**CRESCIMENTO DAS CIANOBACTÉRIAS Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing E *Geitlerinema amphibium* (C. Agardh ex Gomont) Anagnostidis EM ENSAIO EM MICROCOSMO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE TEMPERATURA E FOTOPERÍODO**

Samara Letícia dos Santos Pinto1; Gabriel dos Santos Moura2; Aline Lemos Gomes3; Vanessa Bandeira da Costa-Tavares4; Celly Jenniffer da Silva Cunha5, Eliane Brabo de Sousa6

1 Graduando em Ciências Biológicas Licenciatura. Instituto Evandro Chagas slsp0605@gmail.com

2 Graduando de Farmácia. Instituto Evandro Chagas. htgabriel45@gmail.com

3 Mestre em Ecologia Aquática e Pesca.Instituto Evandro Chagas. alinelemos@iec.gov.br

4 Mestre em Biologia Ambiental. Instituto Evandro Chagas.vanessacosta@iec.gov.br

5Mestre em Ecologia Aquática e Pesca.Instituto Evandro Chagas. cellycunha@gmail.com

6 Doutora em Saúde Coletiva. Instituto Evandro Chagas. elianesousa@iec.gov.br

**RESUMO**

Mudanças climáticas podem aumentam os riscos de eutrofização, a qual é a principal causa das florações de cianobactérias em rios e reservatórios, muitas das quais são tóxicas ao seres humanos. Este trabalho avaliou o desenvolvimento e o crescimento, através da clorofila- *a*, das cianobactérias Microcystis aeruginosa e *Geitlerinema amphibium* em ensaios de microcosmo, isoladas das águas do rio Pará próximas à região portuária de Vila do Conde (Barcarena, Pará), diante de cenários hipotéticos com temperaturas elevadas e fotoperíodos longos próximos às previsões de mudanças climáticas esperadas para o século 21. A cepa composta pelas duas espécies foi avaliada durante 30 dias em três tipos de experimentos: experimento 1 (temperatura de 15-25°C e fotoperíodo de 12h claro:12h escuro); experimento 2 (temperatura de 26-30°C e fotoperíodo de 12h claro:12h escuro); experimento 3 (temperatura de 30±5 °C e fotoperíodo de 24h). A cada três dias foram retiradas três amostras aleatórias de cada experimento, sendo 2 mL usados para observar o desenvolvimento da cepa e o restante do volume foi destinado a análise de clorofila- *a.* Temperaturas elevadas e modificações no fotoperíodo interferem diretamente no crescimento das cianobactérias, visto que os experimentos 2 e 3 apresentaram maiores concentrações de clorofila- *a* em todas as fases. Nos experimentos 2 e 3, a cianobactéria *G. amphibium* começou a aparecer a partir do 6° dia (T2) e dominou nos demais tempos formando emaranhados de filamentos longos que dissolveram a mucilagem de *M. aeruginosa* dispersando suas células. O domínio de *G. amphibium* sugere que temperaturas elevadas e fotoperíodo intenso ocasionados por mudanças climáticas vão selecionar futuramente a dominância de grupos de cianobactérias em ambientes aquáticos. Este estudo subsidiará pesquisas sobre a influência dos fatores climáticos (temperatura e fotoperíodo, por exemplo) sobre a produção de toxinas em cepas de cianobactérias.

**Palavras-chave:** Cianobactérias. Fotoperíodo. Temperatura.

**Áarea de Interesse do Simpósio**: Ecologia e Biodiversidade

**1. INTRODUÇÃO**

Muitas espécies de cianobactérias são formadoras de florações e produtoras de toxinas, sendo prejudiciais para o meio ambiente e a saúde pública. Entre essas espécies estão às pertencentes ao gênero *Microcystis,* o qual possui maior número de relatos de florações no mundo (MOWE et al., 2015).

O gênero *Microcystis* trata-se de organismo exclusivamente planctônico que ocorre em água doce e salobra com ampla distribuição pelo mundo (KOMÁREK; ANAGNOSTIDIS, 2008), onde já foram descritas 25 espécies. No Brasil ocorrem 12 espécies e no estado do Pará, Costa et al. (2014) reconheceram 11 espécies de *Microcystis*.

Espécies do gênero *Microcystis* produzem as microcistinas considerada a cianotoxina com maior ocorrência em todo mundo, onde são reconhecidas mais de 80 variantes. Nos mamíferos os efeitos tóxicos podem ser desde agudos (dermatites e parada respiratória) a crônicos (tumores), podendo causar morte num intervalo de poucas horas a poucos dias (MOLICA; AZEVEDO, 2009).

Por outro lado, *Geitlerinema* pertence ao bento, mas tem sido citada na composição do plâncton de reservatório de abastecimento de todo o Brasil (WERNER et al., 2015), incluindo na Amazônia, onde Sousa (2017) identificou no reservatório de abastecimento de Belém e Cunha (2013) no lago de Tucuruí (Pará), a qual registrou altas densidades destes organismos. Atribui-se a *Geitlerinema* a produção de análogos de saxitoxinas que são neurotóxicas com ação aguda nos organismos (BORGES, 2013).

Alguns estudos têm sugerido que as mudanças climáticas, como o aquecimento global, aumentam os riscos de eutrofização, a qual é a principal causa das florações de cianobactérias. O aquecimento global eleva a temperatura, consequentemente a evaporação da água, e diminui a diluição dos insumos de nutrientes para os rios e lagos (CHARLTON et al., 2017). Também temperaturas mais elevadas aumentam a taxa dos processos biológicos e químicos (em particular, aumentam as taxas de crescimento de algas e ciclagem de nutrientes) (BOWES et al., 2012).

Alguns estudos em microcosmo avaliam os efeitos da temperatura, irradiância, interação microbiológica, ferro, manganês, luminosidade e nutrientes sobre as populações de cianobactérias com a finalidade de identificar os principais fatores que desencadeiam as florações e a produção de toxinas por estes organismos (El-SHEHAWY et al., 2012; ). Alguns ensaios também investigam a relação da luminosidade, temperatura, UV sobre as cianobactérias na tentativa de inferir sobre os efeitos das mudanças climáticas sobre estes organismos (JACINAVICIUS, 2010; RASTOGI; MADAMWAR; INCHAROENSAKDI, 2015).

Este trabalho avalia o desenvolvimento e o crescimento, através das concentrações de clorofila- *a*, das cianobactérias Microcystis aeruginosa e *Geitlerinema amphibium,* em ensaios de microcosmo, isoladas nas águas do rio Pará próximas à região portuária de Vila do Conde (Barcarena, Pará) diante de cenários hipotéticos com temperaturas elevadas e fotoperíodos longos próximos às previsões de mudanças climáticas esperadas para o século 21.

**2. MATERIAL E MÉTODOS**

2.1 ÁREA DE ESTUDO

O rio Pará é um estuário sem nascente definida e que possui aproximadamente 500 m de largura e 170 Km de extensão. Localiza-se na Região Norte do Brasil (estado do Pará) e recebe a contribuição de rios menores tais como Anapu- Pacajá, Jacundá, Araticu, Cupijó, Tocantins, Moju, Acará e Guamá seu início é na baía das Bocas (delta de Boiuçu/Breves) e segue até o oceano Atlântico. O Porto de Vila do Conde (município de Barcarena) localiza-se à margem direita do Rio Pará, a uma distância fluvial de 55 km de Belém, integrando o Complexo Portuário Industrial de Vila do Conde.

O clima da região é do tipo Af1 de Köppen com temperatura variando de 31,5 °C a 33,1°C, umidade relativa do ar acima de 78% e ventos predominantes de leste e nordeste com variação de 4 a 7 km/h. A precipitação anual varia entre 2.769,4 a 3.775,6 mm com período mais chuvoso de dezembro a maio e o menos chuvoso de junho a novembro (INMET, 2018).

2.2 CEPAS ESTUDADAS: COLETA E ISOLAMENTO

As cianobactérias *M. aeruginosa/G.amphibium* foram isoladas de amostras do Rio Pará em março/2018. A cepa foi cultivada em meio BG-11 (RIPPKA, 1979) em elenmeyer de 250 ml estéril e foi mantida em câmaras de cultivo e crescimento (Humidity, Panasonic) sob condições controladas de temperatura (23 ± 4°) irradiando 40-50 µnd fótons m-¹s-² e fotoperíodo de 12h claro; 12h escuro.

2.3 CONTROLE E TRATAMENTO

A partir da cepa de *M. aeruginosa/G.amphibium* foram construídos três experimentos (Figura 1): Experimento 1 (ou controle): 30 tubos de ensaios de 20 mL, contendo 10 ml de meio BG-11 e 3 mL da cepa, cada, mantidos em câmara de crescimento sob condições controladas de temperatura (15-25°C) e fotoperíodo 12h claro:12h escuro. Condições compatíveis com ambiente do Rio Pará (INMET, 2018); Experimento 2: 30 tubos de ensaios de 20 mL contendo 10 mL de meio BG-11 e 3 mL de cepa, cada, mantidos em câmara de crescimento sob condições controladas de temperatura (26-30°C) e fotoperíodo 12h claro:12h escuro. Este experimento simula condições de temperaturas elevadas em um possível cenário de mudanças climáticas com o aumento da temperatura e da exposição de luz nos ecossistemas aquáticos; Experimento 3: 30 tubos de ensaios de 20 mL contendo 10 mL de meio BG-11 e 3 mL de cepa, cada, mantidos em câmara de crescimento sob condições controladas de temperatura (30±5 °C) e fotoperíodo de 24h. Este experimento simula condições de estresse ambiental com temperaturas elevadas e fotoperíodo constante acima das previsões mais críticas de mudanças climáticas para o século 21 conforme o relatório do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas- IPCC (2014).

2.4 DETERMINACAO DAS CURVAS DE CRESCIMENTO

A cada três dias foram retiradas três amostras aleatórias de cada experimento, sendo 2 mL usados para observar o desenvolvimento da cepa e o restante do volume foi destinado a análise de clorofila- *a* segundoParsons e Strickland (1963).

Figura 1. Fotos do experimento com cepa de *M. aeruginosa/G. amphibium* isoladas do Rio Pará (Barcarena, Pará).



Legenda: T1: tempo 1, após os três primeiros dias; T2: tempo 2, após os seis primeiros dias; T3: tempo 3, após nove dias; T4: tempo 4, após 12 dias; T5: tempo 5, após 15 dias; T6: tempo 6, após 18 dias; T7: tempo 7, após 21 dias; T8: tempo 8, após 24 dias; T9: tempo 9, após 27 dias e T10: tempo 10, após 30 dias. Fonte: Moura et al., (2018).

**3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A curva de crescimento do experimento 1 apresentou 3 fases. A fase de latência que ocorreu no 3° dia (T1), a fase exponencial que ocorreu entre o 6° (T2) e 18° dia (T6), com uma média de clorofila- *a* 743,9 µg.L-1, e a fase de estabilização que ocorreu entre 21° dia e o 30° dia (T10) com média de1396,7 µg.L-1 (Figura 2 A). O experimento 2 apresentou duas fases: a fase de latência no 3° dia (T1) e a fase exponencial que começou do 6° dia (T2) e alcançou o 27° dia (T9) com concentrações média de 1632,9 µg.L-1. No 30° dia (T10) iniciou o período de estabilização. Neste caso, seriam necessários mais dias de observação para visualizar as demais fases (Figura 2B). No experimento 3 também se verificou duas fases: fase de latência, no 3° dia (T1) e a fase exponencial do 6° (T2) ao 30° dia (T10), a qual apresentou concentrações médias de clorofila- *a* de2118,5µg.L-1 (Figura 2C).

Figura 2. Curva de crescimento (média e barras de desvio padrão) da cepa *M. aeruginosa/G. amphibium* em meio BG-11 em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. **A**- experimento 1; **B**- experimento 2 e **C**- experimento 3.





Fonte: Moura et al. (2018).

Pode-se inferir que temperaturas elevadas e modificações no fotoperíodo interferem diretamente no crescimento das cianobactérias, visto que os experimentos 2 e 3 apresentaram maiores crescimentos em todas as fases. Jacinavicius (2010) verificou que *M. aeruginosa* cresceu mais em condições de elevadas temperaturas (30°C), porém esse crescimento foi expresso em biovolume, sendo a clorofila- *a* estatisticamente similares entre baixas e altas temperaturas. O maior crescimento de *M. aeruginosa* em temperaturas mais elevadas também foi observado por Imai et al. (2009).

No presente estudo, foi observado que *G. amphibium* assumiu a dominância na cepa em diferentes tempos entre os três experimentos. No experimento 1 só foi possível verificar este organismo no 15° dia (T5), dominando a cepa a partir do 18° dia (T6). Já nos demais experimentos, *G. amphibium* começou a aparecer a partir do 6° dia (T2) e dominou nos demais tempos formando emaranhados de filamentos longos que dissolveram a mucilagem de *M. aeruginosa* dispersando suas células (Figura 3).

O domínio de *G. amphibium* nos experimentos 2 e 3 sugere que temperaturas elevadas e fotoperíodo intenso ocasionados por mudanças climáticas futuras vão selecionar a dominância de grupos de cianobactérias em ambientes aquáticos como sugerido por Berner et al. (2018) quando analisaram o desenvolvimento de cianobactérias sob diferentes condições de temperatura, em ensaio microcosmo, os quais observaram que temperaturas mais altas elevaram a biomassa de cianobactérias filamentosas não fixadoras de nitrogênio, grupo no qual se enquadra *G. amphibium.*

O fotoperíodo tende a selecionar espécies mais adaptadas a períodos de intensa exposição de luz como *G. amphibium* que é uma espécie adaptada a ambientes de sombra, mas que por motivos, não esclarecido no presente estudo, floresceu quando exposto intensamente a luz. Embora não seja conclusivo já se tende a aceitar, pela comunidade científica, que as mudanças climáticas trarão novos desafios para a humanidade em busca de fontes seguras de água para o abastecimento (SOUSA, 2017) e este estudo contribui para identificar a influência dos fatores temperatura e fotoperíodo sobre a biomassa e a composição das cianobactérias, sugerindo estudos mais aprofundados.

Figura 3. Desenvolvimento da cepa *M. aeruginosa/G. amphibium* em meio BG-11 em diferentes condições de temperatura e fotoperíodo. A- C: cepa durante 3° dia (T1), respectivamente nos experimentos 1, 2 e 3 (domínio de *M. aeruginosa*);D- F: cepa durante o 9° dia (T3), respectivamente nos experimentos 1, 2 e 3 (nota-se a ausência de *G. amphibium* no experimento 1); G- I: cepa durante 18° dia (T6), respectivamente nos experimentos 1, 2 e 3 (as cepas dominadas por *G. amphibium*); J-M: cepa no 30° dia (T10), respectivamente nos experimentos 1, 2 e 3 com o rompimento das colônia de *M. aeruginosa*.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **A** | **B** | **C** |
|  |  |  |
| **D** | **E** | **F** |
|  |  |  |
| **G** | **H** | **I** |
|  |  |  |
| **J** | **L** | **M** |
|  |  |  |

Fonte: Moura et al. (2018).

**4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A biomassa das cianobactérias aumentou nas condições de altas temperaturas e elevado fotoperíodo, sugerindo que nas condições de mudanças climáticas futuras essas espécies poderiam aumentar suas densidades promovendo florações em ambientes aquáticos eutrofizados. Por outro lado, os experimentos 2 e 3 sugerem uma mudança rápida na composição das cianobactérias com o domínio de *G. amphibium*. Portanto, recomenda-se (1) estudos em microcosmo que determinem qual o fator (temperatura ou fotoperíodo) é mais relevante para o crescimento das cianobactérias; (2) estudos para identificar a influência dos fatores estudados sobre a produção de toxinas nesta cepa; (3) estudar melhor *G. amphibium* tanto em microcosmo quanto em ambientes naturais para identificar o comportamento ecológico desta espécies em rios amazônicos.

**REFERÊNCIAS**

BERNER C. et al. Response of Microbial Communities to Changing Climate Conditions During Summer Cyanobacterial Blooms in the Baltic Sea. **Front Microbiol**.v. 25; n. 9, p.01562, 2018.

BORGES, H. L.F. **Avaliação da produção de toxinas por cianobactérias bentônicas e perifíticas**. 2013. 94 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ecologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

BOWES, M. J. et al. Spatial and temporal changes inchlorophyll-a concentrations in the River Thames basin, UK: are phosphorus concentrations beginning to limit phytoplankton biomass? **Science of the Total Environment**, v. 1, n. 426, p. 45-55, 2012.

CHARLTON, M. B. et al. Mapping eutrophication risk from climate change: Future phosphorus concentrations in English Rivers. **Science of the Total Environment**, v. 613-614, p. 1510-1526, 2017.

COSTA, S. D. et al. **Algas e cianobactérias continentais no estado do Pará, Brasil***.* Embrapa Amazônia Oriental, Belém, 2014. 351 p.

CUNHA, C. J. S. **Variação espacial e temporal do fitoplâncton do reservatório da usina hidrelétrica de Tucuruí - Pará**. Dissertação. 119 f. 2013. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aquática e Pesca) – Universidade Federal do Pará, 2013.

El-SHEHAWY, R. et al. Global warming and hepatotoxin production by cyanobacteria: what can we learn from experiments? **Water Researsh**, v. 46, n. 5, p. 1420-1429, 2012.

HÄDER D.P., Gao K. Interactions of anthropogenic stress factors on marine phytoplankton.Front. Environ. Sci. v.3, n.14, p.10.3389/fenvs.2015.00014, 2015.

IMAI, H. et al. Temperature-dependent dominance of *Microcystis* (Cyanophyceae) species: *M. aeruginosa* and M. *wesenbergii.* **Journal of Plankton Research**, v.31, n. 2, p.171-178, 2009.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA (INMET). **Dados da Rede INMET.** Dados Históricos. 2015. Disponível em: < http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>. Acesso em: 20 de Jan. 2018.

IPCC. Synthesis Report. Summary for Policymakers. In: IPCC. **Climate Change** 2014.

JACINAVICIUS, F. R. **Efeitos da temperatura, irradiância e competição no crescimento e na produção de cianotoxinas da cepa SPC777 – *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (Cyanobacteria).** Dissertação 80 f. 2010. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Instituto de Botânica da Secretaria de Estado do Meio Ambiente, 2010.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprocaryota 1. Teil: Chroococcales. In: MOESTRUP, Ø.; CALADO, A. **Süßwasserflora von Mitteleuropa freshwater flora of central Europa**. Berlim: Spektrum Akademischer Verlag, 2008. 548 p.

MOLICA, R.; AZEVEDO, S. Ecofisiologia de cianobactérias produtoras de cianotoxinas.**Oecologia Brasiliensis**, v. 13, n. 2, p. 229-246, 2009.

MOWE, M. A. D. et al. Tropical cyanobacterial blooms: a review of prevalence, problem taxa, toxins and influencing environmental factors. **J. Limnol***.* v. 74, n. 2, p. 205-224. 2015.

PARSONS, T. R.; STRICKLAND, J. D. H. Discussion of spectrophotometric determination of marine planckton pigments with revised equations of ascertaining clorophyll a and carotenoids. **Journal of Marine Research**, v. 21, n. 3, p. 155-163, 1963.

RASTOGI, R. P.; INCHAROENSAKDI, A.; MADAMWAR, D. Responses of a rice-field cyanobacterium Anabaena siamensis TISTR-8012 upon exposure to PAR and UV radiation. **Journal of Plant Physiology**, v. 171, n. 16, p. 1545-1553, 2015.

RIPPKA, R. Isolation and purification of Cyanobacteria. In: PACHER, L.; GLAZER, A. N. (Ed.). Cyanobacteria methods in enzymology. **Blackwell**, v. 167, p. 3-27, 1979.

SOUSA, E. B. de. **Fatores ambientais reguladores da dinâmica do fitoplâncton e das cianobactérias dos mananciais de abastecimento da região metropolitana de Belém, Pará.** Tese 2235 f. 2017. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva)- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, 2017.

WERNER, V. R. et al. **Cyanophyceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/ jabot/floradobrasil/FB98990>. Acesso em: 11 jan. 2015.