cinzas= após 72 horas de experimento. Tratamentos com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$)..... **71**

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Interação fitoplâncton-zooplâncton em ecossistemas aquáticos continentais lânticos.....	4
2.1.1. Interação fitoplâncton-zooplâncton: mecanismos de defesa do fitoplâncton contra a herbivoria.....	5
a) Mecanismos de defesa morfológicos.....	6
b) Mecanismos de defesa bioquímicos.....	13
2.1.2. Interação fitoplâncton-zooplâncton: efeitos da herbivoria pelo zooplâncton.....	15
2.1.3. Interação fitoplâncton-zooplâncton: a importância das cianobactérias.....	17
2.2. Interação fitoplâncton-zooplâncton e a dinâmica das teias tróficas aquáticas.....	18
2.3. Considerações finais.....	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
ARTIGO I - Efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas: um estudo em mesocosmo em reservatório tropical	28
ARTIGO II - Influência do zooplâncton sobre o tamanho dos filamentos e a abundância de heterócitos nas cianobactérias em reservatório tropical.....	80
CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE.....	81
ANEXOS (Normas das revistas).....	81
Anexo I. Normas para os autores da revista Water Research (Qualis: A1; Impact factor: 5.528).....	82
Anexo II. Normas para os autores da revista Aquatic Microbial Ecology (Qualis: A1; Impact factor: 2.109).....	89

ARTIGO I- Efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas: um estudo em mesocosmo em reservatório tropical

Resumo

1. INTRODUÇÃO.....	31
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	33
2.1. Área de estudo.....	33
2.2. Mesocosmos e Desenho experimental.....	33
2.3. Coleta de dados.....	34
2.4. Análise estatística.....	35
3. RESULTADOS.....	36
3.1. Variáveis abióticas, fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas no reservatório Ipojuca no início do experimento.....	36
3.2. Experimento.....	37

4. DISCUSSÃO.....	47
5. CONCLUSÕES.....	50
6. AGRADECIMENTOS.....	50
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

ARTIGO II- Influência do zooplâncton o tamanho dos filamentos e a abundância dos heterócitos nas cianobactérias em reservatório tropical

Resumo

1. INTRODUÇÃO.....	61
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	63
3. RESULTADOS.....	65
3.1. Reservatório Ipojuca (T_{inicial} do experimento).....	65
3.2. Experimento.....	68
4. DISCUSSÃO.....	72
5. CONCLUSÕES.....	74
6. AGRADECIMENTOS.....	75
6. REFERÊNCIAS.....	75

1. INTRODUÇÃO GERAL

As cianobactérias formam *blooms* nos corpos hídricos causando odor e sabor desagradáveis na água e morte da biota aquática devido às condições associadas a sua senescência e/ou produção de toxinas. Além disso, afetam negativamente os processos da teia trófica interferindo na transferência de energia para os níveis tróficos mais altos da teia, uma vez que são pouco palatáveis para o zooplâncton (GER; HANSSON; LÜRLING, 2014; CHIA; KWAGHE, 2015).

Comparado com outras espécies fitoplanctônicas, as cianobactérias que formam *blooms* são consideradas pouco palatáveis para o zooplâncton por produzirem metabólitos tóxicos e estarem agregadas em grandes colônias ou filamentos, muitas vezes com presença de mucilagem, que dificultam a ingestão e/ou digestão pelo zooplâncton (DE BERNARDI; GIUSSANI, 1990; DEMOTT et al. 2001; WILSON et al. 2006; REYNOLDS, 2007). Além de apresentarem baixo valor nutricional, devido à deficiência em esteróis e cadeias longas de ácidos graxos polinsaturados, vitais na regulação das funções celulares do zooplâncton (DEMOTT; MÜLLER-NAVARRA, 1997; MARTIN-CREUZBURG; VON ELERT, 2009).

As características descritas acima, atuando isoladas ou combinadas, tornam as cianobactérias resistentes à herbivoria, o que pode contribuir no aumento da sua biomassa nos corpos d'água, mesmo sob altas densidades do zooplâncton. Essa situação é prevista ocorrer quando o zooplâncton, por não consumir as cianobactérias, utiliza outras algas mais palatáveis como principal fonte de alimento, o que resulta em uma maior vantagem competitiva por nutrientes pelas cianobactérias devido a maior disponibilidade desse recurso com a redução da biomassa das outras algas (HANEY, 1987).

A importância da herbivoria no controle das cianobactérias é amplamente discutida devido a sua empregabilidade na biomanipulação, técnica de manejo que consiste em aumentar a abundância do zooplâncton, por meio de modificações na estrutura da teia alimentar aquática, a fim de aumentar a pressão de herbivoria sobre as cianobactérias e, assim, controlar os *blooms* (SHAPIRO et al. 1975; KASPRZAK et al. 2002; AN et al. 2010).

Em ambientes temperados, a biomanipulação é frequentemente empregada no controle dos *blooms* (HANSSON et al. 1998; EKVALL et al. 2014) e acredita-se que o sucesso do emprego dessa técnica nesses ambientes é devido a dominância de *Daphnia* nos corpos d'água, um cladóceros de grande tamanho corporal que apresenta hábito alimentar generalista com alta capacidade de consumir cianobactérias, inclusive as tóxicas (DAWIDOWICZ, 1990;

PERROW et al. 1997; JEPPESEN et al. 2005; PERETYATKO et al. 2012; EKVALL et al. 2014).

Em contrapartida ao observado em regiões temperadas, em reservatórios tropicais e subtropicais têm sido proposta a hipótese de que o zooplâncton é pouco eficiente no controle das cianobactérias, sendo defendido ser pouco provável que estratégias de biomanipulação sejam úteis no controle dos *blooms* (CRISMAN; BEAVER, 1990; BOON et al. 1994; JEPPESEN et al. 2005).

Essas constatações são justificadas, especialmente, pela estrutura da comunidade zooplânctônica nos trópicos ser distinta da observada em zonas temperadas. Espécies de *Daphnia* são escassas ou ausentes, sendo frequente a dominância de rotíferos e copépodos, bem como de cladóceros de pequeno tamanho corporal (FERNANDO, 1994; BOON et al. 1994; JEPPESEN et al. 2005; SARMA et al. 2005). Acredita-se que por esses organismos serem, na sua maioria, mais seletivos que *Daphnia*, não consomem as cianobactérias de forma significativa, optando por alimentos mais palatáveis (GER; HANSSON; LÜRLING, 2014).

Apesar das observações acima, poucos estudos têm avaliado *in situ* a interação zooplâncton-cianobactérias nos trópicos, especialmente, nos ambientes da América do Sul, onde é frequentemente relatado a dominância de rotíferos e copépodos em locais com *blooms* perenes de cianobactérias, indicando o desenvolvimento de estratégias do zooplâncton dessa região que os permitem co-existir com as cianobactérias, como sugerido por Bouvy et al. (2001) e Ger, Hansson e Lürling (2014). Também não justificam os resultados de experimentos em laboratório que mostram os organismos zooplânctônicos tropicais que conseguem tolerar a ingestão das cianobactérias (PANOSSO et al. 2003; SOARES et al. 2010; KÂ et al. 2012).

Bouvy e Molica (1999) e Kâ et al. (2012) mostram, através de experimentos em laboratório, que o zooplâncton tropical consegue consumir as cianobactérias formadoras de *blooms* que apresentam morfologia filamentosa, através do corte e redução do tamanho médio dos filamentos em tamanhos palatáveis. O entendimento da fragmentação dos filamentos pelo zooplâncton é importante, pois pode interferir em importantes processos fisiológicos das cianobactérias como a capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico (N₂). Chan et al. (2004) observaram em um lago experimental de Nova Iorque (EUA) que o zooplâncton ao consumir as espécies de cianobactérias heterocitadas do gênero *Anabaena* reduziu o tamanho médio dos filamentos e a eficiência na fixação do N₂. Porém, essa relação ainda é pouco compreendida e pode não representar um padrão para as cianobactérias heterocitadas, uma

vez que a capacidade intrínseca de fixar o N_2 difere entre as espécies, como relatado por Dolman et al. (2012).

A relação entre a herbivoria e a produção de toxinas pelas cianobactérias é outra questão ainda pouco compreendida, apesar da reconhecida importância das cianotoxinas como um importante mecanismo de defesa contra a predação (GUSTAFSSON; RENGEFORS; HANSSON, 2005). Mas, como relatado por Dolman et al. (2012), as cianobactérias são um grupo muito diverso e as características que favorecem a sua dominância não são comuns em todas as espécies, incluindo a produção de toxinas. De acordo com esses autores, o tipo, bem como a concentração de toxina produzida é espécie dependente.

O objetivo da presente tese foi avaliar, experimentalmente *in situ*, os efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre a biomassa da comunidade fitoplanctônica em um reservatório da região tropical com ocorrência de *blooms* de cianobactérias, sendo também avaliados aspectos relativos à produção das cianotoxinas, o tamanho dos filamentos e o número de heterócitos nas cianobactérias. As hipóteses testadas foram:

a) o aumento da biomassa do zooplâncton não afeta negativamente as cianobactérias formadoras de *blooms*, mas altera a estrutura da comunidade fitoplanctônica através da redução da biomassa de espécies susceptíveis à herbivoria;

b) o aumento da pressão de herbivoria aumenta a produção das cianotoxinas, funcionando como um mecanismo de defesa contra o zooplâncton;

c) zooplâncton reduz o tamanho médio dos filamentos das cianobactérias e, conseqüentemente, o número de heterócitos nas fixadoras de N_2 , porém esses efeitos são menos expressivos nas espécies com morfologia espiralada.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Interação fitoplâncton-zooplâncton em ecossistemas aquáticos continentais lênticos

O zooplâncton pode interagir com o fitoplâncton de diferentes maneiras, através da predação e disponibilizando nutrientes através da excreção (Figura 1). A predação causa remoção das células fitoplanctônicas, reduzindo a biomassa e modificando a composição, riqueza e estrutura de tamanho dessa comunidade (HANEY, 1987). Porém, a predação também pode causar aumento da biomassa do fitoplâncton (HANEY, 1987). Essa situação é prevista ocorrer quando o zooplâncton não consome certas espécies fitoplanctônicas por serem pouco palatáveis, devido à presença de mecanismos de defesa contra a herbivoria, e as confere vantagem competitiva na utilização dos nutrientes por reduzir a biomassa das outras espécies algais mais palatáveis.

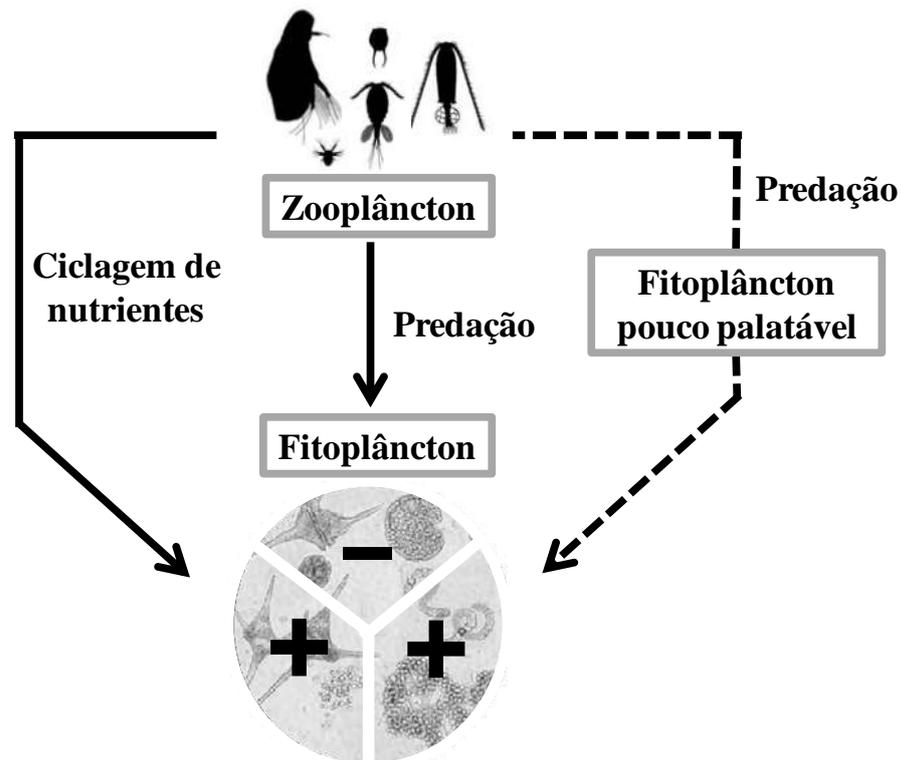


Figura 1. Diagrama sintetizando a interação fitoplâncton-zooplâncton nos ecossistemas aquáticos continentais. Seta com linha contínua representa = efeitos da predação e ciclagem de nutrientes na interação fitoplâncton-zooplâncton; seta com linha tracejada= efeito da predação sobre algas pouco palatáveis. + = aumento da biomassa fitoplanctônica; - = redução da biomassa fitoplanctônica. Fonte: modificado de Haney (1987).

O fitoplâncton tem mecanismos de defesa morfológicos, bioquímicos e comportamentais contra o zooplâncton (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011). Como uma espécie fitoplanctônica pode apresentar mais de um desses mecanismos de defesa, muitas vezes, é difícil isolar a característica chave na inibição da predação (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011). Além disso, não há um sistema de defesa que funcione perfeitamente contra todos os potenciais predadores, podendo uma estratégia de defesa ser eficiente contra um determinado organismo zooplanctônico, mas não funcionar em outro.

2.1.1. Interação fitoplâncton-zooplâncton: mecanismos de defesa do fitoplâncton contra a herbivoria

Acreditava-se que as características que funcionam como mecanismo de defesa contra a predação faziam parte da constituição própria do organismo, sendo sempre expressa, porém essa noção mudou baseado na evidência de que muitas das defesas são induzidas na presença do predador (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011; VAN DONK; IANORA; VOS, 2011). Como a defesa tem custo energético, é de se esperar que seja ativada apenas quando necessária, em situação de risco de predação (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011; VAN DONK; IANORA; VOS, 2011).

Os sinais de risco da predação para o fitoplâncton podem ser na forma química ou mecânica (VAN DONK; IANORA; VOS, 2011). Este último ocorre quando há dano mecânico a uma parcela considerável da alga após o contato com o predador. Resulta na liberação de compostos químicos pelo organismo fitoplanctônico que funcionam como um sinal de alerta de dano a célula. O sinal químico, por sua vez, ocorre quando o zooplâncton libera compostos químicos, os chamados infoquímicos, que são reconhecidos pelas espécies fitoplanctônicas e funcionam como indicador da presença do predador sem que a célula entre em contato com o mesmo. Esses compostos químicos podem fazer parte da constituição do organismo zooplanctônico e ser liberado continuamente ou a liberação é ativada apenas na presença da presa (VAN DONK; IANORA; VOS, 2011).

A origem e natureza química dos infoquímicos ainda são pouco compreendidas, porém estudos sugerem que os produtos nitrogenados excretados pelo zooplâncton, em especial a uréia, são potenciais candidatos (WILTSHIRE; LAMPERT, 1999). A avaliação do papel dos infoquímicos na indução da formação dos mecanismos de defesa do fitoplâncton tem sido realizada experimentalmente através da exposição das células a água na qual o zooplâncton foi mantido e, posteriormente, removido por filtração. É observado que a magnitude da

resposta do fitoplâncton aos infoquímicos aumenta concomitantemente com o aumento da abundância do zooplâncton na água teste (HA et al. 2001; HA; JANG; TAKAMURA, 2004).

a) Mecanismos de defesa morfológicos

As adaptações morfológicas do fitoplâncton contra a herbivoria são: alterações no tamanho e na forma da célula; formações de protuberâncias na parede celular como braços, cerdas e espinhos; a presença de mucilagem; e o arranjo das células em colônias ou filamentos.

O tamanho e a forma da célula são as características mais importantes na determinação da susceptibilidade à herbivoria. Células esféricas de pequeno tamanho (medida do raio $<35 \mu\text{m}$) são intensamente predadas por estarem no limite de tamanho ótimo para consumo por protistas, rotíferos e crustáceos (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011; VAN DONK; IANORA; VOS, 2011); assim, aumentar o tamanho representa estratégia-chave na inibição da predação.

O aumento do tamanho celular, apesar de eficaz na proteção contra a predação, reduz a taxa metabólica e de crescimento dos seres vivos por limitar a difusão das substâncias no interior da célula. Em células pequenas, a razão superfície/volume é alta, o que permite os nutrientes serem transportados rapidamente a qualquer parte do interior da célula e os organismos manterem alto metabolismo e alta taxa de reprodução; no entanto, a medida que a célula se torna maior a razão superfície/volume diminui, especialmente se mantém a forma esférica (NIELSEN, 2006; NASELLI-FLORES; PADISÁK; ALBAY, 2007; NASELLI-FLORES; BARONE, 2011). O aumento do tamanho da célula também causa aumento na perda por sedimentação, condição que interfere na eficiência da assimilação de nutrientes e luz pelo fitoplâncton (NIELSEN, 2006).

A resposta evolutiva de muitas espécies fitoplanctônicas para compensar as restrições associadas ao aumento do tamanho celular foi desenvolver adaptações anatômicas e morfológicas para aumentar o tamanho sem grandes alterações no volume, aumentando, conseqüentemente, a razão superfície/volume (NIELSEN, 2006; NASELLI-FLORES; PADISÁK; ALBAY, 2007). Dentre essas adaptações, destacam-se a presença de braços, cerdas ou espinhos na parede celular, a formação de mucilagem e o arranjo das células em colônias e filamentos (NASELLI-FLORES; BARONE, 2011). De acordo com Naselli-Flores e Barone (2011), essas adaptações foram mantidas ao longo da história evolutiva por poder

atuar simultaneamente na inibição da predação pelo zooplâncton e na redução dos efeitos negativos associados ao aumento do tamanho.

A presença de braços, cerdas ou espinhos é comum em clorofíceas e algumas espécies de diatomáceas, como as do gênero *Aulacoseira*. É observado que a presença dessas estruturas reduz a taxa de sedimentação das células e dificulta a ingestão pelo zooplâncton, funcionando como um eficiente mecanismo de defesa contra a predação (VERSCHOOR et al. 2004; MAYELI; NANDINI; SARMA, 2004). Luo et al. (2006) mostraram que *Micractinium pusillum* desenvolveu longas cerdas na presença do rotífero *Brachionus calyciflorus* em cultivo (Figura 2), reduzindo a taxa de ingestão desse rotífero de $0,15 \times 10^6$ para $0,04 \times 10^6$ ind.⁻¹ d⁻¹.

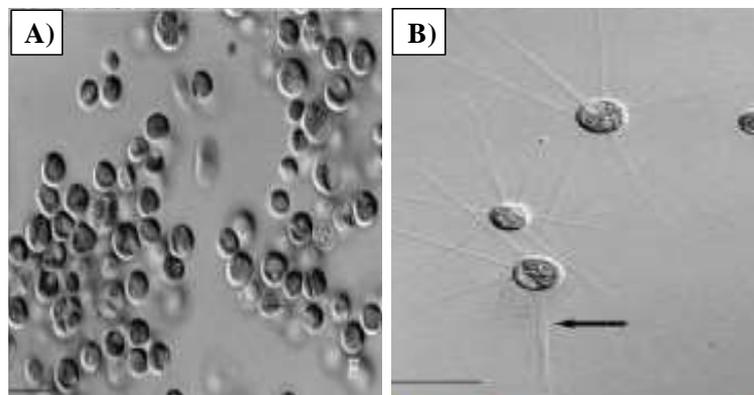


Figura 2. Células de *Micractinium pusillum* sem (A) e com (B) espinhos na presença e ausência, respectivamente, do rotífero *Brachionus calyciflorus*. Fonte: Luo et al. (2006).

A formação de colônias e filamentos é uma característica comum nas cianobactérias, clorofíceas e algumas diatomáceas. Ao adquirirem essas formas, as espécies podem aumentar o tamanho sem aumentar o caminho de difusão das substâncias no interior da célula ao mesmo tempo em que reduzem a pressão de herbivoria (NIELSEN, 2006).

Um dos primeiros estudos a mostrar que o zooplâncton induz a formação de colônias em espécies fitoplanctônicas foi realizado por Mikheeva e Kruchkova (1980) com *Chlamydomonas* sp. e *Scenedesmus acuminatus*. *Chlamydomonas* ocorre em cultivo como células unicelulares biflageladas, mas adquire a forma colonial palmelóide na presença do zooplâncton herbívoro. Com exceção de Mikheeva e Kruchkova (1980), Lürling e Beekman (2006) foram os únicos que estudaram o papel do zooplâncton na formação de colônias por *Chlamydomonas*. Esses autores observaram que *C. reinhardtii* cresceu exponencialmente formando colônias após 25 horas de exposição à *Brachionus calyciflorus* (Figura 3).

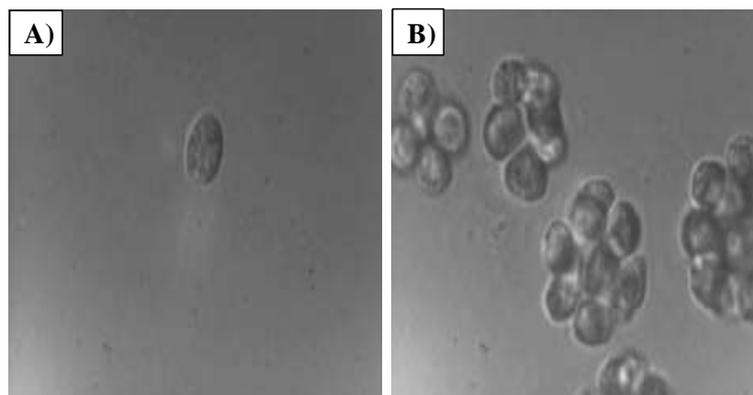


Figura 3. *Chlamydomonas reinhardtii* na forma unicelular (A) e colonial (B) na ausência e na presença, respectivamente, do rotífero *Brachionus calyciflorus*. Fonte: Lürling e Beekman (2006).

A formação de colônias induzida pelo zooplâncton em *Desmodesmus* e *Scenedesmus* tem sido exaustivamente estudada, devido à comum ocorrência desses organismos nos ecossistemas aquáticos lênticos de todo mundo (LÜRLING, 2003). Nos ambientes naturais, *Desmodesmus* e *Scenedesmus* comumente ocorrem como colônias planas com duas, quatro, oito ou 16 células fusiformes ou oblongas dispostas linearmente, porém, em cultivo, são encontradas na forma unicelular. É estabelecido que a indução da formação de colônias nessas clorofíceas ocorre em resposta aos infoquímicos liberados pelo zooplâncton (LÜRLING, 2003).

Hessen e van Donk (1993) observaram que na ausência de *Daphnia magna*, *S. subspicatus* era unicelular, com dimensões de 6-8 x 4-5 μm e baixa frequência de espinhos. No entanto, quando exposta a *D. magna* ou a “água de *D. magna*”, termo utilizado pelos autores para se referir a água de cultivo de *Daphnia*, houve a formação de colônias com 2-8 células, com dimensões de 6-40 μm , e aumento na proporção de células armadas com espinhos rígidos (Figura 4). Constataram, ainda, que a formação das colônias foi um mecanismo de defesa contra a predação eficiente, uma vez que a taxa de ingestão de *D. magna* reduziu com o aumento do tamanho das colônias.

Verschoor et al. (2004) mostraram que a formação de colônias é uma resposta adaptativa comum em Scenedesmaceae contra a ameaça de herbivoria pelo zooplâncton, porém observaram que o aumento do tamanho das colônias é mais expressivo em espécies de *Scenedesmus* em relação a *Desmodesmus*. Acredita-se que por *Desmodesmus* possuir espinhos, um mecanismo de defesa adicional que dificulta a ingestão pelo zooplâncton, não necessita ter colônias tão grandes quanto *Scenedesmus* que, por não possuir espinhos, é mais

vulnerável a predação e investe mais na formação das colônias (LÜRLING, 2003; VERSCHOOR et al. 2004).

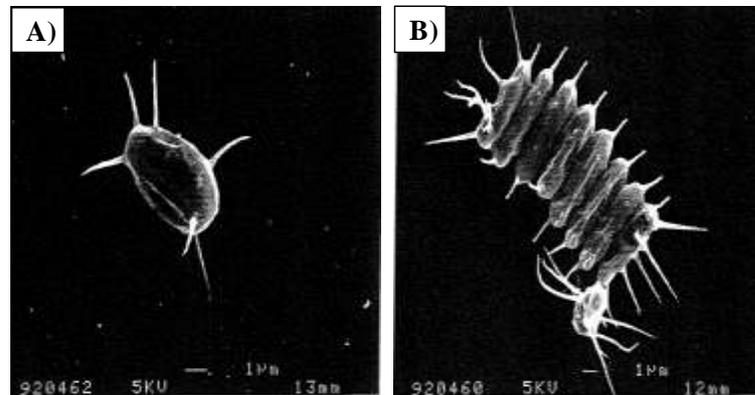


Figura 4. *Scenedesmus subspicatus* unicelular (A) e colonial (B). Fonte: Hessen e van Donk (1993).

Embora grande parte dos estudos sobre o papel dos infoquímicos liberados pelo zooplâncton na variabilidade morfológica de *Desmodesmus* e *Scenedesmus* serem realizados com espécies de Cladocera, a indução da formação das colônias não é exclusividade desse grupo, mas um efeito geral do zooplâncton herbívoro (LÜRLING; VAN DONK, 1997; LÜRLING, 2001; MAYELI; NANDINI; SARMA, 2004). No entanto, quando se compara a taxa de ingestão das colônias de *Desmodesmus* ou *Scenedesmus* entre os organismos zooplânctônicos, observa-se que os cladóceros, particularmente, os de grande tamanho corporal não têm dificuldade em consumir as colônias, enquanto os cladóceros de pequeno tamanho, copépodos e rotíferos mostram baixa taxa de ingestão e redução na taxa crescimento (LÜRLING; DONK, 1996; MAYELI; NANDINI; SARMA, 2004). Esses resultados são um indicativo de que a proteção contra a herbivoria desenvolvida por *Desmodesmus* e *Scenedesmus* é mais eficaz contra os pequenos herbívoros.

A cianobactéria *Microcystis aeruginosa* também forma colônias em resposta a presença ou sinais da presença do zooplâncton. Um dos primeiros trabalhos a mostrar essa relação foi publicado por Burkert et al. (2001) com o organismo zooplânctônico teste *Ochromonas* sp. Porém, ao contrário do observado para *Desmodesmus* e *Scenedesmus*, estudos mostram que os efeitos da indução da formação das colônias em *M. aeruginosa* são pouco expressivos por resultar em um número baixo de células por unidade de colônia, que não condiz com o comumente observado no ambiente natural (HA; JANG; TAKAMURA,

2004). Além disso, a resposta de *M. aeruginosa* mostra não ser igual para os diferentes grupos zooplanctônicos (YANG et al. 2006).

M. aeruginosa ocorre nos ambientes naturais como grandes colônias com centenas de células, porém quando mantida em cultivo ocorre como células isoladas. Ha, Jang e Takamura (2004) observaram que a água de cultivo de *Daphnia magna* e *Moina macrocopa* induziu a formação de colônias em *M. aeruginosa*, porém o número médio de células por colônia variou entre 2 e 3 células, valor muito abaixo do observado sob condições naturais. Yang et al. (2005) verificaram experimentalmente em cultivo que as colônias formadas por *M. aeruginosa* expostas a água com abundância de zooplâncton do lago Taihu chegaram a conter de dezenas a centenas de células, porém também verificaram que esse número de células era inferior ao observado nas populações de *M. aeruginosa* encontradas no lago (Figura 5).

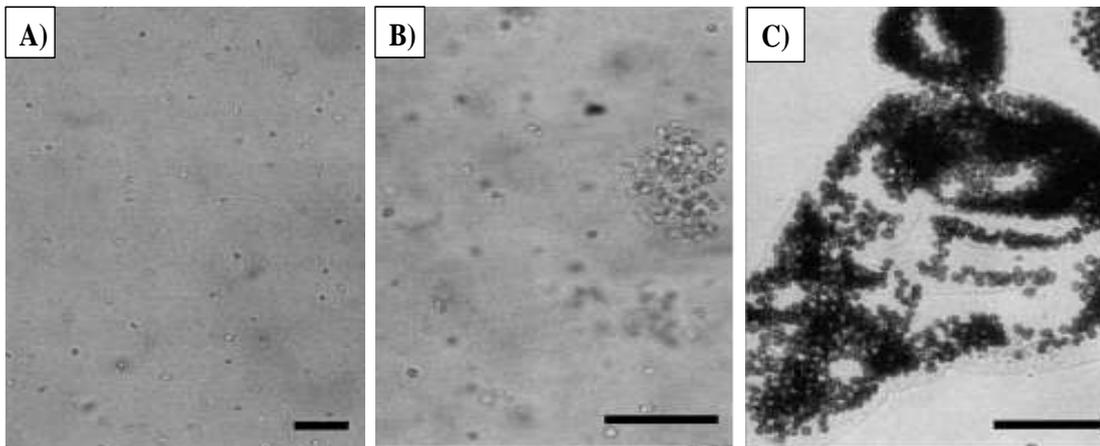


Figura 5. *Microcystis aeruginosa* unicelular em cultivo (A), colonial em cultivo (B) e colonial no lago Taihu (C). Fonte: Yang et al. (2005).

Apesar dessas observações, estudos mostram que a formação de colônias pode não ser uma resposta padrão de *M. aeruginosa* quando exposta as diferentes espécies zooplanctônicas ou aos infoquímicos que liberam, uma vez que outros fatores podem interferir nessa relação como o desenvolvimento de mecanismos de defesa mais eficazes (a produção de toxinas, por exemplo). Yang et al. (2006) observaram que *M. aeruginosa* formou colônias nos tratamentos com o flagelado *Ochromonas* sp., porém no controle (sem zooplâncton) e nos tratamentos com o copépodo *Eudiaptomus graciloides*, o cladóceros *Daphnia magna* e o rotífero *Brachionus calyciflorus* as células permaneceram unicelulares. Diante do fato de que a *M. aeruginosa* utilizado no experimento é tóxica, os autores concluíram que, talvez, a formação de colônias seja a única estratégia de defesa efetiva de *M. aeruginosa* contra o flagelado, uma

vez que a toxina não o impediu de consumi-la. Contra os outros organismos zooplanctônicos testados, o principal mecanismo de defesa parece ter sido a toxina, não necessitando, assim, que *M. aeruginosa* formasse colônias.

O arranjo das células em longos filamentos é a estratégia utilizada por muitas cianobactérias para defesa contra a predação pelo zooplâncton, apesar de poucos trabalhos avaliarem essa relação. Certamente, por as espécies filamentosas que ocorrem nos ambientes naturais não mostrarem a mesma tendência das coloniais de desagregarem e se tornarem unicelulares em cultivo, dificultam a análise do papel dos organismos zooplanctônicos na reorganização dos filamentos.

A forma do filamento, se reto ou espiralado, também é fundamental na determinação da palatabilidade. Acredita-se que os filamentos espiralados são menos susceptíveis a predação em relação às formas retas por ocuparem duas dimensões no espaço, o que dificultaria a ingestão pelo predador (NASELLI-FLORES; PADISÁK; ALBAY, 2007). A cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii*, por exemplo, ocorre nos morfotipos reto e espiralado (Figura 6) e estudos mostram que a predação sobre o morfotipo espiralado é menor em relação ao reto (FABBRO; DUIVENVOORDEN, 1996; FABBRO et al. 2001).

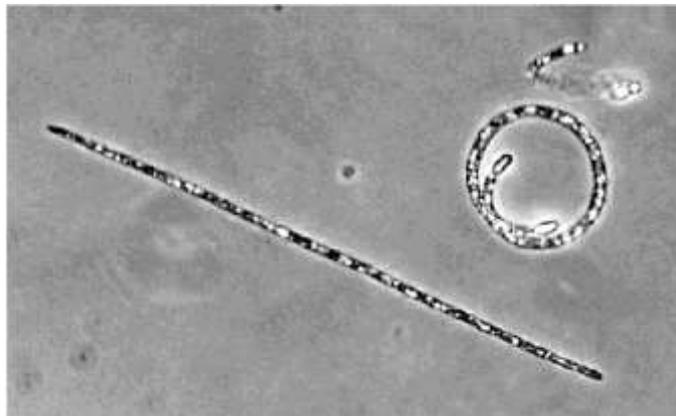


Figura 6. Morfotipos reto e espiralado da cianobactéria *Cylindrospermopsis raciborskii*.
Fonte: Fabbro et al. (2001).

A formação de mucilagem é outro mecanismo de defesa contra a predação comum em cianobactérias e clorofíceas. Coesel (1997), ao analisar a preferência de *Daphnia galeata* pelas clorofíceas *Staurastrum chaetoceras* e *Cosmarium abbreviatum* var. *planctonicum* verificaram que, enquanto *S. chaetoceras* foi facilmente ingerida, *Cosmarium* foi pouco predada. Os autores acreditam que à presença de um envelope mucilaginoso extracelular em *Cosmarium* foi a principal causa da preferência por *S. chaetoceras*, uma vez que quando

descapsulados por sonificação suave, as células *Cosmarium* foram significativamente ingeridas.

Staurastrum também produz mucilagem, cuja formação pode ser induzida pelo zooplâncton (Figura 7), porém de acordo com Wiltshire, Boersma e Meyer (2003) o papel da mucilagem na defesa de *Staurastrum* está ligado à possibilidade da formação de agregados de células que são muito grandes para serem consumidos.

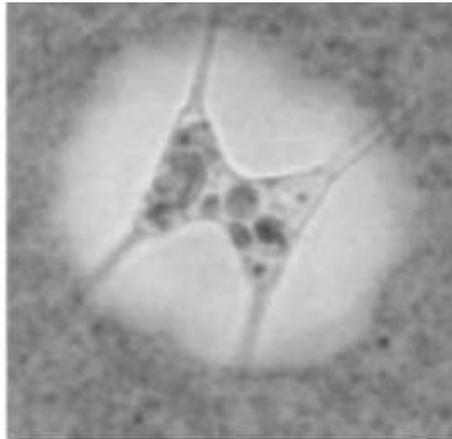


Figura 7. Mucilagem em *Staurastrum*. Fonte: Wiltshire, Boersma e Meyer (2003).

De acordo com Reynolds (2007), se as algas mucilaginosas não conseguem evitar a ingestão, a mucilagem ainda pode ser útil como mecanismo de defesa, pois pode tornar a célula resistente à digestão durante o período de passagem pelo intestino do consumidor. Porter (1976) foi o primeiro a observar esse fenômeno, ao constatar que as células da clorofícea colonial mucilaginoso *Sphaerocystis schroeteri* ingeridas por *Daphnia magna* emergiram do intestino intactas e em condições viáveis. Foi observado, ainda, que durante a passagem pelo intestino, as células viáveis absorveram nutrientes, tais como fósforo, tanto de restos de algas como de metabólitos de *Daphnia*, garantindo suprimento suficiente para estimular a divisão celular.

Espécies algais com paredes celulares espessas ou rígidas também podem passar ilesas pelo intestino dos herbívoros zooplancônicos (VAN DONK et al. 1997). As células das diatomáceas, por exemplo, são envoltas por parede celular de sílica com duas partes (valvas) que se encaixam formando uma estrutura rígida, a frústula. A frústula evoluiu para suportar pressões externas, funcionando na proteção mecânica da célula (HAMM et al. 2003), mas estudos como o de Pondaven et al. (2007) mostram que a pressão de herbivoria induz aumento na concentração de sílica na parede celular e demonstram que essa “silificação” não

constitui apenas proteção mecânica, mas também, representa uma plasticidade fenotípica modelada pela predação.

O zooplâncton necessita de energia e ferramentas especializadas para quebrar as frústulas das diatomáceas e consumir o conteúdo celular como mandíbulas fortes ou com fileira de dentes (HAMM et al. 2003). Assim, quando escapam da digestão inicial realizada na boca, as diatomáceas podem sobreviver à passagem pelo intestino, apesar de estudos mostrarem que certas espécies zooplânctônicas se especializaram na digestão das células das diatomáceas (PONDAVEN et al. 2007). Apesar dessas observações, poucos estudos têm avaliado o papel isolado da parede celular das diatomáceas como mecanismo de defesa contra a herbivoria em ecossistemas aquáticos continentais.

b) Mecanismos de defesa bioquímicos

Nos ecossistemas aquáticos continentais, mecanismos de defesa bioquímicos contra a predação são reconhecidos nas cianobactérias. As toxinas produzidas pelas cianobactérias, as cianotoxinas, são toxinas para o zooplâncton e demais componentes da teia trófica aquática desde bactérias até mamíferos (VASCONCELOS, 2001). As cianotoxinas variam em estrutura química (Figura 8), sendo classificadas como microcistina, nodularina, cilindrospermopsina, saxitoxina e anatoxina-a. As espécies produtoras pertencem aos gêneros *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Dolychospermum*, *Lyngbya*, *Microcystis* e *Planktothrix*.

O papel das cianotoxinas na inibição da herbivoria pelo zooplâncton tem sido avaliado através da exposição destes às cianobactérias tóxicas ou aos extratos brutos ou purificados das toxinas (LAMPERT, 1981 e 1982; NIZAN; DIMENTMAN; SHILO, 1986; REINIKAINEN; KETOLA; WALLS, 1994). É observado que as espécies e, até mesmo, as cepas, de cianobactérias têm diferentes níveis de toxicidade (NIZAN; DIMENTMAN; SHILO, 1986; SMITH; GILBERT, 1995; YASUNO et al. 1998) e que diferentes espécies do zooplâncton têm diferentes níveis de tolerância às cianotoxinas (FULTON, 1988; DE BERNARD; GIUSSANI, 1990; YASUNO; SUGAYA, 1991; GILBERT, 1994; MATVEEV; MATVEEVA; JONES, 1994).

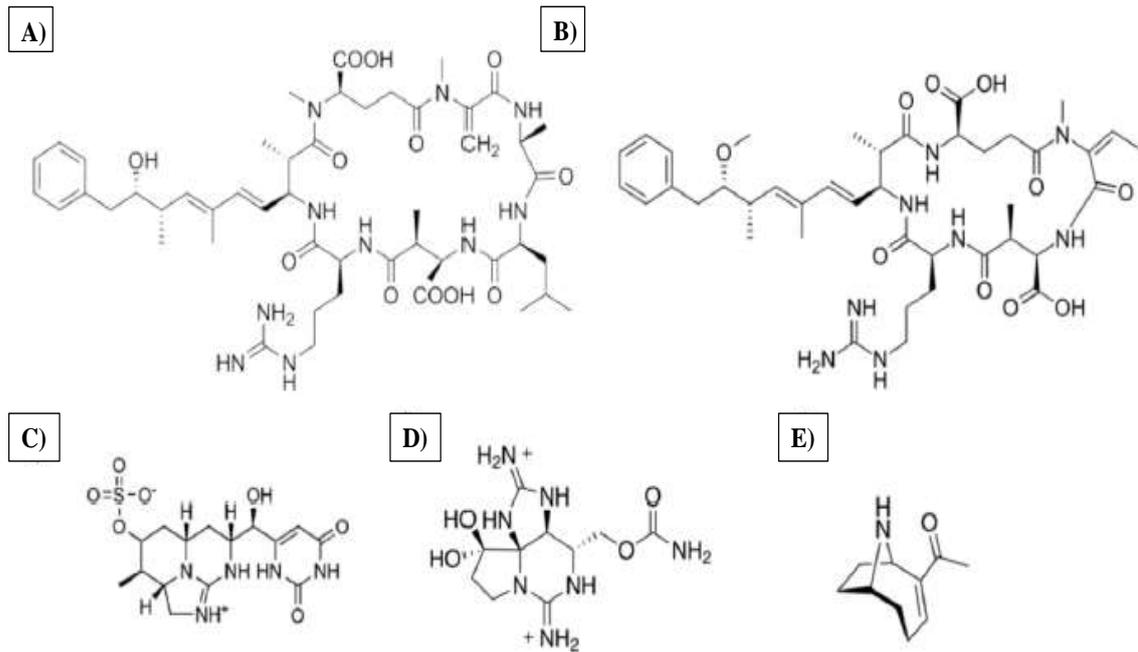


Figura 8. Estrutura química das cianotoxinas. Microcistina (A); Nodularina (B); Cilindrospermopsina (C); Saxitoxina (D); e Anatoxina-a (E).

Acredita-se que o zooplâncton que habita ambientes com dominância de cianobactérias tóxicas tem maior resistência aos efeitos nocivos das cianotoxinas (CHISLOCK, 2013).

Apesar de estudos como os Jang et al. (2003) e Jang, Jung e Takamura (2007) mostrarem que a produção das cianotoxinas aumenta na presença do zooplâncton e outros constatarem que há inibição da predação devido às cianotoxinas, o enquadramento das cianotoxinas como mecanismos de defesa contra a predação ainda é questionado. Relata-se que a origem dos genes produtores das cianotoxinas é anterior ao surgimento dos metazoários desconstruindo, assim, qualquer noção de que a síntese das toxinas foi originalmente desencadeada pela pressão de herbivoria (RANTALA et al. 2004; HOLLAND; KINNEAR, 2013).

Holland e Kinnear (2013) discutem, ainda, que os argumentos contra “as cianotoxinas como mecanismos de defesa” ganham mais força quando se considera o custo da produção. De acordo com esses autores, quando se faz o balanço do custo metabólico da produção das cianotoxinas, percebe-se que é pouco provável o estabelecimento destas como mecanismo de defesa, uma vez que outras estratégias têm gasto energético menor e são tão eficientes quanto na inibição da predação como a produção de mucilagem e a formação de colônias e filamentos.

2.1.2. Interação fitoplâncton-zooplâncton: efeitos da herbivoria pelo zooplâncton

O zooplâncton tem importante papel na dinâmica dos ecossistemas aquáticos, como predadores que controlam populações algais e de bactérias, como fonte de alimento para os níveis tróficos mais altos da teia alimentar e na excreção dos nutrientes dissolvidos (GLIWICZ, 2004). A predação do zooplâncton sobre o fitoplâncton pode transferir mais que 50% do carbono fixado pelos produtores primários para os níveis tróficos mais altos.

Nos ecossistemas aquáticos continentais, o zooplâncton é formado por protozoários (amebas, ciliados e flagelados), rotíferos e crustáceos, sendo os dois últimos grupos classificados como o zooplâncton verdadeiro. Porém, também inclui larvas de Oligochaeta, larvas de Diptera, mexilhões e peixes.

Os crustáceos compreendem dois grupos distintos: os cladóceros e os copépodos. Os cladóceros são filtradores, sendo considerados os principais predadores da comunidade fitoplanctônica nos ecossistemas aquáticos dulciaquícolas por possuírem alta taxa de ingestão, habilidade de filtrar partículas de amplo espectro de tamanho e de consumir grande diversidade de partículas alimentares (GLIWICZ, 2004; GER; HANSSON; LÜRLING, 2014).

Os copépodos são divididos em dois grupos que diferem quanto ao hábito alimentar: os ciclopóides, que são predominantemente carnívoros; e os calanóides, herbívoros. Utilizam modo de alimentação raptorial e mostram um alto grau de seletividade alimentar por possuírem mecanossensores e quimiosensores que distinguem as partículas alimentares quanto ao tamanho, qualidade nutricional e digestibilidade (GLIWICZ, 2004; GER; HANSSON; LÜRLING, 2014). Assim, quando encontram algas pouco palatáveis como as cianobactérias, por exemplo, os copépodos têm a capacidade de rejeitá-las e buscar outra fonte de alimento mais “saudável” (GER; HANSSON; LÜRLING, 2014).

Os rotíferos são, em sua grande maioria, filtradores e, ao contrário dos cladóceros, mostram certa seletividade alimentar. Estudos mostram que devido ao pequeno tamanho corporal que apresentam, os rotíferos limitam a predação as células pequenas (<35 µm) (GLIWICZ, 2004).

As diferenças quanto ao modo de alimentação da comunidade zooplanctônica faz com que a interação com o fitoplâncton varie em função de fatores como composição taxonômica, biomassa e tamanho corporal dos organismos zooplanctônicos. Nesse aspecto, a eficiência dos mecanismos de defesa contra a herbivoria desenvolvidos pelo fitoplâncton também irá variar em função desses fatores.

O tamanho corporal do organismo zooplancctônico está diretamente relacionado com a taxa de ingestão e o intervalo de tamanho das partículas consumidas. Cyr e Curtis (1999) observaram, experimentalmente, que apesar das células pequenas (<35 µm) serem intensamente predadas pelo zooplâncton do lago Ontario (Canadá), o intervalo de tamanho das algas predadas aumentou com o aumento do tamanho médio corporal do zooplâncton e diferiu, sistematicamente, com a composição taxonômica. Esses autores verificaram que entre os cladóceros, por exemplo, *Ceriodaphnia* e *Holopedium* consumiram algas com dimensão linear axial (GALD) entre 16 e 36 µm, enquanto *Bosmina* e *Daphnia* utilizaram algas com faixa de tamanho maior (GALD= 28-78 µm).

Pagano (2008) também observou que quanto maior o tamanho do organismo zooplancctônico, maior a taxa de predação. No entanto, outros trabalhos mostram que, sob biomassas equivalentes ou maiores, organismos zooplancctônicos pequenos podem ter taxas de predação tão altas quanto à dos organismos grandes (CYR; PACE, 1992; MALKIN; JOHANNSSON; TAYLOR, 2006).

Agasild et al. (2007), ao avaliarem o impacto da predação do microzooplâncton (ciliados e rotíferos) e mesozooplâncton (cladóceros e copépodos) sobre o fitoplâncton do lago L. Võrtsjärv (Estônia), observaram que a fração formada por ciliados e rotíferos dominaram na atividade de filtração e herbivoria. Os autores atribuíram esse resultado a elevada biomassa de ciliados e rotíferos no ambiente estudado (60% da biomassa total).

Low et al. (2010), ao analisarem o potencial do zooplâncton em controlar a biomassa do fitoplâncton em sistemas lênticos tropicais, observaram que a quantidade das clorofíceas *Ankistrodesmus*, *Cosmarium* e *Peridinium* diminuiu com o aumento no número de calanóides, ciclopóides e rotíferos, enquanto populações de diatomáceas *Melosira* e *Synedra* foram inversamente correlacionadas com a abundância de copépodes calanóides. Os cladóceros não tiveram influência na estrutura do fitoplâncton por estarem em baixa biomassa.

A seletividade alimentar observada em muitas espécies zooplancctônicas pode influenciar diretamente na estrutura da comunidade fitoplancctônica. Bergquist, Carpenter e Latino (1985) observaram que táxons fitoplancctônicos pequenos (GALD <25 µm; *Chlamydomonas* e Chlorococcales) aumentaram em densidade quando predadas pelo zooplâncton pequeno (pequenos copépodos e rotíferos), mas diminuíram em densidade quando predadas pelo zooplâncton grande (*Daphnia pulex* e *Diaptomus oregonensis*). Em contrapartida, o fitoplâncton de grande tamanho (*Asterionella formosa*, *Closteriopsis longissimus* e *Synedra* sp.) se tornou menos abundante na presença do zooplâncton pequeno, mas aumentaram em densidade na presença do zooplâncton grande. De acordo com esses

autores, a seletividade alimentar do zooplâncton modificou a estrutura do fitoplâncton, favorecendo as algas pequenas sob baixa pressão de herbivoria exercida pelos predadores pequenos e mudança para algas grandes quando o tamanho dos predadores aumentou.

A seletividade exercida pelo zooplâncton influencia na relação do fitoplâncton com os nutrientes dissolvidos, uma vez que a remoção de uma determinada espécie algal pelo zooplâncton reduz a competição por nutrientes, conferindo vantagem competitiva as espécies que não são predadas.

Delazari-Barroso et al. (2011) observaram essa relação ao constatarem, experimentalmente, no reservatório Duas Bocas, localizado no estado do Espírito Santos/Brasil, que na presença do zooplâncton as cianobactérias foram beneficiadas com a redução da biomassa de outros grupos algais que eram susceptíveis a herbivoria como as clorofíceas.

2.1.3. Interação fitoplâncton-zooplâncton: a importância das cianobactérias

Os estudos que tratam sobre a interação fitoplâncton-zooplâncton têm dado grande enfoque nas cianobactérias, devido à importância desses organismos na degradação da qualidade dos recursos hídricos.

É comum que as espécies que formam os *blooms* possuam os mecanismos de defesa mais eficazes contra a predação: a capacidade de formar grandes colônias e filamentos, muitas vezes com presença de mucilagem, e o potencial de produzir toxinas (DEMOTT; GULATI; VAN DONK, 2001; WILSON; SARNELLE; TILLMANN, 2006; REYNOLDS, 2007; FREITAS et al. 2014). Além disso, as cianobactérias apresentam baixo valor nutricional para o zooplâncton, devido à deficiência em esteróis e cadeias longas de ácidos graxos polinsaturados, vitais na regulação das funções celulares dos animais (DEMOTT; MÜLLER-NAVARRA, 1997; MARTIN-CREUZBURG; VON ELERT, 2009). Redução nas taxas de crescimento, sobrevivência, reprodução e alimentação, bem como a morte, do zooplâncton são comumente relatados devido ao consumo de cianobactérias.

O zooplâncton desenvolveu adaptações para minimizar os efeitos negativos das cianobactérias tóxicas. Podem restringir a ingestão das células tóxicas através de adaptações alimentares (por exemplo, a seletividade alimentar) ou aumentar a tolerância fisiológica de ingestão de células tóxicas via mecanismos mais eficientes de desintoxicação (GER; HANSSON; LÜRLING, 2014; GER et al. 2016).

A seletividade alimentar é a estratégia mais comum utilizada pelo zooplâncton para coexistir com as cianobactérias. Epp (1996), ao verificar os efeitos da predação de *Daphnia pulicaria* sobre as cianobactérias filamentosas *Aphanizomenon flos-aquae*, *Anabaena flos-aquae* e *A. wisconsinense*, relatou que em altas concentrações dessas algas, *Daphnia* consumiu preferencialmente diatomáceas, flagelados e clorococales. Apesar dessas observações, os cladóceros são, em geral, mais susceptíveis aos efeitos nocivos das cianotoxinas por serem pouco seletivos quanto ao tipo de alimento que ingerem (DEMOTT; ZHANG; CARMICHAEL, 1991). Os copépodos e rotíferos, por outro lado, são mais seletivos e, portanto, menos afetados pelas cianobactérias tóxicas (DEMOTT, 1986; GILBERT, 1990; DEMOTT; MOXTER, 1991).

Essas observações têm importantes implicações na dinâmica sazonal das comunidades fitoplanctônica e zooplanctônica em lagos, particularmente, localizados em regiões de clima temperado. É comum observar que durante o verão há substituição dos cladóceros grandes por cladóceros pequenos, copépodos e/ou rotíferos devido aos *blooms* de cianobactérias que são formados nessa estação (JEPPESEN et al. 2005; GER; HANSSON; LÜRLING, 2014).

Abrantes et al. (2006) observaram no lago Vela (Portugal) que o intenso desenvolvimento das cianobactérias na primavera e verão resultou na drástica redução da abundância de *Daphnia longispina*, enquanto o cladóceros de pequeno porte *Ceriodaphnia pulchella* mostrou a maior densidade registrada durante o estudo e correlação positiva com a densidade das cianobactérias.

Heathcote et al. (2016) mostram que há redução na razão da biomassa zooplâncton:fitoplâncton (razão Z:F) nos reservatórios com dominância das cianobactérias. Conforme observado por esses autores, a baixa razão Z:P reflete a mudança na estrutura da comunidade zooplanctônica comumente observada durante a ocorrência dos *blooms* de cianobactérias, no qual há substituição dos cladóceros de grande tamanho, como *Daphnia*, por rotíferos, copépodos e cladóceros pequenos (FULTON; PAERL, 1987).

Em regiões de clima tropical, apesar das estações sazonais não serem também marcadas como observado na zona temperada, é observada a mesma tendência de codominância entre cianobactérias e copépodos e/ou rotíferos (GER; HANSSON; LÜRLING, 2014).

2.2. Interação fitoplâncton-zooplâncton e a dinâmica das teias tróficas aquáticas

A discussão acerca da interação fitoplâncton-zooplâncton em ecossistemas aquáticos dulciaquícolas foi intensificada a partir da criação do conceito de “Interações tróficas em cascata” postulado por Carpenter, Kitchell e Hodgson (1985), e reforçado por Carpenter e Kitchell (1988), o qual prevê que os organismos de um nível trófico são sempre influenciados pelos predadores do nível trófico próximo mais alto e toda a teia alimentar pelos predadores do topo.

A qualidade do fitoplâncton como alimento interfere fortemente na dinâmica das teias alimentares aquáticas. Danielsdottir, Brett e Arhonditsis (2007) mostram que nos ambientes compostos por espécies algais palatáveis, os efeitos em cascata trófica reduzem a biomassa do fitoplâncton, o zooplâncton suporta intensa predação dos zooplânctívoros e a energia é eficientemente transferida através da teia alimentar, sustentando a produtividade nos níveis tróficos mais altos. Em contrapartida, sob dominância de espécies fitoplanctônica de baixa qualidade nutricional há quebra do *link* trófico na interface fitoplâncton-zooplâncton, com a biomassa fitoplanctônica sendo regulada primariamente pelos nutrientes disponíveis e o zooplâncton sendo rapidamente eliminado pela predação pelos peixes, resultando na baixa transferência de energia na teia alimentar.

2.3. Considerações finais

A interação fitoplâncton-zooplâncton em ecossistemas aquáticos continentais lênticos, apesar de amplamente estudada, ainda é pouco compreendida, particularmente, em reservatórios tropicais. Grande parte do entendimento acerca dessa interação é proveniente de estudos realizados em regiões temperadas ou através de estudos desenvolvidos em laboratório que, muitas vezes, não representam a complexidade dos processos que ocorrem nos ambientes naturais. Nesse sentido, os estudos utilizando mesocosmos *in situ*, como o apresentado na presente tese, são de grande valia para a avaliação dessa interação.

Estudos, particularmente, em reservatórios com ocorrência de *blooms* de cianobactérias são os mais requeridos, uma vez que as espécies que formam os *blooms* exibem os mecanismos de defesa mais eficientes contra a herbivoria. Há a lacuna no entendimento sobre como o zooplâncton interage no ambiente natural com essas cianobactérias tanto do ponto de vista ecológico, uma vez que há a perda do *link* trófico com o zooplâncton e a redução da transferência de energia para os demais níveis da teia trófica durante os *blooms*, quando para o manejo de ecossistemas aquáticos por o zooplâncton ser apontado como uma importante estratégia no controle da biomassa das cianobactérias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES, N.; ANTUNES, S. C.; PEREIRA, M. J.; GONÇALVES F. Seasonal succession of cladocerans and phytoplankton and their interactions in a shallow eutrophic lake (Lake Vela, Portugal). **Acta Oecologica**, v. 29, p. 54-64, 2006.
- AGASILD, H.; ZINGEL P.; TÖNNO, I.; HABERMAN J.; NÖGES, T. Contribution of different zooplankton groups in grazing on phytoplankton in shallow eutrophic Lake Võrtsjärv (Estonia). **Hydrobiologia**, v. 584, p. 167-177, 2007.
- AN, K-G.; LEE, J-Y.; KUMAR, H.K.; LEE, S-J.; HWANG, S-J.; KIM, B-H.; PARK, Y-S.; SHIN, K-H.; PARK, S.; UM, H-Y. Control of algal scum using top-down biomanipulation approaches and ecosystem health assessments for efficient reservoir management. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 205, n. 1-4, p. 3-24, 2010.
- BERGQUIST, A. M.; CARPENTER, S. R.; LATINO, J. C. Shifts in phytoplankton size structure and community composition during grazing by contrasting zooplankton assemblages. **Limnology and Oceanography**, v. 30, n. 5, p. 1037-1045, 1985.
- BOON, P. I.; BUNN, S. E.; GREEN, J. D; SHIEL, R. J. Consumption of Cyanobacteria by freshwater zooplankton: Implications for the success of 'Top-down' control of cyanobacterial blooms in Australia. **Australian Journal of Marine & Freshwater Research**, v. 45, n. 5, p. 875-87, 1994.
- BOUVY, M.; MOLICA, R. J. R. Avaliação da ingestão de *Cylindrospermopsis* pelo zooplâncton: testes em laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO FICOLOGIA, 7., 1999, Porto de Galinhas, Brasil, **Anais...** 1999, p. 161.
- BURKERT, U.; HYENSTRAND, P.; DRAKARE, S.; BLOMQVIST, P. Effects of the mixotrophic flagellate *Ochromonas* sp. on colony formation in *Microcystis aeruginosa*. **Aquatic Ecology**, v. 35, p. 9-17, 2001.
- CARPENTER, S. R.; KITCHELL, J. F. Consumer control of lake productivity. **BioScience**, v. 38, n. 11, p. 764-769, 1988.
- CARPENTER, S. R.; KITCHELL, J. F.; HODGSON, J. R. Cascading trophic interactions and lake productivity: Fish predation and herbivory can regulate lake ecosystems. **BioScience**, v. 35, n. 10, p. 634-639, 1985.
- CHAN, F.; PACE, M. L.; HOWARTH, R. W.; MARINO, R. M. Bloom formation in heterocystic nitrogen-fixing cyanobacteria: The dependence on colony size and zooplankton grazing. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 6, p. 2171-2178, 2004.
- CHIA, A. M.; KWAGHE, M. J. Microcystins contamination of surface water supply sources in Zaria-Nigeria. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 10, p. 606, 2015.
- CHISLOCK, M. F.; SARNELLE, O.; JERNIGAN, L. M.; WILSON, A. E. Do high concentrations of microcystin prevent *Daphnia* control of phytoplankton? **Water Research**, v. 47, p.1961-1970, 2013.

- COESEL, P. F. M. The edibility of *Staurastrum chaetoceras* and *Cosmarium abbreviatum* (desmidiaceae) for *Daphnia galeata/hyalina* and the role of desmids in the aquatic food web. **Aquatic Ecology**, v. 31, p. 73-78, 1997.
- CRISMAN, T. L.; BEAVER, J. R. Applicability of planktonic biomanipulation for managing eutrophication in the subtropics. **Hydrobiologia**, v. 200/201, n. 1, p. 177-185, 1990.
- CYR H.; PACE M. L. Grazing by zooplankton and its relationship to community structure. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 49, n. 7, p. 1455-1465, 1992.
- CYR, H.; CURTIS, J. M. Zooplankton community size structure and taxonomic composition affects size-selective grazing in natural communities. **Oecologia**, v. 118, p. 306-315, 1999.
- DANIELSDOTTIR, M. G.; BRETT, M. T.; ARHONDITSIS, G. B. Phytoplankton food quality control of planktonic food web processes. **Hydrobiologia**, v. 589, p. 29-41, 2007.
- DAWIDOWICZ, P. Effectiveness of phytoplankton control by large-bodied and small-bodied zooplankton. **Hydrobiologia**, v. 200-201, n. 1, p. 43-47, 1990.
- DE BERNARDI, R.; GIUSSANI, G. Are blue-green algae a suitable food for zooplankton? An overview. **Hydrobiologia**, v. 200/201, p. 29-41, 1990.
- DELAZARI-BARROSO, A.; GIAVARINI, K.; MIRANDA, O. T.; STERZA, J. M. Phytoplankton-zooplankton interactions at Duas Bocas Reservoir, Espirito Santo State, Brazil: Growth responses in the absence of grazing. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 6, n. 1, p. 27-34, 2011.
- DEMOTT, W. R. The role of taste in food selection by freshwater zooplankton. **Oecologia**, v. 69, p. 334-340, 1986.
- DEMOTT, W. R.; GULATI, R. D.; VAN DONK, E. *Daphnia* food limitation in three hypereutrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by interfering filaments of cyanobacteria. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 8, 2054-2060, 2001.
- DEMOTT, W. R.; MOXTER, F. Foraging cyanobacteria by copepods: responses to chemical defenses and resource abundance. **Ecology**, v. 72, n. 5, p. 1820-1834, 1991.
- DEMOTT, W. R.; ZHANG, Q. X.; CARMICHAEL, W. W. Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. **Limnology & Oceanography**, v. 36, n. 7, p. 1346-1357, 1991.
- DEMOTT, W. R.; MÜLER-NAVARRA, D. C. The importance of highly unsaturated fatty acids in zooplankton nutrition: evidence from experiments with *Daphnia*, a cyanobacterium and lipid emulsions. **Freshwater Biology**, v. 38, p. 649-664, 1997.
- DOLMAN, A. M.; RÜCKER, J.; PICK, F. R.; FASTNER, J.; ROHRLACK, T.; MISCHKE, U.; WIEDNER, C. Cyanobacteria and cyanotoxins: The Influence of nitrogen versus phosphorus. **PLoS ONE**, v. 7, p. 38757, 2012.
- EKVALL, M. K.; URRUTIA-CORDERO, P.; HANSSON, L-A. Linking cascading effects of fish predation and zooplankton grazing to reduced cyanobacterial biomass and toxin levels following biomanipulation. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. 112956-112956, 2014.

- EPP, G. T. Grazing on filamentous cyanobacteria by *Daphnia pulicaria*. **Limnology and Oceanography**, v. 41, n. 3, p. 560-567, 1996.
- FABBRO, L. D.; DUIVENVOORDEN, L. J. Profile of a bloom of the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju in the Fitzroy river in tropical Central Queensland. **Marine and Freshwater Research**, v. 47, p. 685-94, 1996.
- FABBRO, L.; BAKER, M.; DUIVENVOORDEN, L.; PEGG, G.; SHIEL, R. The effects of the ciliate *Paramecium* cf. *caudatum* Ehrenberg on toxin producing *Cylindrospermopsis* isolated from the Fitzroy River, Australia. **Environmental Toxicology**, v. 16, v. 6, 2001.
- FERNANDO, C. H. Zooplankton, fish and fisheries in tropical freshwaters. **Hydrobiologia**, v. 272, n. 1-3, p. 105-123, 1994.
- FREITAS, E. C.; PINHEIRO, C.; ROCHA, O.; LOUREIRO, S. Can mixtures of cyanotoxins represent a risk to the zooplankton? The case study of *Daphnia magna* Straus exposed to hepatotoxic and neurotoxic cyanobacterial extracts. **Harmful Algae**, v. 31, p. 143-152, 2014.
- FULTON, R. S. Resistance to blue-green toxins by *Bosmina longirostris*. **Journal of Plankton Research**, v. 10, p. 771-778, 1988.
- FULTON, R. S.; PEARL, H. W. Effects of colonial morphology on zooplankton utilization of algal resources during blue-green algal (*Microcystis aeruginosa*) blooms. **Limnology & Oceanography**, v. 32, n. 3, p. 634-644, 1987.
- GER, K. A.; HANSSON, L-A.; LÜRLING, M. Understanding cyanobacteria-zooplankton interactions in a more eutrophic world. **Freshwater Biology**, v. 59, n. 9, p. 1783-1798, 2014.
- GER, K. A.; URRUTIA-CORDERO, P.; FROST, P. C.; HANSSON, L-A.; SARNELLE, O.; WILSON, A. E.; LÜRLING, M. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. **Harmful Algae**, v. 54, p. 128-144, 2016.
- GILBERT, J. J. Differential effects of *Anabaena affinis* on cladocerans and rotifers: mechanisms and implications for zooplankton community structure. **Ecology**, v. 71, p. 1727-1740, 1990.
- GILBERT, J. J. Susceptibility of planktonic rotifers to a toxic strain of *Anabaena floes-aquae*. **Limnology & Oceanography**, v. 39, n. 6, p. 1286-1297, 1994.
- GLIWICZ, Z. M. Zooplankton. In: O'SULLIVAN, P. E., REYNOLDS C. S. (Eds). **The Lakes Handbook. Limnology and Limnetic Ecology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 461-516.
- GUSTAFSSON, S.; RENGEFORS, K.; HANSSON, L-A. Increased consumer fitness following transfer of toxin tolerance to offspring via maternal effects. **Ecology**, v. 86, n. 10, p. 2561-2567.
- HA, K.; JANG, M-H.; TAKAMURA, N. Colony formation in planktonic algae induced by zooplankton culture media filtrate. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 19, n. 1, 2004.

- HA, K.; JANG, M-H; JOO, G-J; TAKAMURA, N. Growth and morphological changes in *Scenedesmus dimorphus* induced by substances released from grazers, *Daphnia magna* and *Moina macrocopa*. **Korean Journal of Limnology**, v. 34, n 4, p. 285-291, 2001.
- HAMM, C. E.; MERKEL, R.; SPRINGER, O.; JURKOJC, P.; MAIER, C.; PRECHTEL, K.; V. SMETACEK. Architecture and material properties of diatom shells provide effective mechanical protection. **Nature**, v. 421, 2003.
- HANEY, J. F. Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. **New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research**, v. 21, p. 467-475, 1987.
- HANSSON, L-A.; ANNADOTTER, H.; BERGMAN, E.; HAMRIN, S. F.; JEPPESEN, E.; KAIRESALO, T.; LUOKKANEN, E.; NILSSON, P-Å.; SØNDERGAARD, M.; STRAND, J. Biomanipulation as an application of food-chain theory: Constraints, synthesis, and recommendations for temperate lakes. **Ecosystems**, v. 1, n. 6, p. 558-574, 1998.
- HEATHCOTE, A. J.; FILSTRUP, C. T.; KENDALL, D.; DOWNING, J. A. Biomass pyramids in lake plankton: influence of Cyanobacteria size and abundance. **Inland Waters**, v. 6, p. 250-257, 2016.
- HESSEN, D. O.; VAN DONK, E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by substances released from *Daphnia*. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 127, n. 2, p. 129-140, 1993.
- HOLLAND, A.; KINNEAR, S. Interpreting the possible ecological role(s) of cyanotoxins: Compounds for competitive advantage and/or physiological aide? **Marine Drugs**, v. 11, p. 2239-2258, 2013.
- JANG, M-H.; HA, K.; JOO, G-J.; TAKAMURA, N. Toxin production of cyanobacteria is increased by exposure to zooplankton. **Freshwater Biology**, v. 48, p. 1540-1550, 2003.
- JANG, M-H.; JUNG, J-M.; TAKAMURA, N. Changes in microcystin production in cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical concentrations. **Limnology & Oceanography**, v. 52, n. 4, p. 1454-1466, 2007.
- JEPPESEN, E; SØNDERGAARD, M.; MAZZEO, N.; MEERHOFF, M.; BRANCO, C.; HUSZAR, V.; SCASSO, F. Lake restoration and biomanipulation in temperate lakes: Relevance for subtropical and tropical lakes. In: REDDY, M. V. (Ed.). **Restoration and Management of Tropical Eutrophic Lakes**. Science Publishers, 2005.
- KÂ, S.; MENDOZA-VERA, J. M.; BOUVY, M.; CHAMPALBERT, G.; N'GOM-KÂ, R.; PAGANO, M. Can tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria? **Hydrobiologia**, v. 679, n. 1, p. 119-138, 2012.
- KASPRZAK, P.; BENNDORF, J.; MEHNER, T.; KOSCHEL, R. Biomanipulation of lake ecosystems: an introduction. **Freshwater Biology**, v. 47, n. 12, p. 2277-2281, 2002.
- LAMPERT, W. Further studies on the inhibitory effect of the toxic blue-green *Microcystis aeruginosa* on the filtering rate of zooplankton. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 95, p. 207-220, 1982.

- LAMPERT, W. Toxicity of blue-green *Microcystis aeruginosa*: effective defense mechanism against grazing pressure by *Daphnia*. **Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 21, p. 1436-1440, 1981.
- LOW, E. W.; CLEWS, E.; TODD, P. A.; TAI, Y. C.; NG, P. K. L. Top-down control of phytoplankton by zooplankton in tropical reservoirs in Singapore? **The Raffles Bulletin of Zoology**, v. 58, n. 2, p. 311-322, 2010.
- LUO, W.; PFLUGMACHER, S.; PRÖSCHOLD, T.; WALZ, N.; KRIENITZ, L. Genotype versus phenotype variability in *Chlorella* and *Micractinium* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). **Protist**, v. 157, p. 315-333, 2006.
- LÜRLING, M. Grazing-associated infochemicals induce colony formation in the green alga *Scenedesmus*. **Protist**, v. 152, p. 7-16, 2001.
- LÜRLING, M. Phenotypic plasticity in the green algae *Desmodesmus* and *Scenedesmus* with special reference to the induction of defensive morphology. **Annales de Limnologie/International Journal of Limnology**, v. 39, n. 2, p. 85-101, 2003.
- LÜRLING, M.; BEEKMAN, W. Palmelloids formation in *Chlamydomonas reinhardtii*: defence against rotifer predators? **Annales de Limnologie/International Journal of Limnology**, v. 42, n. 2, p. 65-72, 2006.
- LÜRLING, M.; DONK, E. V. Zooplankton-induced unicell-colony transformation in *Scenedesmus acutus* and its effect on growth of herbivore *Daphnia*. **Oecologia**, v. 108, p. 432-437, 1996.
- LÜRLING, M.; VAN DONK, E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 4, p.783-788, 1997.
- MALKIN, S. Y.; JOHANSSON, O. E.; TAYLOR, W. D. Small-bodied zooplankton communities yet strong top-down effects on phytoplankton in the absence of fish. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 165, n. 3, p. 313-338, 2006.
- MARTIN-CREUZBURG, D.; VON ELERT, E. Good food *versus* bad food: the role of sterols and polyunsaturated fatty acids in determining growth and reproduction of *Daphnia magna*. **Aquatic Ecology**, v. 43, n. 4, p. 943-950, 2009.
- MATVEEV, V.; MATVEEVA, L.; JONES, J. Study of the ability of *Daphnia carinata* King to control phytoplankton and resist cyanobacterial toxicity: Implications for biomanipulation in Australia. **Australian Journal of Marine & Freshwater Research**, v. 45, p. 889-904, 1994.
- MAYELI, S. M.; NANDINI, S.; SARMA, S. S. S. The efficacy of *Scenedesmus* morphology as a defense mechanism against grazing by selected species of rotifers and cladocerans. **Aquatic Ecology**, v. 38, n. 4, p. 515-524, 2004.
- MIKHEEVA, T. M.; KRUCHKOVA H. M. Morphological changes in *Chlamydomonas* sp and *Scenedesmus acuminatus* in the presence of zooplankton. **Botanica**, v. 5, p. 60-63, 1980.

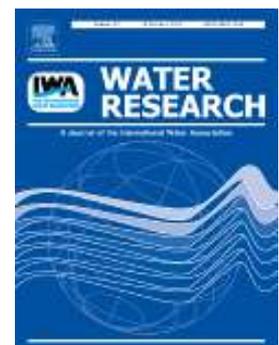
- NASELLI-FLORES, L.; BARONE, R. Fight on plankton! or, phytoplankton shape and size as adaptive tools to get ahead in the struggle for life. **Cryptogamie/Algologie**, v. 32, n. 2, p. 157-204, 2011.
- NASELLI-FLORES, L.; PADISÁK, J.; ALBAY, M. Shape and size in phytoplankton ecology: do they matter? **Hydrobiologia**, v. 578, p. 157-161, 2007.
- NIELSEN, S. L. Size-dependent growth rates in eukaryotic and prokaryotic algae exemplified by green algae and cyanobacteria: comparisons between unicells and colonial growth forms. **Journal of Plankton Research**, v. 28, n. 5, p. 489-498, 2006.
- NIZAN, S.; DIMENTMAN, C.; SHILO, M. Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. **Limnology & Oceanography**, v. 31, n. 3, p. 497-502, 1986.
- NIZAN, S.; DIMENTMAN, C.; SHILO, M. Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. **Limnology & Oceanography**, v. 31, n. 3, p. 497-502, 1986.
- PAGANO, M. Feeding of tropical cladocerans (*Moina micrura*, *Diaphanosoma excisum*) and rotifer (*Brachionus calyciflorus*) on natural phytoplankton: effect of phytoplankton size-structure. **Journal of Plankton Research**, v. 30, n. 4, p. 401-414, 2008.
- PANOSSO, R.; CARLSSON, P.; KOZLOWSKY-SUZUKI, B.; AZEVEDO, S. M. F. O.; GRANÉLI, E. Effect of grazing by a neotropical copepod, *Notodiaptomus*, on a natural cyanobacterial assemblage and on toxic and non-toxic cyanobacterial strains. **Journal of Plankton Research**, v. 25, p. 1169-1175, 2003.
- PERETYATKO, A.; TEISSIER, S.; BACKER, S.; TRIEST, L. Biomanipulation of hypereutrophic ponds: When it works and why it fails. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 184, n. 3, p. 1517-1531, 2012.
- PERROW, M. R.; MEIJER, M-L.; DAWIDOWICZ, P.; Coops, H. Biomanipulation in shallow lakes: state of the art. **Hydrobiologia**, v. 342-343, p. 355-365, 1997.
- PONDAVEN, P.; GALLINARI, M.; CHOLLET, S.; BUCCIARELLI, E.; SARTHOU, G.; SCHULTES, S.; JEAN, F. Grazing-induced changes in cell wall silicification in a marine diatom. **Protist**, v. 158, p. 21-28, 2007.
- PORTER, K. G. Enhancement of algal growth and productivity by grazing zooplankton. **Science**, v. 192, n. 4246, p. 1332-1334, 1976.
- RANTALA, A.; FEWER, D. P.; HISBERGUES, M.; ROUHIAINEN, L.; VAITOMAA, J.; BÖRNER, T.; SIVONEN, K. Phylogenetic evidence for the early evolution of microcystin synthesis. **PNAS**, v. 101, n. 2, p. 568-573, 2004.
- REINIKAINEN, M.; KETOLA, M.; WALLS, M. Effects of the concentrations of toxic *Microcystis aeruginosa* and an alternative food on the survival of *Daphnia pulex*. **Limnology & Oceanography**, v. 39, n. 2, p. 424-432, 1994.
- REYNOLDS, C. S. Variability in the provision and function of mucilage in phytoplankton: facultative responses to the environment. **Hydrobiologia**, v. 578, n. 1, p. 37-45, 2007.

- SARMA, S. S. S.; NANDINI, S.; GULATI, R. D. Life history strategies of cladocerans: Comparisons of tropical and temperate taxa. **Hydrobiologia**, v. 542, n. 1, p. 315-333, 2005.
- SHAPIRO, J.; LAMARRA, V.; LYNCH, M. Biomanipulation: an ecosystem approach to lake restoration, In: Brezonik, P. L.; Fox, J. L. (Eds.). **Proceedings of a symposium on water quality management through biological control**. Gainesville: University of Florida, 1975. p. 85-96.
- SMITH, A. D.; GILBERT, J. J. Relative susceptibilities of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa*. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 132, n. 3, p. 309-336, 1995.
- SOARES, M. C. S.; LÜRLING, M.; HUSZAR, V. L. M. Responses of the rotifer *Brachionus calyciflorus* to two tropical toxic cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. **Journal of Plankton Research**, v. 32, n. 7, p. 999-1008, 2010.
- VAN DONK E.; LÜRLING, M.; HESSEN, D. O.; LOKHORST, G. M. Altered cell wall morphology in nutrient-deficient phytoplankton and its impact on grazers. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 2, p. 357-364, 1997.
- VAN DONK, E.; IANORA, A.; VOS, M. Induced defences in marine and freshwater phytoplankton: a review. **Hydrobiologia**, v. 668, p. 3-19, 2011.
- VASCONCELOS, V. Cyanobacteria toxins: diversity and ecological effects. **Limnetica**, v. 20, n. 1, p. 45-58, 2001.
- VERSCHOOR, A. M.; VAN DER STAP, I.; HELMSING, N. R.; LÜRLING, M.; VAN DONK, E. Inducible colony formation within the Scenedesmaceae: adaptive responses to infochemicals from two different herbivore taxa. **Journal of Phycology**, v. 40, p. 808-814, 2004.
- WILSON, A. E.; SARNELLE, O; TILLMANN, A. R. Effects of cyanobacterial toxicity and morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta-analyses of laboratory experiments. **Limnology and Oceanography**, v. 51, n. 4, p. 1915-1924, 2006.
- WILTSHIRE, K. H.; LAMPERT, W. Urea excretion by *Daphnia*: A colony-inducing factor in *Scenedesmus*? **Limnology and Oceanography**, v. 44, n. 8, p. 1894-1903, 1999.
- WILTSHIRE, K.; BOERSMA, M.; MEYER, B. Grazer-induced changes in the desmid *Staurastrum*. **Hydrobiologia**, v. 491, p. 255-260, 2003.
- YANG, Z.; KONG, F.; SHI, X. Effects of filtered lake water on colony formation and growth rate in *Microcystis aeruginosa* of different physiological phases. **Journal of Freshwater Ecology**, v. 20, n. 3, p. 425-429, 2005.
- YANG, Z.; KONG, F.; SHI, X.; CAO, H. Morphological response of *Microcystis aeruginosa* to grazing by different sorts of zooplankton. **Hydrobiologia**, v. 563, p. 225-230, 2006.
- YASUNO, M.; SUGAYA, Y.; KAYA, K.; WATANABE, M. M. Variations in the toxicity of *Microcystis* species (Cyanobacteria) to *Moina macrocopa*. **Phycological Research**, v. 46, p. 31-36, 1998.

YASUNO, M; SUGAYA, Y. Toxicities of *Microcystis viridis* and the isolated hepatotoxic polypeptides on cladocerans. **Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie**, v. 24, n. 2622- 2626, 1991.

ARTIGO I -

Artigo a ser submetido à revista:



1 **Efeitos do aumento da biomassa do zooplâncton sobre o fitoplâncton e as**
2 **cianotoxinas: um estudo em mesocosmo em reservatório tropical**

3
4 Juliana dos Santos Severiano^a, Viviane Lúcia dos Santos Almeida^b, Maria do Carmo
5 Bittencourt-Oliveira^c, Mathias Ahii Chia^c e Ariadne do Nascimento Moura^{a*}

6
7 ^aÁrea de Botânica, Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de
8 Pernambuco -UFRPE, Rua D. Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-030,
9 Recife, PE, Brasil.

10 ^bUniversidade de Pernambuco - UPE, Campus Mata Norte. Rua Amaro Maltez, 201,
11 Centro, Nazaré da Mata, 55800-000, Recife, PE, Brasil.

12 ^cDepartamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
13 Universidade de São Paulo-USP, Av. Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

14
15 ***Autor para correspondência:** ariadne@ufrpe.br (Moura, A.N)

16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

34

35 **Resumo**

36 O zooplâncton é considerado uma importante ferramenta de controle de *blooms*
37 de algas em lagos temperados. No entanto, em ambientes tropicais e subtropicais, o
38 potencial destes organismos para reduzir a biomassa das cianobactérias não é bem
39 compreendido. O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do aumento da
40 biomassa de zooplâncton sobre a comunidade fitoplanctônica e a concentração das
41 cianotoxinas microcistina e saxitoxina em um reservatório tropical (reservatório de
42 Ipojuca, Brasil), com ocorrência de *blooms*, utilizando mesocosmos *in situ*. Os
43 mesocosmos consistiram em sacos de polietileno (50 litros) que foram mantidos em
44 suspensão na água perto da barragem do reservatório durante doze dias. Os tratamentos
45 foram compostos por biomassas zooplânctônicas de 2 (+ZOOx2), 3 (+ZOOx3) e 4
46 (+ZOOx4) vezes a encontrada no reservatório. No início do experimento, vinte táxons
47 fitoplanctônicos foram registrados, com dominância das cianobactérias *Planktothrix*
48 *agardhii* e *Cylindrospermopsis raciborskii*. A concentração total de microcistina e
49 saxitoxina foi de 0,16 e 0,12 mg L⁻¹, respectivamente. A comunidade zooplânctônica
50 esteve composta por treze táxons, com o rotífero *Brachionus rubens* e os náuplios de
51 Copepoda apresentando maiores biomassas. *P. agardhii* e *C. raciborskii* não
52 responderam significativamente aos efeitos do aumento da biomassa de zooplâncton. De
53 maneira geral, nos tratamentos +ZOOx3 e/ou +ZOOx4 foi observada redução da
54 biomassa das cianobactérias *Aphanocapsa* sp., *Chroococcus* sp., *Dolichospermum* sp.,
55 *Merismopedia tenuissima*, *Microcystis aeruginosa* e *Pseudanabaena* sp.; diatomácea
56 *Cyclotella meneghiniana*; e criptofíceia *Cryptomonas* sp. A concentração total de
57 microcistina aumentou e reduziu em tempos diferentes durante o experimento. Para as
58 concentrações de saxitoxina, não houve diferença significativa entre os tratamentos
59 testados e o controle. No presente estudo, o aumento da biomassa do zooplâncton não
60 influenciou significativamente a biomassa de cianobactérias filamentosas formadoras de
61 *blooms*, enquanto que as outras espécies de fitoplâncton, incluindo *M. aeruginosa*,
62 foram significativamente reduzidas. Isto implica que é possível controlar a proliferação
63 excessiva de cianobactérias não filamentosas formadoras de *blooms* como a *M.*
64 *aeruginosa*, através da biomaniplulação da comunidade de zooplâncton.

65

66 **Palavras-chave:** Brasil, cianobactéria, microcistina, saxitoxina, reservatório tropical,
67 zooplâncton.

1. INTRODUÇÃO

Uma das principais evidências dos efeitos negativos das atividades antropogênicas é a eutrofização dos sistemas aquáticos. Sob condições eutróficas, espécies de cianobactérias como *Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis* e *Planktothrix* tendem a dominar a comunidade fitoplanctônica e afetar negativamente os processos da teia alimentar (Ger et al., 2014; Chia e Kwaghe, 2015), além de causarem odor e sabor desagradáveis na água, intoxicação humana (Zanchett e Oliveira-Filho, 2013) e morte de animais (Hilborn e Beasley, 2015). Embora, ainda exista ceticismo sobre as mudanças nas condições globais causarem o aumento na frequência e intensidade da dominância de cianobactérias em sistemas aquáticos, alguns estudos suportam a hipótese de que as mudanças nas condições globais aliados com o aumento da eutrofização resultam em aumento na frequência dos *blooms* de cianobactérias e na produção de cianotoxinas (Paerl e Huisman, 2009).

O zooplâncton tem sido utilizado como uma importante ferramenta no controle dos *blooms* de cianobactérias em lagos temperados (Ekvall et al., 2014). No entanto, em ambientes tropicais e subtropicais, o potencial destes organismos para reduzir a biomassa das cianobactérias não é bem compreendido (Jeppesen et al., 2005; Ger et al., 2014) e o entendimento dos efeitos das cianobactérias na dinâmica do zooplâncton é contraditório (Wilson et al., 2006). Em comparação com outras espécies fitoplanctônicas, as cianobactérias são consideradas uma dieta de baixa qualidade e pouco palatável para o zooplâncton, pois produzem metabólitos tóxicos (Wilson et al., 2006), são deficientes de esteróis e ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa (Martin-Creuzburg e von Elert, 2009) e têm várias adaptações morfológicas que inibem a predação (Reynolds, 2007), características que reduzem a taxa de alimentação, crescimento e reprodução do zooplâncton (Wilson et al., 2006; Paerl e Paulo, 2012). Quando o zooplâncton é incapaz de consumir cianobactérias, a perda do *link* trófico confere a este último vantagem competitiva sobre outras espécies do fitoplâncton (Haney, 1987), apesar de estudos como o de Agrawal (1998) mostrarem que o aumento da pressão de predação por herbívoros pode não resultar no aumento da biomassa de algas pouco palatáveis, incluindo as cianobactérias.

A biomanipulação é a técnica de gestão empregada para aumentar a abundância de zooplâncton, através de mudanças na estrutura da cadeia alimentar aquática (efeito *top-down* em cascata trófica), a fim de aumentar a pressão de herbivoria sobre

102 cianobactérias e, assim, controlar os *blooms* (An et al., 2010). O sucesso da
103 biomanipulação depende da suposição de que o zooplâncton irá consumir as
104 cianobactérias e assimilar o carbono de forma eficiente para crescer e reproduzir (Ger et
105 al., 2014).

106 Em ambientes temperados, a biomanipulação é muitas vezes usada para
107 controlar *blooms* de algas tóxicas (Ekvall et al., 2014). A eficiência dessa técnica
108 baseia-se no domínio de *Daphnia* em corpos d'água temperadas, um cladóceros de
109 grande tamanho corporal que apresenta hábito alimentar generalista e consome algas
110 tóxicas e não tóxicas (Jeppesen et al., 2005; Peretyatko et al., 2012; Ekvall et al., 2014).
111 Em contrapartida, a utilização de zooplâncton para controle das cianobactérias em
112 reservatórios tropicais e subtropicais não tem sido bem sucedida (Crisman e Beaver,
113 1990; Jeppesen et al., 2005), isto porque a estrutura da comunidade zooplanctônica nos
114 trópicos difere da região temperada. O gênero *Daphnia* é escasso em ecossistemas
115 aquáticos tropicais e a comunidade de zooplâncton é, muitas vezes, caracterizada pela
116 dominância de rotíferos, copépodes e cladóceros de pequeno tamanho corporal, como
117 *Diaphanosoma*, *Ceriodaphnia* e *Bosmina* (Sarma et al., 2005). A maioria destes
118 organismos são mais seletivos que *Daphnia* e preferem alimentos mais nutritivos (Ger
119 et al., 2014).

120 Apesar dessas observações, poucos estudos avaliaram a interação cianobactérias-
121 zooplâncton *in situ* nos trópicos, especialmente na América do Sul (Bouvy et al., 2001).
122 Nessa parte do mundo, rotíferos e copépodes são dominantes em corpos d'água com
123 *blooms* de cianobactérias perenes e estudos sugerem que isso é um indicativo de que
124 houve o desenvolvimento de estratégias no zooplâncton dessa região que os permitiram
125 co-existir com as cianobactérias (Bouvy et al., 2001; Ger et al., 2014). Além disso,
126 estudos laboratoriais recentes têm demonstrado que o zooplâncton tropical pode tolerar
127 a ingestão de cianobactérias (Panosso et al., 2003; Kâ et al., 2012).

128 O objetivo do presente estudo foi avaliar a influência do aumento da biomassa
129 de zooplâncton sobre o fitoplâncton e as cianotoxinas de um reservatório tropical, com
130 ocorrência frequente de *blooms* de cianobactérias. A hipótese testada é que o aumento
131 da biomassa de zooplâncton não afeta negativamente as cianobactérias formadoras de
132 *bloom*, mas altera a estrutura da comunidade fitoplanctônica através da redução da
133 biomassa de espécies susceptíveis à herbivoria. Além disso, o aumento da pressão de
134 herbivoria aumenta a produção de cianotoxinas, como um mecanismo de resposta de
135 defesa contra o zooplâncton.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

O experimento foi realizado no reservatório de Ipojuca (8°20'43,7"S e 36°22'31,5"W), localizado no município de Belo Jardim em Pernambuco, Nordeste do Brasil. Esse reservatório é eutrófico, com capacidade máxima de 30 x10⁶ m³ e profundidade máxima de 14 m (SHR, 2000). É utilizado para abastecimento público, pesca artesanal e recreação (Bittencourt-Oliveira et al., 2014).

A região é caracterizada por apresentar clima tropical úmido, com temperaturas médias em torno de 30°C e duas estações sazonais bem definidas: estação seca, entre setembro e fevereiro, correspondendo ao período de mais altas temperaturas (>30°C); e estação chuvosa, entre abril e julho, com precipitação média em torno de 1.000 mm e temperaturas menores que 20°C (INMET, 2005).

Esse reservatório foi selecionado para o presente estudo por existirem trabalhos que relatam a ocorrência de *blooms* de cianobactérias potencialmente tóxicas, com dominância das espécies filamentosas *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek e *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Bittencourt-Oliveira et al. 2014).

2.2. Mesocosmos e Desenho experimental

O experimento foi realizado entre 28 de julho e 8 de agosto de 2014. Doze mesocosmos de sacos transparentes de polietileno de 50 L, fechado na parte inferior e abertos na superior, foram mantidos em suspensão na água por unidades flutuadoras (garrafas de polietileno), de acordo com a descrição de Arcifa e Guagnoni (2003).

As espécies fitoplanctônicas do reservatório foram expostas a diferentes tratamentos com variações na biomassa zooplânctônica. Os tratamentos consistiram de biomassas do zooplâncton de 2, 3 e 4 vezes a registrada no momento do experimento (n=3), que foram abreviados como tratamentos +ZOOx2, +ZOOx3 e + ZOOx4, respectivamente. Para obter a biomassa necessária, a água do reservatório foi filtrada através de rede de plâncton (68µm) e o zooplâncton retido no copo coletor foi transferido para os mesocosmos. O controle foi composto da biomassa de zooplâncton presente no reservatório durante o experimento, sem manipulação. A periodicidade das

170 coletas para a análise dos nutrientes, fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas durante o
 171 experimento é mostrada na Tabela 1.

172

173 Tabela 1. Periodicidade das coletas das amostras para análise dos nutrientes,
 174 fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas durante o experimento. x= amostras coletas; -
 175 = amostras não coletadas.

	Dias						
	0	1	3	5	7	9	11
Comunidade fitoplanctônica	x	x	x	x	x	x	x
Comunidade zooplanctônica	x	x	-	x	-	-	x
Microcistina	x	x	-	x	x	x	x
Saxitoxina	x	x	-	x	x	x	x
Nutrientes	x	x	-	x	-	-	x

176

177 2.3. Coleta de dados

178

179 A fim de caracterizar o reservatório quanto às condições abióticas e bióticas no
 180 início do experimento, amostras para análise das variáveis abióticas, nutrientes,
 181 fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas foram coletadas a partir da camada sub-
 182 superficial da coluna de água (n=3). A temperatura da água (°C) e oxigênio dissolvido
 183 (mg L⁻¹) foram mensurados *in situ* com um oxímetro de Schott OX1 Handylab e a
 184 transparência da água (m) foi determinada utilizando um disco de Secchi. Turbidez e pH
 185 foram medidos usando Hanna HI 93703 turbidímetro e medidor Digimed DMPH-2pH,
 186 respectivamente.

187 Amostras de fitoplâncton foram armazenadas em frascos de vidro âmbar,
 188 preservadas com solução de Lugol e os táxons foram identificados com chaves
 189 taxonômicas padrão. O método de Utermöhl (Utermöhl, 1958) foi utilizado para a
 190 quantificação da biomassa (mg L⁻¹), enquanto o biovolume médio dos táxons foi
 191 mensurado de acordo com Hillebrand et al. (1999). Os táxons dominantes no
 192 reservatório foram determinados seguindo os procedimentos descritos por Lobo e
 193 Leighton (1986).

194 Para a análise do zooplâncton, foram filtrados 100 litros da água do reservatório
 195 utilizando rede de plâncton (68 µm), anestesiados com água gaseificada (Pinto-Coelho,
 196 2004) e preservados com formol a 4%. A identificação e quantificação do zooplâncton
 197 foram realizadas em microscópio com câmara de contagem Sedgwick-Rafter. A

198 biomassa (mg L^{-1}) foi estimada a partir do biovolume dos táxons, de acordo com
199 Ruttner-Kolisko (1977) para rotíferos e Pinto-Coelho (2004) para microcrustáceos.

200 As amostras destinadas a avaliar a concentração dos nutrientes foram coletadas
201 diretamente da água, transportadas ao laboratório sob refrigeração e congeladas até o
202 momento da análise. Foram analisadas as concentrações de nitrito ($\mu\text{g N-NO}_2 \text{ L}^{-1}$;
203 Mackereth et al., 1978), nitrato ($\mu\text{g N-NO}_3 \text{ L}^{-1}$; Golterman et al., 1971), amônia (N-NH_3
204 + N-NH_4^+ ; Koroleff, 1976), fósforo total dissolvido (PT; Strickland e Parsons, 1965) e
205 nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN; considerado como a soma das concentrações de
206 nitrato, nitrito e amônia).

207 As concentrações totais de microcistina e saxitoxina foram determinadas pelo
208 método *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) utilizando kits em placa
209 Beacon (Beacon ® - DF Techno Científica) específicos para cada toxina, seguindo as
210 instruções do fabricante. As análises foram realizadas em duplicata com o auxílio de um
211 leitor de microplacas ASYS A-5301 (ASYS Hitech GmbH, Eugendorf, Áustria).

212

213 **2.4. Análise estatística**

214

215 ANOVA fatorial AxB foi realizada para avaliar os efeitos dos tratamentos (fator
216 1), do tempo de experimentação (factor 2) e da interação entre esses fatores sobre a
217 biomassa dos táxons fitoplanctônicos e as concentrações dos nutrientes e das
218 cianotoxinas. Quando efeitos significativos foram verificados, foi realizado o teste *a*
219 *posteriori* de Tukey para indentificar os tratamentos que diferiram entre si e em relação
220 ao controle ao longo do tempo de experimentação. A normalidade e homocedasticidade
221 necessárias para a análise foram previamente avaliadas utilizando os testes de
222 Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente.

223 Análise de variância multivariada (PERMANOVA) foi realizada para verificar
224 as diferenças significativas na estrutura da comunidade fitoplanctônica, mensurada
225 através da biomassa dos táxons, entre o início (dia 0) e o fim (dia 11) do experimento e
226 entre os tratamentos no fim do experimento.

227 Teste de correlação de Pearson (*r*) foi realizado entre as cianotoxinas analisadas
228 e as potenciais cianobactérias produtoras dessas toxinas durante o experimento. Os
229 táxons potencialmente produtores de microcistina e saxitoxina foram determinados de
230 acordo com Pearson et al. (2010).

231 Análise de Correspondência Canônica (ACC) foi realizada para identificar a
232 influência dos principais grupos zooplancônicos (apresentados na Tabela 1 dos
233 Resultados) e nutrientes sobre os táxons fitoplanctônicos e as cianotoxinas no
234 experimento. Para testar se o modelo ACC foi significativo, foi realizado a Anova
235 fatorial. Análise de Componentes Principais (ACP) foi realizada para verificar a relação
236 entre os principais grupos do zooplâncton, os táxons fitoplanctônicos e as cianotoxinas
237 no experimento. O critério para seleção da ACC e APC foi baseado no comprimento
238 dos eixos da Análise de Correspondência Destendenciada (ACD) que ratifica a
239 realização dessas análises quando o comprimento do eixo 1 for menor que 3 (Ter Braak
240 e Prentice, 1998). Os dados da biomassa do fitoplâncton e zooplâncton e das
241 concentrações de nutrientes e cianotoxinas foram padronizados através da
242 transformação logarítmica. Para ACC e APC, foram utilizados os dados obtidos nos
243 dias 0, 1, 5 e 11 do experimento. Todas as análises estatísticas foram realizadas no nível
244 de 5%, utilizando o programa de análise estatística R para Windows.

245

246 3. RESULTADOS

247

248 3.1. Variáveis abióticas, fitoplâncton, zooplâncton e cianotoxinas no 249 reservatório Ipojuca no início do experimento

250

251 No reservatório Ipojuca, a temperatura esteve em torno de 24 °C, o pH foi
252 alcalino e a concentração dos nutrientes foi alta, com razão DIN:PT de 1,06:1 (razão por
253 massa) (Tabela 2). Vinte táxons fitoplanctônicos foram identificados, pertencentes aos
254 grupos das Cyanobacteria (10), Bacillariophyceae (2), Chlorophyceae (4),
255 Cryptophyceae (2) e Chrysophyceae (1). Um táxon não foi possível identificar em nível
256 de espécie ou gênero, sendo classificado como “fitoflagelado não identificado”.

257

258 As cianobactérias foram dominantes em termos de biomassa, com destaque para
259 *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek e *Cylindrospermopsis*
260 *raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Tabela 2). As concentrações de
261 microcistina totais e saxitoxina foram 0,16 e 0,12 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente (Tabela 2). A
262 comunidade zooplancônica esteve composta por treze táxons, dos quais nove
263 pertencem ao grupo dos Rotifera. *Brachionus rubens* Ehrenberg, 1838 foi o táxon com
264 maior biomassa. Os náuplios também registraram alta biomassa (Tabela 2).

265 Tabela 2. Variáveis abióticas, biomassa das comunidades fitoplanctônica e
 266 zooplanctônica e concentração de microcistina totais e saxitoxina no reservatório
 267 Ipojuca, Pernambuco, Brasil, no dia 28 de julho de 2014.

Variáveis abióticas e táxons	Média ± Erro padrão
Variáveis abióticas	
Temperatura da água (°C)	24,81
Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	6,04±0,8
pH	8,53±2
Transparência (cm)	40
Turbidez (NTU)	84±4
Nitrogênio Amôniacal (µg L ⁻¹)	90,58±14,30
Nitrato (µg L ⁻¹)	10,97±0,27
Nitrito (µg L ⁻¹)	1,17±0,03
Nitrogênio inorgânico dissolvido (µg L ⁻¹)	102,72±14,60
Fósforo total (µg L ⁻¹)	96,71±1,14
Razão DIN:PT	1,06:1
Fitoplâncton (mg L⁻¹)	
<i>Planktothrix agardhii</i> (Gomont) Anagnostidis & Komárek	13,58±3,01
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju	10,09±0,67
Outras Cyanobacteria	12,05±1,01
Bacillariophyceae	0,31±0,02
Chlorophyceae	0,35±0,06
Cryptophyceae	0,31±0,18
Chrysophyceae	0,01±0,01
Fitoflagelado não identificado	0,05±0,03
Cianotoxinas (µg L⁻¹)	
Microcistina total	0,16±0,01
Saxitoxina	0,12±0,0
Zooplâncton (mg L⁻¹)	
<i>Brachionus rubens</i> Ehrenberg, 1838	596±11
Outros Rotifera	200±5
Náuplio de Crustacea	1.056±7
Copepoda Calanoida	289±2
Copepoda Cyclopoida	444±5
Cladocera	191±6

268

269 3.2. Experimento

270

271 A resposta do fitoplâncton aos efeitos dos tratamentos, do tempo de
 272 experimentação e da interação entre esses fatores é mostrada na Tabela 3 e Figuras 1-4.
 273 Dos vinte táxons identificados no reservatório Ipojuca, doze responderam de forma
 274 significativa aos tratamentos. As cianobactérias *P. agardhii* e *C. raciborskii*,
 275 dominantes em termos de biomassa no reservatório estudado, estão entre os táxons que
 276 não responderam aos tratamentos; porém, efeito significativo do tempo de
 277 experimentação e da interação tratamentos x tempo foi constatado para *C. raciborskii*.
 278 Foi observada redução da biomassa dessa cianobactéria entre os dias 3 e 5 do
 279 experimento seguido de aumento a partir do dia 9 nos tratamentos testados em relação
 280 ao controle (Tabela 3; Figura 1).

281 Efeitos negativos sobre a biomassa fitoplanctônica foram observados nos
282 tratamentos com as maiores biomassas do zooplâncton, +ZOOx3 e/ou +ZOOx4, como
283 constatado para as cianobactérias *Aphanocapsa* sp., a diatomácea *Cyclotella*
284 *meneghiniana* Kützing e a criptofíceia *Cryptomonas* sp., no dia 3; e para as
285 cianobactérias *Chroococcus* sp., *Dolichospermum* sp. e *Microcystis aeruginosa*
286 (Kützing) Kützing, no dia 5 (Tabela 3; Figura 1, 2, e 4). A cianobactéria
287 *Pseudanabaena* sp. reduziu a biomassa significativamente nos tratamentos +ZOOx2,
288 +ZOOx3 e +ZOOx4, no dia 5 (Tabela 3; Figura 1), enquanto *Merismopedia tenuissima*
289 Lemmermann reduziu a biomassa tanto nos tratamentos com adição do zooplâncton
290 quanto no controle, após 24 horas do início do experimento, e se manteve ausente até o
291 final do período de experimentação (Tabela 3; Figura 1).

292 Nos tratamentos +ZOOx3 e/ou +ZOOx4 foi constatado aumento significativo da
293 biomassa das cianobactérias *Geitlerinema amphibium* (C. Agardh ex Gomont)
294 *Anagnostidis* e *Sphaerospermopsis aphanizomenoides* (Lemmermann) Zapomelová,
295 Jezberová, Hrouzek, Hisem, Reháková & Komárková; da diatomácea *Ulnaria ulna*
296 (Nitzsch) P. Compère; da clorofíceia *Lagerheimia genevensis* (Chodat) Chodat; e da
297 criptofíceia *Rhodomonas* sp., no último dia do experimento (dia 11) (Tabela 3; Figura 1,
298 2, 3 e 4).

299 A estrutura da comunidade fitoplanctônica, mensurada através biomassa dos
300 táxons, diferiu significativamente entre o início (dia 0) e o fim (dia 11) do experimento
301 ($F=4,31$; $p=0,008$), bem como entre os tratamentos ao término do experimento ($F=4,31$;
302 $p=0,014$).

303 Foram observados efeitos dos tratamentos, do tempo de experimentação e da
304 interação entre esses fatores sobre a concentração de microcistina total (Tabela 3; Figura
305 5A). A concentração dessa cianotoxina aumentou nos tratamentos +ZOOx2 e +ZOOx3
306 no dia 1 e reduziu em +ZOOx4 nos dias 7 e 11 (Tabela 3; Figura 5A). Para a
307 concentração de saxitoxina, não foram observados efeitos significativos dos
308 tratamentos, porém efeito do tempo foi constatado, sendo registrado aumento na
309 concentração ao longo do tempo de experimentação no controle e tratamentos testados
310 (Tabela 3; Figura 5B).

311 A concentração dos nutrientes variou significativamente ao longo do tempo de
312 experimentação, com exceção do nitrito (Tabelas 3 e 4). As concentrações de amônia e
313 DIN reduziram significativamente 24 após o início do experimento (dia 1) (Tabela 4).

314 A participação relativa dos principais grupos zooplanctônicos no experimento é
315 mostrada na Figura 6. O Rotífero *B. rubens* permaneceu como o táxon mais abundante.
316 A variação mais marcante na estrutura do zooplâncton foi o aumento na biomassa do
317 rotífero *Lecane (Monostyla) bulla* no último dia do experimento (dia 11).

318 A microcistina mostrou correlação positiva com *M. aeruginosa* ($r=0.30$;
319 $p=0.04$) e negativa com *Dolichospermum* sp. ($r=-0.32$; $p=0.03$). A saxitoxina mostrou
320 correlação positiva com *C. raciborskii* ($r=0.38$; $p=0.0008$).

321 A ACC foi significativa ($F=15.749$; $p=0.001$) e explicou 80,98% da
322 variabilidade da biomassa fitoplanctônica e da concentração das cianotoxinas
323 microcistina totais e saxitoxina. Os eixos 1 e 2 explicaram juntos 96,81% dessa
324 variabilidade. O diagrama de ordenação mostrou a formação de quatro grupos distintos
325 em função da concentração dos nutrientes e da biomassa dos principais grupos
326 zooplanctônicos (Figura 7A). O grupo 1 é formado pelo controle e tratamentos
327 (+ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4) do dia 0 do experimento e esteve correlacionado
328 positivamente com o fósforo total, os copépodos e cladóceros; o grupo 2 é formado pelo
329 controle e tratamentos do dia 1 e esteve correlacionado positivamente com o nitrato,
330 nitrito, nitrogênio inorgânico dissolvido e náuplios; o grupo 3 é formado pelo controle e
331 tratamentos no dia 5 e esteve relacionado de forma positiva com o nitrito, *B. rubens* e os
332 demais Rotifera; o grupo 4 é formado pelo controle e tratamentos no dia 11 e esteve
333 relacionado com o rotífero *L. bulla*. Os táxons fitoplanctônicos e as cianotoxinas
334 permaneceram próximos à origem da ordenação, com exceção de *L. genevensis* que
335 esteve correlacionada positivamente com *L. bulla*.

336 Na APC, os eixos 1 e 2 explicaram 56,33% da variação total (Figura 7B). A
337 ordenação mostrou a formação de diferentes grupos incluindo o controle e tratamentos
338 dos dias 0, 1 (grupo 1), 5 (grupo 2) e 11 (grupo 3). Os táxons *M. tenuissima*, *C.*
339 *meneghiniana*, *U. ulna*, *Closterium* sp., *Dictyosphaerium pulchellum*, *Mallomonas* sp. e
340 o “fitoflagelado não identificado” mostraram correlação negativa com *B. rubens* e
341 outros rotíferos. *Actinastrum hantzschii* e *Cryptomonas* sp. estiveram correlacionados
342 negativamente com *L. bulla*. Além disso, *Dolychospermum* sp., *S. aphanizomenoides* e
343 *C. raciborskii* mostraram correlação negativa com Copepoda e Cladocera. Microcistina
344 esteve correlacionado positivamente com *Dolichospermum* sp.; e saxitoxina mostrou
345 relação positiva com *C. raciborskii*, *G. amphibium* e *S. aphanizomenoides* (Figura 7B).

346

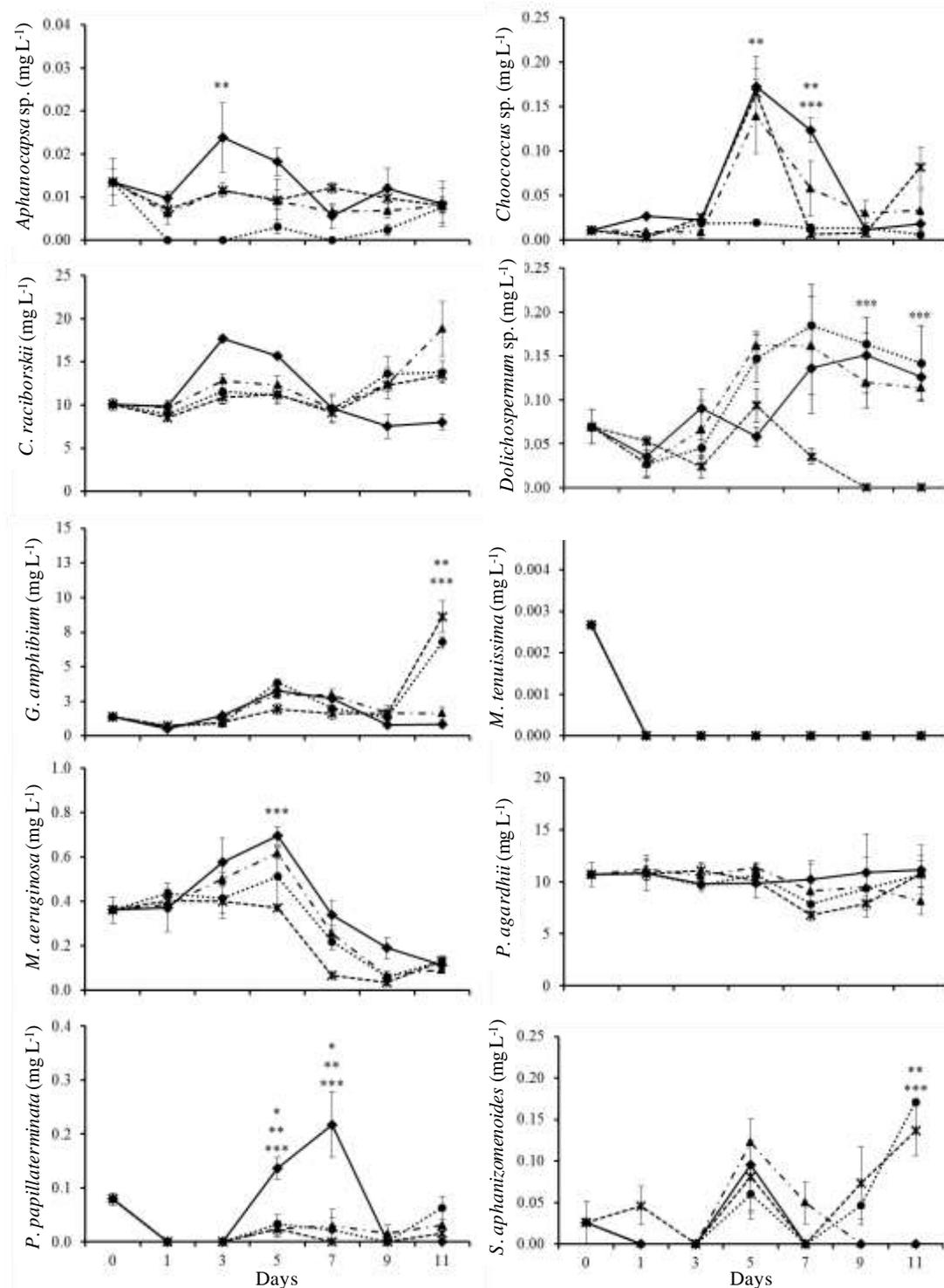
347 Tabela 3. Resultados da Anova fatorial AxB para os táxons fitoplanctônicos,
 348 cianotoxinas e nutrientes. Apenas os resultados significativos ($p < 0.05$) são mostrados.
 349 d.f. = graus de liberdade; F= fator; p = nível de significância; - = $p > 0,05$.

	Tratamento			Tempo			Tratamentos x Tempo		
	d.f	F	p	d.f	F	p	d.f	F	p
Fitoplâncton									
Cyanobacteria									
<i>Aphanocapsa</i> sp.	3	8,45	<0,001	-	-	-	-	-	-
<i>Choococcus</i> sp.	3	10,05	<0,001	-	-	-	-	-	-
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	-	-	-	6	7,68	<0,001	18	3,20	<0,001
<i>Dolichospermum</i> sp.	3	10,32	<0,001	6	6,65	<0,001	18	2,71	0,0023
<i>Geitlerinema amphibium</i>	3	11,03	<0,001	6	58,40	<0,001	18	20,30	<0,001
<i>Merismopedia tenuissima</i>	-	-	-	6	4,46	<0,001	-	-	-
<i>Microcystis aeruginosa</i>	3	6,44	<0,001	6	42,70	<0,001	-	-	-
<i>Planktothrix agardhii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudanabaena</i> sp.	3	9,04	<0,001	6	15,08	<0,001	18	6,21	<0,001
<i>Sphaerospermopsis aphanizomenoides</i>	3	3,49	0,021	6	9,94	<0,001	18	3,32	<0,001
Bacillariophyceae									
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	3	4,35	0,008	6	82,79	<0,001	18	2,13	0,016
<i>Ulnaria ulna</i>	3	2,79	0,049	6	13,50	<0,001	18	3,29	<0,001
Chlorophyceae									
<i>Actinastrum hantzschii</i>	-	-	-	6	45,51	<0,001	18	2,86	0,0014
<i>Closterium</i> sp.	-	-	-	6	7,65	<0,001	18	0,38	0,988
<i>Dictyosphaerium pulchellum</i>	-	-	-	6	18,15	<0,001	18	3,64	<0,001
<i>Lagerheimia genevensis</i>	3	13,20	<0,001	6	84,38	<0,001	18	8,40	<0,001
Dinophyceae									
<i>Peridinium</i> sp.	-	-	-	6	4,00	0,002	18	4,00	<0,001
Cryptophyceae									
<i>Cryptomonas</i> sp.	3	9,24	<0,001	6	16,79	<0,001	-	-	-
<i>Rhodomonas</i> sp.	3	3,52	0,021	6	11,43	<0,001	18	3,64	<0,001
Crysophyceae									
<i>Mallomonas</i> sp.	-	-	-	6	13,48	<0,001	-	-	-
Fitoflagelado não identificado	não	-	-	6	14,15	<0,001	-	-	-
Cianotoxinas									
Microcistina	3	6,857	<0,001	5	42,13	<0,001	15	3,66	<0,001
Saxitoxina	-	-	-	5	35,09	<0,001	-	-	-
Nutrientes									
Amônia	3	3,81	0,019	3	52,13	<0,001	9	2,47	0,029
Nitrato	-	-	-	3	42,55	<0,001	9	5,54	<0,001
Nitrito	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nitrogênio inorgânico dissolvido	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fósforo total	-	-	-	3	39,44	<0,001	9	5,57	<0,001

350

351

352



353

354 Figura 1. Biomassa dos táxons de Cyanobacteria no experimento. (—◆—) Controle; (

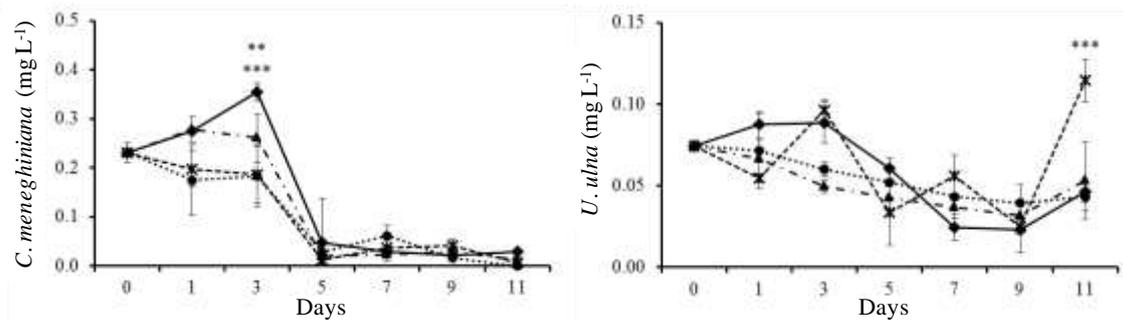
355 -▲-) +ZOOx2; (●●●) +ZOOx3; (-*-*) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão;

356 *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre

357 +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle;

358 +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton

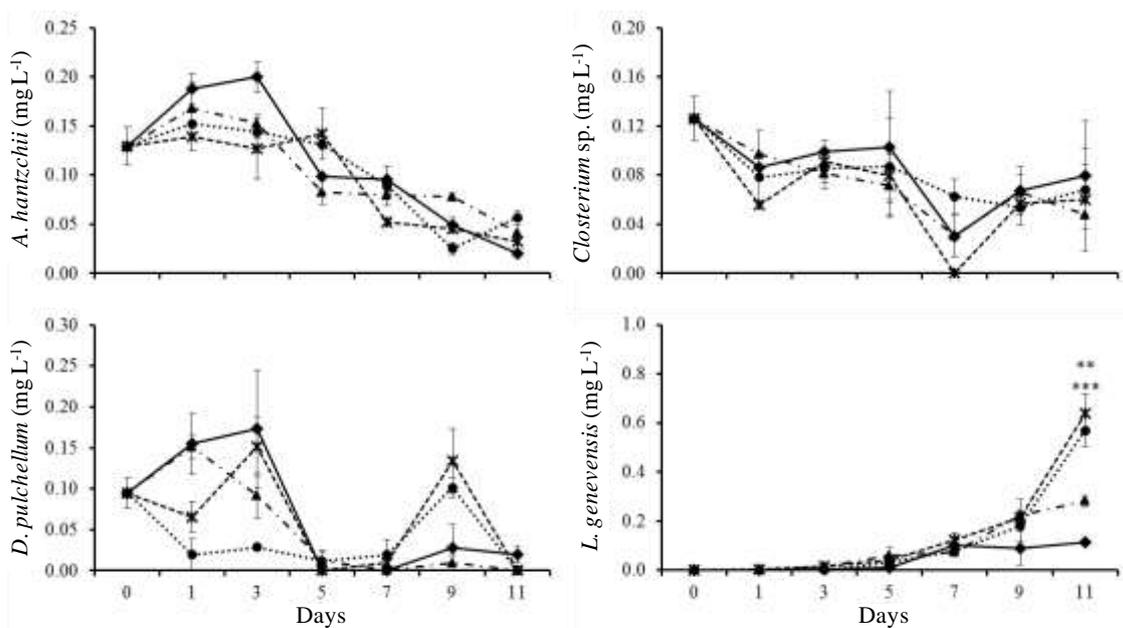
359 do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.



360

361 Figura 2. Biomassa dos táxons de Bacillariophyceae no experimento. (—◆—) Controle; (
 362 -▲-) +ZOOx2; (··●··) +ZOOx3; (-·-·-) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão;
 363 *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre
 364 +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; ;
 365 +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton
 366 do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.

367

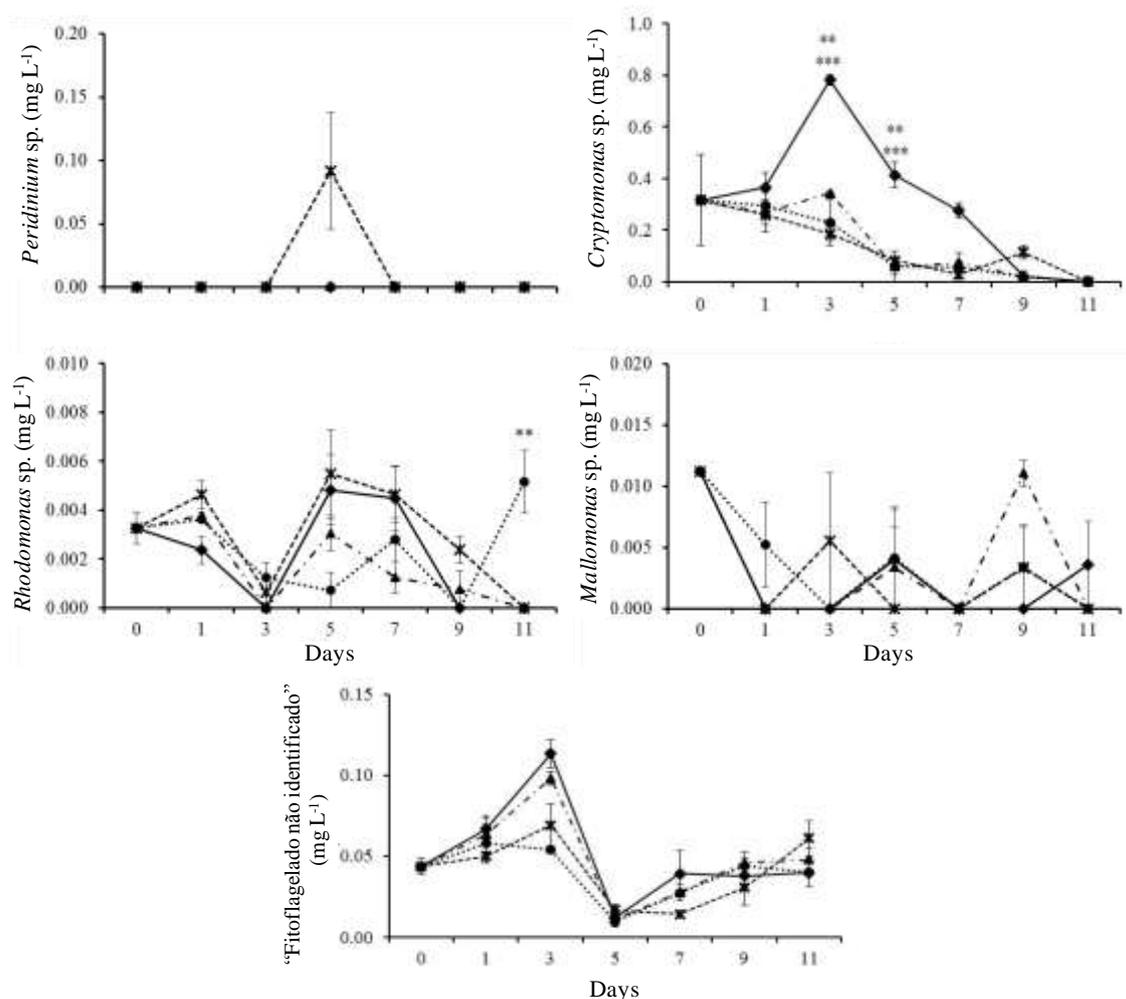


368

369 Figura 3. Biomassa dos táxons de Chlorophyceae no experimento. (—◆—) Controle; (
 370 -▲-) +ZOOx2; (··●··) +ZOOx3; (-·-·-) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão;
 371 *=Diferença significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre
 372 +ZOOx3 e o controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle;
 373 +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton
 374 do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.

375

376



377

378 Figura 4. Biomassa dos táxons de Dinophyceae, Chryptophyceae, Crysophyceae e do
 379 "Fitoflagelado não identificado" no experimento. (—◆—) Controle; (-▲-) +ZOOx2; (
 380 ●●●) +ZOOx3; (-●-●-) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão; *=Diferença
 381 significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o
 382 controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle; +ZOOx2, +ZOOx3 e
 383 +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca
 384 (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.

385

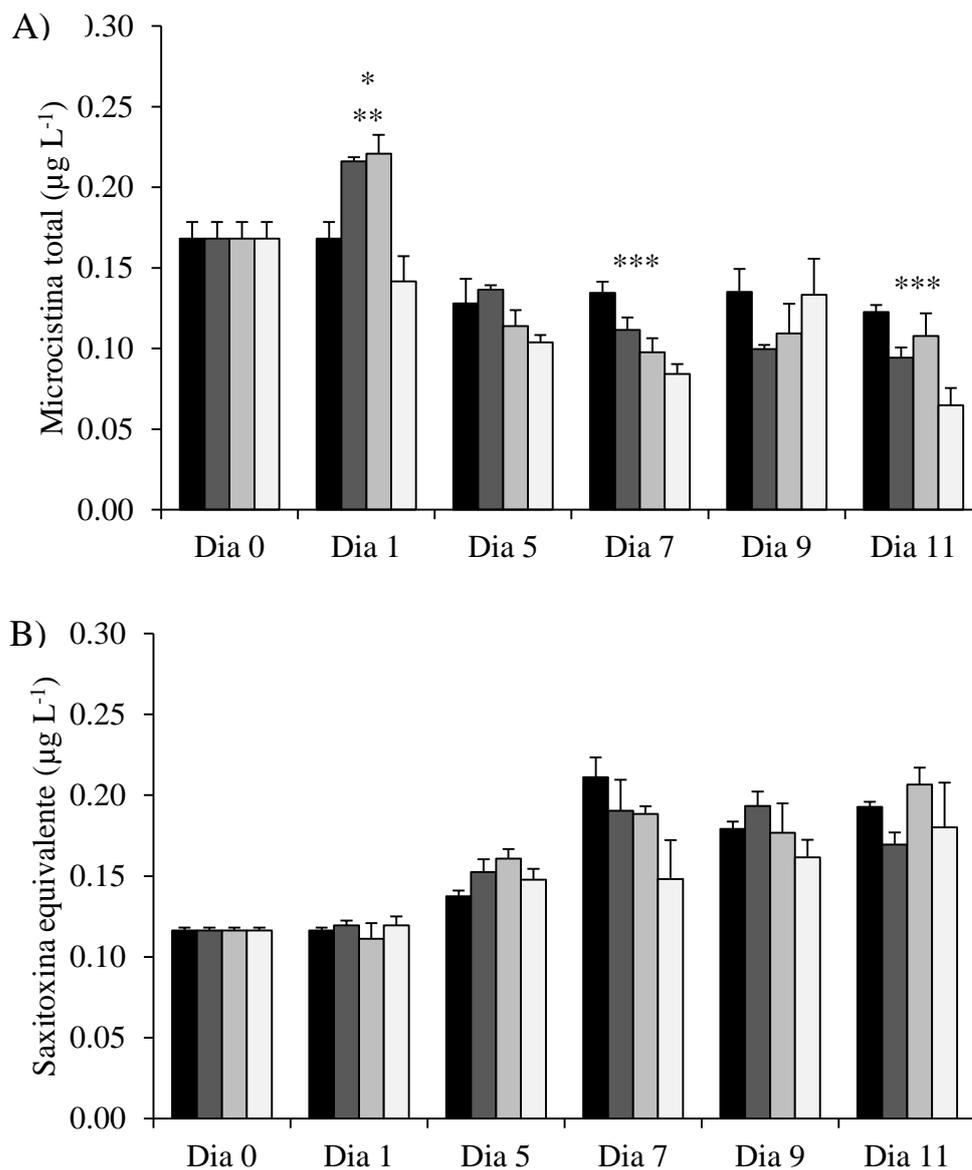
386

387

388

389

390



391

392

393 Figura 5, Concentrações de microcistina total (A) e saxitoxina (B) no experimento, (■)
 394 Controle; (■) +ZOOx2; (□) +ZOOx3; (□) +ZOOx4; Barras verticais são o erro padrão;
 395 +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton
 396 do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento; *=Diferença
 397 significativa entre +ZOOx2 e o controle; **=Diferença significativa entre +ZOOx3 e o
 398 controle; ***=Diferença significativa entre +ZOOx4 e o controle.

399

400

401

402

403

404

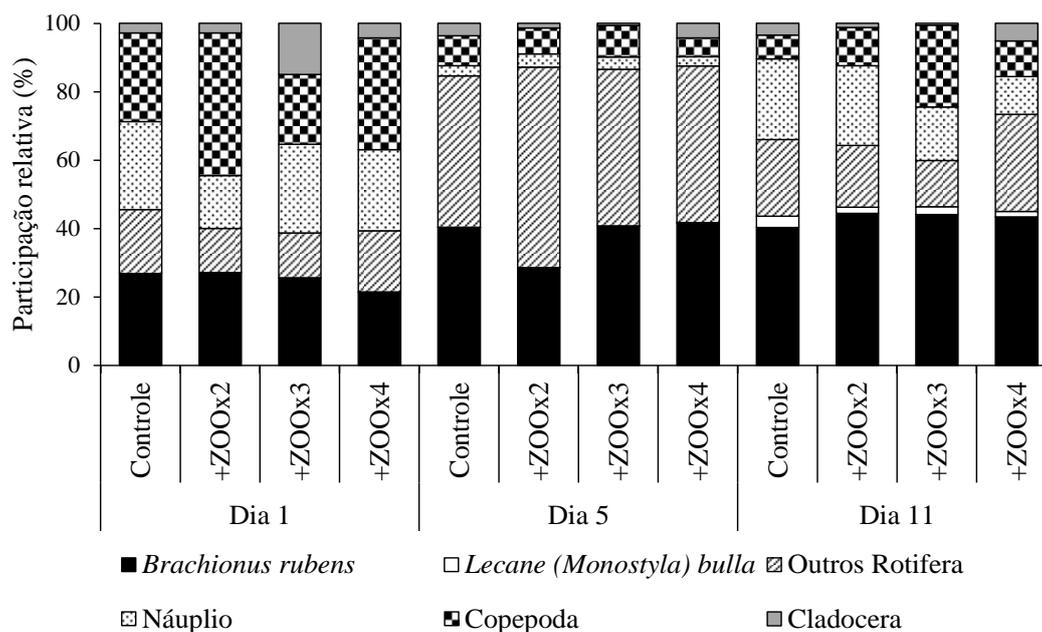
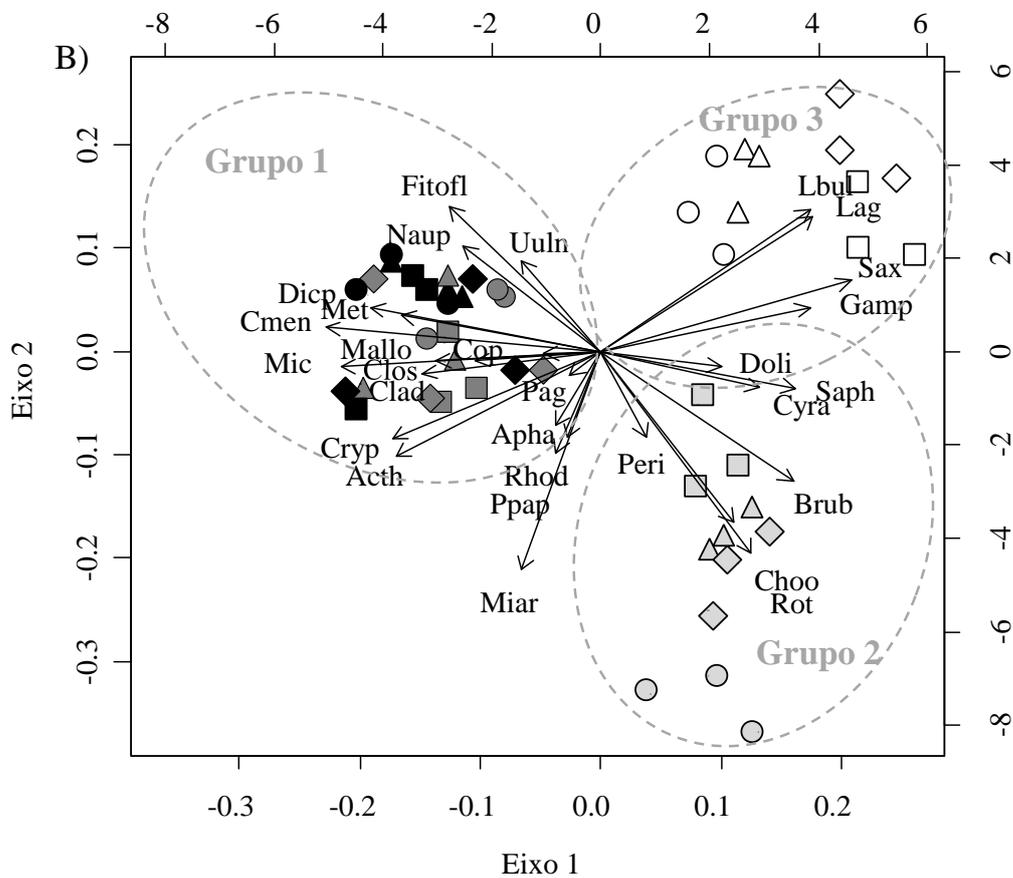
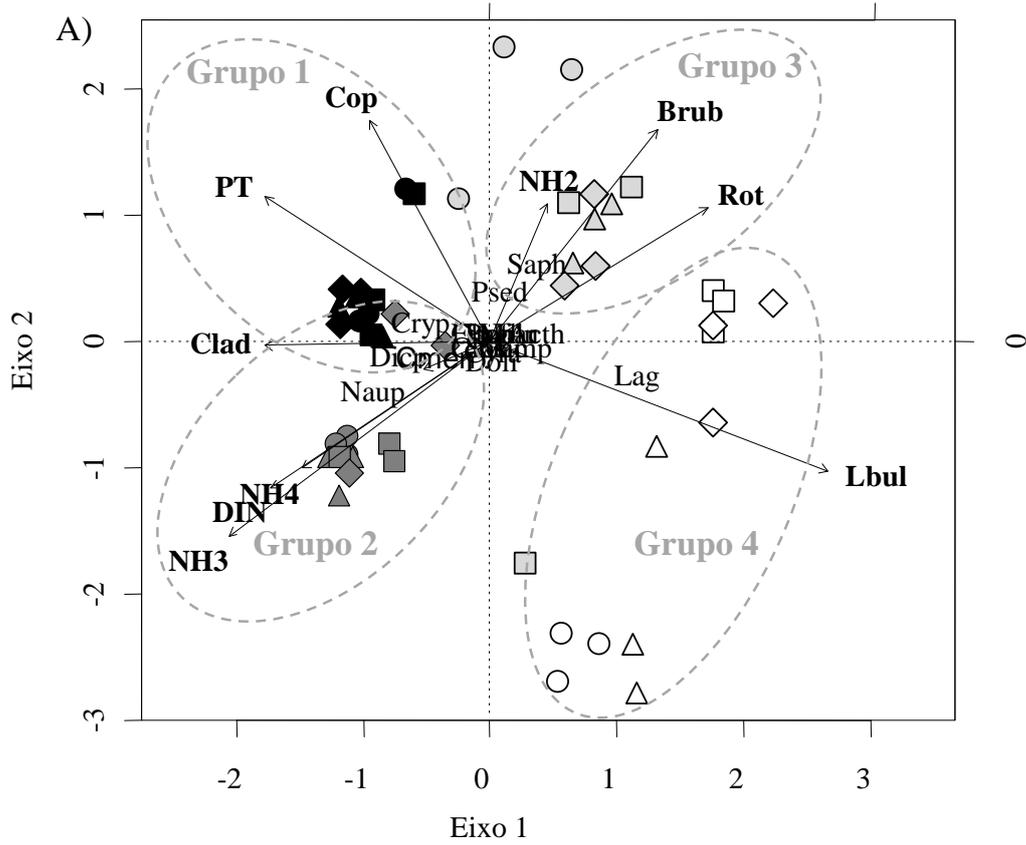


Figura 6. Participação relativa (%) dos principais grupos zooplanctônicos no experimento, (■) *Brachionus rubens*; (□) *Lecane (Monostyla) bulla*; (▨) Outros Rotifera; (▤) Náuplio; (▩) Copepoda; (▧) Cladocera, +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.

Tabela 4. Concentração dos nutrientes no experimento. *= difere significativamente do Controle, +ZOOx2, +ZOOx3 e +ZOOx4 = duas, três e quatro vezes a biomassa do zooplâncton do reservatório Ipojuca (Pernambuco, Brasil) no início do experimento.

	Amônia	Nitrito	Nitrato	Nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN)	Fósforo total
Control					
Dia 0	90,58±14,30	1,17±0,03	10,97±0,27	102,72±14,04	96,71±1,14
Dia 1	72,35±19,44	1,10±0,10	10,00±1,01	83,45±19,98	94,42±3,43
Dia 5	12,58±1,03	1,40±0,10	3,11±1,07	17,10±2,12	107,29±9,67
Dia 11	57,48±1,72	1,20±0,17	8,46±1,22	65,42±3,06	78,11±0,86
+ZOOx2					
Dia 0	90,58±14,30	1,17±0,03	10,97±0,27	102,72±14,04	96,71±1,14
Dia 1	21,02±0,35*	1,30±0,10	10,32±1,31	33,52±0,59*	89,27±0,86
Dia 5	13,73±2,57	1,20±0,17	3,62±0,72	18,55±1,90	103,86±4,54
Dia 11	52,90±4,58	1,00±0,10	11,96±1,22	65,87±5,82	82,40±1,49
+ZOOx3					
Dia 0	90,58±14,30	1,17±0,03	10,97±0,27	102,72±14,04	96,71±1,14
Dia 1	28,31±2,27*	1,30±0,10	16,59±3,67	46,20±5,47*	97,85±3,93
Dia 5	21,88±0,35	1,20±0,00	2,81±0,53	27,75±2,32	80,68±3,43
Dia 11	23,16±4,90	1,30±0,10	4,05±0,78	26,51±3,18	67,81±2,27
+ZOOx4					
Dia 0	90,58±14,30	1,17±0,03	10,97±0,27	102,72±14,04	96,71±1,14
Dia 1	29,74±4,55*	1,40±0,20	7,44±0,17	34,57±3,77*	110,73±0,86
Dia 5	10,29±0,99	1,20±0,00	1,98±0,10	30,80±1,00	115,02±9,44
Dia 11	27,45±2,80	1,30±0,10	3,22±0,91	22,31±3,13	65,23±3,74



416 Figura 7. Análise de Correspondência Canônica (A) e Análise de Componentes
 417 Principais (B) no experimento. Apha= *Aphanocapsa* sp.; Choo= *Choococcus* sp.; Cyra=
 418 *C. raciborskii*; Doli= *Dolichospermum* sp.; Gamp= *G. amphibium*; Met= *M. tenuissima*;
 419 Miar= *M. aeruginosa*; Pag= *P. agardhii*; Ppal= *P. papillaterminata*; Saph= *S.*
 420 *aphanizomenoides*; Cmen= *C. meneghiniana*; Uuln= *U. ulna*; Acth= *A. hantzschii*;
 421 Clos= *Closterium* sp.; Dicip= *D. pulchellum*; Lag= *L. genevensis*; Peri= *Peridinium* sp.;
 422 Cryp= *Cryptomonas* sp.; Rhod= *Rhodomonas* sp.; Mallo= *Mallomonas* sp.; Fitofl=
 423 “Fitoflagelado não identificado”; Mic= Microcistina; Sax= Saxitoxina; Brub= *B.*
 424 *rubens*; Lbul= *Lecane (M.) bulla*; Rot= Outros Rotifera; Naup= Náuplio; Cop=
 425 Copepoda; Clad= Cladocera; NH4= Amônia; NO2= Nitrito; NO3= Nitrato; DIN=
 426 nitrogênio total dissolvido; PT= Fósforo total; (●) Controle Dia 0; (◐) Controle Dia 1;
 427 (◑) Controle Dia 5; (○) Controle Dia 11; (▲) +ZOOx2 Dia 0; (▴) +ZOOx2 Dia 1; (△)
 428 +ZOOx2 Dia 5; (▽) +ZOOx2 Dia 11; (■) ZOOx3 Dia 0; (▣) ZOOx3 Dia 1; (□) ZOOx3
 429 Dia 5; (◻) ZOOx3 Dia 11; (◆) ZOOx3 Dia 0; (◈) ZOOx3 Dia 1; (◇) ZOOx3 Dia 5; (◊)
 430 ZOOx3 Dia 11.

431

432 4. DISCUSSÃO

433 Os resultados do presente estudo mostraram que o aumento da biomassa do
 434 zooplâncton tropical não tem efeito significativo sobre as cianobactérias filamentosas
 435 formadoras de *blooms*. Em contrapartida, a biomassa de outros táxons fitoplanctônicos
 436 foi significativamente reduzida, quando expostos a altas biomassas zooplanctônicas. A
 437 ausência de correlação significativa entre os nutrientes e o fitoplâncton no experimento,
 438 como demonstrado pela ACC, implica que esses fatores não foram limitantes para o
 439 fitoplâncton. Contudo, a correlação entre a biomassa dos táxons do zooplâncton e
 440 fitoplâncton mostra que há ligação entre os dois grupos. Quando a ligação ocorre, o
 441 zooplâncton é capaz de predação ativa sobre o fitoplâncton (Danielsdottir et al., 2007).

442 As principais características morfológicas que determinam a palatabilidade de
 443 uma alga para o zooplâncton são o tamanho, a forma, a presença de espinho ou placas
 444 de sílica e arranjo em colônias ou filamentos (Van Donk et al., 2011). A ausência de
 445 efeitos significativos do aumento da biomassa zooplanctônica sobre *C. raciborskii* e *P.*
 446 *agardhii* pode estar relacionada com a natureza filamento destas espécies (Gliwicz,
 447 2004). Rothhaupt (1991) relatou que a redução da taxa de ingestão de
 448 *Cylindrospemopsis* por *B. rubens* foi causada por interferência mecânica devido ao
 449 grande tamanho dos filamentos da cianobactéria. Por outro lado, Bouvy e Molica

450 (1999), Bouvy et al. (2001) e Kâ et al. (2012) mostraram que o zooplâncton tropical
451 (rotíferos e copépodos) consomem cianobactérias filamentosas, cortando os filamentos
452 em tamanhos menores. No presente estudo, não foi detectado esse tipo de interação
453 entre cianobactérias filamentosas e zooplâncton. Assim, a fraca ligação entre as
454 cianobactérias filamentosas e o zooplâncton herbívoro no reservatório Ipojuca explica
455 porque a biomanipulação da biomassa de zooplâncton, certamente, não é eficaz no
456 controle algal. Resultados semelhantes foram obtidos a partir de outros estudos que
457 investigam o efeito do aumento da pressão de herbivoria do zooplâncton via
458 biomanipulação em produtores primários (Rondel et al., 2008; Ger et al., 2014). Isto
459 pode explicar a ausência de efeitos em cascata sobre o desenvolvimento de
460 cianobactérias durante *blooms*, mesmo quando a abundância do zooplâncton não é
461 limitada pela predação por peixes (Lacerot et al., 2013; Ger et al., 2014).
462 Especificamente, os valores qualitativo, quantitativo e de palatabilidade do fitoplâncton
463 como alimento pode ser mais importante do que a predação por peixes na determinação
464 do grau de interação zooplâncton-fitoplâncton (Dickman et al., 2008).

465 Contrariamente as cianobactérias filamentosas formadoras de *blooms*, a
466 biomassa de outras espécies fitoplanctônicas foi significativamente estimulada com o
467 aumento da biomassa zooplanctônica. Assim como no caso de *Cylindrospermopsis* e
468 *Plankthothrix*, a recuperação e o subsequente aumento significante na biomassa de
469 espécies como *Geitlerinema* e *Sphaerospermopsis* durante o experimento pode estar
470 associado à natureza filamentosa dessas cianobactérias e os metabólitos secundários
471 tóxicos que produzem (Wilson et al., 2006). Além disso, *Mallomonas* pode ser
472 considerado pouco palatável por apresentar espinhos, o que explicaria o aumento da
473 biomassa durante o experimento.

474 A ACP mostrou que *Lecane (Monostyla) bulla*, o rotífero que se tornou
475 abundante no tempo final da experimentação (dia 11), esteve associada positivamente
476 com diferentes espécies fitoplanctônicas. Esse resultado pode representar um artefato
477 dos mesocosmos, uma vez que os representantes de *Lecane* ocorrem tipicamente na
478 região litorânea dos corpos d'água, especialmente, nos locais com macrófitas aquáticas,
479 e os experimentos com mesocosmos podem sofrer a influência de processos químicos e
480 biológicos que ocorrem na parede (“efeitos de parede”), como o crescimento de
481 organismos perifíticos (Petersen et al., 2009; Dzialowski et al., 2014).

482 A redução significativa na biomassa de *M. aeruginosa* com o aumento na
483 biomassa do zooplâncton se opõe aos estudos que mostram essa cianobactéria ser pouco

484 palatável para o zooplâncton por produzir toxinas e formar colônias envolvidas por
485 mucilagem (Kâ et al., 2012). No entanto, a predação de *M. aeruginosa* pode ocorrer
486 sobre as colônias de pequeno tamanho, uma vez que as espécies do zooplâncton de
487 pequeno tamanho corporal são incapazes de consumir colônias de grande tamanho
488 (Panosso et al., 2003). Outras espécies do fitoplâncton incluindo *Merismopedia*
489 *tenuissima* e *Pseudanabaena* sp., *Cyclotella meneghiniana* e *Cryptomonas* sp. estiveram
490 negativamente correlacionadas com *B. rubens* e outros rotíferos. *Brachionus* apresenta
491 um intervalo relativamente estreito de partículas alimentares que são capazes de ingerir
492 de forma eficaz (Rothhaupt, 1990 a, b; DeMott e Moxter, 1991). No caso de *B. rubens*,
493 as partículas ingeridas preferencialmente possuem aproximadamente 5µm, tamanho
494 equivalente ao diâmetro de uma alga unicelular (Rothhaupt, 1990 a, b). Essas
495 observações explicam a habilidade desse zooplâncton de consumir certos táxons
496 fitoplanctônicos.

497 A correlação entre as defesas das cianobactérias e as respostas do zooplâncton é
498 um processo importante ainda pouco compreendido que determina as interações tróficas
499 durante a ocorrência dos *blooms* (Ger et al., 2014). É sugerido que a exposição das
500 cianobactérias a pressão de predação pelo zooplâncton induz respostas adaptativas
501 incluindo a produção de toxinas. Essa característica concede vantagem competitiva às
502 cianobactérias em relação a outras espécies algais e inibe a predação (Holland e
503 Kinnear, 2013). Jang et al. (2003) observara que a presença do zooplâncton tende a
504 aumentar a produção de toxinas.

505 Microcistina e saxitoxina são cianotoxinas comuns em ecossistemas de água
506 doce (de Figueiredo et al., 2004), produzidas por alguns dos táxons fitoplanctônicos
507 registrados no presente estudo. Embora não seja possível determinar qual das
508 cianobactérias estava produzindo microcistina e saxitoxina no experimento, a análise de
509 correlação de Pearson e a ACC mostraram correlação positiva entre essas cianotoxinas e
510 *M. aeruginosa* e *C. raciborskii*, respectivamente. Além disso, o estudo de Bittencourt-
511 Oliveira et al. (2014) também mostrou que a produção de microcistina esteve associado
512 com *M. aeruginosa*, enquanto saxitoxina com *C. raciborskii* no reservatório Ipojuca. As
513 concentrações de microcistina total e saxitoxina foram influenciadas pela biomassa do
514 zooplâncton no reservatório Ipojuca, entretanto, nos diferentes intervalos de tempo do
515 experimento, aumento e redução na concentração da microcistina total com as
516 mudanças na biomassa do zooplâncton foi observado. O aumento na concentração dessa
517 cianotoxina pode ter ocorrido para evitar o predação pelo zooplâncton, conforme

518 observado por Jang et al. (2003, 2007). Jang et al. (2003) observaram concentração de
519 microcistina cinco vezes maior no tratamento com zooplâncton em relação ao controle.
520 A redução na concentração de microcistina ocorreu a partir do quinto dia de
521 experimentação, coincidindo com o período de redução da biomassa de *M. aeruginosa*.

522 A expectativa de que as cianobactérias podem reduzir o *fitness* do zooplâncton
523 não justifica a persistente coexistência de ambos os grupos na natureza (Bouvy et al.,
524 2001; Panosso et al., 2003; Sarnelle, 2007; Kâ et al., 2012), como observado no
525 reservatório Ipojuca, indicando que os efeitos nocivos das cianobactérias difere nas
526 espécies zooplanctônicas (Ger et al., 2010).

527

528 **5. CONCLUSÕES**

529 O aumento na biomassa zooplanctônica não causou efeitos significativos sobre a
530 biomassa das cianobactérias filamentosas formadoras de *blooms* no reservatório
531 Ipojuca. Isto sugere que a aplicação da biomanipulação no controle dessas espécies
532 pode não ser efetiva. Por outro lado, a redução na biomassa de *Microcystis* fornece a
533 possibilidade de controlar a proliferação excessiva dessa cianobactéria. Outras espécies
534 fitoplanctônicas também reduziram a biomassa na presença do zooplâncton, embora
535 outras foram influenciadas positivamente, aumentando a biomassa. As concentrações
536 das cianotoxinas (microcistina total) aumentaram e reduziram nos diferentes intervalos
537 de tempo avaliados no experimento e mostraram relação com o aumento da biomassa
538 zooplanctônica.

539

540 **6. AGRADECIMENTOS**

541 Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
542 Tecnológico (CNPq) - Process 471603/2012-0 e Auxílio à Mobilidade
543 Discente/Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia (AMD/FACEPE) - Process
544 0169-2,00/14 pelo financiamento do estudo,

545

546 **7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

547

548 Agrawal, A.A., 1998. Algal defense, grazers, and their interactions in aquatic trophic
549 cascades. *Acta Oecologica* 19 (4), 331-337.

- 550 An, K-G., Lee, J-Y., Kumar, H.K., Lee, S-J., Hwang, S-J., Kim, B-H., Park, Y-S., Shin,
551 K-H., Park, S., Um, H-Y., 2010. Control of algal scum using top-down biomanipulation
552 approaches and ecosystem health assessments for efficient reservoir management.
553 Water, Air, and Soil Pollution 205 (1-4), 3-24. doi.org/10.1007/s11270-009-0053-5
- 554 Aráoz, R., Molgóa, J., Marsac, N.T., 2010. Neurotoxic cyanobacterial toxins. *Toxicon*
555 56 (5), 813-828. doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.07.036
- 556 Arcifa, M.S., Guagnoni, W., 2003. A new model of enclosure for experiments in lentic
557 water. *Acta Limnologica Brasiliensia* 15 (1), 75-79.
- 558 Bittencourt-Oliveira, M.C., Piccin-Santos, V., Moura, A.N., Aragão-Tavares, N.K.C.,
559 Cordeiro-Araújo, M.K., 2014. Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in
560 public drinking supply reservoirs of Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*
561 86 (1), 297-309. doi.org/10.1590/0001-3765201302512
- 562 Bláha, L., Babica, P., Maršálek, B., 2009. Toxins produced in cyanobacterial water
563 blooms - toxicity and risks. *Interdisciplinary Toxicology* 2 (2), 36-41.
564 doi.org/10.2478/v10102-009-0006-2
- 565 Boon, P.I., Bunn, S.E., Green, J.D., Shiel, R.J., 1994. Consumption of Cyanobacteria by
566 freshwater zooplankton: Implications for the success of 'Top-down' control of
567 cyanobacterial blooms in Australia. *Australian Journal of Marine & Freshwater*
568 *Research* 45 (5), 875-87. doi.org/10.1071/MF9940875
- 569 Bouvy, M., Molica, R.J.R., 1999. Avaliação da ingestão de *Cylindrospermopsis* pelo
570 zooplâncton: testes em laboratório. *Anais do VII Congresso Brasileiro Ficologia*, Porto
571 de Galinhas, Brasil, pp. 161.
- 572 Bouvy, M., Pagano, M., Troussellier, M., 2001. Effects of a cyanobacterial bloom
573 (*Cylindrospermopsis raciborskii*) on bacteria and zooplankton communities in Ingazeira
574 reservoir (northeast Brazil). *Aquatic Microbial Ecology* 25, 215-227.
575 doi.org/10.3354/ame025215
- 576 Burns, C.W., 1968. The relationship between body size of filter-feeding Cladocera and
577 the maximum size of particles ingested. *Limnology and Oceanography* 13 (4), 675-678.
578 doi.org/10.4319/lo.1968.13.4.0675
- 579 Chia, A. M., Kwaghe, M. J., 2015. Microcystins contamination of surface water supply
580 sources in Zaria-Nigeria. *Environmental Monitoring and Assessment* 187 (10), 606.
581 10.1007/s10661-015-4829-3
- 582 Chorus, I., Bartram, J., 1999. Toxic Cyanobacteria in water. A Guide to their public
583 health consequences, monitoring and management, E & FN Spon, London, 416 pp.

- 584 Crisman, T.L., Beaver, J.R., 1990. Applicability of planktonic biomanipulation for
585 managing eutrophication in the subtropics. *Hydrobiologia* 200/201 (1), 177-185.
586 doi.org/10.1007/BF02530338
- 587 Danielsdottir, M.G., Brett, M.T., Arhonditsis, G.B. Phytoplankton food quality control
588 of planktonic food web processes. *Hydrobiologia* 589, 29-41, 2007. 10.1007/s10750-
589 007-0714-6
- 590 Dawidowicz, P., 1990. Effectiveness of phytoplankton control by large-bodied and
591 small-bodied zooplankton. *Hydrobiologia* 200-201 (1), 43-47.
592 doi.org/10.1007/BF02530327
- 593 de Bernardi, R., Giussani, G., 1990. Are blue-green algae a suitable food for
594 zooplankton? An overview. *Hydrobiologia* 200/201 (1), 29-41.
595 doi.org/10.1007/BF02530326
- 596 de Figueiredo, D.R., Azeiteiro, U.M., Esteves, S.M., Gonçalves, F.J.M., Pereira, M.J.,
597 2004. Microcystin-producing blooms - a serious global public health issue.
598 *Ecotoxicology and Environmental Safety* 59 (2), 151-163.
599 doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.04.006
- 600 DeMott, W.R., Gulati, R.D., Van Donk, E., 2001. *Daphnia* food limitation in three
601 hypereutrophic Dutch lakes: Evidence for exclusion of large-bodied species by
602 interfering filaments of cyanobacteria. *Limnology and Oceanography* 46 (8), 2054-
603 2060. doi.org/10.4319/lo.2001.46.8.2054
- 604 DeMott, W.R., Moxter, F., 1991. Foraging cyanobacteria by copepods: Responses to
605 chemical defense and resource abundance. *Ecology* 72 (5), 1820-1834.
606 http://dx.doi.org/10.2307/1940981
- 607 DeMott, W.R., Müller-Navarra, D.C., 1997. The importance of highly unsaturated fatty
608 acids in zooplankton nutrition: Evidence from experiments with *Daphnia*, a
609 cyanobacterium and lipid emulsions. *Freshwater Biology* 38 (3), 649-664.
610 doi.org/10.1046/j.1365-2427.1997.00222.x
- 611 Dzialowski, A.R., Rzepecki, M., Kostrzevska-Szlakowska, I., Kalinowska, K., Palash,
612 A., Lennon, J.T., 2014. Are the abiotic and biotic characteristics of aquatic mesocosms
613 representative of *in situ* conditions? *Journal of Limnology* 73 (3), 603-612.
614 http://dx.doi.org/10.4081/jlimnol.2014.721
- 615 Ekvall, M.K., Urrutia-Cordero, P., Hansson, L-A., 2014. Linking cascading effects of
616 fish predation and zooplankton grazing to reduced cyanobacterial biomass and toxin

- 617 levels following biomanipulation. PLoS ONE, 9 (11), e112956-112956.
618 doi.org/10.1371/journal.pone.0112956
- 619 Epp, G.T., 1996. Grazing on filamentous cyanobacteria by *Daphnia pulicaria*.
620 Limnology and Oceanography 41 (3), 560-567. doi.org/10.4319/lo.1996.41.3.0560
- 621 Falconer, I.R., 1999. An overview of problems caused by toxic blue-green algae
622 (cyanobacteria) in drinking and recreational water. Environmental Toxicology 14 (1), 5-
623 12. doi.org/10.1002/(SICI)1522-7278(199902)14:1%3C5::AID-TOX3%3E3.0.CO2-0
- 624 Fernando, C.H., 1994. Zooplankton, fish and fisheries in tropical freshwaters.
625 Hydrobiologia 272 (1-3), 105-123. doi.org/10.1007/BF00006516
- 626 Fileto, C., Arcifa, M.S., Ferrão-Filho, A.S., Silva, L.H.S., 2004. Influence of
627 phytoplankton fractions on growth and reproduction of tropical cladocerans. Aquatic
628 Ecology 38 (4), 503-514. doi.org/10.1007/s10452-004-4087-x
- 629 Ger, K.A., Hansson, L-A., Lürling, M., 2014. Understanding cyanobacteria-zooplankton
630 interactions in a more eutrophic world. Freshwater Biology 59 (9), 1783-1798.
631 doi.org/10.1111/fwb.12393
- 632 Gliwicz, Z. M., 2004. Zooplankton. In: O'Sullivan, P. E., Reynolds C. S. (Eds), The
633 Lakes Handbook. Limnology and Limnetic Ecology, Oxford, Blackwell Science, p.461-
634 516. doi.org/10.1002/9780470999271.ch14
- 635 Golterman, H., Clymo, R.S., Ohnstad, M.A.M., 1971. Methods for physical and
636 chemical analysis of freshwaters. No 8, 2nd edition. Oxford: Blackwell Scientific
637 Publications, IBP Handbook, pp. 213.
- 638 Haney, J., 1987. Field studies on zooplankton- cyanobacteria interactions. New
639 Zealand Journal of Marine and Freshwater Research 21, 467-475.
- 640 Hansson, L-A., Annadotter, H., Bergman, E., Hamrin, S.F., Jeppesen, E., Kairesalo, T.,
641 Luokkanen, E., Nilsson, P-Å., Søndergaard, M., Strand, J., 1998. Biomanipulation as an
642 application of food-chain theory: Constraints, synthesis, and recommendations for
643 temperate lakes. Ecosystems 1 (6), 558-574. doi.org/10.1007/s100219900051
- 644 Hilborn, E.D., Beasley, V.R., 2015. One health and cyanobacteria in freshwater
645 systems: animal illnesses and deaths are sentinel events for human health risks. Toxins
646 7 (4), 1374-1395. doi:10.3390/toxins7041374
- 647 Hillebrand, H., Dürselen, C., Kirschtel, D., Pollinger, U., Zohary, T., 1999. Biovolume
648 calculation for pelagic and benthic microalgae. Journal of Phycology 35 (2), 403-424.
649 doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3520403.x

- 650 Holland, A., Kinnear, S., 2013. Interpreting the possible ecological role(s) of
651 cyanotoxins: Compounds for competitive advantage and/or physiological aide? *Marine*
652 *Drugs* 11 (7), 2239-2258. doi.org/10.3390/md11072239
- 653 Infante, A., Riehl, W., 1984. The effect of Cyanophyta upon zooplankton in a eutrophic
654 tropical lake (Lake Valencia, Venezuela). *Hydrobiologia* 113 (1), 293-298.
655 doi.org/10.1007/BF00026615
- 656 Jang, M.H., Jung, J.M, Takamura, N., 2007. Changes in microcystin production in
657 cyanobacteria exposed to zooplankton at different population densities and infochemical
658 concentrations. *Limnology and Oceanography* 52 (4), 1454-1466.
659 doi.org/10.4319/lo.2007.52.4.1454
- 660 Jang, M-H., Ha, K., Joo, G-J., Takamura, N., 2003. Toxin production of cyanobacteria
661 is increased by exposure to zooplankton. *Freshwater Biology* 48 (9), 1540-1550.
662 doi.org/10.1046/j.1365-2427.2003.01107.x
- 663 Jeppesen, E., Søndergaard, M., Mazzeo, N., Meerhoff, M., Branco, C., Huszar, V.,
664 Scasso, F., 2005. Lake restoration and biomanipulation in temperate lakes: Relevance
665 for subtropical and tropical lakes. In: Reddy, M.V. (Ed.), *Restoration and Management*
666 *of Tropical Eutrophic Lakes*. Science Publishers.
- 667 Kâ, S., Mendoza-Vera, J.M., Bouvy, M., Champalbert, G., N’Gom-Kâ, R., Pagano, M.,
668 2012. Can tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria?
669 *Hydrobiologia* 679 (1),119-138. doi.org/10.1007/s10750-011-0860-8
- 670 Kaebernick, M., Neilan, B.A., 2001. Ecological and molecular investigations of
671 cyanotoxin production. *FEMS Microbiology Ecology* 35 (1), 1-9.
672 doi.org/10.1111/j.1574-6941.2001.tb00782.x
- 673 Kasprzak, P., Benndorf, J., Mehner, T., Koschel, R., 2002. Biomanipulation of lake
674 ecosystems: an introduction. *Freshwater Biology* 47 (12), 2277-2281.
675 doi.org/10.1046/j.1365-2427.2002.01001.x
- 676 Koroleff, F., 1976. Determination of nutrients. In: Grasshoff, K. (Ed.), *Methods of*
677 *seawater analysis*, Verlag Chemie, Weinheim, pp. 117-187.
- 678 Lobo, E., Leighton, G., 1986. Estructuras comunitarias de las fitocenosis planctónicas
679 de los sistemas de desembocaduras de rios y esteros de la zona central de Chile.
680 *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 22, 1-29.
- 681 Mackereth, F.J.H., Heron, J., Talling, J.F., 1978. *Water analysis: Some revised methods*
682 *for limnologists*. Freshwater Biological Association Scientific Publication, No 36, Titus
683 Wilson & Sons Ltda, Kendall.

- 684 Martin-Creuzburg, D., von Elert, E., 2009. Good food *versus* bad food: the role of
685 sterols and polyunsaturated fatty acids in determining growth and reproduction of
686 *Daphnia magna*. *Aquatic Ecology*, 43 (4), 943-950. doi.org/10.1007/s10452-009-9239-
687 6
- 688 Paerl, H.W., Huisman, J., 2009. Climate change: a catalyst for global expansion of
689 harmful cyanobacterial blooms. *Environmental Microbiology Reports* 1(1), 27-37.
690 doi:10.1111/j.1758-2229.2008.00004.x.
- 691 Paerl, H.W., Paul, V.J., 2012. Climate change: links to global expansion of harmful
692 cyanobacteria. *Water Research* 46 (5), 1349-1363. doi:10.1016/j.watres.2011.08.002
- 693 Panosso, R., Carlsson, P., Kozlowsky-Suzuki, B., Azevedo, S.M.F.O., Granéli, E.,
694 2003. Effect of grazing by a neotropical copepod, *Notodiaptomus*, on a natural
695 cyanobacterial assemblage and on toxic and non-toxic cyanobacterial strains. *Journal of*
696 *Plankton Research* 25 (9), 1169-1175. doi.org/10.1093/plankt/25.9.1169
- 697 Pearson, L., Mihali, T., Moffitt, M., Kellmann, R., Neilan, B., 2010. On the chemistry,
698 toxicology and genetics of the cyanobacterial toxins, microcystin, nodularin, saxitoxin
699 and cylindrospermopsin. *Marine Drugs* 8 (5), 1650-1680. doi.org/10.3390/md8051650
- 700 Peretyatko, A., Teissier, S., Backer, S., Triest, L., 2012. Biomanipulation of
701 hypereutrophic ponds: When it works and why it fails. *Environmental Monitoring and*
702 *Assessment* 184 (3), 1517-1531. doi.org/10.1007/s10661-011-2057-z
- 703 Perrow, M.R., Meijer, M.-L., Dawidowicz, P., Coops, H., 1997. Biomanipulation in
704 shallow lakes: state of the art. *Hydrobiologia* 342-343, 355-365. doi.org/10.1007/978-
705 94-011-5648-6_37
- 706 Petersen, J.E., Kennedy, V.S., Dennison, W.C., Kemp, W.M., 2009. *Enclosed*
707 *experimental ecosystems and scale: Tools for understanding and managing coastal*
708 *ecosystems*, Springer, New York, 221 pp.
- 709 Pinto-coelho, R.M., 2004. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de
710 biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. In: Bicudo, C.E.M., Bicudo, D.C.
711 (Eds.), *Amostragem em limnologia*, RiMa, São Carlos, pp. 149-166.
- 712 Reynolds, C.S., 2007. Variability in the provision and function of mucilage in
713 phytoplankton: Facultative responses to the environment. *Hydrobiologia* 578 (1), 37-45.
714 doi.org/10.1007/s10750-006-0431-6
- 715 Rothhaupt, K.O., 1990a. Differences in particle-size dependent feeding efficiencies of
716 closely related rotifer species. *Limnology and Oceanography* 35 (1), 16-23.
717 doi.org/10.4319/lo.1990.35.1.0016

- 718 Rothhaupt, K.O., 1990b. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus*
719 *rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. *Limnology and Oceanography*
720 35 (1), 24-32. doi.org/10.4319/lo.1990.35.1.0024
- 721 Ruttner-Kolisko, A., 1977. Suggestions for biomass calculation of planctonic
722 rotifers. *Archiv fur Hydrobiologie* 8, 71-77.
- 723 Sarma, S.S.S., Nandini, S., Gulati, R.D., 2005. Life history strategies of cladocerans:
724 Comparisons of tropical and temperate taxa. *Hydrobiologia* 542 (1), 315-333.
725 doi.org/10.1007/s10750-004-3247-2
- 726 Sarnelle, O., Gustafsson, S., Hansson, L.A., 2010. Effects of cyanobacteria on fitness
727 components of the herbivore *Daphnia*. *Journal of Plankton Research* 32 (4), 471-477.
728 doi.org/10.1093/plankt/fbp151
- 729 Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), 2005. <http://www.inmet.gov.br/portal/>
730 Secretaria dos Recursos Hídricos (SRH), 2000. Plano estadual de recursos hídricos do
731 estado de Pernambuco - Documento Síntese, Recife.
- 732 Shapiro, J., Lamarra, V., Lynch, M., 1975. Biomanipulation: an ecosystem approach to
733 lake restoration. In: Brezonik, P.L., Fox, J.L. (Eds.), *Proceedings of a symposium on*
734 *water quality management through biological control*, Gainesville, University of
735 Florida, pp. 85-96.
- 736 Smith, V.H., Joye, S.B., Howarth, R.W., 2006. Eutrophication of freshwater and marine
737 ecosystems. *Limnology and Oceanography* 51, 351-355.
738 doi.org/10.4319/lo.2006.51.1_part_2.0351
- 739 Soares, M.C.S., Lürling, M., Huszar, V.L.M., 2010. Responses of the rotifer *Brachionus*
740 *calyciflorus* to two tropical toxic cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and
741 *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. *Journal of Plankton*
742 *Research* 32 (7), 999-1008. doi.org/10.1093/plankt/fbq042
- 743 Sterner, R.W., 1986. Herbivores' direct and indirect effects on algal populations.
744 *Science*, 231 (4738), 605-607. doi.org/10.1126/science.231.4738.605
- 745 Strickland, J.D., Parsons, T.R., 1965. A manual of sea water analysis. *Bulletin of the*
746 *Fisheries Research Board of Canada*, 125, 1-185.
- 747 Tillmanns, A.R., Wilson, A.E., Pick, F.R., Sarnelle, O., 2008. Meta-analysis of
748 cyanobacterial effects on zooplankton population growth rate: species-specific
749 responses. *Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie* 171 (4),
750 285-295. doi.org/10.1127/1863-9135/2008/0171-0285

- 751 Utermöhl, H., 1958. Zur vervollkommer der quantitativen phytoplankton methodik.
752 Mitteilungen Internationale Vereinigung fuer Theoretische und Angewandte
753 Limnologie 9, 1-38.
- 754 Van Donk, E., Ianora, A., Vos, M., 2011. Induced defences in marine and freshwater
755 phytoplankton: A review. *Hydrobiologia* 668 (1), 3-19. doi.org/10.1007/s10750-010-
756 0395-4
- 757 Vanni, M.J., 1987. Effects of food availability and fish predation on a zooplankton
758 community. *Ecological Monographs* 57 (1), 61-68. doi.org/10.2307/1942639
- 759 Wilson, A.E., Sarnelle, O., Tillmanns, A.R., 2006. Effects of cyanobacterial toxicity and
760 morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta-analyses of
761 laboratory experiments. *Limnology and Oceanography* 51 (4), 1915-1924.
762 doi.org/10.4319/lo.2006.51.4.1915
- 763 Wilson, A.E., Sarnelle, O., Tillmanns, A.R., 2006. Effects of cyanobacterial toxicity and
764 morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta-analyses of
765 laboratory experiments. *Limnology and Oceanography* 51 (4), 1915-1924.
766 doi.org/10.4319/lo.2006.51.4.1915
- 767 Zanchett, G., Oliveira-Filho, E.C., 2013. Cyanobacteria and cyanotoxins: From impacts
768 on aquatic ecosystems and human health to anticarcinogenic effects. *Toxins* 5 (10),
769 1896-1917. doi.org/10.3390/toxins5101896
- 770
- 771
- 772
- 773
- 774
- 775
- 776
- 777
- 778
- 779
- 780

1 **Influência do zooplâncton sobre o tamanho dos filamentos e a**
2 **abundância de heterócitos nas cianobactérias em reservatório tropical**

3
4 **Título curto:** Efeitos do zooplâncton sobre cianobactérias filamentosas

5
6 Juliana dos Santos Severiano¹, Camila Bezerra Amaral¹, Anamaria Silva Diniz¹,
7 Viviane Lúcia dos Santos Almeida², Maria do Carmo Bittencourt-Oliveira³, Mathias
8 Ahii Chia³, and Ariadne do Nascimento Moura^{1*}

9
10 ¹Área de Botânica, Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de
11 Pernambuco -UFRPE. Rua D, Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-030,
12 Recife, PE, Brasil.

13 ²Universidade de Pernambuco - UPE, Campus Mata Norte. Rua Amaro Maltez, 201,
14 Centro, Nazaré da Mata, 55800-000, Recife, PE, Brasil.

15 ³Departamento de Ciências Biológicas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,
16 Universidade de São Paulo-USP. Av, Pádua Dias 11, 13418-900, Piracicaba, SP, Brasil.

17
18 ***Autor para correspondência:** ariadne@ufrpe.br (Moura, A.N)

19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31

32 **Resumo**

33 O presente estudo tem como objetivo avaliar, experimentalmente *in situ*, os
34 efeitos do zooplâncton sobre os tamanhos dos filamentos e a abundância de
35 cianobactérias nas cianobactérias em um reservatório tropical (reservatório Ipojuca,
36 Pernambuco, Brasil). Foram montados mesocosmos com tratamentos mantendo a
37 comunidade zooplanctônica nas biomassas de 2, 3 e 4 vezes a existente no reservatório
38 (tratamentos +Zoox2, +Zoox3 e +Zoox4, respectivamente) por 72 horas. Cinco
39 cianobactérias filamentosas foram identificadas no reservatório Ipojuca:
40 *Cylindrospermopsis raciborskii* (morfotipos reto e espiralado), *Dolychospermum* sp.
41 (espiralada), *Geitlerinema amphibium*, *Planktothrix agardhii* e *Pseudanabaena*
42 *papillaterminata*. Redução no tamanho médio dos filamentos foram constatados nos
43 tratamentos +Zoox3 e/ou +Zoox4 para *C. raciborskii* (morfotipo reto) e *G. amphibium*.
44 Em contrapartida, *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) e *Dolychospermum* sp.
45 aumentaram o tamanho dos filamentos nesses tratamentos. *P. agardhii* e *P.*
46 *papillaterminata* não responderam aos tratamentos testados. Maior produção de
47 heterócitos foi observada em *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) e *Dolychospermum*
48 sp. em +Zoox3 e/ou +Zoox4, tratamentos que mostraram redução significativa na
49 concentração de amônia e nitrogênio inorgânico dissolvido ao longo do tempo de
50 experimentação. Esses resultados mostram que os efeitos do zooplâncton como
51 modificador da estrutura de tamanho das cianobactérias filamentosas pode ser de
52 redução, aumento ou não interferência no tamanho médio dos filamentos. O aumento
53 do tamanho dos filamentos das cianobactérias espiraladas *C. raciborskii* (morfotipo
54 espiralado) e *Dolychospermum* sp. sob altas biomassas do zooplâncton sugere que essa
55 morfologia funcionou como um mecanismo de defesa contra a herbivoria e que a
56 produção de heterócitos foi a estratégia desenvolvida para manter esse crescimento.

57

58 **Palavras-chave:** Brasil, herbivoria, interferência mecânica, mecanismos de defesa

59

60

61

62

63

64

65

66 1. INTRODUÇÃO

67 A identificação dos fatores que controlam a dinâmica das cianobactérias tem
68 sido o objetivo de diversos estudos, uma vez que esses organismos formam *blooms* nos
69 ecossistemas aquáticos, com consequentes efeitos nocivos sobre a biota aquática e os
70 seres humanos.

71 As cianobactérias ocorrem nos ambientes naturais com ampla variedade
72 morfológica, compreendendo desde formas unicelulares picoplantônicas, tal como
73 *Synechococcus*, até grandes colônias e filamentos, retos e espiralados, que podem estar
74 envoltos por mucilagem. As espécies com grandes dimensões são as que comumente
75 formam *blooms*. A manutenção das elevadas biomassas dessas cianobactérias ocorre,
76 especialmente, porque essa característica as tornam pouco palatáveis para o
77 zooplâncton, os consumidores primários das teias tróficas aquáticas (Wang et al. 2010,
78 Ger et al. 2014, Urrutia-Cordero et al. 2015). Os filamentos e as colônias das
79 cianobactérias podem provocar entupimento do aparelho alimentar dos organismos
80 zooplantônicos e interferir na ingestão das partículas alimentares, causando redução
81 nas taxas de alimentação, crescimento, reprodução e, nos casos extremos, a morte do
82 zooplâncton (DeMott et al. 2001, Bednarska & Dawidowicz 2007).

83 As cianotoxinas, metabólitos secundários tóxicos produzidos pelas
84 cianobactérias, também podem causar esses efeitos sobre o zooplâncton (Vasconcelos
85 2001, Leflaive & Ten-Hage 2007; Freitas et al. 2014). Contudo, estudos recentes
86 mostraram que o papel das cianotoxinas no controle da predação não é tão comum como
87 inicialmente se acreditava, uma vez que linhagens zooplantônicas originadas de
88 ambientes com *blooms* de cianobactérias têm se mostrado resistentes aos efeitos nocivos
89 das cianotoxinas (Chislock et al. 2013, Heathcote et al. 2016), respondendo
90 primariamente aos efeitos das modificações na estrutura de tamanho da comunidade
91 fitoplanctônica resultante da dominância das cianobactérias (Wilson et al. 2006,
92 Heathcote et al. 2016).

93 Apesar dos efeitos negativos das cianobactérias sobre o zooplâncton, é comum
94 observar a ocorrência de elevado número de organismos zooplantônicos em
95 reservatórios com *blooms* de cianobactérias (Bouvy et al. 2001, Urrutia-Cordero et al.
96 2015). Ger et al. (2014) e Ger et al. (2016) apontam a seletividade alimentar exercida
97 por muitas espécies zooplantônicas como a adaptação que facilita a coexistência com
98 as cianobactérias, permitindo ao zooplâncton rejeitar as partículas alimentares pouco
99 palatáveis sem inibir a ingestão das palatáveis.

100 Em regiões de clima tropical e subtropical, o zooplâncton está exposto em
101 períodos prolongados às cianobactérias devido à ocorrência de *blooms* perenes, nos
102 quais as cianobactérias formam 95% da biomassa fitoplanctônica (Bouvy et al. 2001).
103 Acredita-se que essa exposição induziu modificações fenotípicas e genotípicas no
104 zooplâncton que o permitiu coexistir com as cianobactérias consumindo-as (Ger et al.
105 2016), apesar disso não resultar no controle efetivo da biomassa algal durante os *blooms*
106 (Boon et al. 1994, Jeppesen et al. 2005).

107 Bouvy & Molica (1999) e Kâ et al. (2012) mostraram que o zooplâncton tropical
108 pode consumir cianobactérias filamentosas após cortá-las em pequenos pedaços,
109 processo que causa modificação na estrutura de tamanho das populações por aumentar o
110 número de filamentos pequenos e, conseqüentemente, reduzir o tamanho médio dos
111 filamentos. Porém, esses e outros trabalhos sobre o tema em reservatórios tropicais
112 foram realizados em laboratório, com as cianobactérias sendo oferecidas como única
113 fonte de alimento ou misturadas com outra espécie algal palatável para o zooplâncton
114 (Panosso et al. 2003, Soares et al. 2010, Kâ et al. 2012), cenário que não representa a
115 diversidade de fontes alimentares disponíveis nos ambientes naturais e as condições
116 abióticas próprias de cada corpo d'água.

117 Além disso, há a lacuna no entendimento dos efeitos do zooplâncton tropical
118 sobre as espécies de cianobactérias que podem apresentar variabilidade morfológica
119 devido à predação, como *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya et
120 Subba Raju, que estudos supõem adquirir forma espiralada como estratégia de defesa
121 (Fabbro & Duivenvoorden 1996). Bouvy et al. (2001) ao descreverem, com base em
122 Bouvy & Molica (1999), que o zooplâncton do reservatório Ingazeira (região Nordeste
123 do Brasil) corta os filamentos de *C. raciborskii* para consumi-la, mostraram uma figura
124 com a imagem das regiões do corte no filamento da forma espiralada dessa
125 cianobactéria, mas não apresentam na metodologia os procedimentos realizados para a
126 obtenção de tais resultados.

127 A fragmentação dos filamentos pelo zooplâncton é importante, pois pode
128 interferir em importantes processos fisiológicos das cianobactérias como a capacidade
129 de fixação de nitrogênio atmosférico (N₂). Chan et al. (2004) observaram em um lago
130 experimental de Nova Iorque (EUA) que o zooplâncton ao consumir a cianobactéria
131 heterocitada *Anabaena* spp. reduziu o tamanho médio dos filamentos e a eficiência na
132 fixação do N₂ por espécies do gênero. Porém, essa relação ainda é pouco compreendida

133 e pode não representar um padrão para as cianobactérias heteróclitas, uma vez que a
134 capacidade intrínseca de fixar o N_2 difere entre as espécies (Dolman et al. 2012).

135 O objetivo do presente estudo foi avaliar, experimentalmente *in situ*, os efeitos
136 do aumento da biomassa do zooplâncton tropical sobre o tamanho dos filamentos e a
137 abundância de heteróclitos nas cianobactérias. A hipótese testada é que o zooplâncton
138 reduz o tamanho médio dos filamentos das cianobactérias e, conseqüentemente, o
139 número de heteróclitos nas fixadoras de N_2 , porém esses efeitos são menos expressivos
140 nas espécies com morfologia espiralada.

141

142 2. MATERIAL E MÉTODOS

143 O experimento foi realizado no reservatório Ipojuca (reservatório Pedro Moura
144 Jr., 8°20'43,7"S e 36°22'31,5"W), localizado no estado de Pernambuco, região Nordeste
145 do Brasil, entre os dias 28 e 31 de julho de 2014.

146 A região é caracterizada por apresentar clima tropical úmido, com temperaturas
147 médias em torno de 30°C e duas estações sazonais bem definidas: estação seca, entre
148 setembro e fevereiro, correspondendo ao período de mais altas temperaturas (>30°C); e
149 estação chuvosa, entre abril e julho, com precipitação média em torno de 1.000 mm e
150 temperaturas menores que 20°C (INMET, 2005).

151 Doze mesocosmos de sacos de polietileno transparente com volume aproximado
152 de 50 litros, fechados na parte inferior e abertos na superior, permaneceram suspensos
153 na água por unidades flutuadoras (garrafas plásticas - tipo PET) acopladas em barras de
154 alumínio ao redor da boca, como descrito em Arcifa e Guagnoni (2003). Foram
155 mantidos tratamentos (n=3) com manipulações na biomassa da comunidade
156 zooplanctônica, de forma a expor os filamentos das cianobactérias às biomassas
157 zooplanctônicas de 2, 3 e 4 vezes a existente no reservatório (tratamentos representados
158 como +Zoox2, +Zoox3 e +Zoox4, respectivamente) no dia do início do experimento.

159 O zooplâncton adicionado nos tratamentos foi obtido através de filtrações
160 sucessivas da água utilizando rede de plâncton com abertura de malha de 68 μ m até
161 atingir as biomassas zooplanctônicas desejadas, sendo os organismos retidos no copo
162 coletor transferidos para os mesocosmos. Para o controle foi utilizada a água do
163 reservatório mantida sem adição do zooplâncton, ou seja, com a biomassa
164 zooplanctônica observada no reservatório.

165 Para determinar as condições iniciais no experimento ($T_{inicial}$ do experimento),
166 foram coletadas amostras no reservatório Ipojuca no local de implantação dos

167 mesocosmos para a análise da concentração dos nutrientes, da composição e biomassa
168 do zooplâncton e da composição, biomassa, morfometria dos filamentos e abundância
169 de heterócitos das cianobactérias filamentosas.

170 Os nutrientes analisados foram nitrito ($\mu\text{g N-NO}_2 \cdot \text{L}^{-1}$; Mackereth et al. 1978),
171 nitrato ($\mu\text{g N-NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$; Golterman et al. 1971), amônia ($\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$; Koroleff
172 1976), nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN; considerado como a soma das
173 concentrações de nitrato, nitrito e amônia) e fósforo total (PT; Strickland & Parsons
174 1965).

175 Para o estudo da comunidade zooplanctônica, foram filtrados 100 litros da água
176 do reservatório em rede de plâncton (68 μm) e as amostras foram fixadas com formol a
177 4%, após os organismos terem sido narcotizados com água gaseificada, segundo a
178 metodologia de Pinto-Coelho (2004). A biomassa foi estimada através da quantificação
179 dos organismos utilizando câmara de Sedgwick-Rafter em microscópio óptico ZEISS
180 modelo Jenaval e da determinação do biovolume médio dos táxons, de acordo com
181 Ruttner-Kolisko (1977) e Pinto-Coelho (2004).

182 As amostras para a análise das cianobactérias foram armazenadas em frascos de
183 vidro âmbar e preservadas com Lugol acético a 1%. A biomassa foi estimada utilizando
184 a técnica de Utermöhl (1958) e o biovolume médio dos táxons segundo Hillebrand et al.
185 (1999). As variáveis morfométricas mensuradas foram o diâmetro e comprimento das
186 células, o número de células por filamento e o comprimento dos filamentos. As análises
187 foram realizadas utilizando microscópio óptico com ocular micrométrica acoplada em
188 aumento de 400X e 1000X, sendo escolhidos aleatoriamente 50 filamentos de cada
189 táxon por amostra (réplicas). A abundância dos heterócitos (cel L^{-1}) foi determinada de
190 acordo com Utermöhl (1958).

191 Nos mesocosmos, as coletas foram realizadas após 24 e 72h de experimentação.
192 Foram analisadas as variações no tamanho dos filamentos das cianobactérias e a
193 abundância dos heterócitos. O tamanho dos filamentos foi expresso nos resultados como
194 volume médio dos filamentos, considerado como o volume das células multiplicado
195 pelo número de células por filamento. A concentração dos nutrientes foi determinada
196 apenas após 24h de experimentação.

197 A Anova fatorial axb foi realizada, precedida dos testes de normalidade e
198 homocedasticidade de Kolmogorov-Smirnov e Levene, respectivamente, para verificar
199 os efeitos dos tratamentos, do tempo de experimentação e da interação tratamentos
200 versus tempo sobre o tamanho dos filamentos das cianobactérias e a abundância dos

201 heterócitos. A diferença na concentração de nutrientes entre os tratamentos testados foi
 202 avaliada através da Anova um fator. Para ambas as análises, quando diferenças
 203 significativas foram detectadas ($p < 0.005$), foi realizado o teste *a posteriori* de Tukey.
 204 As análises estatísticas foram realizadas no programa R para Windows.

205

206 3. RESULTADOS

207

208 3.1. Reservatório Ipojuca (T_{inicial} do experimento)

209 As concentrações dos nutrientes e a razão NID/PT no T_{inicial} do experimento são
 210 mostrados na Tabela 1.

211 A comunidade zooplancônica esteve composta por 7 táxons, pertencente aos
 212 grupos Rotifera, Copepoda e Cladocera. A biomassa foi de $2.772,0 \pm 245,3 \text{ mg L}^{-1}$, com
 213 maior participação dos náuplios e do rotífero *Brachionus rubens* (Tabela 2).

214 Foram identificadas cinco cianobactérias filamentosas: *Cylindrospermopsis*
 215 *raciborskii* (morfortipos reto e espiralado), *Dolychospermum* sp. (espiralada),
 216 *Geitlerinema amphibium* (C.Agardh ex Gomont) Anagnostidis, *Planktothrix agardhii*
 217 (Gomont) Anagnostidis & Komárek e *Pseudanabaena papillaterminata* (Kiselev)
 218 Kukk. A biomassa, largura e comprimento das células, número de células por filamento,
 219 comprimento e volume dos filamentos e o número de heterócitos das cianobactérias
 220 filamentosas no reservatório Ipojuca são mostrados na Tabela 3.

221

222 Tabela 1. Concentração dos nutrientes ($\mu\text{g L}^{-1}$) e razão NID/PT no reservatório Ipojuca
 223 em 28 de julho de 2014 (T_{inicial} do experimento) e nos tratamentos após 24 horas de
 224 experimentação. Valores com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$).
 225 Dados são Média aritmética \pm Erro padrão.

Nutrientes	Reservatório (T_{inicial} do experimento)	Experimento (24h)			
		Controle	+Zoox2	+Zoox3	+Zoox4
Amônia (N-NH ₃ + N-NH ₄ ⁺)	90,6 \pm 14,3 ^b	72,3 \pm 19,4 ^b	21,0 \pm 0,3 ^a	28,3 \pm 2,3 ^a	29,7 \pm 4,5 ^a
Nitrato (N-NO ₂)	10,9 \pm 0,3 ^a	10,0 \pm 1,0 ^a	10,3 \pm 1,3 ^a	16,6 \pm 3,7 ^a	7,4 \pm 0,2 ^a
Nitrito (N-NO ₃)	1,1 \pm 0,0 ^a	1,1 \pm 0,1 ^a	1,3 \pm 0,1 ^a	1,3 \pm 0,1 ^a	1,4 \pm 0,2 ^a
Nitrogênio inorgânico dissolvido (NID)	102,7 \pm 14,0 ^b	83,4 \pm 20,0 ^b	33,5 \pm 0,6 ^a	46,2 \pm 5,5 ^a	34,6 \pm 3,8 ^a
Fósforo total (PT)	96,7 \pm 1,1 ^a	94,4 \pm 3,4 ^a	89,3 \pm 0,9 ^a	97,8 \pm 4,0 ^a	110,7 \pm 0,9 ^a
Razão NID/PT	1,1 \pm 0,3 ^a	0,9 \pm 0,1 ^a	0,3 \pm 0,0 ^a	0,5 \pm 0,1 ^a	0,3 \pm 0,0 ^a

226

227 Tabela 2. Composição e biomassa da comunidade zooplanctônica no reservatório
 228 Ipojuca em 28 de julho de 2014 (T_{inicial} do experimento). Dados são Média
 229 aritmética \pm Erro padrão.

Táxons	Biomassa (mg L⁻¹)
Rotifera	
<i>Brachionus calyciflorus</i> Pallas, 1766	167,1 \pm 8,1
<i>Brachionus rubens</i> Ehrenberg, 1838	596,7 \pm 11,5
<i>Keratella tropica</i> (Apstein, 1907)	33,2 \pm 3,4
Copepoda	
<i>Notodiaptomus cearensis</i> Wright, 1936 (adulto)	289,2 \pm 2,1
<i>Thermocyclops decipiens</i> Kiefer, 1927 (adulto)	444,0 \pm 5,2
Náuplio	1.059,1 \pm 7,8
Cladocera	
<i>Ceriodaphnia cornuta</i> Sars (1886)	92,7 \pm 8,2
<i>Diaphanosoma spinulosum</i> Herbst, 1967	99,1 \pm 6,3
Total	2.779,0\pm245,3

230

231 Tabela 3. Biomassa, largura e comprimento das células, número de células por filamento, comprimento e volume dos filamentos e número de
 232 heterócitos das cianobactérias filamentosas no reservatório Ipojuca em 28 de julho de 2014 (T_{inicial} do experimento). *= cianobactéria não
 233 produtora de heterócito; -= ausências de dados; Dados são Média aritmética±Erro padrão.

Táxons	Biomassa (mg L⁻¹)	Largura das células (µm)	Comprimento das células (µm)	Número de células por filamento	Comprimento dos filamentos (µm)	Volume dos filamentos (µm³)	Número de heterócitos (cel L⁻¹)
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> (morfotipo reto)	5,8±0,3	3,2±0,2	7,6±1,5	9,1±2,05	63,5±13,3	1,138,1±399,2	1
<i>C. raciborskii</i> (morfotipo espiralado)	4,2±0,3	3,0±0,5	4,4±0,6	10,3±3,0	50,7±7,6	362,4±58,6	1
<i>Dolychospermum</i> sp. (espiralada)	0,07±0,0	5,3±0,3	6,5±0,4	5,7±0,4	31,2±9,2	475,2±62,8	10
<i>Geitlerinema amphibium</i>	1,4±0,2	2,5±0,3	5,5±0,9	13,7±3,0	72,7±17,6	435,4±74,2	*
<i>Planktothrix agardhii</i>	13,6±3,0	5,5±0,2	2,5±0,2	121,6±37,3	241,9±50,1	1,894,7±153,6	*
<i>Pseudanabaena papillaterminata</i>	0,1±0,0	2,5±0,0	5,0±0,1	9,1±1,5	50,7±10,3	365,5±81,4	*
Outras espécies fitoplanctônicas	11,51±1,02	-	-	-	-	-	-

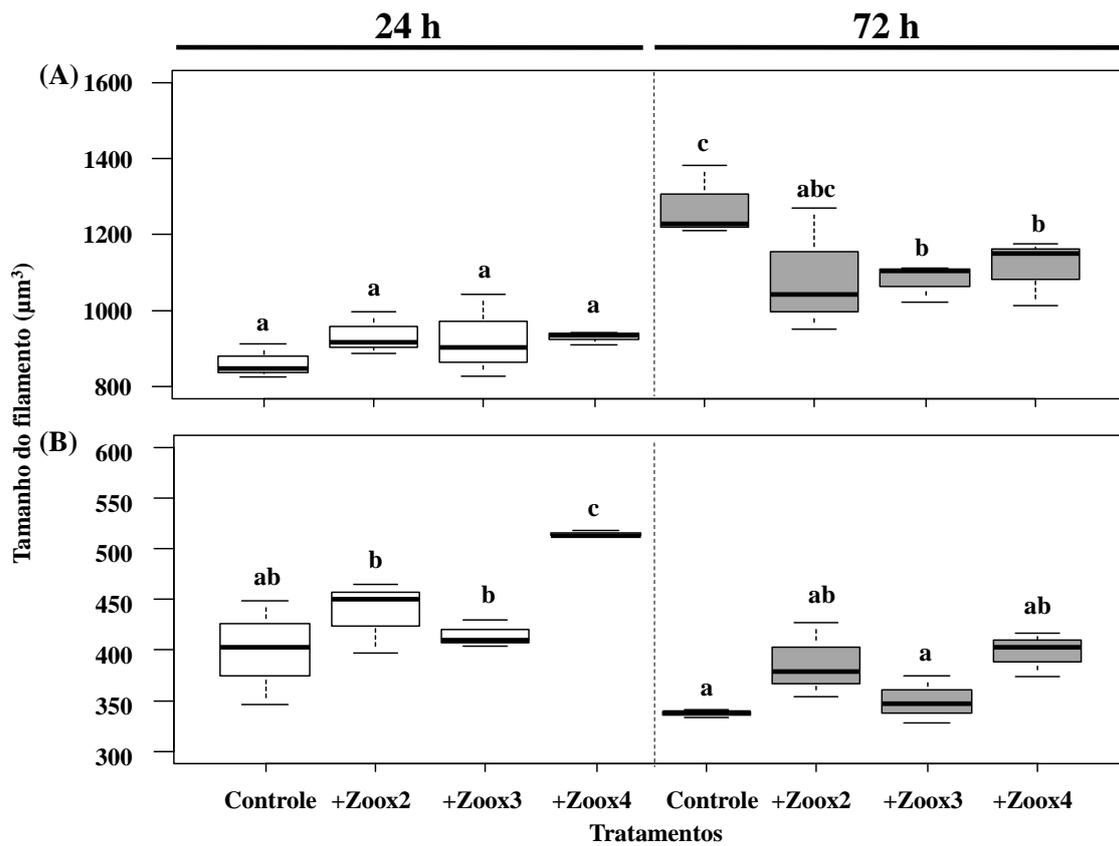
234 3.2.Experimento

235 Foram observadas reduções significativas nas concentrações de amônia e NID nos
236 tratamentos +Zoox2, +Zoox3 e +Zoox4 em relação ao controle após 24 horas de
237 experimentação (Tabela 1).

238 *C. raciborskii* (morfotipo reto) respondeu significativamente ao efeito do tempo de
239 experimentação ($F=23.51$; $p=0.0002$), aumentando o tamanho médio dos filamentos após 72
240 horas. Resposta aos tratamentos foi observada ($F=5.49$; $p=0.0087$), com a redução
241 significativa do tamanho dos filamentos em +Zoox3 e +Zoox4 após 72 horas (Figura 1 A). O
242 tempo de experimentação causou redução no tamanho dos filamentos do morfotipo espiralado
243 de *C. raciborskii* ($F=39.50$; $p<0.0001$) e diferença significativa entre os tratamentos ($F=11.07$;
244 $p=0.0003$) foi constatado após 24 horas com o aumento significativo do tamanho em +Zoox4
245 (Figura 2 B).

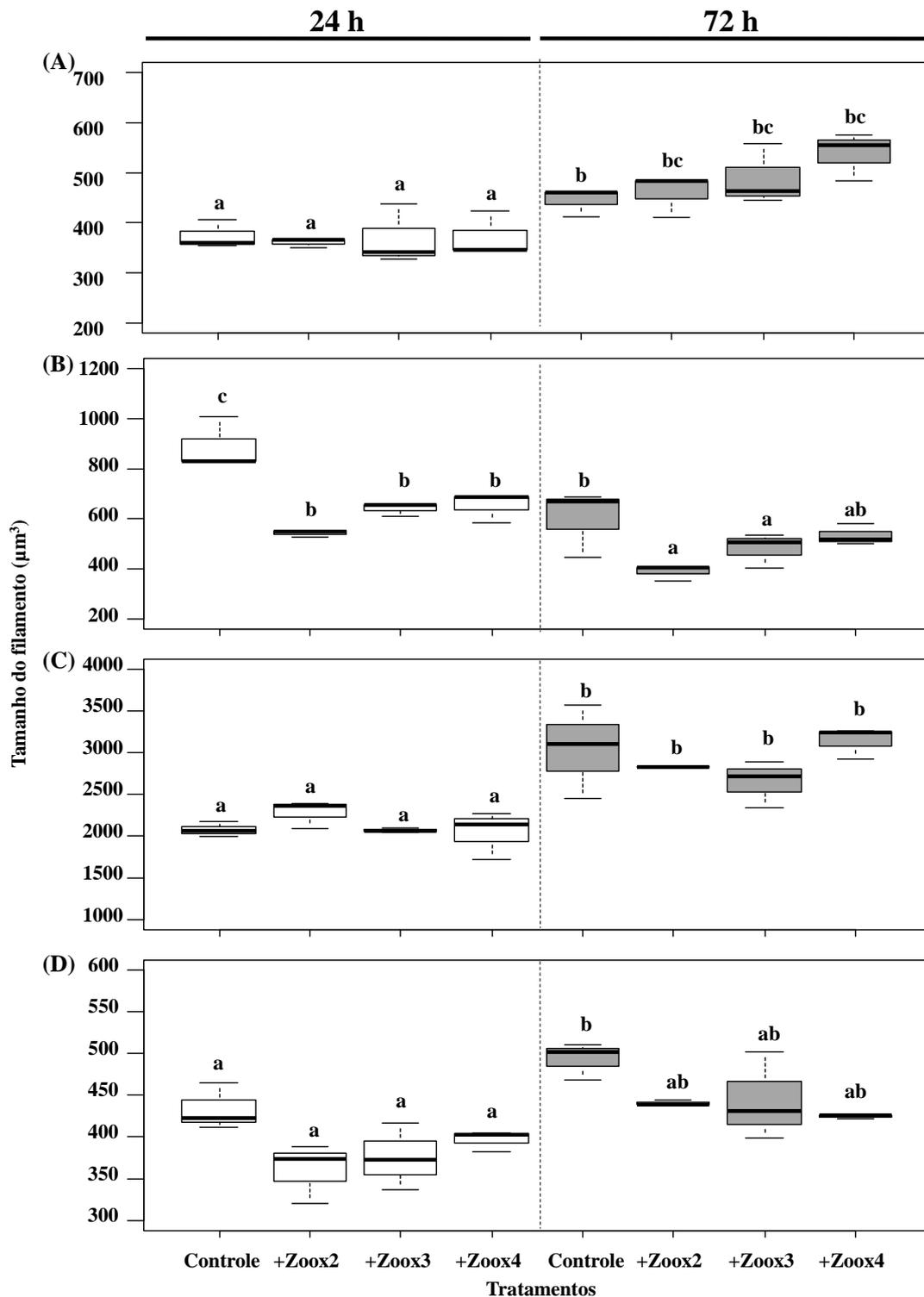
246 *Dolychospermum* sp. respondeu significativamente aos efeitos dos tratamentos
247 ($F=12.26$; $p=0.0002$), do tempo de experimentação ($F=262.50$; $p<0.0001$) e da interação
248 tratamentos *versus* tempo ($F=35.65$; $p<0.0001$), aumentando o tamanho dos filamentos após
249 72 horas em +Zoox2,+Zoox3 e +Zoox4 (Figura 2 A). *Geitlerinema amphibium* respondeu aos
250 tratamentos ($F=15.93$; $p<0.0001$), reduzindo o tamanho dos filamentos em +Zoox2,+Zoox3 e
251 +Zoox4 após 24 e 72 horas (Figura 2 B). Para as demais cianobactérias analisadas, *P.*
252 *agardhii* e *P. papillaterminata*, o tempo de experimentação causou aumento significativo no
253 tamanho dos filamentos após 72 horas ($F=55.29$; $p<0.0001$ e $F=23.51$; $p=0.0002$,
254 respectivamente), porém não foram observados efeitos dos tratamentos e da interação
255 tratamentos x tempo (Figura 2 C e D).

256 O número de heterócitos, de uma maneira geral, aumentou após 72 horas de
257 experimentação nas cianobactérias analisadas (Figura 3 A, B e C). Efeitos dos tratamentos
258 foram observados para *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) ($F=12.26$; $p=0.0002$) e
259 *Dolychospermum* sp. ($F=17.07$; $p<0.0001$) que produziram significativamente mais
260 heterócitos nos tratamentos com as maiores biomassas zooplanctônicas testadas (tratamentos
261 +Zoox3 e/ou +Zoox4), ambas após 72 horas (Figura 3 B e C).



262

263 Figura 1. Volume dos filamentos de *Cylindrospermopsis raciborskii*, morfotipos reto (A) e
 264 espiralado (B), no experimento após 24 e 72 horas. As extremidades inferior e superior do
 265 “box-plot” são, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartis e a linha do centro representa
 266 a mediana. “Box” branco= após 24 horas de experimento; “Box” cinza= após 72 horas de
 267 experimento, “Boxes” com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$).



268

269

270

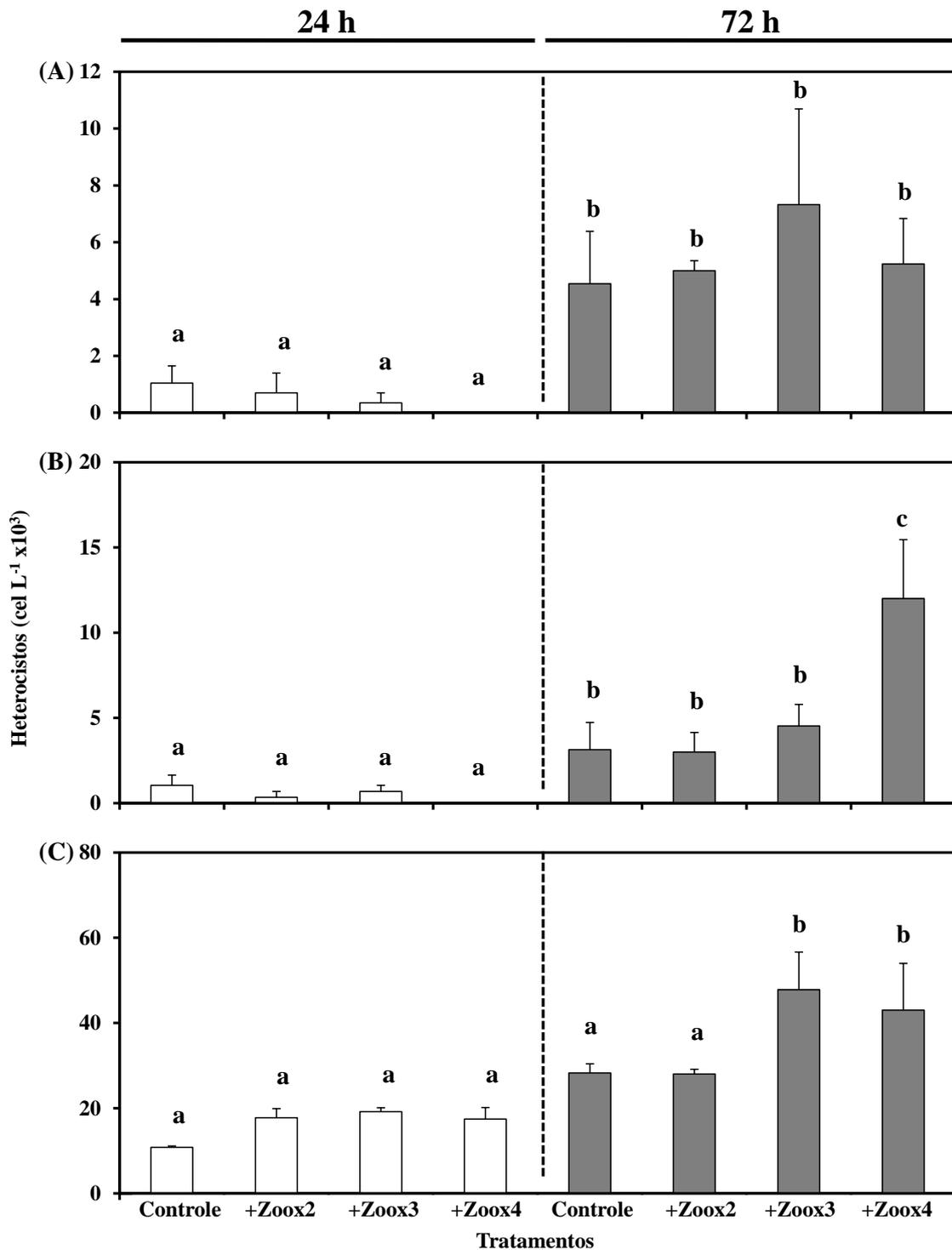
271

272

273

274

Figura 2. Volume dos filamentos de *Dolychospermum* sp. (A), *Geitlerinema amphibium* (B), *Planktothrix agardhii* (C) e *Pseudanabaena papillaterminata* (D), no experimento após 24 e 72 horas. As extremidades inferior e superior do “box-plot” são, respectivamente, o primeiro e o terceiro quartis e a linha do centro representa a mediana. “Box” branco= após 24 horas de experimento; “Box” cinza= após 72 horas de experimento. “Boxes” com a mesma letra não diferem significativamente ($p < 0,05$).



275

276 Figura 3. Número de heterócitos produzidos por *Cylindrospermopsis raciborskii*, morfotipos277 reto (A) e espiralado (B), e *Dolychospermum* sp. (C) no experimento após 24 e 72 horas.

278 Barras brancas= após 24 horas de experimento; Barras cinzas= após 72 horas de experimento.

279 Tratamentos com a mesma letra não diferem significativamente (p<0,05).

280

281

4. DISCUSSÃO

Foram avaliados os efeitos do aumento da biomassa zooplanctônica em reservatório tropical sobre o tamanho dos filamentos das cianobactérias filamentosas através de experimentos com mesocosmo. As cianobactérias filamentosas retas *Cylindrospermopsis raciborskii* (morfotipo reto) e *Geitlerinema amphibium* reduziram o tamanho dos filamentos, no entanto *Planktothrix agardhii* e *Pseudanabaena papillaterminata* não responderam aos tratamentos testados.

P. agardhii é uma espécie que comumente forma *blooms* em reservatórios tropicais (Bonilla et al. 2012, Bittencourt-Oliveira et al. 2014), mas que tem sido pouco estudada quanto à relação trófica com o zooplâncton dessa região. O conhecimento acerca da palatabilidade dessa cianobactéria provém, em grande parte, de estudos realizados com organismos zooplanctônicos de grande tamanho corporal, como o cladóceros *Daphnia*, os quais mostram potencial para controlar o crescimento dessa cianobactéria e reduzir o tamanho médio dos filamentos (Urrutia-Cordero et al. 2016), apesar de mostrarem preferência por outras espécies algais em culturas mistas (Oberhaus 2007).

Weithoff & Walz (1995) analisaram os efeitos de *P. agardhii* sobre *Brachionus calyciflorus*, um rotífero comum nos ambientes tropicais, mas que no estudo foi isolado de um lago hipertrófico da Alemanha, e observaram alta taxa de mortalidade desse organismo zooplanctônico quando exposto a cultura monoespecífica de *P. agardhii*. Porém, não há referência nesse estudo sobre a taxa ou a forma de ingestão de *P. agardhii* por *B. calyciflorus*.

A grande dimensão de *P. agardhii*, com comprimento que podem atingir quase 300 µm, valor bem acima do observado para os outros táxons avaliados no presente estudo, pode ter interferido na habilidade dos organismos zooplanctônicos de reduzir os filamentos para ingeri-los. Porém, não pode ser descartada a possibilidade da produção de cianotoxinas como a causa da ausência de relação entre essa cianobactéria e o zooplâncton no experimento. Kurmayer & Jüttner (1999) mostraram a importância das cianotoxinas como mecanismo de defesa química contra a predação pelo zooplâncton para *Planktothrix rubescens*, ao constatarem aumento na taxa de ingestão dos filamentos após a extração da cianotoxina microcistina.

Pseudanabaena papillaterminata não mostrou modificação na estrutura de tamanho com o aumento da biomassa zooplanctônica, porém esse resultado não significa que essa cianobactéria não foi utilizada pelo zooplâncton como alimento. Estudos mostram que cianobactérias com diâmetro celular semelhante ao de *P. papillaterminata* (média de 2,5 µm) estão no limite de tamanho ótimo das presas para os rotíferos, por exemplo, e podem ter os

316 filamentos consumidos por inteiro, sem necessidade de fragmentação (Burian et al. 2014).
317 Vareschi & Jacobs (1984) observaram o rotífero *Brachionus plicatilis* alimentando-se de
318 filamentos inteiros da cianobactéria *Anabaena fusiformis* segurando-a em uma das
319 extremidades e sugando-a em direção a boca de maneira semelhante a um espaguete. De
320 acordo com Burian et al. (2014), o comprimento do filamento adquire papel secundário na
321 inibição da predação nesses casos quando não excede o tamanho do corpo do predador. Essa
322 situação, certamente, ocorreu no presente estudo, uma vez que *P. papillaterminata* formou
323 pequenos filamentos com comprimento médio de 50 µm e o rotífero dominante, o táxon
324 *Brachionus rubens*, possui comprimento médio do corpo próximo a 200 µm, conforme
325 descrito por Rothhaupt (1990).

326 O morfotipo espiralado de *C. raciborskii* e *Dolychospermum* sp. aumentaram
327 significativamente o tamanho dos filamentos nos tratamentos com as maiores biomassas do
328 zooplâncton. Esses resultados confirmam a hipótese proposta no presente estudo sobre a
329 relação do zooplâncton tropical com as cianobactérias filamentosas espiraladas e salientam a
330 importância da morfologia como mecanismo de defesa contra a predação. Essas observações
331 mostram que o zooplâncton atua nos *blooms* dessas cianobactérias favorecendo o
332 desenvolvimento dos filamentos de grande tamanho.

333 Acredita-se que os filamentos espiralados são menos susceptíveis à predação em
334 relação às formas retas por ocuparem duas dimensões no espaço, o que dificultaria a ingestão
335 pelo predador (Vanderploeg et al. 1988, Naselli-Flores et al. 2007). Além disso, outras
336 funções ecológicas têm sido utilizadas para justificar a função dessa variabilidade morfológica
337 como a possibilidade de determinar a velocidade de sedimentação e, assim, a capacidade de
338 captar luz e explorar nutrientes na coluna d'água (Padisák et al. 2003, Naselli-Flores et al.
339 2007, Bittencourt-Oliveira et al. 2011).

340 Kâ et al. (2012) observaram em laboratório que a taxa de ingestão da cianobactéria
341 filamentosa espiralada *Anabaena flos-aquae* pelo zooplâncton tropical difere entre as
342 espécies, não sendo constatada ingestão pelo copépodo calanóide *Pseudodiaptomus hessei* e o
343 cladócero *Moina micrura*. Esses autores não observaram efeitos claros da predação sobre a
344 estrutura de tamanho dessa cianobactéria, mas constataram que os filamentos pequenos foram
345 preferencialmente consumidos pelas espécies zooplanctônicas capazes de predá-la.

346 Para algumas espécies zooplanctônicas, entretanto, a capacidade de ingestão da
347 cianobactérias espiraladas é dependente também do tamanho e da largura das células. Urrutia-
348 Cordero et al. (2016) observaram que *Daphnia magna*, um cladócero de grande tamanho
349 corporal que tem hábito alimentar generalista, consumiu as cianobactérias filamentosas retas

350 *Aphanizomenon gracile* e *Planktothrix agardhii*, mas não controlou o crescimento da
351 cianobactéria espiralada *Dolichospermum crassum*. Ao avaliarem outras espécies do gênero
352 *Dolichospermum*, *D. flos-aquae* e *D. lemmermanii*, esses autores constataram redução no
353 crescimento na presença de *D. magna* e justificaram que o pequeno tamanho dos filamentos
354 dessas cianobactérias em relação à *D. crassum* as tornam mais vulneráveis a predação
355 (comprimento máximo do filamento: *D. crassum*, 77 µm; *D. flos-aquae*, 53 µm; *D.*
356 *lemmermanii*, 52 µm).

357 Os resultados sobre a abundância de heterócitos não mostrou a relação prevista com
358 as cianobactérias que reduziram o tamanho dos filamentos no experimento. Maior produção
359 de heterócitos foi observada em *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) e *Dolychospermum* sp.
360 nos tratamentos com as maiores biomassas zooplancônicas testadas.

361 Os heterócitos são produzidos sob condições de limitação de amônia e nitrato, tendo a
362 função de fixar o N₂ para fornecer o nitrogênio necessário ao desenvolvimento das células
363 vegetativas do filamento (Böhme 1998, Adams 2000). O desenvolvimento completo do
364 heterócito demora em torno de 20 horas a 30°C e envolve diferenciação de células vegetativas
365 em heterócitos e mudanças na expressão gênica e metabolismo das células vegetativas
366 remanescentes (Kumar et al. 2010). É um processo que demanda gasto de ATP, por isto,
367 causa redução temporária na taxa de crescimento das cianobactérias (Kumar et al. 2010).

368 Apesar de não ter sido realizada a análise da concentração de nutrientes no tempo de
369 72 h de experimentação no presente estudo, a redução na concentração de amônia e NID nos
370 tratamentos testados em relação ao ambiente após 24 horas serve como um indicativo de que
371 houve ao longo do tempo limitação por nitrogênio no experimento. Redução mais
372 significativa na concentração desses nutrientes foi constatada nos tratamentos com maiores
373 biomassas do zooplâncton, resultado que justifica a maior produção de heterócitos nesses
374 tratamentos por *C. raciborskii* (morfotipo espiralado) e *Dolychospermum* sp. Maior tamanho
375 dos filamentos dessas cianobactérias foi constatado nesses tratamentos, demonstrando a
376 eficácia da produção de heterócitos na manutenção do crescimento das cianobactérias sob
377 condições de escassez de nitrogênio.

378

379 5. CONCLUSÕES

380 Os efeitos do zooplâncton sobre a estrutura de tamanho das cianobactérias
381 filamentosas variou entre redução, aumento e não interferência no tamanho médio dos
382 filamentos. As cianobactérias espiraladas *Cylindrospermopsis raciborskii* (morfotipo
383 espiralado) e *Dolychospermum* sp. aumentaram o tamanho dos filamentos nas maiores

384 biomassas zooplanctônicas testadas, indicando que a morfologia espiralada pode funcionar
385 como um mecanismos de defesa contra a herbivoria. Ainda sugerem que o zooplâncton pode
386 atuar nos *blooms* dessas cianobactérias favorecendo o desenvolvimento dos filamentos de
387 grande tamanho.

388 Não foi observada relação entre a fragmentação dos filamentos das cianobactérias pelo
389 zooplâncton e a produção de heterócitos. Contrariamente ao esperado, os heterócitos foram
390 produzidos pelas cianobactérias filamentosas para manter o crescimento dos filamentos sob
391 altas biomassas zooplanctônicas.

392

393 6. AGRADECIMENTOS

394 Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
395 (CNPq) - Process 471603/2012-0 e Auxílio à Mobilidade Discente/Fundação de Amparo à
396 Ciência e Tecnologia (AMD/FACEPE) - Process 0169-2,00/14 pelo financiamento do estudo,

397

398 7. REFERÊNCIAS

- 399 Adams D G (2000) Heterocyst formation in cyanobacteria. *Curr Opin Microbiol* 3:618–624.
- 400 Bednarska A, Dawidowicz P (2007) Change in filter-screen morphology and depth selection:
401 Uncoupled responses of *Daphnia* to the presence of filamentous cyanobacteria. *Limnol*
402 *Oceanogr* 52:2358-2363.
- 403 Bittencourt-Oliveira M C, Moura A N, Hereman T C, Dantas E W (2011) Increase in straight
404 and coiled *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) populations under conditions of
405 thermal de-stratification in a shallow tropical reservoir. *J Water Resource Prot* 3:245-252.
- 406 Bittencourt-Oliveira M C, Piccin-Santos V, Moura A N, Aragão-Tavares N K C, Cordeiro-
407 Araújo M K (2014) Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking
408 supply reservoirs of Brazil. *An Acad Bras Cienc* 86: 297-309.
- 409 Böhme H (1998) Regulation of nitrogen fixation in heterocyst-forming cyanobacteria. *Trends*
410 *Plant Sci* 3:346-351.
- 411 Bonilla S, Aubriot L, Soares M C S, González-Piana M, Fabre A, Huszar V L M, Lürling M,
412 Antoniades D, Padisák J, Kruk C (2012) What drives the distribution of the bloom-forming
413 cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? *FEMS Microbiol*
414 *Ecol.* 79:594-607.

- 415 Boon P I, Bunn S E, Green J D, Shiel R J (1994) Consumption of Cyanobacteria by
416 freshwater zooplankton: Implications for the success of 'Top-down' control of cyanobacterial
417 blooms in Australia. *Aust J Mar Freshwater Res* 45:875-87.
- 418 Bouvy M, Molica R, Oliveira S, Marinho M, Beker B (1999) Dynamics of a toxic
419 cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid
420 region of northeast Brazil. *Aquat Microb Ecol* 20:285-297.
- 421 Bouvy M, Pagano M, Troussellier M (2001) Effects of a cyanobacterial bloom
422 (*Cylindrospermopsis raciborskii*) on bacteria and zooplankton communities in Ingazeira
423 reservoir (northeast Brazil). *Aquat Microb Ecol* 25:215-227.
- 424 Burian A, Kainz M J, Schagerl M, Yasindi A (2014) Species-specific separation of lake
425 plankton reveals divergent food assimilation patterns in rotifers. *Freshw Biol* 59: 1257-1265.
- 426 Chan F, Pace M L, Howarth R W, Marino R M (2004) Bloom formation in heterocystic
427 nitrogen-fixing cyanobacteria: The dependence on colony size and zooplankton grazing.
428 *Limnol Oceanogr* 49:2171-2178.
- 429 Chislock M, Sarnelle O, Olsen B K, Doster E, Wilson A E. (2013) Large effects of consumer
430 offense on ecosystem structure and function. *Ecology* 94:2375-2380.
- 431 DeMott W R, Gulati R D, Van Donk E (2001) *Daphnia* food limitation in three
432 hypereutrophic Dutch lakes: evidence for exclusion of large-bodied species by interfering
433 filaments of cyanobacteria. *Limnol Oceanogr* 46: 2054-2060.
- 434 Dolman A M, Rucker J, Pick F R, Fastner J, Rohrlack T, Mischke U, Wiedner C (2012)
435 Cyanobacteria and cyanotoxins: The Influence of nitrogen versus phosphorus. *PLoS ONE*
436 7:e38757.
- 437 Fabbro L D, Duivenvoorden L J (1996) Profile of a bloom of the cyanobacterium
438 *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenaya and Subba Raju in the Fitzroy River
439 in tropical central Queensland. *Mar Freshw Res* 47:685-94.
- 440 Freitas E C, Pinheiro C, Rocha O, Loureiro S (2014) Can mixtures of cyanotoxins represent a
441 risk to the zooplankton? The case study of *Daphnia magna* Straus exposed to hepatotoxic and
442 neurotoxic cyanobacterial extracts. *Harmful Algae* 31:143-152.
- 443 Ger K A, Urrutia-Cordero P, Frost P C, Hansson L-A, Sarnelle O, Wilson A E, Lüring M
444 (2016) The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world.
445 *Harmful Algae* 54:128-144.
- 446 Golterman H, Clymo R S, Ohnstad M A M (1971) Methods for physical and chemical
447 analysis of freshwaters. Blackwell Scientific Publications, IBP Handbook, Oxford.

- 448 Heathcote A J, Filstrup C T, Kendall D, Downing J A (2016) Biomass pyramids in lake
449 plankton: influence of Cyanobacteria size and abundance. *Inland Waters* 6:250-257.
- 450 Hillebrand H, Dürselen C, Kirschtel D, Pollinger U, Zohary T (1999). Biovolume
451 calculation for pelagic and benthic microalgae. *J Phycol* 35: 403-424.
- 452 Jeppesen E, Søndergaard M, Mazzeo N, Meerhoff M, Branco C, Huszar V, Scasso F (2005)
453 Lake restoration and biomanipulation in temperate lakes: Relevance for subtropical and 28
454 tropical lakes. In: Reddy M V (ed) *Restoration and Management of Tropical Eutrophic Lakes*,
455 Science Publishers.
- 456 Kâ S, Mendoza-Vera J M, Bouvy M, Champalbert G, N’Gom-Kâ R, Pagano M (2012) Can
457 tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria? *Hydrobiologia* 679:119-
458 138.
- 459 Koroleff F (1976) Determination of nutrients. In: Grasshoff K (ed) *Methods of seawater*
460 *analysis*, Verlag Chemie, Weinheim.
- 461 Kumar K, Mella-Herrera R A, Golden J W (2010) Cyanobacterial heterocysts. *Cold Spring*
462 *Harb Perspect Biol* 2:000315.
- 463 Kurmayer R, Jüttner F (1999) Strategies for the co-existence of zooplankton with the toxic
464 cyanobacterium *Planktothrix rubescens* em Lake Zürich. *J Plankton Res* 21:659-683.
- 465 Leflaive J Ten-Hage L (2007) Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters:
466 a comparison of allelopathic compounds and toxins. *Freshw Biol* 52:199-214.
- 467 Mackereth F J H, Heron J, Talling J F (1978) *Water analysis: Some revised methods for*
468 *limnologists*. Freshwater Biological Association Scientific Publication, Titus Wilson & Sons
469 Ltda, Kendall.
- 470 Naselli-Flores L, Padisák J, Albay M (2007) Shape and size in phytoplankton ecology: do
471 they matter? *Hydrobiologia* 578:157-161.
- 472 Oberhaus L, Gélienas M, Pinel-Alloul B, Ghadouani A, Humbert J-F (2007) Grazing of two
473 toxic *Planktothrix* species by *Daphnia pulex*: potential for bloom control and transfer of
474 microcystins. *J Plankton Res* 29:827-838.
- 475 Padisák, J, Soróczki-Pintér É, Reznér Z (2003) Sinking properties of some phytoplankton
476 shapes and the relation of form resistance to morphological diversity of plankton – an
477 experimental study. *Hydrobiologia* 500:243-257.
- 478 Panosso R, Carlsson P, Kozłowski-Suzuki B, Azevedo S M F O, Granéli E (2003) Effect of
479 grazing by a neotropical copepod, *Notodiaptomus*, on a natural cyanobacterial assemblage and
480 on toxic and non-toxic cyanobacterial strains. *J Plankton Res* 25:1169-1175.

- 481 Pinto-coelho R M (2004) Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de
482 biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. In: Bicudo C E M, Bicudo D C (eds)
483 Amostragem em limnologia, RiMa, São Carlos.
- 484 Rothhaupt K O (1990) Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens*
485 and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. *Limnol Oceanogr* 35:24–32.
- 486 Ruttner-Kolisko A (1977) Suggestions for biomass calculation of planktonic rotifers. *Archiv*
487 *fur Hydrobiologie* 8:71-77.
- 488 Soares M C S, Lürling M, Huszar V L M (2010) Responses of the rotifer *Brachionus*
489 *calyciflorus* to two tropical toxic cyanobacteria (*Cylindrospermopsis raciborskii* and
490 *Microcystis aeruginosa*) in pure and mixed diets with green algae. *J Plankton Res* 32:999-
491 1008.
- 492 Strickland J D, Parsons T R (1965) A manual of sea water analysis. Bulletin of the Fisheries
493 Research Board of Canada, 125:1-185.
- 494 Urrutia-Cordero P, Ekvall M K, Hansson L-A (2015) Responses of cyanobacteria to
495 herbivorous zooplankton across predator regimes: who mows the bloom? *60*: 960-972.
- 496 Urrutia-Cordero P, Ekvall M K, Hansson L-A (2016) Controlling harmful cyanobacteria:
497 taxa-specific responses of cyanobacteria to grazing by large-bodied *Daphnia* in a
498 biomanipulation scenario. *PLoS ONE* 11:e015303.
- 499 Utermöhl H (1958) Zur vervollkommer der quantitativen phytoplankton methodik. *Mitt Int*
500 *Ver Theor Angew Limnol* 9:1-38.
- 501 Vanderploeg H A, Paffenhöfer G-A, Liebig J R (1988) *Diaptomus* vs. net phytoplankton:
502 effects of algal size and morphology on selectivity of a behaviorally flexible, omnivorous
503 copepod. *Bull Mar Sci* 43:377-394.
- 504 Vareschi E, Jacobs J (1984) The ecology of Lake Nakuru (Kenya). 5. Production and
505 consumption of consumer organisms. *Oecologia* 61:83-98.
- 506 Vasconcelos V (2001) Cyanobacteria toxins: diversity and ecological effects. *Limnetica* 20:
507 45-58.
- 508 Wang X, Qin B, Gao G, Paerl H W (2010) Nutrient enrichment and selective predation by
509 zooplankton promote *Microcystis* (Cyanobacteria) bloom formation. *J Plankton Res* 32: 457-
510 470.
- 511 Weithoff G, Walz N (1995) Influence of the filamentous cyanobacterium *Planktothrix*
512 *agardhii* on population growth and reproductive pattern of the rotifer *Brachionus calyciflorus*.
513 *Hydrobiologia* 313/314:381-386.

514 Wilson A E, Sarnelle O, Tillmanns A R (2006) Effects of cyanobacterial toxicity and
515 morphology on the population growth of freshwater zooplankton: Meta-analyses of laboratory
516 experiments. *Limnol Oceanogr* 51:1915-1924.

517

518

519

520

521

522

523

524

525

526

527

528

529

530

531

532

533

534

535

536

537

538

539

540

541

542

543

544

545

546

547

CONSIDERAÇÕES FINAIS DA TESE

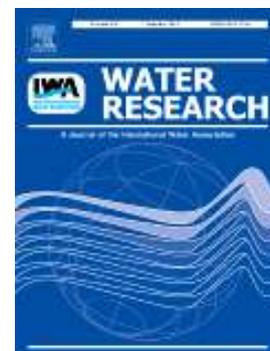
O aumento na biomassa zooplanctônica no reservatório Ipojuca não causou efeitos significativos sobre a biomassa das cianobactérias filamentosas formadoras de *blooms*. Isto sugere que a aplicação da biomanipulação no controle dessas espécies pode não ser efetiva. Por outro lado, houve a redução na biomassa de *Microcystis*, o que fornece a possibilidade de controlar a proliferação excessiva dessa cianobactéria. Outras espécies fitoplanctônicas também reduziram a biomassa na presença do zooplâncton, embora outras foram influenciadas positivamente, aumentando a biomassa, resultados que demonstram a importância do zooplâncton como modificador da estrutura da comunidade fitoplanctônica através do controle da biomassa das espécies algais palatáveis.

A concentração da cianotoxina microcistina total aumentou e reduziu nos diferentes intervalos de tempo avaliados no experimento e mostrou relação com o aumento da biomassa zooplanctônica. Em contrapartida, a saxitoxina não respondeu aos tratamentos testados, demonstrando que mais estudos são necessários para verificar o verdadeiro papel da produção das cianotoxinas.

O papel do zooplâncton como modificador do tamanho dos filamentos das cianobactérias variou entre redução, aumento e não interferência no tamanho médio dos filamentos. As cianobactérias espiraladas *Cylindrospermopsis raciborskii* (morfotipo espiralado) e *Dolychospermum* sp. aumentaram o tamanho dos filamentos nas maiores biomassas zooplanctônicas testadas, indicando que a morfologia espiralada pode funcionar como um mecanismo de defesa contra a herbivoria. Ainda sugerem que o zooplâncton pode atuar nos *blooms* dessas cianobactérias favorecendo o desenvolvimento dos filamentos de grande tamanho. Não foi observada relação entre a fragmentação dos filamentos das cianobactérias pelo zooplâncton e a produção de heterócitos. Contrariamente ao esperado, os heterócitos foram produzidos pelas cianobactérias filamentosas para manter o crescimento dos filamentos sob altas biomassas zooplanctônicas.

ANEXOS
(Normas das revistas)

Anexo I. Normas para os autores da revista **Water Research** (Qualis: A1; Impact factor: 5.528).



GUIDE FOR AUTHORS

PREPARATION

Use of word processing software It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor.

Article structure *Subdivision - numbered sections* Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line. Use line numbering throughout your paper. *Introduction* State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results. *Material and methods* Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described. *Results* Results should be clear and concise. Show only those experimental

results that are relevant to your objectives and conclusions and which you want to discuss.

Discussion This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. It should integrate your findings in a comprehensive picture and place them in the context of the existing literature. A combined Results and Discussion section can be appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature. For reviews the organisation of the paper can be different. It is however important that a review is more than a summary of the literature, an in-depth critical discussion is essential for acceptance of a review paper.

Conclusions Conclusions section is mandatory for this journal. Conclusions contain essentially the 'take-home' message of a paper. Conclusions are not an extension of the discussion or a summary of the results. Authors are advised to list important implications of their work in form of a bulleted list. Conclusions must not contain references to the cited literature. *Appendices* If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc. It is also possible to add supplementary information on-line (see below).

Essential title page information

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major message. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without

reference to the reference list. Also, abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. See <https://www.elsevier.com/graphicalabstracts> for examples. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: [Illustration Service](#).

Highlights Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). See <https://www.elsevier.com/highlights> for examples.

Keywords Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, avoid general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes. Use keywords that make your paper easy detectable for interested readers in literature databases. Repeating terms in the title is usually not needed.

Abbreviations Nomenclature must be listed at the beginning of the paper and must conform to the system of standard SI units. Acronyms and abbreviations must be spelled out in full at their first occurrence in the text. Authors should consult - "Notation for Use in the Description of Wastewater Treatment Processes", *Water Res.*1987;(21)2:135-9. In general, minimise the use of abbreviations so the paper remains easily understood by the general reader.

Acknowledgements Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Artwork Electronic artwork *General points* • Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork. • Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font. • Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times, Symbol. •

Number the illustrations according to their sequence in the text. • Use a logical naming convention for your artwork files. • Ensure that the figures can be understood without reading the text. Minimise use of abbreviations. • Produce images near to the desired size of the printed version. • For initial submission, figures can either be submitted next to the relevant text in the article or each figure can be submitted as a separate file. However, for revision, please ensure that you submit each figure as a separate file so that it can be used for production purpose if the manuscript gets accepted. A detailed guide on electronic artwork is available on our website: <http://www.elsevier.com/artworkinstructions> **You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.** *Formats* Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below): EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics". TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi. TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi. TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required. DOC, XLS, PDF or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is". **Please do not:** • Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document; • Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low; • Supply files that are too low in resolution; • Submit graphics that are disproportionately large for the content. *Color artwork* Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Figure captions Ensure that each illustration has a caption. Submit each caption directly below each figure. A caption should comprise a brief title (not on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used. The figure caption should be understandable independent of the text and abbreviations should be avoided.

Tables Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number

tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules. Minimise the use of symbols and abbreviations in the tables.

References *Citation in text* Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either 'Unpublished results' or 'Personal communication'. Citation of a reference as 'in press' implies that the item has been accepted for publication. Only cite the original papers and those relevant for the work, no need to give a full literature review in the introduction/discussion. A large fraction of self-citations is general an indication that the authors didn't place their work well in the literature context. *Reference links* Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged. *Web references* As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list. *References in a special issue* Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue. *Reference management software* Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles (<http://citationstyles.org>), such as Mendeley (<http://www.mendeley.com/features/reference-manager>) and Zotero (<https://www.zotero.org/>), as well as EndNote (<http://endnote.com/downloads/styles>). Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

[style/water-research](#) When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice. *Reference formatting* There are no strict requirements on reference formatting at submission. References can be in any style or format as long as the style is consistent. Where applicable, author(s) name(s), journal title/book title, chapter title/article title, year of publication, volume number/book chapter and the pagination must be present. Use of DOI is highly encouraged. The reference style used by the journal will be applied to the accepted article by Elsevier at the proof stage. Note that missing data will be highlighted at proof stage for the author to correct. If you do wish to format the references yourself they should be arranged according to the following examples:

Reference style References to published literature must be cited in the text as follows: Li and Gregory (2006) - the date of publication in parentheses after the authors' names. References must be listed together at the end of each paper and must not be given as footnotes. For other than review papers authors should aim to give no more than 20-30 recent, relevant references. They must be listed alphabetically starting with the surname of the first author, year followed by the title of the referenced paper and the full name of the periodical, as follows: Li, G., Gregory, J., 2006. Flocculation and sedimentation of high-turbidity waters. *Water Research* 25 (9), 1137-1143. It is particularly requested that (i) authors' initials, (ii) the title of the paper, and (iii) the volume, part number and first and last page numbers are given for each reference. References to books, reports and theses must be cited in the narrative. They must include the author(s), date of publication, title of book, editor(s) name(s) if applicable, page numbers, name of publisher, and place of publication. The abbreviation et al. may be used in the text. However, the names of all authors must be given in the list of references. Personal communications and other unpublished works must be included in the reference list, giving full contact details (name and address of communicator). Personal communications must be cited in the text as, for example, Champney (2006). References in languages other than English must be referred to by an English translation (with the original language indicated in parentheses). Citing and listing of web references. As a minimum, the full URL should be given. Any further information, if known (author names, dates, references to a source publication etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Supplementary material Supplementary material can support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Please note that such items are published online exactly as they are submitted; there is no typesetting involved (supplementary data supplied as an Excel file or as a

PowerPoint slide will appear as such online). Please submit the material together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. If you wish to make any changes to supplementary data during any stage of the process, then please make sure to provide an updated file, and do not annotate any corrections on a previous version. Please also make sure to switch off the 'Track Changes' option in any Microsoft Office files as these will appear in the published supplementary file(s). For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Database linking Elsevier encourages authors to connect articles with external databases, giving readers access to relevant databases that help to build a better understanding of the described research. Please refer to relevant database identifiers using the following format in your article: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN). See <https://www.elsevier.com/databaselinking> for more information and a full list of supported databases.

Interactive plots This journal enables you to show an Interactive Plot with your article by simply submitting a data file. For instructions please go to <https://www.elsevier.com/interactiveplots>.

Submission checklist The following list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item. **Ensure that the following items are present:** One author has been designated as the corresponding author with contact details: • E-mail address • Full postal address All necessary files have been uploaded, and contain: • Keywords • All figure captions • All tables (including title, description, footnotes) Further considerations • Manuscript has been 'spell-checked' and 'grammar-checked' • References are in the correct format for this journal • All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa • Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Internet) Printed version of figures (if applicable) in color or black-and-white • Indicate clearly whether or not color or black-and-white in print is required. For any further information please visit our customer support site at <http://support.elsevier.com>.

Anexo II. Normas para os autores da revista **Aquatic Microbial Ecology** (Qualis: A1; Impact factor: 2.109).



1. Manuscript length

The target length of Research Articles is approximately 10 printed pages (generally about 6000 words of body text). There are additional types of manuscripts that can be submitted with different page/word targets ([see Author guidelines](#)).

2. Title page

Title: The title should be concise and informative, i.e. summarizing either the subject or the most important findings of the study rather than merely the hypothesis addressed. It should have around 100 characters (ca. 15 words), and 150 characters at most (including spaces). Avoid 'A', 'An', 'The', 'On', etc. at the beginning.

Provide a **running page head** with 3 to 6 words; e.g. 'Detection of shrimp WSSV'.

Authors and addresses: If a manuscript has several authors from different institutions:

- use superscript numerals for identification;
- provide the address of each author's institution, identifying any present address(es) if applicable. Include zip or postal code but not street address or box number;
- use an asterisk (*) to refer to a footnote that identifies the single corresponding author and provide her/his e-mail.

Abstract: Limit length to 250 words. Provide concise information on your work, its significance and its principal results. Avoid literature cites, series of data, or meaningless clauses such as 'the results are discussed'.

Key words: Supply 3 to 8 key words, listed in order of importance.

3. Text

Please use continuously numbered pages and lines, 12 point font, and double spacing. Manuscripts that do not use correct English grammar, spelling and punctuation will be returned to authors without review; if you are not a native English speaker, you should have the text edited by someone who is, before submitting your manuscript.

You may also wish to consult a 'How to' book such as Day & Gastel (2011; How to write and publish a scientific paper, 7th edn. Greenwood Press, Santa Barbara, CA).

Verbosity: Please eliminate verbiage; example:

Verbose – 'The speed was chosen because past studies by Miller (1995) and Smith (1998) have shown this to be slightly greater than the maximum sustained swimming speed.'

Not verbose – 'The speed is slightly greater than the maximum sustained swimming speed (Miller 1995, Smith 1998).'

Verbose – 'It has been shown that boat noise affects whale behaviour (Smith 1994).' (and similar phrases such as 'it has been reported/found that', 'it is possible/suspected that', 'results show that')

Not verbose – 'Boat noise influences whale behaviour (Smith 1994).'

Genus and species names must be in italics; write the genus name in full at first mention in each section (Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion) and abbreviate whenever mentioned again in the same section. When referring to a species, do not use the genus name alone, unless you have previously defined it that way; be precise when using 'sp.' (singular) and 'spp.' (plural).

At first mention in a section – 'The filter feeding of blue mussels *Mytilus edulis* was examined'.

After first mention in a section – 'Filter feeding rates of *M. edulis* increased with increasing temperature.'

Sequence data: Full sequence information is required when molecular methods are used. The sequences of novel primers must be given. Novel nucleotide or protein sequences must be deposited in the GenBank, EMBL or DDBJ databases and an accession number obtained.

Abbreviations: Define abbreviations and acronyms in the Abstract and at first mention in the main text, and thereafter use only the abbreviation / acronym.

Equations and units: Use standard SI units. Relations or concentrations (e.g. mg per l) must be given as 'mg l⁻¹' (not mg/l). Variables are usually italicised (except for Greek letters). Italicisation should be consistent in normal, superscript and subscripted text. Example of proper spacing: 'p < 0.05, r² = 0.879' (not 'p<0.05, r²=0.879'); but: 'we studied organisms of size <0.5 μm'

Figures and tables

Please consult [Guidelines to Authors on Figure Preparation](#).

Figures, tables, and their captions should be self-explanatory; e.g. abbreviations and acronyms must be defined here. For table footnotes, use superscripted lower case letters; asterisks can be used to indicate statistical significance (must be defined in the legend).

4. Acknowledgement section

Declare all sources of funding of the study. In addition, you may wish to acknowledge any assistance you received from anyone not listed as author. Include this section before your Literature Cited.

5. Literature cited

All literature used in the text must be listed, and all listed literature must appear in the text, using Harvard (Name-Year) referencing style.

Format required for citing literature (examples):

Periodicals: Use standard abbreviations according to 'BIOSIS Serial Sources' or use the style for your selected journal in a reference managing software. A list of over 30000 journal names and BIOSIS abbreviations can be found [here](#). In addition, Endnote users may download styles for IR journals in this [zip file](#) for import into reference managing software.

- Dempster T, Holmer M (2009) Introductory editorial. *Aquacult Environ Interact* 1:1–5

Books: Write the title of the book in lower case, and give the publisher and place of publication. In the case of book series, give the series editor as well. Example:

- Hanski I (2005) The shrinking world: ecological consequences of habitat loss. In: Kinne O (ed) *Excellence in ecology*, Book 14. International Ecology Institute, Oldendorf/Luhe

Papers from books, conference reports, symposium proceedings, etc.: Give the title of the chapter, the editor(s) and title of the volume, the publisher and place of the publisher (not the location where the conference was held), and the pages of the chapter. The date cited must be the year of publication (not the year in which the conference was held). Example:

- West TL, Amrose WG (1992) Abiotic and biotic effects on population dynamics of oligohaline benthic invertebrates. In: Colombo G, Ferrari I, Ceccherelli VU, Rossi R (eds) *Marine eutrophication and population dynamics*. Proc 25th Eur Mar Biol Symp. Olsen & Olsen, Fredensburg, p 189–194

Dissertations: Write the title in lower case, the type of thesis / dissertation (e.g. MS / MSc / PhD), and give the university and its location. Example:

- Eve TM (2001) *Chemistry and chemical ecology of Indo-Pacific gorgonians*. PhD dissertation, University of California, San Diego, CA

Websites: Permanent databases such as FishBase, GenBank, or climatological sources may be included in the Literature Cited list; the access date must be given. URLs for printed publications also available online may be included with their citations. Example:

- Froese F, Pauly D (2009) FishBase. www.fishbase.org (accessed 13 Jan 2013)

Other website references should only be cited in the body text.

6. Final checklist

Please cross-check your manuscript using this list. Consult recent IR publications as a general guide for formatting:

- Include page numbers and continuous line numbers
- Ensure that abbreviations are defined at first mention in the abstract, main manuscript Included text and figure/table legends, and that the legends are informative

- Use periods instead of commas as decimal signs
- Correctly present your statistical results (e.g. include two sets of degrees of freedom for ANOVA results and significance/p-values of regressions)
- Cite all of the references in the text and vice versa
- Correctly label your figure axes with a title and a unit where applicable
- Create legible figures: i.e. large enough font size (at least 10 pt) with sufficient resolution for pdf viewing
- Prepare the manuscript (text, figures and tables) as a single file