



REDE COOPERATIVA DE PESQUISAS

**Manual para estudo de cianobactérias
planctônicas em mananciais
de abastecimento público:
caso da represa Lomba do Sabão
e lago Guaíba, Porto Alegre,
Rio Grande do Sul**

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES DA INTRA-REDE
IPH/UFRGS - DMAE/PMPA - MCN/FZB



APRESENTAÇÃO

Esta publicação é um dos produtos da Rede de Pesquisas sobre o tema do Programa de Pesquisas em Saneamento Básico PROSAB - Edital 04, coordenada pelo Prof. Valter Lúcio de Pádua da UFMG.

O PROSAB visa ao desenvolvimento e aperfeiçoamento de tecnologias nas áreas de águas de abastecimento, águas residuárias (esgoto), resíduos sólidos (lixo e biossólidos lodos) que sejam de fácil aplicabilidade, baixo custo de implantação, operação e manutenção, bem como visem à recuperação ambiental dos corpos d'água e à melhoria das condições de vida da população, especialmente as menos favorecidas e que mais necessitam de ações nessas áreas.

Até o final de 2005, foram lançados quatro editais do PROSAB, financiados pela FINEP, pelo CNPq e pela CAIXA, contando com diferentes fontes de recursos, como BID, Tesouro Nacional, Fundo Nacional de Recursos Hídricos (CT-HIDRO) e recursos próprios da Caixa. A gestão financeira compartilhada do PROSAB viabiliza a atuação integrada e eficiente de seus órgãos financiadores que analisam as solicitações de financiamento em conjunto e tornam disponíveis recursos simultaneamente para as diferentes ações do programa (pesquisas, bolsas e divulgação), evitando a sobreposição de verbas e tornando mais eficiente a aplicação dos recursos de cada agência.

Tecnicamente, o PROSAB é gerido por um grupo coordenador interinstitucional, constituído por representantes da FINEP, do CNPq, da CAIXA, do Ministério das Cidades, das universidades, da associação de classe e das companhias de saneamento. Suas principais funções são: definir os temas prioritários a cada edital; analisar as propostas, emitindo parecer para orientar a decisão da FINEP e do CNPq; indicar consultores *ad hoc* para avaliação dos projetos; e acompanhar e avaliar permanentemente o programa.

O Programa funciona no formato de redes cooperativas de pesquisa formadas a partir de temas prioritários lançados a cada Chamada Pública. As redes integram os pesquisadores das diversas instituições, homogeneizam a informação entre seus integrantes e possibilitam a capacitação permanente de instituições emergentes. No âmbito de cada rede, os projetos das diversas instituições têm interfaces e enquadram-se em uma proposta global de estudos, garantindo a geração de resultados de pesquisa efetivos e prontamente aplicáveis no cenário nacional. A atuação em rede permite, ainda, a padronização de metodologias de análises, a constante difusão e circulação de informações entre as instituições, o estímulo ao desenvolvimento de parcerias e a maximização dos resultados.

As redes de pesquisas são acompanhadas e permanentemente avaliadas por consultores, pelas agências financiadoras e pelo Grupo Coordenador, através de reuniões periódicas, visitas técnicas e Seminários anuais.



Os resultados obtidos pelo PROSAB estão disponíveis através de manuais, livros, artigos publicados em revistas especializadas e trabalhos apresentados em encontros técnicos, teses de doutorado e dissertações de mestrado publicadas. Além disso, várias unidades de saneamento foram construídas nestes últimos anos por todo o país e, em maior ou menor grau, utilizaram informações geradas pelos projetos de pesquisa do PROSAB

Além de seu portal (www.finep.gov.br/prosab/index.html), a divulgação do PROSAB tem sido feita através de artigos em revistas da área, da participação em mesas-redondas, de trabalhos selecionados para apresentação em eventos, bem como pela publicação de porta-fólios e folders contendo informações sobre os projetos de cada edital.





GRUPO COORDENADOR DO PROSAB

Jurandyr Povinelli - SAE/SC e EESC
saaegabi@terra.com.br, jpovinel@sc.usp.br

Cícero O. de Andrade Neto - UFRN
cicero@ct.ufrn.br

Deíza Lara Pinto - CNPq
dlara@cnpq.br

Marcos Helano Montenegro - Ministério das Cidades
marcos.montenegro@idades.gov.br

Sandra Helena Bondarowsky - CAIXA
sandra.bondarowsky@caixa.gov.br

Jeanine Claper - CAIXA
jeanine.claper@caixa.gov.br

Anna Virgínia Machado - ABES
annavirginia.abes@gmail.com

Ana Maria Barbosa Silva - FINEP
anamaria@finep.gov.br

Célia Maria Poppe de Figueiredo - FINEP
cmfigue@finep.gov.br

O edital 4 do PROSAB foi financiado pela FINEP, CNPq e CAIXA com as seguintes fontes de recursos: Fundo Setorial de Recursos Hídricos e Recursos Ordinários do Tesouro Nacional do Fundo Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico e Caixa Econômica Federal.



REDE DO EDITAL 4

COORDENADORES

Valter Lúcio de Pádua (coordenador da rede)
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
Universidade Federal de Minas Gerais

Luiz Di Bernardo
Departamento de Hidráulica e Saneamento da
Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo

Maurício Luis Sens
Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental
Universidade Federal de Santa Catarina

Cristina Célia Silveira Brandão
Departamento de Engenharia Civil e Ambiental
da Universidade de Brasília

Luiz Fernando Cybis
Instituto de Pesquisas Hidráulicas
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

José Carlos Mierzwa
Escola Politécnica da Universidade de São Paulo

Edson Pereira Tangerino
Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira

CONSULTORES

Beatriz Susana Ovruski de Ceballos - UFCG
Carlos Gomes da Nave Mendes - UNICAMP



Luiz Fernando Cybis
Maria Mercedes Bendati
Carmem Rosalia Marodin Maizonave
Vera Regina Werner
Carolina Davila Domingues

**Manual para estudo de cianobactérias
planctônicas em mananciais
de abastecimento público:
caso da represa Lomba do Sabão
e lago Guaíba, Porto Alegre,
Rio Grande do Sul**

Porto Alegre - RS
2006

Copyright © 2006 ABES - RJ

1ª edição: 1500 exemplares.

CTP e impressão:

Gráfica Editora Editora Palotti

Diagramação e editoração eletrônica:

Jorn. José Antonio Meira da Rocha RPMT 5059.

joseantoniorocha@gmail.com

Manual para estudo de cianobactérias planctônicas em
mananciais de abastecimento público: caso da represa
Lomba de Sabão e lago Guaíba, Porto Alegre, Rio Grande
do Sul. Rio de Janeiro : ABES, 2006. 64p. 1 il.

ISBN 85-7022-153-3

1 Recursos Hídricos 2 Microbiologia

I. Cybis, Luiz Fernando II. Bendati,
Maria Mercedes III. Maizonave, Carmem
Rosalia Marodin IV. Werner, Vera R.
V. Domingues, Carolina Davila

CDU 574

AUTORES

Luiz Fernando Cybis

Possui graduação em Engenharia Civil pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1980), mestrado em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental pelo Instituto de Pesquisas Hidráulicas (IPH) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (1987) e doutorado em Public Health Engineering, pela The University of Leeds (1993). Professor adjunto do IPH da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, onde exerce atualmente a direção. Tem experiência na área de Engenharia Sanitária e Ambiental, atuando principalmente nos seguintes temas: reator seqüencial em batelada, lodos ativados, eutrofização, qualidade das águas e floração de algas. Participa do Comitê de Gerenciamento da Bacia Hidrográfica do Lago Guaíba (RS), sendo atualmente o seu presidente.

Maria Mercedes Bendati

É bacharel e licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com mestrado em Ecologia na mesma universidade. Foi bolsista do DAAD, realizando curso de pós-graduação em Biogeografia e Avaliação Ambiental, pela Universität des Saarlandes, Alemanha. Tem atuado nos últimos anos na área de saneamento, em especial no monitoramento de mananciais e em problemas biológicos relacionados, como florações de cianobactérias e espécies invasoras (mexilhão-dourado). Foi vice-presidente do Comitê de Gerenciamento da Bacia Hidrográfica do Lago Guaíba durante três gestões. Atualmente exerce atividades junto à Coordenadoria Geral de Vigilância em Saúde, da Secretaria Municipal de Saúde, da Prefeitura de Porto Alegre.

Carmem Rosalia Marodin Maizonave

Bióloga, formada pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, especialista em Ecologia Humana pela Universidade do Rio dos Sinos e especialista em Sistemas e Tratamento de Esgotos Sanitários pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Atua há vários anos na área de hidrobiologia aplicada ao saneamento, com ênfase no estudo do fitoplâncton e cianobactérias, junto a Divisão de Pesquisa do Departamento Municipal de Água e Esgotos de Porto Alegre (DMAE).

Vera Regina Werner

É bióloga formada pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Doutora em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista - Rio Claro, SP, pesquisadora do

Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (MCN/FZBRS). Especialista em taxonomia de cianobactérias, dedicando-se principalmente ao conhecimento das espécies sul-rio-grandenses. É autora de trabalhos científicos publicados em revistas nacionais e internacional, além de capítulo de livro, manual e de trabalhos apresentados em congressos nacionais e internacionais. Tem orientado estudantes em diferentes níveis e assessorado técnicos de instituições responsáveis pela qualidade da água e de vigilância sanitária do RS. Ministra cursos e treinamentos práticos em taxonomia de cianobactérias. Participa também de projetos de pesquisas desenvolvidos pela equipe da Seção de Botânica do MCN/FZBRS e de atividades de Educação Ambiental promovidas pela FZBRS. Além disso, presta assessoria para revistas científicas nacionais e internacionais.

Carolina Davila Domingues

Graduanda do curso de Ciências Biológicas na Universidade do Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS). Foi bolsista PIBIC-FAPERGS/MCN-FZBRS e atualmente é estagiária na Seção de Botânica de Criptógamas do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, dedicando-se ao estudo das cianobactérias, com ênfase à taxonomia do grupo.

SUMÁRIO

Prefácio	13
1. Introdução	15
2. Monitoramento de cianobactérias e cianotoxinas para atendimento da Portaria MS nº 518/2004	17
3. Métodos de coleta e análises de cianobactérias	27
4. Cianobactérias planctônicas na represa Lomba do Sabão e no lago Guaíba	33
Referências	59
Glossário	63

PREFÁCIO

Tenho a honra e o prazer de apresentar este manual, lançado em momento oportuno para atender uma necessidade sentida no domínio da engenharia sanitária e de saúde pública, em face da dificuldade de encontrar publicação semelhante em língua portuguesa e referente as características ambientais do Brasil.

O risco da ocorrência de cianobactérias com a conseqüente liberação de cianotoxinas em níveis inaceitáveis, ronda os mananciais de abastecimento e as estações de tratamento de água de todo o Brasil. Atualmente já se sabe que a presença de cianobactérias não ocorre apenas em águas poluídas ou eutrofizadas. Há registro de florações importantes em reservatórios considerados de baixo risco até recentemente.

A vigilância da qualidade da água dos nossos mananciais é uma questão de saúde pública das mais importantes e não pode descuidar da investigação da ocorrência de cianobactérias, mas para isso é fundamental que se disponha de um manual de fácil consulta e compreensão. É nesse contexto que se destaca a importância da publicação deste manual.

O manual resultou do esforço dos pesquisadores do Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, do Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre e do Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, no âmbito do PROSAB – Programa de Pesquisa em Saneamento Básico, que é fomentado e apoiado por uma ação conjunta coordenada pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) do Ministério de Ciência e Tecnologia, com o Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) do Ministério da Educação e Cultura, a Caixa Econômica Federal (CAIXA), o Fundo Setorial de Pesquisa em Recursos Hídricos (CT-Hidro), e a Associação Brasileira de Engenharia Sanitária e Ambiental (ABES), que por isso são merecedores de elogios.

Alem da introdução, o manual tem capítulos dedicados ao monitoramento, a coleta e análise e a classificação de cianobactérias, e um glossário. O capítulo de classificação das cianobactérias, embora elaborado especificamente com base nas observações dos mananciais estudados, servirá sem dúvidas como fonte de consulta importante para trabalhos semelhantes em outros mananciais. Constitui um verdadeiro atlas das principais cianobactérias que ocorrem nos mananciais de Porto Alegre, mas que também são comuns em outros locais

do Brasil. É ricamente ilustrado com fotos e contém chave de identificação, principais características, dimensões das células e comentários esclarecedores com informações complementares que certamente ajudarão a muitos na tarefa de observar e identificar esses organismos.

É um manual prático. A idéia dos autores é disponibilizar o manual para as Empresas de Saneamento, para uso do setor responsável pelo acompanhamento hidrobiológico dos mananciais de abastecimento de água, mas também esperam que sirva de fonte de consulta para outros técnicos, alunos, estudiosos e pesquisadores.

Que se faça bom proveito, para mais bem proteger a saúde pública.

Natal, setembro de 2006.

Cícero Onofre de Andrade Neto

Professor da Universidade Federal
do Rio Grande do Norte

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, em diversos locais do Brasil, tem ocorrido um aumento expressivo de florações de cianobactérias, com a presença de cianotoxinas e outros compostos, incluindo substâncias causadoras de gosto e odor. Especificamente, no Rio Grande do Sul, na Bacia Hidrográfica do Lago Guaíba, que inclui parte da Região Metropolitana de Porto Alegre, estas florações têm ocorrido com uma frequência cada vez maior, colocando em alerta as autoridades da saúde pública e àquelas responsáveis pelo abastecimento de água.

Em resposta a esta conjuntura, o Programa de Pesquisa em Saneamento Básico (PROSAB), dedica o Tema 1 do seu Edital 4 ao “Tratamento de águas superficiais visando a remoção de microalgas, cianobactérias e microcontaminantes orgânicos potencialmente prejudiciais à saúde”.

Para desenvolver esta temática, foi formada uma rede de pesquisa que incluiu sete instituições: Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo (EESC/USP), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Universidade de Brasília (UnB), Universidade Estadual de São Paulo/Ilha Solteira (UNESP/SP), Universidade de São Paulo (USP/SP) e o Instituto de Pesquisas Hidráulicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (IPH/UFRGS). O IPH/UFRGS, por sua vez, organizou-se em uma intra-rede para o desenvolvimento das suas pesquisas, sendo esta composta, além do IPH/UFRGS, pelo Departamento Municipal de Água e Esgoto de Porto Alegre (DMAE), através de sua Divisão de Pesquisa e pelo Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (MCN-FZB/RS).

Dentre os objetivos da pesquisa desta intra-rede citam-se: 1) estudos de tratabilidade para remoção de cianobactérias e de cianotoxinas dissolvidas, envolvendo coagulação, floculação, sedimentação, adição de carvão ativado pulverizado e oxidação com ferrato (VI) de potássio e hipoclorito de sódio; 2) estudos de correlações entre pigmentos, número e massa de células, para a sua utilização no monitoramento de florações de cianobactérias; 3) aplicação de modelo de simulação para fins de gestão dos aportes de nutrientes de bacias hidrográficas; e 4) monitoramento de mananciais com problemas de florações algais e de cianobactérias.

Como comentado anteriormente, faz parte da filosofia do PROSAB a adoção de técnicas simples e de fácil utilização. No caso da identificação das cianobactérias, esses princípios não se cumprem.

Durante o desenvolvimento destas linhas de pesquisa, sempre que se tornou necessário proceder a observação microscópica das cianobactérias, a dificuldade era uma constante, principalmente na identificação destes organismos. Estas mesmas manifestações foram corroboradas pelos técnicos das companhias de saneamento. Essas dificuldades estão relacionadas principalmente à complexidade taxonômica do grupo e às técnicas de observação propriamente ditas, além da carência de material bibliográfico acessível.

Codd et al. (1999) no guia da Organização Mundial da Saúde (OMS) para cianobactérias presentes em água, destacam que o monitoramento corriqueiro dos mananciais de abastecimento não deve requerer um treinamento sofisticado em taxonomia, por parte dos técnicos de companhias de saneamento que realizam essa atividade. Na maioria das vezes, a identificação em nível de gênero já é suficiente, e que esta deve ser ainda focada na região de ocorrência. Na opinião destes autores, somente nos casos em que é fácil a identificação em nível de espécie e, onde isto é importante, deve este procedimento ser levado a cabo. Nas suas observações, permanece a necessidade da consulta a especialistas no assunto, como uma forma de controle de qualidade.

Dentro deste contexto, este grupo de pesquisa entendeu oportuno produzir um manual que auxilie os técnicos responsáveis pelos sistemas de abastecimento público de água nos procedimentos de monitoramento e identificação de cianobactérias. Tendo como base os conhecimentos gerados nos projetos de pesquisa do PROSAB, o foco deste manual está nas cianobactérias mais representativas dos mananciais de abastecimento público de água para a cidade de Porto Alegre – a represa Lomba do Sabão e o lago Guaíba.

Para complementar este manual serão abordados os procedimentos de coleta e identificação dos organismos, assim como os procedimentos sobre o monitoramento das cianobactérias para atender a legislação pertinente.

Para classificação destes organismos foi elaborada chave de identificação até nível de espécie. Também para auxiliar na identificação das espécies foi realizado o seu registro fotográfico, complementado com as principais características morfológicas e métricas, além de comentários mais específicos.

Este manual foi desenvolvido tendo-se em mente, principalmente, os técnicos responsáveis pela qualidade da água para consumo humano e pela vigilância em saúde. No entanto, pretende-se que também sirva de fonte de consulta para alunos e pesquisadores, assim como outros técnicos da área.

2. MONITORAMENTO DE CIANOBACTÉRIAS E CIANOTOXINAS PARA ATENDIMENTO DA PORTARIA MS Nº 518/2004

Os mananciais utilizados para abastecimento público necessitam de acompanhamento para avaliação tanto da quantidade, quanto da qualidade da água. Para atender essa demanda, programas de monitoramento devem ser mantidos pelas companhias de saneamento e/ou responsáveis por sistemas de abastecimento de água, de modo a atender os requisitos legais e possibilitar uma avaliação da qualidade desses mananciais.

Parâmetros físicos e químicos são os mais usuais em programas de monitoramento, assim como alguns parâmetros microbiológicos como bactérias enteropatogênicas e, mais recentemente, indicadores da biomassa fitoplânctonica, como a clorofila-*a* e a densidade de cianobactérias.

No Brasil, a incorporação das cianobactérias e cianotoxinas como parâmetros de monitoramento deu-se a partir da Portaria MS nº 1.469 (Brasil, 2000), que substituiu a Portaria GM nº 36 (Brasil, 1990). O episódio de Caruaru (Pernambuco), em 1996, onde houve a morte de pacientes que realizavam diálise devido à presença de cianotoxinas na água, ressaltou a importância da regulamentação desses compostos na água para consumo humano e também do controle das cianobactérias no manancial.

Apesar da relevância dessa questão, verificou-se ainda uma grande dificuldade na implementação das diretrizes da Portaria MS nº 1.469 (Brasil, 2000) pelas companhias de saneamento e pelos responsáveis por sistemas de abastecimento público, tanto para a análise da cianotoxina microcistina, quanto para a identificação e quantificação de cianobactérias.

Na Portaria MS nº 518 (Brasil, 2004), que revogou a portaria anterior, o prazo para atendimento das exigências para o monitoramento de cianobactérias e cianotoxinas foi de 12 meses após a entrada em vigor deste instrumento legal. Atualmente, portanto, o monitoramento desses itens deve estar plenamente incorporado à rotina dos responsáveis pelo abastecimento público.

No entanto, a implementação plena da Portaria MS nº 518 (Brasil, 2004) ainda representa um desafio, pois requer o envolvimento não apenas dos responsáveis pelo abastecimento de águas para consumo humano, mas também do setor de vigilância em saúde, responsável pela fiscalização desse instrumento legal, e dos gestores públicos em geral (Brasil, 2005a).

2.1. Cianotoxinas

As cianotoxinas são compostos produzidos pelas cianobactérias que podem afetar a biota aquática, resultando em efeitos tóxicos também em mamíferos terrestres (Sivonen et Jones,

1999), não sendo ainda clara a razão de sua produção, embora possa estar relacionada à proteção contra herbivoria e também a alelopatia, como em vegetais superiores.

As cianotoxinas estão presentes no interior da célula, sendo liberadas em situações de lise celular, decorrentes de processo de senescência natural ou pela ação de fatores ambientais.

Para avaliar o risco específico das toxinas de cianobactérias é necessário compreender as suas propriedades químicas e físicas, sua ocorrência nas águas, os fatores que regulam a sua produção e o seu decaimento no ambiente.

Em termos de estrutura química, as cianotoxinas são divididas em peptídeos cíclicos, alcalóides e lipopolissacarídeos. Quanto aos mecanismos da toxicidade, são muito diversos e variam de efeitos hepatotóxicos, neurotóxicos e dermatotóxicos até a inibição geral de síntese protéica (Sivonen et Jones, 1999).

Dentre as hepatotoxinas, as produzidas por cianobactérias de ambientes aquáticos continentais são:

- Microcistinas: heptapeptídeos cíclicos que têm efeito na inibição de fosfatases, atuando como potentes produtores de tumores, com ação hepatotóxica.
- Cilindrospermopsina: composto alcalóide guanidínico cíclico, que inibe a síntese protéica, tendo efeito predominantemente hepatotóxico, mas também afetando células dos rins, baço, coração e outros órgãos.
- Nodularina: produzida por *Nodularia spumigena*, uma espécie de ocorrência preferencial em águas salobras ou levemente salinas (Karjalainen, 2005). É um pentapeptídeo, com semelhança estrutural com a microcistina, inclusive no seu modo de ação.

As cianotoxinas de efeito neurotóxico são:

- Saxitoxinas: alcalóides carbamatos, que podem ser não sulfatados (saxitoxinas), monossulfatados (goniautoxinas) ou dissulfatados (C-toxinas), que produzem efeitos neurotóxicos, por inibição da transmissão nervosa através de bloqueio dos canais de sódio nas células.
- Anatoxina-a: alcalóide que bloqueia os receptores nicotínicos e colinérgicos de sinapses neuromusculares, mimetizando a ação da acetilcolina, sendo essa ligação irreversível, já que a toxina não é degradada pela acetilcolinesterase (FUNASA, 2003).
- Anatoxina-a(s): organofosforado natural que atua inibindo a atividade da acetilcolinesterase, sendo consideravelmente mais tóxica que a anatoxina-a (Fitzgerald, 2001).

Os lipopolissacarídeos (LPS) são componentes da membrana celular das cianobactérias, formados por carboidratos (normalmente hexoses) e lipídeos (ácidos graxos) e encontrados em outras bactérias Gram-negativas.

Esses LPS são endotoxinas pirogênicas, capazes de produzir irritações na pele e alergias (Kuiper-Goodman et al., 1999). Esses compostos são relevantes especialmente onde haja risco de exposição às células de cianobactérias, como em locais destinados para balneabilidade, pois o contato com as toxinas pode causar dermatites ou outros efeitos quando acidentalmente ingeridas.

No Quadro 1 são apresentadas as características das principais cianotoxinas e gêneros de cianobactérias potencialmente tóxicas.

Quadro 1. Características das principais cianotoxinas e gêneros de cianobactérias aquáticas reconhecidas como potencialmente produtoras de toxinas. Baseado em Fernandes et al. (2005) e Sivonen et Jones (1999).

Toxina	Ação	Dose letal injetável (DL50)	Gênero
Microcistinas	Hepatotóxica	25 a 150 µg/kg	<i>Microcystis, Anabaena, Planktothrix, Nostoc, Anabaenopsis, Aphanocapsa</i>
Nodularinas	Hepatotóxica	50 a 200 µg /kg	<i>Nodularia</i>
Anatoxina-a	Neurotóxica	200 µg /kg	<i>Anabaena, Planktothrix, Aphanizomenon</i>
Anatoxina-a(s)	Neurotóxica	20 µg /kg	<i>Anabaena</i>
Cilindrospermopsinas	Hepatotóxica	2,0 mg/kg (24 horas) 0,2 mg/kg (5-6 dias)	<i>Cilindrospermopsis, Aphanizomenon, Umezakia</i>
Saxitoxinas	Neurotóxica	10 µg /kg	<i>Anabaena, Aphanizomenon, Cilindrospermopsis, Lyngbia</i>
Lipopolissacarídeos (LPS)	Pele, trato gastro-intestinal		todas

2.2. Atendimento à Portaria da Potabilidade

No Quadro 2, são resumidos os aspectos referentes às freqüências de monitoramento e o número de amostras exigidos no acompanhamento da presença de cianobactérias em mananciais de abastecimento público e na água para consumo humano.

A Portaria MS n° 518 (Brasil, 2004) estabelece que a presença de cianobactérias no manancial, junto ao ponto de captação, é o parâmetro básico que desencadeia o monitoramento das cianotoxinas na água para consumo humano.

Assim, os programas de monitoramento devem obrigatoriamente acompanhar, com freqüência mensal, as cianobactérias presentes na água do manancial. A partir da avaliação da presença e densidade das cianobactérias, os demais parâmetros previstos na legislação deverão ser implementados.

O atendimento dessas normativas acarreta um acompanhamento contínuo dos resultados da análise fitoplanctônica, assim como de outros parâmetros que possam subsidiar a avali-

Quadro 2. Resumo de normativas da Portaria MS n° 518 (Brasil, 2004) referentes às frequências de monitoramento e número de amostras para ensaios toxicológicos com camundongos, cianotoxinas e contagem de cianobactérias, em mananciais e água para consumo humano.

Parâmetro	Local	Condição	Frequência/ número de amostras	Artigo
Ensaio toxicológico com camundongos	Água do manancial	Quando as cianobactérias > 20.000 cél/ml (ou 2 mm ³ /l biovolume)	Semanal, uma amostra por ponto de captação	Artigo 18, § 5
Contagem de cianobactérias	Ponto de captação	Até 10.000 cél/ml (ou 1mm ³ /l biovolume)	Mensal, uma amostra por ponto de captação	Artigo 19, §1
Contagem de cianobactérias	Ponto de captação	Acima de 10.000 cél/ml (ou 1 mm ³ /l biovolume)	Semanal, uma amostra por ponto de captação	Artigo 19, §1
Análise de cianotoxinas	Na saída do tratamento, na entrada (hidrômetros) de clínicas de hemodiálise e indústrias de injetáveis	Quando as cianobactérias > 20.000 cél/ml (ou 2mm ³ /l biovolume)	Semanal, uma amostra por unidade de tratamento	Tabela 7 e Artigo 18, § 5 Tabela 6 e Artigo 18, § 5

ação das condições de qualidade do manancial, bem como da susceptibilidade a eventuais ocorrências de florações de cianobactérias ou de algas.

A identificação e quantificação das cianobactérias presentes no ambiente permite que se possam avaliar as etapas seguintes no monitoramento, bem como as análises necessárias a serem realizadas.

A identificação e a contagem das cianobactérias é fundamental para que possam ser avaliados os riscos de uma possível cepa produtora de toxina. O bioensaio em camundongo indica se há ou não toxicidade na amostra. Caso seja identificada toxicidade, deverá ser realizada, obrigatoriamente, análise semanal de cianotoxinas na água tratada (FUNASA, 2003). Essa análise da cianotoxina também se aplica aos casos em que não é possível a realização prévia do bioensaio ou tenha-se optado em não realizá-lo.

O ensaio de toxicidade em camundongos é realizado aplicando-se uma injeção intraperitoneal de 0,1 a 1,0 ml de uma solução obtida com a lise de células de cianobactérias (obtida da amostra de floração), em animais padronizados (camundongo albino suíço, macho, de 20 g) (Carvalho, 2006).

A utilização do bioensaio em camundongo pode ser uma alternativa de menor custo para a identificação de eventual toxicidade de uma floração, tendo em vista que este é um ensaio que

praticamente não requer equipamentos sofisticados e tem grande sensibilidade. No entanto, a sua limitação é que não permite definir a cianotoxina ou cianotoxinas presentes na floração.

Nos casos em que as densidades de cianobactérias no manancial encontram-se elevadas e a concentração de cianotoxinas acima do valor máximo permitido na legislação, são necessários então procedimentos operacionais para garantir a qualidade da água de abastecimento público.

Em tais situações, o responsável pelo sistema de abastecimento deve informar ao órgão de vigilância em saúde, as condições que estão registradas no manancial, bem como as providências já tomadas para minimizar a presença de cianotoxinas na água tratada, de modo que sejam avaliadas as alternativas possíveis e necessárias para a segurança da água distribuída, conforme definido no Artigo 9 da Portaria nº 518 (Brasil, 2004).

O estabelecimento de limites máximos permitidos para a presença de cianotoxinas em água para consumo humano está expresso no artigo 14 da referida Portaria, conforme apresentado no Quadro 3.

Quadro 3. Resumo da Portaria MS nº 518 (Brasil, 2004) referente aos limites máximos permitidos e recomendados para cianotoxinas em águas para consumo humano.

Parâmetro	Condição	Limite	Referência Portaria nº 518/04
Microcistina	Análise obrigatória em água para consumo humano	1 µg/l	Artigo 14
Microcistina	Análise obrigatória em água para consumo humano	Até 10 µg/l em até 3 amostras, consecutivas ou não, nos últimos 12 meses	Artigo 14, notas
Cilindrospermopsina	Recomendação de análise em água para consumo humano	15 µg/l	Artigo 14, § 1
Saxitoxina (SXT)	Recomendação de análise em água para consumo humano	3 µg/l de equivalente SXT	Artigo 14, § 1

O monitoramento de cianobactérias nos ambientes aquáticos é utilizado como uma estimativa do risco da presença de toxinas. No entanto, esta abordagem apresenta algumas limitações, conforme citado por Codd et al. (1999):

- os tipos de toxinas e os níveis por unidade de biomassa de cianobactérias podem variar amplamente, desde níveis não detectáveis até de toxicidade aguda;
- os níveis de toxinas por células podem variar grandemente entre cepas individuais e entre florações de uma mesma espécie;
- cepas de cianobactérias da mesma espécie podem conter mais de um tipo de toxina;
- as toxinas podem persistir nos mananciais e nas estações de tratamento de água em forma solúvel (extracelular), sendo liberadas após a lise das cianobactérias, por ação de agentes biológicos, físicos ou químicos. As cianotoxinas podem, portanto, persistir no ambiente, por um período, como fração solúvel, após eventos de floração de cianobactérias.

Alguns estudos têm registrado a bioacumulação de microcistinas em organismos aquáticos, como peixes, moluscos bivalvos e zooplâncton. Também há registros de níveis de saxitoxina acima do recomendado em bivalvos, expostos a uma floração tóxica de *Anabaena circinalis* (Sivonen et Jones, 1999).

Monitorar as densidades das populações de cianobactérias, e a ocorrência dos principais gêneros, pode proporcionar uma excelente base para a avaliação de risco, particularmente se apoiada periodicamente com testes de toxicidade ou análise de toxinas.

Embora não previsto na legislação brasileira da potabilidade, o monitoramento de cianobactérias potencialmente tóxicas em água tratada, permite avaliar a eficiência das diferentes etapas do tratamento na remoção e/ou rompimento das células sendo já realizado por muitas companhias de saneamento.

O uso de indicadores visuais simples, de baixo custo e que permitem frequência elevada de observações, como a cor e a presença de escumas (Figura 1), pode proporcionar informações valiosas relativas ao desenvolvimento de cianobactérias no manancial. Se complementadas pela análise microscópica, permitem confirmar a presença de cianobactérias na água. Nos pontos de captação para estações de tratamento de água, o treinamento da equipe de operadores, e a sua experiência nesta área, juntamente com o monitoramento e registro de variações na transparência, coloração e formação de escumas, podem permitir um acompanhamento flexível e rápido das condições do manancial.

O monitoramento de variáveis que favorecem o crescimento de cianobactérias e/ou sua acumulação é valioso para se reconhecer que o manancial está com risco de desenvolvimento de floração, assim como os locais mais prováveis para formação e acúmulo de escumas.

O acompanhamento do nível de fósforo total é um aspecto importante, pois é um nutriente relevante para as cianobactérias e outros organismos fotossintéticos. Dados sobre outras variáveis ambientais e condições hidrológicas do manancial (como tempo de detenção e condições de estratificação térmica), disponibilidade de luz (relação entre a profundidade de penetração da luz e a profundidade de mistura), assim como o nitrogênio dissolvido (nitrato e amônia), proporcionam a base para o entendimento de porque certas espécies ou gêneros de cianobactérias dominam naquele ambiente.

As cianotoxinas, de acordo com a sua característica química, podem se degradar no ambiente com maior ou menor rapidez. As microcistinas, devido à sua estrutura peptídica cíclica, são muito estáveis e resistentes à hidrólise e oxidação. Algumas bactérias encontradas naturalmente em rios e reservatórios e também em efluentes de esgotos são capazes de degradar microcistinas, podendo esse processo levar à degradação de 90% do total de microcistinas entre dois a dez dias, dependendo da concentração inicial das toxinas e da temperatura da água (Sivonen et Jones, 1999).

Para a anatoxina-a, verifica-se uma rápida degradação fotoquímica com a luz solar, que é acelerada por condições alcalinas. Sob condições naturais de iluminação, com pH 8-10 e concentrações iniciais baixas (10 mg/l), o tempo necessário para degradar 50% da toxina é de 14 dias (Sivonen et Jones, 1999) A anatoxina-a(s) é relativamente instável e se decompõe rapidamente em condições alcalinas, mas é relativamente estável em águas neutras e ácidas.

Para as saxitoxinas, o tempo necessário para degradar 50% do total dessas toxinas varia de uma a dez semanas, sendo frequentemente necessário mais de três meses para a degradação de 90% dessas moléculas.

Na presença de luz solar e de pigmentos fotossintéticos, a degradação da cilindrosperopsina pode ocorrer rapidamente, levando a destruição de 90% do total entre dois e três dias (Sivonen et Jones, 1999).

2.3. Gosto e odor

Certas espécies de algas são reconhecidas por produzirem substâncias que provocam gosto e odor desagradável à água. Também as cianobactérias podem produzir odores de terra ou mofo, como por exemplo espécies de *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis* e *Planktothrix*. Todos esses gêneros possuem espécies potencialmente produtoras de toxinas. No entanto, a ausência de gosto e odor não significa que as cianobactérias não estejam presentes. Dessa forma, não se pode relacionar esse fato à ausência de cianotoxinas (Falconer et. al, 1999). Dentre os compostos causadores de gosto e odor, os mais reconhecidos são a geosmina e o metilisoborneol (MIB), que conferem um gosto de terra ou mofo à água, que podem ser produzidos por cianobactérias e actinomicetes.

2.4. Remoção de cianobactérias no tratamento de água

As algas e cianobactérias podem ter um importante papel como precursores de trihalometanos, especialmente em eventos de floração (FUNASA, 2003). Nesse sentido, os sistemas de tratamento de água devem monitorar a formação de trihalometanos quando for registrado um aumento na densidade de organismos do fitoplâncton, especialmente quando o agente oxidante empregado no tratamento é o cloro.

As cianotoxinas podem ser encontradas tanto dentro, quanto fora das células. No tratamento de água para abastecimento público, a remoção das toxinas deve considerar a fração solúvel e a particulada. Portanto, os processos que promovem a remoção de células intactas removem também as cianotoxinas intracelulares. Quando a célula da cianobactéria se rompe (lise), as toxinas são liberadas. A lise pode ocorrer naturalmente ou causada por produtos químicos ou por ação mecânica, como, por exemplo, turbulência e bombeamento que ocorrem nas etapas de tratamento da água. Dessa forma, sistemas de tratamento que promovam o rompimento das células apresentam um risco aumentado de liberação de cianotoxinas.

Para a remoção da fração extracelular, os sistemas de tratamento podem dispor de métodos de adsorção e/ou de oxidação. Para a adsorção é usualmente utilizado carvão ativado (em pó ou granulado). Já para a oxidação, são empregados cloro, ozônio, permanganato de potássio, etc. No entanto, em ambos os casos, as condições de operação são críticas para a eficiência da remoção. Nessas situações, o monitoramento da toxina é importante para avaliar a qualidade da água para consumo humano.

2.5. Informação para o consumidor

Os resultados obtidos através do programa de monitoramento do manancial constituem também informações relevantes para os usuários do sistema de abastecimento público.

No Brasil, essa preocupação é recente e embora já tenha sido destacada na Portaria MS 518 (Brasil, 2004), somente a partir do Decreto nº 5.440 (Brasil, 2005) foram regulamentados os procedimentos para divulgação sistemática aos consumidores dos dados de qualidade da água.

Esse Decreto, promulgado pelo Presidente da República, “estabelece definições e procedimentos sobre o controle de qualidade da água de sistemas de abastecimento e institui mecanismos e instrumentos para divulgação de informação ao consumidor sobre a qualidade da água para consumo humano”, definindo os prazos para a divulgação e as informações a serem rotineiramente repassadas aos consumidores.

Dessa forma, tornou-se obrigatória a divulgação dos resultados do monitoramento dos mananciais e também da qualidade da água para consumo humano. Nos casos em que ocorrem florações de algas ou cianobactérias junto aos pontos de captação para abastecimento humano, essa informação deve ser repassada ao público, especialmente se houver situações de risco à saúde humana, conforme explicitado no Capítulo III, artigo 5, item j, do Anexo (Brasil, 2005).

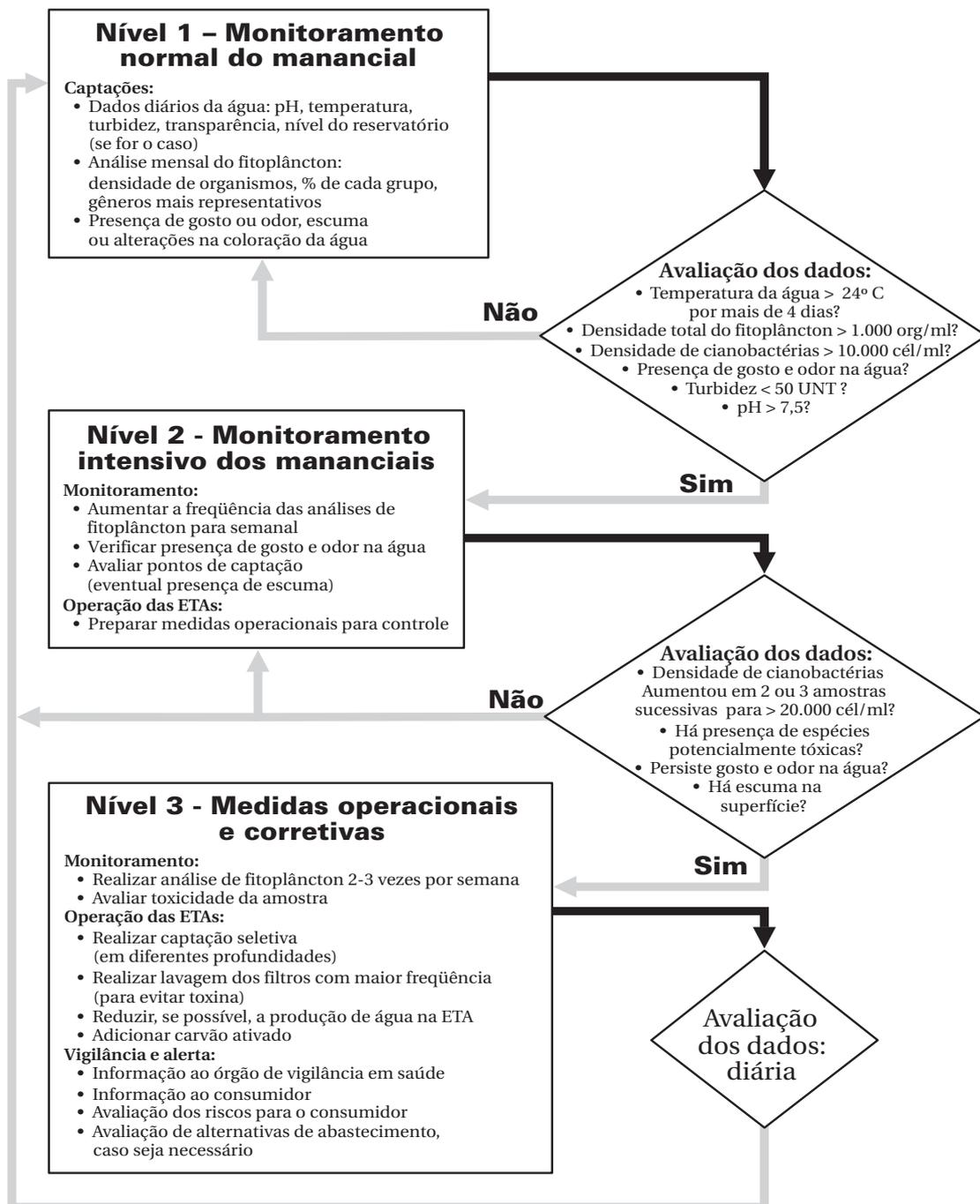


Figura 1. Esquema para monitoramento de cianobactérias em manancial, de acordo com a Portaria nº 518 (Brasil, 2004) e Codd et al. (1999).

3. MÉTODOS DE COLETA E ANÁLISES DE CIANOBACTÉRIAS

A metodologia de coleta a ser utilizada em estudos da comunidade de cianobactérias deve atender aos objetivos do programa de monitoramento, de acordo com os usos específicos do corpo hídrico, considerando as características do manancial (lêntico ou lótico), assim como os demais aspectos do ambiente que podem interferir na distribuição dos organismos planctônicos.

No caso de florações, para que a amostra seja coletada em local representativo do sistema, deve-se considerar sua distribuição espacial (horizontal e vertical) e a ação dos ventos, em especial para as cianobactérias que formam escumas superficiais, pela sua deposição junto às margens.

A seguir, serão detalhados alguns dos procedimentos utilizados na coleta e análise de cianobactérias, empregados com maior frequência no monitoramento de mananciais de abastecimento público pelas companhias de saneamento. Esses procedimentos variam de acordo com o tipo de análise a ser realizada, qualitativa ou quantitativa.

3.1. Coleta para análise qualitativa

A coleta para análise qualitativa é empregada em estudos que buscam, primordialmente, identificar as espécies fitoplanctônicas que caracterizem esse ambiente aquático. No entanto, em monitoramentos de mananciais para abastecimento público este tipo de coleta não é utilizado de forma rotineira.

A amostragem para análise qualitativa utiliza rede de plâncton de náilon, com 20 μm de abertura de malha, com o objetivo de concentrar o material e obter melhor caracterização específica do fitoplâncton encontrado no local. No entanto, deve-se ter em mente que a utilização da rede seleciona os organismos coletados, uma vez que os menores de 20 μm , como algumas espécies de cianobactérias, teoricamente não ficam retidos.

A coleta pode ser realizada através de arraste horizontal da rede de plâncton com o auxílio de embarcação, ou passando manualmente várias vezes a rede na subsuperfície da água (20 cm abaixo da superfície), ou ainda através de arraste vertical, onde a rede é mergulhada até uma profundidade previamente estabelecida, puxando-a em seguida até a superfície.

3.2. Coleta para análise quantitativa

A coleta para análise quantitativa é usualmente empregada para estudos que relacionam não só a diversidade de espécies fitoplanctônicas, mas também as densidades em que esses organismos ocorrem no ambiente.

A coleta de amostra para análise quantitativa pode ser realizada manualmente ou com o auxílio de amostradores especiais, como as garrafas de amostragem e bombas de sucção.

A coleta manual é realizada com frasco de coleta (polietileno ou vidro neutro), a uma profundidade de 20 cm, aproximadamente. Em casos de florações superficiais, a coleta é realizada através da passagem do frasco diretamente nos pontos onde existe maior concentração de organismos (escuma).

Para coletas em diferentes profundidades são utilizadas as garrafas dos tipos Kemmerer e van Dorn. Esses equipamentos consistem basicamente de um tubo cilíndrico aberto em ambas as extremidades, preso a uma corda (cabo) graduada, que é mergulhado até a profundidade desejada, quando, então, é acionado um mensageiro (peso) que dispara um dispositivo fechando hermeticamente ambas as extremidades da garrafa. Também se podem utilizar bombas de sucção, principalmente quando houver a necessidade de coletar grande número de estações de amostragem em menor tempo. As bombas peristálticas e de diafragma são menos prejudiciais aos organismos do que as bombas centrífugas (APHA, 1998).

3.3. Transporte e preservação da amostra

A amostra viva deve ser transportada em caixas de isopor com gelo e ocupar no máximo dois terços do volume do frasco, para garantir quantidade de oxigênio suficiente até o momento da análise.

Normalmente, para a análise qualitativa não é necessária a preservação da amostra, desde que alguns cuidados sejam tomados, como evitar exposição ao excesso de luz, manter a amostra refrigerada e realizar a análise no prazo máximo de 24 horas após a coleta. Caso isso não ocorra, a amostra deve ser preservada com solução de formol, numa concentração de cerca de 4%.

Em casos de florações, recomenda-se que a amostra seja preservada com formol, visando oportunizar outros estudos que complementem as análises já realizadas e permitam manter um registro das espécies formadoras de florações em mananciais de abastecimento público.

Para a análise quantitativa, a amostra é usualmente preservada com solução de Lugol, em concentrações de 0,3% a 0,5% para ambientes oligotróficos e de 0,5 a 1,0% para ambientes eutróficos. O material deve ser mantido em frascos de vidro âmbar e acondicionado em ambiente protegido da luz.

A solução de Lugol facilita a sedimentação dos organismos, por outro lado, pode dificultar a identificação, além de ser muito volátil.

Para o preparo da solução de Lugol são utilizados:

- 10 g de iodo puro;
- 20 g de iodeto de potássio;
- 20 ml de ácido acético glacial;
- Completar até 200 ml de água destilada.

Esta solução deve, também, ser mantida em vidro âmbar e em ambiente protegido da luz.

3.4. Análise de cianobactérias

Para realizar a identificação e contagem de cianobactérias, é necessária a utilização de microscópios equipados com oculares de 10 X ou 15 X e objetivas de 10, 20, 40 e 100 X. Em uma

das oculares deve ser colocado o retículo de Whipple, utilizado para a contagem e na outra, uma régua micrométrica calibrada, para obter as dimensões dos espécimes analisados.

3.4.1. Análise qualitativa

A identificação dos organismos presentes em uma amostra requer experiência e qualificação do analista e utilização de bibliografia especializada. O nível de identificação depende dos objetivos do estudo, da experiência do analista, do tipo de equipamentos e materiais disponíveis.

Nas empresas de abastecimento público deve-se empenhar todo esforço para identificar, pelo menos o organismo dominante, até o nível de gênero. Isto possibilitará a tomada de medidas necessárias na operação do sistema de tratamento da água e providenciar a realização de análises complementares, nos casos de cianobactérias potencialmente tóxicas.

Quando a amostra é proveniente de florações não é necessário concentrá-la. No entanto, quando a densidade de cianobactérias é baixa, a amostra deve ser concentrada, através de procedimentos de sedimentação, filtração ou centrifugação.

Sempre que possível, deve-se observar a amostra viva, principalmente quando da ocorrência de cianobactérias filamentosas, pois a observação da presença e do tipo de movimento do tricoma é importante na identificação.

Para análise qualitativa coloca-se uma gota da amostra em lâmina de vidro coberta com lamínula. A observação ao microscópio ótico pode ser realizada com diferentes aumentos, com objetiva de 10 até 100 X (usar óleo de imersão), o que facilita a visualização de detalhes morfológicos importantes para a identificação das cianobactérias.

Os caracteres mais utilizados na identificação de cianobactérias são os seguintes (Werner, 2002):

- morfologia externa;
- plano de divisão celular;
- tipo de colônia;
- disposição das células na colônia;
- presença ou ausência de envelope mucilaginoso ou bainha mucilaginosa;
- forma e dimensões das células vegetativas;
- relação celular entre comprimento e largura ou largura e comprimento;
- relação entre o diâmetro e a distância das espiras;
- estrutura dos tricomas;
- forma do ápice dos tricomas;
- presença ou ausência de grânulos e de aerótopos;
- forma e tamanho dos heterocitos;
- origem dos acinetos;
- disposição, número, forma e tamanho dos acinetos.

A visualização das paredes transversais de tricomas de cianobactérias é facilitada pela adição, no momento da análise, de uma gota de cloreto de zinco iodado e uma de iodeto de potássio, misturando com a amostra colocada na lâmina. Para evidenciar a mucilagem, utiliza-se tinta nanquim.

3.4.2. Análise quantitativa

Para análise quantitativa a amostra deve estar preservada, sendo recomendado realizar a identificação prévia dos organismos.

Deve-se observar se há necessidade de concentrar a amostra antes de realizar a contagem dos organismos. Quanto menor a quantidade de organismos na amostra, maior deve ser o volume a ser concentrado. Já em casos em que ocorram elevadas densidades, pode-se diluir a amostra com água destilada.

Em APHA (1998) estão descritas três técnicas utilizadas para concentrar a amostra: sedimentação, filtração por membrana e centrifugação. Dentre essas, as mais utilizadas são as de sedimentação e centrifugação.

A sedimentação é o método de concentração mais recomendado, não é seletivo (ao contrário da filtração) e não causa o rompimento das células (ao contrário da filtração e centrifugação). Utilizando-se microscópio invertido, a sedimentação é realizada diretamente nas câmaras de sedimentação, de diferentes volumes (2 a 100 ml), dependendo da quantidade de organismos presentes na amostra.

Amostra concentrada por sedimentação também pode ser analisada em microscópio ótico. Neste caso, coloca-se a amostra em uma proveta graduada, deixando-a sedimentar. O sobrenadante é sifonado e o volume restante, registrado. Desse volume, 1 ml é colocado em câmara de Sedgwick-Rafter para a contagem dos organismos.

O tempo para que ocorra a sedimentação dos organismos é de uma hora por milímetro de coluna (APHA, 1998) ou de três horas por centímetro (Margalef, 1983).

A centrifugação pode ser utilizada em casos de amostras com pouca quantidade de organismos, ou quando existe urgência na realização da análise. Segundo APHA (1998), a centrifugação deve ser por 20 minutos a 1.000 g.

Para análise quantitativa utiliza-se o retículo de Whipple acoplado à ocular, que delimita a área a ser contada. Recomenda-se, para contagem, utilizar os maiores aumentos disponíveis no equipamento, usualmente de 200 X ou 400 X.

A contagem pode ser realizada em campos aleatórios (um campo corresponde à área de um retículo de Whipple) ou em faixa de campos contínuos. Esta faixa é delimitada pela largura do retículo e pelo comprimento total da câmara, de uma borda a outra. O número de campos ou faixas a serem contados depende da quantidade de organismos na amostra.

A definição do número de organismos que necessita ser contado em cada amostra, depende da sua distribuição. Se a distribuição dos organismos ocorre ao acaso e a população segue a distribuição de Poisson (APHA, 1998), pode-se estimar o erro na contagem. Para atingir um limite de confiança de 95% e variação estimada em 20%, é recomendada a contagem de 100 organismos da espécie predominante (Jardim et al., 2002). Ao aumentarmos o número de organismos contados para 400, a variação reduz-se para 10%, conforme a expressão a seguir:

$$\text{Variação (\%)} = \frac{2 \times 100}{\sqrt{N}}$$

onde: N = número de organismos contados da espécie predominante.

A unidade utilizada na contagem de cianobactérias depende dos objetivos a serem alcançados. No atendimento à Portaria MS nº 518 (Brasil, 2004) e ao CONAMA 357 (Brasil, 2005b), onde a preocupação é o risco potencial de produção de cianotoxinas pelas células, a expres-

são do resultado pode ser em células por mililitro (cél/ml) ou em biovolume (mm^3/l). Para outros estudos, os resultados também podem ser expressos em organismos por mililitro (org/ml).

Contagem de células

O técnico responsável pela contagem de células deve ser treinado previamente em função da complexidade envolvida neste processo.

As cianobactérias podem apresentar talo unicelular, colonial ou filamentosos.

Nas formas unicelulares a contagem do número de organismos corresponde ao número de células registradas. Para as formas coloniais, Jardim et al. (2002) sugerem a realização de uma média do número de células que ocupam um quadrado do retículo de Whipple, sendo esse valor multiplicado pelo número de quadrados ocupados pela colônia. Quando as cianobactérias coloniais ocorrerem formando florações, Aguero (2006) recomenda dissolver as mucilagens e transformar as colônias em células soltas. Em seguida, as células podem ser contadas em microscópio comum com câmara de Sedgwick-Rafter ou em microscópio invertido, utilizando-se câmara de sedimentação.

A dissolução da mucilagem pode ser feita por digestão a quente com hidróxido de potássio (KOH) a uma molaridade de 0,03M. Coloca-se o hidróxido de potássio na amostra na proporção 1:1 ou 1:2, mantendo-se as amostras em estufa por 15 minutos ou mais (Aguero, 2006).

Para cianobactérias filamentosas que não apresentam grandes variações no comprimento do filamento, coloca-se o material entre lâmina e lamínula, e conta-se as células de aproximadamente 30 filamentos, aleatoriamente. Calcula-se a média de células por filamento, para cada espécie presente na amostra. Após, na câmara de contagem, conta-se o número de filamentos encontrados e multiplica-se pela média de células calculada anteriormente.

Para os filamentos que apresentam grande variação em seu comprimento, calcula-se a média do número de células que ocupam um quadrado do retículo de Whipple e multiplica-se este valor pelo número de quadrados ocupados pelo filamento.

Biovolume

A determinação do biovolume de cianobactérias, embora expressa na Portaria MS nº 518 (Brasil, 2004), não é usualmente empregada na rotina das companhias de saneamento.

Consiste em determinar o volume médio das células de cada espécie a partir de modelos geométricos que mais se aproximem da forma da célula. Este valor é multiplicado pelo número de células contadas na amostra.

4. CIANOBACTÉRIAS PLANCTÔNICAS NA REPRESA LOMBA DO SABÃO E NO LAGO GUAÍBA

São apresentadas as 20 espécies de cianobactérias planctônicas mais comuns na represa Lomba do Sabão e no lago Guaíba, mananciais de abastecimento público para a cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

As espécies foram observadas em amostras coletadas em diferentes locais dos dois mananciais, dando ênfase à análise das obtidas de florações de cianobactérias e de ocorrência junto a pontos de captação de estações de tratamento de água.

O material foi identificado com base em características morfológicas e métricas de células vegetativas e reprodutivas, de populações da natureza, conforme relacionadas em “Métodos de coleta e análises de cianobactérias” (item 3.4.1).

De acordo com o sistema de classificação adotado (Komárek et Anagnostidis, 1989; 1998; 2005 e Anagnostidis et Komárek, 1990), as cianobactérias são classificadas em quatro ordens:

Chroococcales - talos unicelulares ou coloniais.

Oscillatoriales - talos filamentosos homocitados (sem heterocitos e acinetos).

Nostocales - talos filamentosos, heterocitados (com heterocitos e/ou acinetos), sem ramificações ou com ramificações falsas.

Stigonematales - talos filamentosos heterocitados (acinetos raros), com ramificações verdadeiras.

Do total das 20 espécies, distribuídas em 11 gêneros, a maioria pertenceu à ordem Chroococcales (55 %), seguindo-se representantes da Nostocales (30 %) e da Oscillatoriales (15 %).

Microcystis foi o gênero melhor representado, com cinco espécies. Dentre todas as espécies, destaca-se *Planktothrix isoethrix* (Skuja) Komárek et Komárková pela periodicidade e densidade de suas florações, estendendo-se ao longo do lago Guaíba nos verões de 2004, 2005 e 2006. Estes eventos conferiram coloração esverdeada, odor e sabor de terra às suas águas.

A seguir, é apresentada a sinopse das espécies, uma chave para identificação destas cianobactérias e ilustrações das mesmas, acompanhadas de suas principais características morfológicas e métricas e, quando pertinente, de comentários.

A maioria das ilustrações apresentadas é de exemplares que foram observados na represa Lomba do Sabão e/ou no lago Guaíba. No entanto, quando necessário, foram incluídas ilustrações de espécimes de outros mananciais, visando melhor elucidação das características morfológicas das espécies apresentadas no presente manual.

4.1. Sinopse das cianobactérias planctônicas mais comuns na represa Lomba do Sabão e no lago Guaíba

Cyanophyta (= Cyanobacteria ou Cyanoprocaryota)

Cyanophyceae

Chroococcales

Synechococcaceae

Radiocystis Skuja

R. fernandoi Komárek et Komárková-Legnerová

Merismopediaceae

Merismopedia Meyen

M. convoluta Brébisson

M. glauca (Ehrenberg) Kützing

M. tenuissima Lemmermann

Microcrocis Richter

Microcrocis sp.

Sphaerocavum Azevedo et Sant'Anna

S. brasiliense Azevedo et Sant'Anna

Microcystaceae

Microcystis Kützing ex Lemmermann

M. aeruginosa Kützing

M. novacekii (Komárek) Compère

M. panniformis Komárek et al.

M. protocystis Crow

M. wesenbergii (Komárek) Komárek

Oscillatoriales

Pseudanabaenaceae

Pseudanabaena Lauterborn

P. galeata Böcher

Geitlerinema (Anagnostidis et Komárek) Anagnostidis

G. splendidum (Greville ex Gomont) Anagnostidis

Phormidiaceae

Planktothrix Anagnostidis et Komárek

P. isothrix (Skuja) Komárek et Komárková

Nostocales

Nostocaceae

Anabaena Bory ex Bornet et Flahault*A. circinalis* Rabenhorst ex Bornet et Flahault*A. crassa* (Lemmermann) Komárková-Legnerová*A. spiroides* Klebhan*Aphanizomenon* Morren ex Bornet et Flahault*A. gracile* Lemmermann*A. issatschenkoi* Proschkina-Lavrenko*Cylindrospermopsis* (Wolosynska) Seenayya et Subba Raju*C. raciborskii* (Wolosynska) Seenayya et Subba Raju**4.2. Chave para identificação destas cianobactérias**

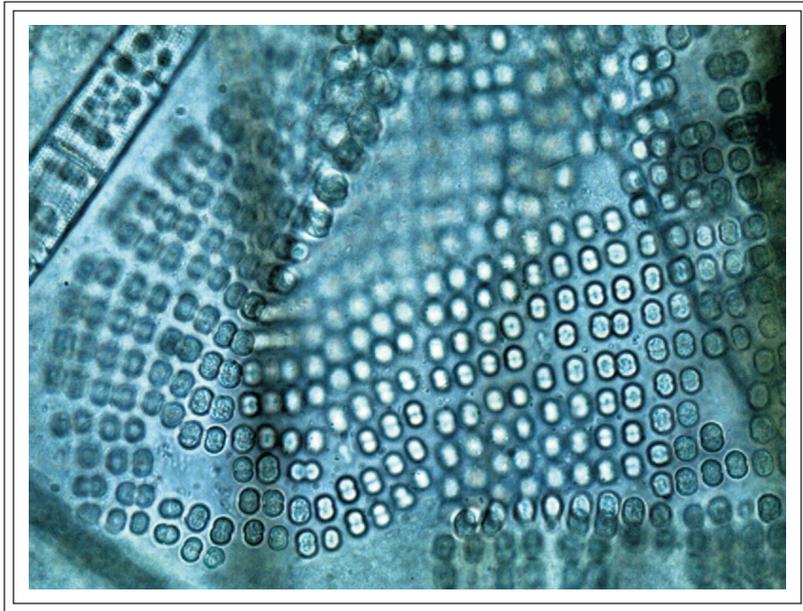
- 1a. Talos unicelulares ou coloniais Ordem **Chroococcales** 2
- 1b. Talos filamentosos 12
- 2a. Divisão celular por fissão binária
em um único plano Família **Synechocaceae**
Células arredondadas, agrupadas no centro da colônia,
partindo em direção à periferia, formando fileiras
mais ou menos radiadas *Radiocystis fernandoi* (p. 48)
- 2b. Divisão celular por fissão binária
em dois ou mais planos 3
- 3a. Divisão celular em dois planos Família **Merismopediaceae** 4
- 3b. Divisão celular em três planos Família **Microcystaceae** 8
- 4a. Colônias arredondadas, alongadas, ocas;
células arredondadas com aerótopos *Sphaerocavum brasiliense* (p. 49)
- 4b. Colônias tabulares, planas ou convolutas, regulares ou não 5

- 5a. Colônias retangulares ou quadráticas;
células em vista apical ovais, arredondadas ou hemisféricas
após a divisão, dispostas em fileiras regulares *Merismopedia* 6
- 5b. Colônias irregulares;
células em vista apical poligonais, alongadas ou ovais,
não dispostas em fileiras regulares *Microcrocis* sp. (p. 42)
- 6a. Células em vista lateral cilíndricas ou oblongas
(1,5-2,5 vezes mais longas que largas) *Merismopedia convoluta* (p. 39)
- 6b. Células em vista lateral arredondadas 7
- 7a. Células 1-1,6 µm de diâmetro *M. tenuissima* (p. 41)
- 7b. Células 3-6 µm de diâmetro *M. glauca* (p. 40)
- 8a. Contorno da colônia firme, refringente *Microcystis wesenbergii* (p. 47)
- 8b. Contorno da colônia difluente 9
- 9a. Mucilagem estreita na periferia da colônia (inconspícua);
células densamente dispostas *M. panniformis* (p. 45)
- 9b. Mucilagem usualmente ampla na periferia da colônia;
células esparsa ou densamente dispostas,
ou apenas próximas uma das outras 10
- 10a. Células com envelope mucilaginoso individual,
esparsamente dispostas na mucilagem *M. protocystis* (p. 46)
- 10b. Células sem envelope mucilaginoso individual,
densamente dispostas ou apenas próximas
uma das outras no centro da colônia 11
- 11a. Células densamente dispostas no centro da colônia,
com células solitárias na periferia *M. novacekii* (p. 44)
- 11b. Células apenas próximas umas das outras no centro
da colônia, sem células solitárias na periferia *M. aeruginosa* (p. 43)
- 12a. Filamentos homocitados Ordem *Oscillatoriales* 13
- 12b. Filamentos heterocitados Ordem *Nostocales* 15

- 13a. Células mais longas que largas;
fragmentação do tricoma
sem formação de necrídios Família **Pseudanabaenaceae** 14
- 13b. Células ± isodiamétricas;
fragmentação do tricoma com
formação de necrídios Família **Phormidiaceae**
Células com aerótopos; células apicais
arredondadas ou arredondado-achatadas,
não capitadas, sem caliptra ou espessamento *Planktothrix isothrix* (p. 52)
- 14a. Tricomas nitidamente atenuados; células
sem aerótopos, células apicais
alongadas, capitadas *Geitlerinema splendidum* (p. 50)
- 14b. Tricomas não atenuados, células
com aerótopos polares, células apicais
cilíndrico-arredondadas, não capitadas *Pseudanabaena galeata* (p. 51)
- 15a. Heterocitos intercalares; acinetos distribuídos
ao longo do tricoma ou subterminais 16
- 15b. Heterocitos terminais; acinetos
subterminais, separados
dos heterocitos por 2-3 células *Cylindrospermopsis raciborskii* (p. 58)
- 16a. Tricomas espiralados, não atenuados;
células apicais não diferenciadas *Anabaena* 17
- 16b. Tricomas retos ou levemente curvos, atenuados;
células apicais diferenciadas *Aphanizomenon* 19
- 17a. Altura das espiras de 70-120 µm;
acinetos cilíndricos, arredondados ou angulares
nas extremidades, distantes dos heterocitos *Anabaena circinalis* (p. 53)
- 17b. Espiras mais estreitas;
acinetos elípticos, geralmente levemente
curvos, distantes dos heterocitos 18

- 18a. Altura das espiras de 40-70 μm ;
células de 9,7-15 μm de diâmetro *A. crassa* (p. 54)
- 18b. Altura das espiras de 20-45 μm ;
células de 6-8 μm de diâmetro *A. spiroides* (p. 55)
- 19a. Tricomas gradualmente atenuados;
células apicais levemente capitadas, pigmentadas *Aphanizomenon gracile* (p. 56)
- 19b. Tricomas bruscamente atenuados;
células apicais pontiagudas, não pigmentadas *A. issatschenkoi* (p. 57)

Merismopedia convoluta Brébisson 1849



Aspecto geral de parte de uma colônia.

Principais características

- ✓ Colônias tabulares, retangulares, margens convolutas, com numerosas células, arranjadas em grupos de 16-32 células, dispostas em fileiras regulares.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, difluente.
- ✓ Células
 - Em vista apical arredondadas ou hemisféricas após a divisão (2 planos);
 - Em vista lateral cilíndricas ou oblongas (1,5-2,5 vezes mais longas que largas).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, homogêneo, sem aerótopos.

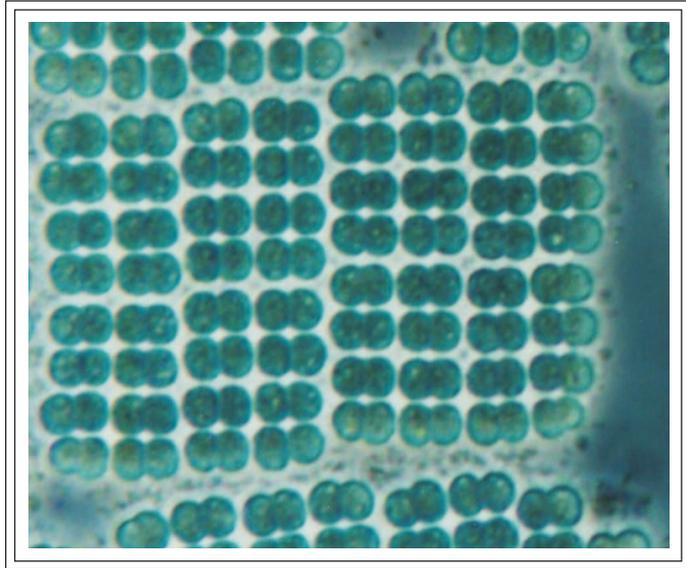
Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** (3,2)*4-5,2 μm (vista apical)
- ✓ **Comprimento:** 4,4-6,5 μm (vista lateral)

Comentários: a espécie pode ser facilmente confundida com *Merismopedia glauca* (Ehrenberg) Kützing, da qual difere pelo comprimento das células obtido no sentido do eixo perpendicular à colônia. De acordo com Geitler (1932), estas em *M. convoluta* são até 2½ vezes mais longas que largas, enquanto que em *M. glauca* as células são tão longas quanto largas ou mais largas.

* () = dimensões raras.

Merismopedia glauca (Ehrenberg) Kützing 1845



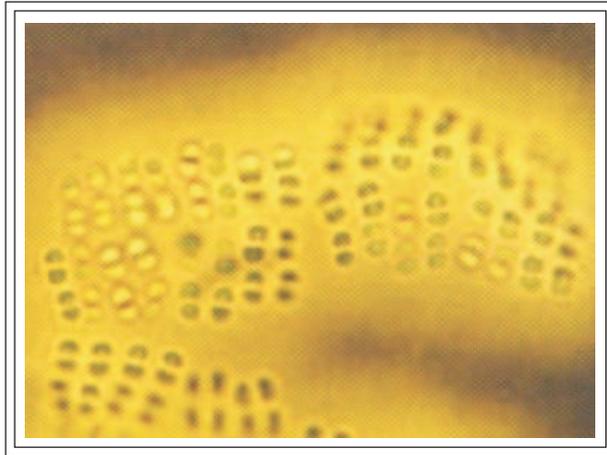
Aspecto geral de parte de uma colônia.

Principais características

- ✓ Colônias tabulares, retangulares, planas, usualmente com até 64 células, dispostas em fileiras regulares, próximas umas das outras.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, contorno inconspícuo.
- ✓ Células arredondadas ou hemisféricas após a divisão (2 planos).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, homogêneo, sem aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 3-6 μm

Merismopedia tenuissima Lemmermann 1898

Vista geral de parte de uma colônia.
(Foto de Sant'Anna et Azevedo, 2006)

Principais características

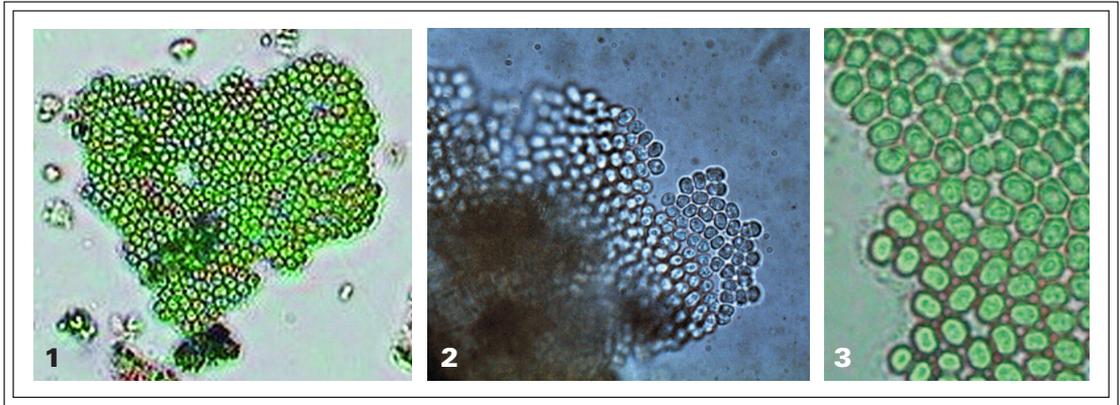
- ✓ Colônias tabulares, quadráticas ou retangulares, planas, às vezes levemente onduladas, com numerosas células, arranjadas em grupos de 8-32, dispostas em fileiras mais ou menos regulares, próximas umas das outras.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, difluente.
- ✓ Células arredondadas ou ovais, hemisféricas após a divisão (2 planos).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado claro, homogêneo, sem aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 1-1,6 μm

Comentários: Espécie de ocorrência comum na represa Lomba do Sabão.

Microcrocis sp.



1. Aspecto geral de uma colônia. 2. Parte de uma colônia. 3. Detalhe de parte da colônia.

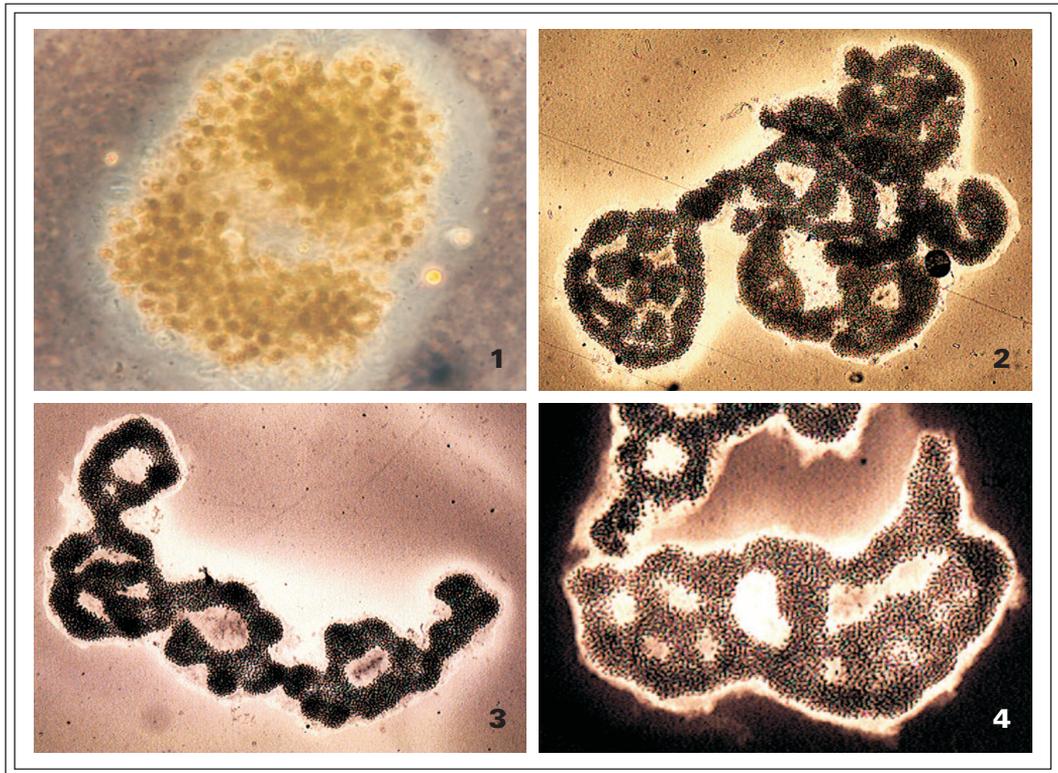
Principais características

- ✓ Colônias tabulares, planas, irregulares, constituídas por várias células dispostas irregular e levemente distantes uma das outras.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, difluente.
- ✓ Células em vista apical poligonais, as das extremidades alongadas ou ovais, hemisféricas após a divisão (2 planos).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado homogêneo, sem aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 2,3-3,6 μm
- ✓ **Comprimento:** 3,2-5,6 μm (vista apical)
3,8-6 μm (vista lateral)

Comentários: táxon encontrado em amostras do lago Guaíba.

Microcystis aeruginosa (Kützing) Kützing 1846

Aspecto geral de colônias de *Microcystis aeruginosa*. 1. colônia com buraco, não clatrada. 2-4. colônias clatradas.

Principais características

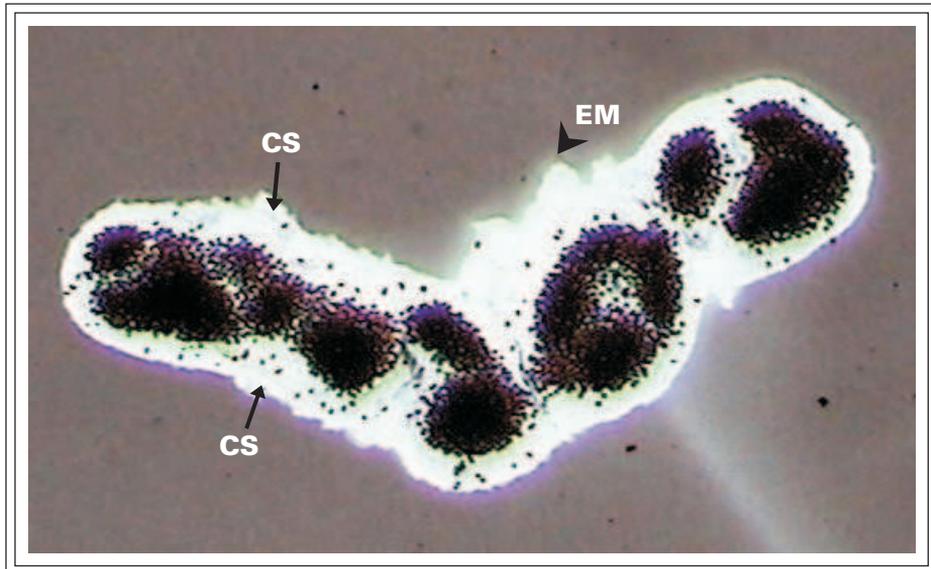
- ✓ Colônias arredondadas quando jovens, tornando-se alongadas, irregulares ou lobadas; às vezes com buracos, clatradas ou não.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, difluente; margem geralmente ampla (5-8 μm).
- ✓ Células
 - Dispostas desordenadamente no envelope mucilaginoso, próximas umas das outras;
 - Arredondadas ou hemisféricas após a divisão celular, às vezes levemente alongadas antes da divisão (3 planos);
 - Sem envelope mucilaginoso individual.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado escuro com numerosos aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** (3)4-6,5 μm

Comentários: espécie responsável pela formação de florações com potencial de produzir microcistinas.

Microcystis novacekii (Komárek) Compère 1974



Aspecto geral de *Microcystis novacekii*, mostrando células solitárias (CS) distribuídas na periferia do envelope mucilaginoso (EM).

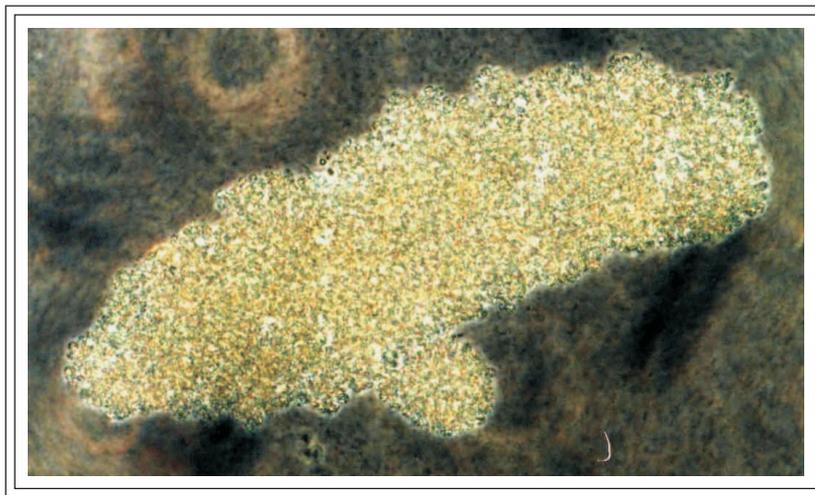
Principais características

- ✓ Colônias arredondadas, alongadas ou lenticulares, não clatradas.
- ✓ Mucilagem hialina, firme, espessa.
- ✓ Células
 - Densamente arranjadas no centro da mucilagem, apresentando células solitárias na periferia da colônia;
 - Arredondadas ou hemisféricas após a divisão celular (3 planos);
 - Sem envelope mucilaginoso individual.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ Diâmetro: 3-5,5 µm

Comentários: *Microcystis novacekii* é facilmente reconhecida pela disposição de suas células, densamente agrupadas no centro da colônia e algumas solitárias na periferia.

Microcystis panniformis Komárek et al. 2002

Aspecto geral de uma colônia.

Principais características

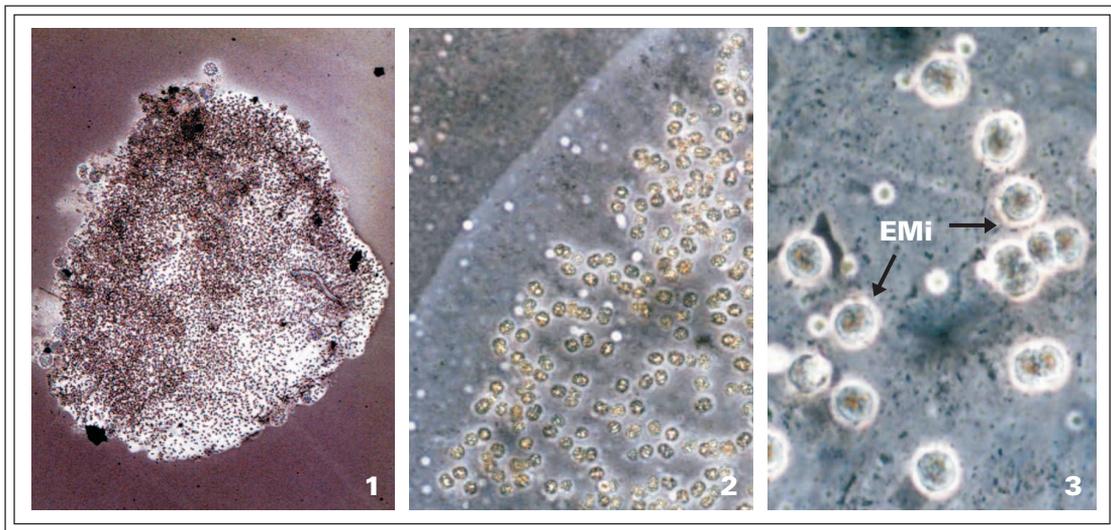
- ✓ Colônias inicialmente irregulares, tornando-se arredondadas ou alongadas, às vezes com buracos irregulares, não clatradas.
- ✓ Mucilagem hialina, inconspícua.
- ✓ Células
 - Densamente arranjadas, próximo à superfície do envelope mucilaginoso;
 - Arredondadas ou hemisféricas após a divisão celular (3 planos);
 - Sem envelope mucilaginoso individual.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado-amarelado, verde-oliva ou acastanhado, com numerosos aerótopos semelhantes a pontos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** (2,5)3-4,6(4,8) μm - (material tipo – Komárek et al. 2002)

Comentários: *Microcystis panniformis* foi recentemente descrita a partir de populações brasileiras que viviam em lago eutrófico subtropical de São Paulo, SP, por Komárek et al. (2002). Espécie que pode ser confundida com *M. aeruginosa*. As diferenças entre as mesmas consistem na espessura do contorno do envelope mucilaginoso e pela disposição de suas células na mucilagem. Além da forma das colônias, as células de *M. panniformis* são menores do que as de *M. aeruginosa*. *Microcystis panniformis* é uma espécie potencialmente tóxica, produtora de microcistina (Dogo et Carvalho, 2006).

Microcystis protocystis Crow 1923



1. Aspecto geral de uma colônia. 2. Detalhe de parte da colônia. 3. Detalhe de células com envelope mucilaginoso individual (EMi).

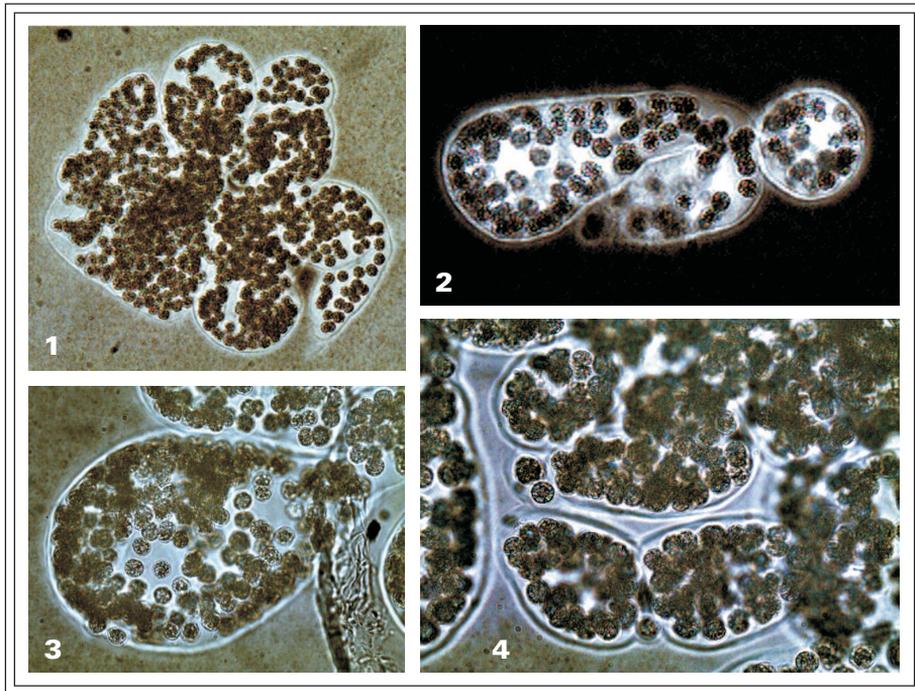
Principais características

- ✓ Colônias irregulares, não clatradas, não lobadas.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, difluente, delgada.
- ✓ Células
 - Esparsas e irregularmente dispostas;
 - Arredondadas, hemisféricas após a divisão celular ou levemente alongadas antes da divisão (3 planos);
 - Com envelope mucilaginoso individual.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ Diâmetro: (3)3,5-6,5 μm

Comentários: *Microcystis protocystis* é facilmente distinguida das demais espécies do gênero pela presença de envelope mucilaginoso envolvendo individualmente cada célula, normalmente perceptível somente com nanquim. Além disso, a disposição de suas células na mucilagem também é típica da espécie.

Microcystis wesenbergii (Komárek) Komárek in Kondratova 1968

1. Aspecto geral de uma colônia. 2-4. Detalhes de partes de colônias.

Principais características

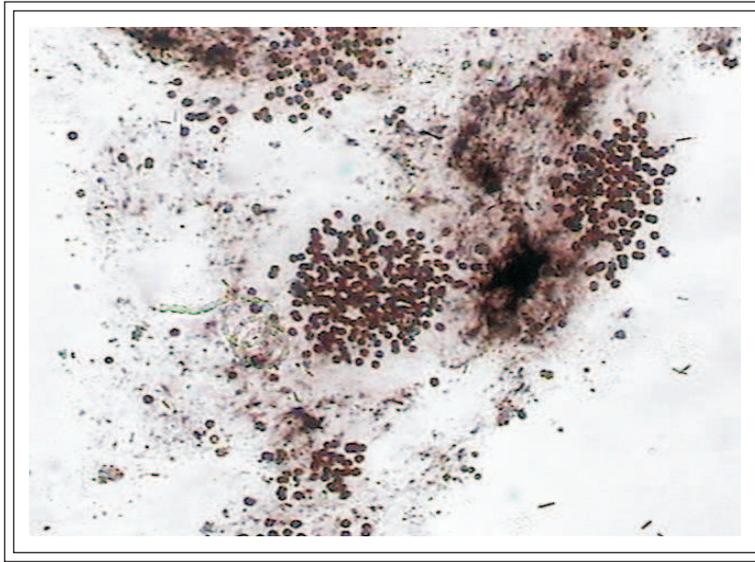
- ✓ Colônias arredondadas ou alongadas, irregulares, lobadas, com buracos quando velhas, freqüentemente clatradas, usualmente compostas por subcolônias.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, firme, não difluente, com contorno espesso, firme e refringente.
- ✓ Células
 - Esparsas até densamente dispostas;
 - Arredondadas ou hemisféricas após a divisão celular, às vezes levemente alongadas antes da divisão celular (3 planos).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado com aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 4-7 μm

Comentários: *Microcystis wesenbergii* é facilmente distinguida das demais espécies do gênero pelo fato de suas colônias apresentarem-se envolvidas por mucilagem bastante característica: firme, homogênea com contorno evidente, refringente. Espécie de ocorrência comum no lago Guaíba. Esteve bem representada durante as florações de *Planktothrix isothrix* Komárek et Komárková.

Radiocystis fernandoi Komárek et Komárková-Legnerová 1993



Aspecto geral de colônias com envelope mucilaginoso, mostrando a disposição radiada bem evidente em uma das colônias.

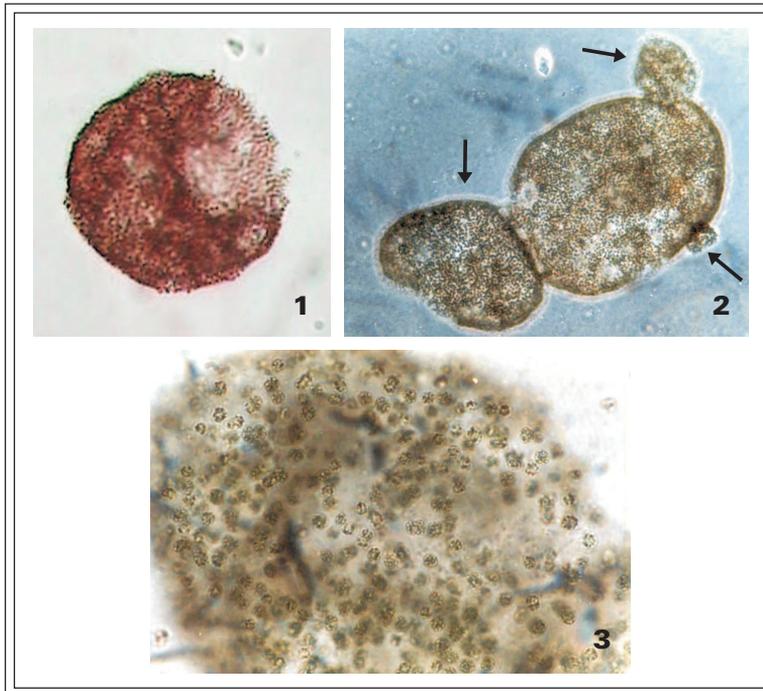
Principais características

- ✓ Colônias arredondadas ou irregulares, constituídas por um ou vários grupos de células dispostas em fileiras radiadas, partindo do centro para a periferia da colônia.
- ✓ Mucilagem homogênea, hialina, contorno inconspícuo, difluente, envolvendo todos os grupos de células.
- ✓ Células arredondadas ou ovais, hemisféricas após a divisão celular (1 plano).
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado escuro, com aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 6-8 μm

Comentários: A espécie pode ser facilmente confundida com *Microcystis aeruginosa* Kützing, da qual difere pela disposição de suas células em fileiras radiadas, partindo do centro para a periferia da colônia. Além disso, as células de *Radiocystis fernandoi* dividem-se por fissão binária em um único plano, enquanto que as de *M. aeruginosa* dividem-se em três planos. *Radiocystis fernandoi* é uma espécie com potencial de produzir microcistinas.

Sphaerocavum brasiliense Azevedo et Sant'Anna 2003

1-2. Aspecto geral de uma colônia jovem (1) e uma colônia adulta (2) com proliferação de colônias-filhas (setas);
3. detalhe da disposição das células em fileiras mais ou menos regulares na periferia da colônia.

Principais características

- ✓ Colônias ocas; esféricas quando jovens, tornando-se alongadas e irregulares.
- ✓ Mucilagem hialina, inconspícua, usualmente delgada ou hialina.
- ✓ Células
 - Frouxamente dispostas, irregularmente ou em fileiras mais ou menos regulares na superfície da colônia;
 - Arredondadas ou oblongas antes da divisão celular (2 planos).
- ✓ Conteúdo celular marrom ou esverdeado, com aerótopos.

Dimensões das células

- ✓ **Diâmetro:** 2,4-3,6 μm

Comentários: espécie de ocorrência comum em densas florações em diferentes corpos d'água, geralmente acompanhada de espécies de *Microcystis*. Gênero e espécie descritos a partir de populações brasileiras que viviam em lago eutrófico subtropical, São Paulo (SP), por Azevedo et Sant'Anna (2003).

Geitlerinema splendidum (Greville ex Gomont) Anagnostidis 1989



Aspecto geral de tricomas, destacando uma célula apical (seta) típica da espécie: alongada, nitidamente atenuada e capitada.

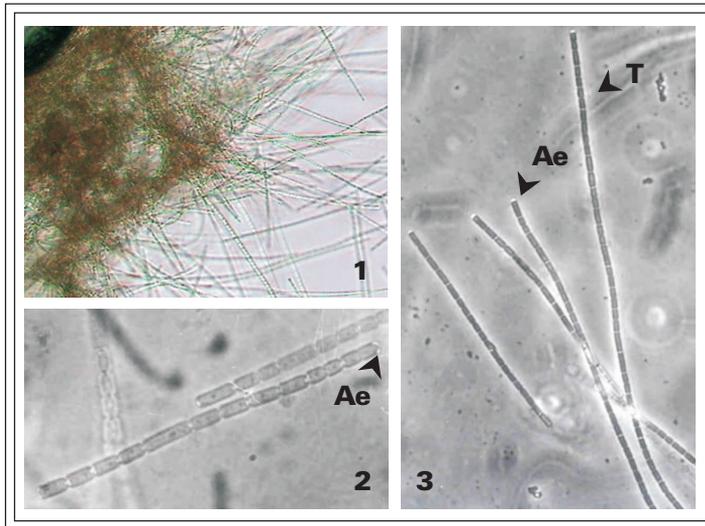
Principais características

- ✓ Tricomas
 - Solitários ou emaranhados;
 - Retos ou flexuosos;
 - Não constrictos, atenuados, curvos nos ápices;
 - Móveis (ondulam).
- ✓ Células
 - Apicais alongadas, nitidamente atenuadas e capitadas;
 - Intermediárias usualmente mais longas do que largas (2-4 vezes);
 - Septos granulados (1-2 grânulos) ou não.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, homogêneo, sem aerótopos.
- ✓ Reprodução: fragmentação sem formação de necrídios, originando hormogônios.

Dimensões

- ✓ Tricomas: 2-3,1 μm de diâmetro
- ✓ Células: 3-9 μm de comprimento

Comentários: espécie bastante característica, facilmente distinguida das demais espécies do gênero pela morfologia de sua célula apical: alongada, nitidamente atenuada e capitada.

Pseudanabaena galeata Böcher 1949

1. Aspecto geral de tricomas emaranhados. 2-3. detalhes de tricomas (T) mostrando aerótopos polares (Ae) em células apicais e intermediárias.

Principais características

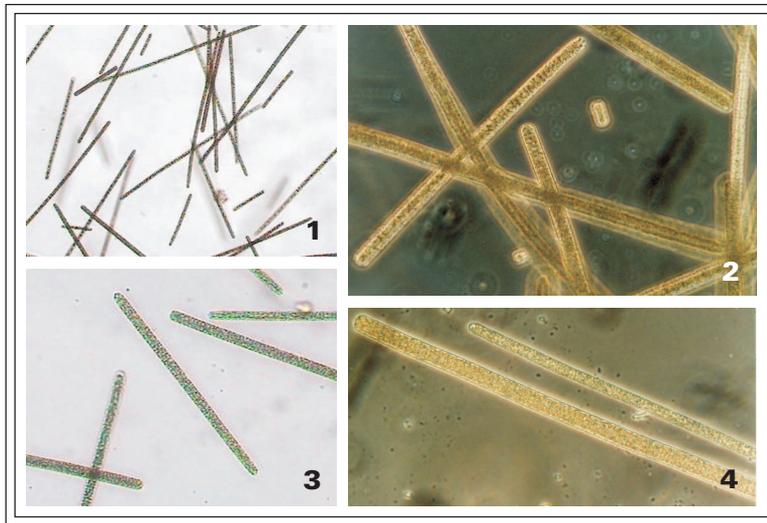
- ✓ Tricomas
 - Solitários ou emaranhados formando talos finos verde-azulados;
 - Retos ou levemente curvos;
 - Constrictos, não atenuados;
 - Usualmente formados por 10-30 células, raramente 50-150;
 - Móveis (deslizamento – para frente).
- ✓ Células
 - Intermediárias cilíndricas;
 - Apicais cilíndrico-arredondadas ou arredondado-achatadas, raramente cônica, não capitadas, sem caliptra ou espessamento;
- ✓ Conteúdo celular
 - Verde-azulado, pálido ou vivo até verde-acinzentado;
 - 1-2 aerótopos polares.
- ✓ Reprodução: fragmentação sem formação de necrídios, originando hormogônios com aerótopos polares, característicos da espécie.

Dimensões

- ✓ Tricomas: 1,2-2,4 µm de diâmetro
- ✓ Células: 2-6 µm de comprimento

Comentários: A presença de aerótopos polares é característica da espécie. A espécie foi observada somente no lago Guaíba.

***Planktothrix isothrix* (Skuja) Komárek et Komárková 2004**
Sinônimo: *Planktothrix mougeotii* (Bory ex Gomont) Anagnostidis et Komárek 1988



1-4. Aspecto geral de tricomas de *Planktothrix isothrix*.

Principais características

✓ Tricomas

- Retos ou levemente curvos;
- Não ou levemente constrictos, não atenuados;
- Móveis (movimento muito lento - oscila).

✓ Células

- Levemente mais curtas que largas ou isodiamétricas;
- Apicais cilíndricas arredondadas ou arredondado-achatadas, raramente cônica, não capitadas, sem caliptra ou espessamento.

✓ Conteúdo celular

- Verde-azulado ou verde-acinzentado;
- Inúmeros aerótopos, conferindo coloração marrom a marrom-escuro às células.

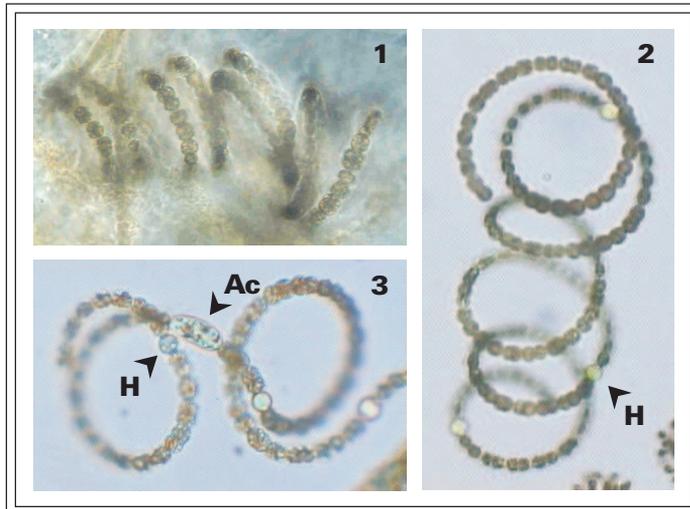
✓ Reprodução: fragmentação com formação de necrídios, originando hormocitos imóveis (Komárek et Anagnostidis, 2005).

Dimensões

✓ Tricomas (5-)5,5-9,7(10) µm de diâmetro

✓ Células (1,5-)2-5,5(9,5) µm de comprimento

Comentários: Espécie com ocorrência registrada para o lago Guaíba, responsável por determinar, quando em floração, coloração esverdeada, odor e sabor de terra à água. Segundo Komárek et Anagnostidis (2005) hormogônios de *Planktothrix* provavelmente hibernam no bentos, sem aerótopos em suas células.

Anabaena circinalis Rabenhorst ex Bornet et Flahault 1988

1. Aspecto geral de um filamento sem heterocitos e acinetos.
2. Aspecto geral de um filamento com heterocitos (H).
3. Aspecto geral de um filamento com acinetos (Ac) e heterocitos.

Principais características

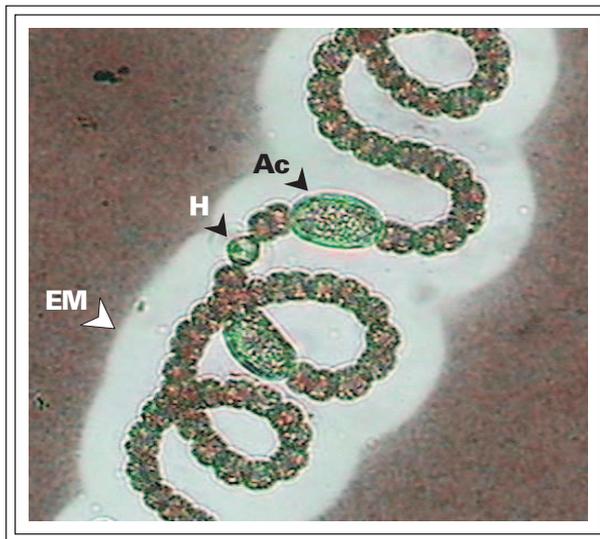
- ✓ Tricomas
 - Solitários ou emaranhados;
 - Espiralados, sem envelope mucilaginoso ou muito estreito;
 - Espiras amplas, regulares ou não.
- ✓ Células em forma de barril até esféricas.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.
- ✓ Heterocitos arredondados.
- ✓ Acinetos cilíndricos, arredondados ou angulares nas extremidades, geralmente solitários, distantes dos heterocitos.

Dimensões

- ✓ Espiras: altura - 70-120 μm
distância - 30-50 μm
- ✓ Células: 7,2-11,7 μm de diâmetro
7-10 μm de comprimento
- ✓ Heterocitos: 7-11 μm de diâmetro
- ✓ Acinetos: 15-22,5 μm de diâmetro
21,2-27,4 μm de comprimento

Comentários: espécie de ocorrência comum nos dois mananciais, por vezes destacou-se como dominante ou acompanhando florações de *Planktothrix isothrix*. Referida na bibliografia como potencialmente tóxica (Sivonen et Jones, 1999).

Anabaena crassa (Lemmermann) Komárková-Legnerová et Cronberg 1992



Parte de um tricoma com acinetos (Ac) e Heterocito (H), dentro de envelope mucilaginoso espesso (EM).

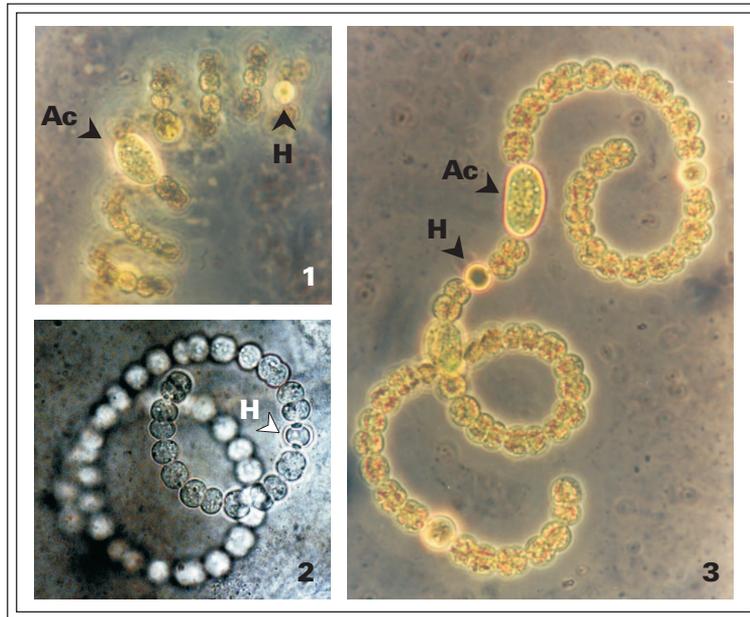
Principais características

- ✓ Tricomas
 - Solitários, espiralados, com envelope mucilaginoso espesso (até 20 μm largura);
 - Espiras usualmente regulares;
 - Células em forma de barril ou esféricas, geralmente comprimidas nas extremidades.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.
- ✓ Heterocitos arredondados.
- ✓ Acinetos elípticos, geralmente levemente curvos, solitários, às vezes aos pares, distantes dos heterocitos.

Dimensões

- ✓ Espiras: altura – 40-70 μm
distância – 30-55 μm
- ✓ Células: 9,7-11,8(15) μm de diâmetro
9-12,2 μm de comprimento
- ✓ Heterocitos: 9-15 μm de diâmetro
- ✓ Acinetos: 14-16,5 μm de diâmetro
21,2-25 μm de comprimento

Comentários: espécie de ocorrência comum, especialmente na represa Lomba do Sabão. Com potencial de produção de anatoxina a – (S) e microcistina (Becker et al. 2004).

Anabaena spiroides Klebahn 1895

1. Espiras regulares, com acineto (Ac) e heterocito (H). 2. Espiras irregulares, com heterocito. 3. Filamento senescente, com acineto e heterocitos.

Principais características

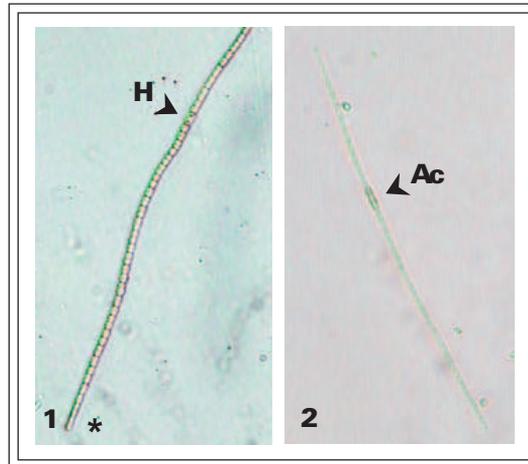
- ✓ Tricomas
 - Solitários ou emaranhados;
 - Regular ou irregularmente espiralados, com envelope mucilaginoso estreito.
- ✓ Células em forma de barril ou esféricas.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.
- ✓ Heterocitos arredondados.
- ✓ Acinetos elípticos, geralmente levemente curvos, solitários, distantes dos heterocitos.

Dimensões

- ✓ **Espiras:** altura – 20-45 μm
distância – ca. 20-45 μm
- ✓ **Células:** 6-8 μm diâmetro
- ✓ **Heterocitos:** 6-8 μm de diâmetro
- ✓ **Acinetos:** 10-14 μm de diâmetro
17-21 μm de comprimento

Comentários: sua ocorrência nos dois mananciais foi esporádica, não tendo sido registradas florações da espécie.

Aphanizomenon gracile Lemmermann 1907



1. Tricoma com heterocito (H) e célula apical capitada (*). 2. Aspecto geral de um tricoma com acineto (Ac).

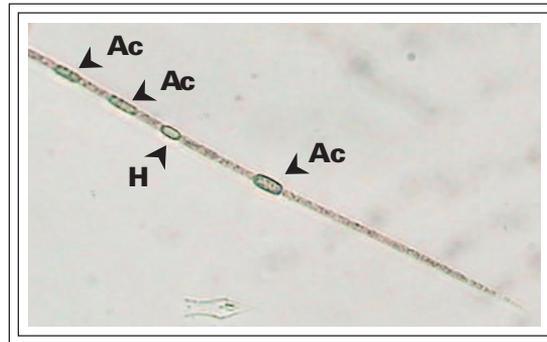
Principais características

- ✓ Tricomas
 - Solitários, retos ou levemente curvos, constrictos;
 - Gradualmente atenuados em direção às extremidades;
 - Sem envelope mucilaginoso.
- ✓ Células
 - Intermediárias cilíndricas, arredondado-truncadas nas extremidades;
 - Apicais capitadas ou cilíndricas com extremidades arredondadas.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, granuloso, sem aerótopos.
- ✓ Heterocitos
 - Intercalares, solitários;
 - Em forma de barril a elípticos, truncados nas extremidades.
- ✓ Acinetos
 - Cilíndricos, solitários ou aos pares, distantes dos heterocitos.

Dimensões

- ✓ Tricomas: 2,3-2,7(3,5) μm de diâmetro
- ✓ Células: intermediárias 4,6-7 μm de comprimento
apicais 1,7-2,3(3) x 4,5-6,4 μm
- ✓ Heterocitos: 3,7-5 μm de largura
4,7-7 μm de comprimento
- ✓ Acinetos: 2,8-5,1 μm de diâmetro
8,3-18,5 μm de comprimento

Comentários: células apicais capitadas constituem-se em uma característica típica desta espécie.

Aphanizomenon issatschenkoi (Ussaczew) Proschkina-Lavrenko 1962

Parte de um tricoma com acinetos (Ac) e heterocito (H).

Principais características

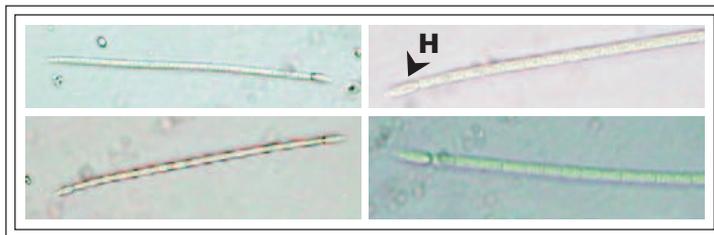
- ✓ Tricomas
 - Solitários, retos, não constrictos;
 - Bruscamente atenuados nas extremidades;
 - Sem envelope mucilaginoso.
- ✓ Células
 - Apicais pontiagudas, usualmente levemente curvas, não pigmentadas, hialinas;
 - Intermediárias cilíndricas.
- ✓ Conteúdo celular verde-azulado, com aerótopos.
- ✓ Heterocitos
 - Intercalares, solitários;
 - Cilíndricos com extremidades arredondadas.
- ✓ Acinetos
 - Cilíndricos com extremidades arredondadas, usualmente solitários, distantes dos heterocitos.

Dimensões

- ✓ Tricomas: 2-3(4,4) μm de diâmetro
- ✓ Células: intermediárias – 4-8 μm de comprimento
apicais 1,2-2,9 x 5-20 μm
- ✓ Heterocitos: 2-3(6,5) μm de largura
(4,5)6-10,9 μm de comprimento
- ✓ Acinetos: 2-4,5(7) μm de diâmetro
6-20 μm de comprimento

Comentários: espécie de ocorrência comum nos dois mananciais, especialmente na represa Lomba do Sabão, freqüentemente apresentando-se como dominante nestes ambientes. A espécie assemelha-se a *Aphanizomenon tropicale* Horecká et Komárek. No entanto, diferem entre si, essencialmente, pela forma dos acinetos e heterocitos. Além disso, os acinetos de *A. tropicale* se desenvolvem adjacentes aos heterocitos.

Cylindrospermopsis raciborskii (Wolosynska) Seenayya et Subba Raju 1972



Tricomas com heterocitos terminais (H), sem acinetos.

Principais características

- ✓ Tricomas
 - Solitários ou emaranhados;
 - Retos ou levemente curvos;
 - Não ou apenas levemente constrictos;
 - Atenuados nas extremidades;
 - Sem envelope mucilaginoso.
- ✓ Células
 - Apicais cônico-arredondadas, pontiagudas ou cilíndricas com extremidades arredondadas;
 - Intermediárias cilíndricas.
- ✓ Conteúdo celular: verde-azulado, usualmente com numerosos aerótopos.
- ✓ Heterocitos
 - Terminais, solitários;
 - Cônicos ou cônico-alongados, arredondados nas extremidades.
- ✓ Acinetos
 - Cilíndricos, arredondados nas extremidades ou ovais
 - Intercalares (subterminais) distantes 2-3 células das extremidades.

Dimensões

- ✓ Tricomas: 2-3,5 µm de diâmetro
- ✓ Células: 32-11 µm de comprimento
- ✓ Heterocitos: 3-5 µm de largura
6-13 µm de comprimento
- ✓ Acinetos: 2,8-5,1 µm de diâmetro
8,3-18,5 µm de comprimento

Comentários: Os tricomas dos gêneros *Aphanizomenon* e *Raphidiopsis* podem ser facilmente confundidos com *Cylindrospermopsis*, quando constituídos apenas por células vegetativas. A presença ou ausência de heterocitos, assim como a posição dos mesmos no tricoma, são os principais caracteres distintivos entre os gêneros. *Aphanizomenon* desenvolve heterocitos intercalares, enquanto *Raphidiopsis* não forma heterocitos, apenas acinetos. *Cylindrospermopsis raciborskii* é mundialmente conhecida pelo potencial de produção de diferentes tipos de toxinas (hepato e neurotoxinas).

REFERÊNCIAS

- AGUJARO, L.F. Métodos de análise. In: SANT'ANNA, C.L. et al. **Manual Ilustrado para Identificação e Contagem de Cianobactérias Planctônicas de Águas Continentais Brasileira**. São Paulo: Sociedade de Ficologia; Rio de Janeiro: Interciência. 2006. 58 p.
- AMERICAN PUBLICATION HEALTH ASSOCIATION - APHA. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20. ed. Washington: APHA, 1998.
- ANAGNOSTIDIS, K; KOMÁREK, J. Modern approach to the classification system of cyanophytes 5 – Stigonematales. **Algological Studies**, Stuttgart, v. 79, p. 1-73, 1990.
- AZEVEDO, M.T.P; SANT'ANNA, C.L. *Sphaerocavum*, a new genus of planktonic Cyanobacteria from continental water bodies in Brazil. **Algological Studies**, Stuttgart, v. 106, p. 15-19, 2003.
- BECKER, V; WERNER, V.R.; MONÇANI; G.R.P; YUNES, J.S. Ocorrência de *Anabaena crassa* e de outras cianobactérias em represas de abastecimento do município de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE FICOLOGIA, 10., 2004, Salvador. **Resumos ...** Salvador: 2004. 1 CD-ROM.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 36, de 19.01.90. O Ministério da Saúde aprova normas e padrões de potabilidade de água destinada ao consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 23 jan. 1990, Seção 1. p. 1651-1654.
- _____. Portaria nº 1.469/2000, de 29 de dezembro de 2000: Aprova o controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 29 de dezembro de 2000.
- _____. Portaria 518 de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F., 26 março 2004.
- _____. Decreto 5.440 de 04 de maio de 2005. Estabelece definições e procedimentos sobre o controle da qualidade da água de sistemas de abastecimento e institui mecanismos e instrumentos para divulgação de informação ao consumidor sobre a qualidade da água para consumo humano. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, D.F. 5 maio 2005.

- BRASIL. Ministério da Saúde. **Comentários sobre a Portaria MS nº 518/2004: subsídios para implementação**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005a.
- _____. Ministério do Meio Ambiente, Resolução CONAMA nº 357 de 03/2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Resolução n.º 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar. 2005, 2005b.
- CARVALHO, L.R. Cianotoxinas. In: SANT'ANNA, C.L. et al. **Manual Ilustrado para Identificação e Contagem de Cianobactérias Planctônicas de Águas Continentais Brasileira**. São Paulo: Sociedade de Ficologia; Rio de Janeiro: Interciência, 2006. p. 9-19.
- CODD, J.; CHORUS, I.; BURCH, M. Design of monitoring programmes. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.) **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health – consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon, 1999. cap. 10, p. 313-328.
- DOGO, C.R.; CARVALHO, L.C. Estudo químico de cepas do banco de cultura e cianobactérias da Seção de Ficologia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FICOLOGIA, 11., 2006, Itajaí e SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE ALGAS NOCIVAS, Itajaí. **Resumos ...** Itajaí: 2006. p. 66.
- FALCONER, I.; BARTRAM, J.; CHORUS, I.; KUIPER-GOODMAN, T.; UTKILEN, H.; BURCH, M.; CODD, G.A. Safe levels and safe practices. In: CHORUS I.; BARTRAM, J. (Ed.) **Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health – consequences, monitoring and management**. London: E&FN Spon, 1999. cap. 5, p. 155-178.
- FERNANDES, L.F.; WOSIACK, A.C.; PACHECO, C.V.; DOMINGUES, L.; LAGOS, P.D. Cianobactérias e cianotoxinas. In: ANDREOLI, C.V.; CARNEIRO, C. (Ed.). **Gestão integrada de mananciais de abastecimento eutrofizados**. Curitiba: Sanepar/Finep, 2005. p. 369-388.
- FITZGERALD, J.D. Cyanotoxins and human health – overview. In: CHORUS, I. (Ed.) **Cyanotoxins – occurrence, causes, consequences**. Berlin: Springer-Verlag, 2001. p. 179-189.
- FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 2003. 56p.
- GEITLER, L. Cyanophyceae. In: RABENHORST, L. **Kryptogamenflora von Deutschland, Österreich und der Schweiz**. Leipzig: Akademische. Verlagsgesellschaft, 1932. Bd. 14, il.
- JARDIM, F. A. et al. Metodologia para Contagem de Cianobactérias em Células/ml - um novo desafio para o analista de laboratórios. **Revista Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 3, p.109-111, jul./set. 2002.

- KARJALAINEN, M. **Fate and effects of *Nodularia spumigena* and its toxin, nodularin, in Baltic Sea planktonic food webs.** Helsinki: Finnish Institute of Marine Research. Contributions, 2005. Disponível em: <<http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/bio/bioja/vk/karjalainen/fateande.pdf>> Acesso em 10 ago. 2006.
- KOMÁREK, J; ANAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes 4 – Nostocales. **Algological Studies**, Stuttgart, v. 56, p. 247-345, 1989.
- _____. Cyanoprokaryota: 1. Teil. Chroococcales. In: ETTL, H. et al. (Ed.) **Süsswasserflora von Mitteleuropa**. Berlin: Gustav Fischer, 1998. v.19, pt.1, il.
- _____. Cyanoprokariota: 2. Teil Oscillatoriales. In: BÜDEL, B. et al. (Ed.) **Süsswasserflora von Mitteleuropa**. Berlin: Heidelberg: Elsevier/Spectrum, 2005. v.19, pt.2, il.
- KOMÁREK, J; KOMÁRKOVÁ-LEGNEROVÁ, J; SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P.; SENNA, P.A.C. Two common *Microcystis* species (Chroococcales, Cyanobacteria) from tropical America, including *M. panniformis* sp. nov. **Criptogamie Algologie**, Paris. v. 23, n. 2, p.159-177, 2002.
- KUIPER-GOODMAN, T; FALCONER, I; FITZGERALD, J. Human health aspects. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.). **Toxic cyanobacteria in water; A guide to their public health consequences, monitoring and management.** London: E & FN Spon, 1999. cap. 4, p. 41-111.
- MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Omega, 1983. 1010 p.
- SANT'ANNA, C.L.; AZEVEDO, M.T.P. Identificação e ilustração dos principais gêneros. In: SANT'ANNA, C. L. et al. **Identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras**. Rio de Janeiro: Interciência. 2006. p. 35-53.
- SIVONEN, K.; JONES, G. Cyanobacterial toxins. In: CHORUS, I.; BARTRAM, J. (Ed.). **Toxic cyanobacteria in water; A guide to their public health consequences, monitoring and management.** London: E & FN Spon, 1999. cap. 3, p. 41-111.
- WERNER, V.R. **Cyanophyceae/Cyanobacteria no Sistema de Lagoas e Lagunas da Planície Costeira do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2002. 363 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Área de Biologia Vegetal) - Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro.

GLOSSÁRIO

- Acinetos:** Células vegetativas diferenciadas que aumentam de tamanho, com parede espessada e conteúdo celular densamente granulado, constituindo-se em esporos de resistência.
- Aerótopos:** grupos de vesículas de gás relacionadas com a flutuação. Vistos ao microscópio ótico como corpos irregulares e refringentes rosados, negros ou incolores.
- Biomassa:** refere-se ao peso da matéria viva (organismo, população ou comunidade), normalmente expressa em peso seco ou peso fresco.
- Biovolume:** volume ocupado pela célula ou organismo, considerando o volume da forma geométrica mais próxima do indivíduo considerado.
- Caliptra:** espessamento proeminente, semelhante a um capuz, sobre a célula apical de tricomas, originada de resquícios de bainha mucilaginosa ou de necrídios.
- Câmara de Sedgwick-Rafter:** câmara utilizada para quantificação de organismos em microscópio ótico comum, com capacidade de 1 ml e dimensões de 20 mm de largura, 50 mm de comprimento por 1 mm de altura.
- Capitado:** que lembra a forma de cabeça.
- Clatradas:** colônias perfuradas de maneira irregular, que no conjunto lembram uma rede.
- Constricto:** reentrância nas paredes transversais de tricomas.
- Ensaio toxicológico com camundongo:** bioensaio para a determinação da toxicidade de uma amostra, com a utilização de organismo padrão (camundongo albino suíço, macho).
- Envelope ou Bainha Mucilaginosa:** mucilagem formada de polissacarídeos excretados pelas células, envolvendo células ou tricomas. Nas formas coloniais normalmente é denominada de envelope mucilaginoso (fechado), enquanto que nas filamentosas de bainha (aberta).
- Escuma:** também denominada de “nata” ou espuma superficial, originada pelo acúmulo de indivíduos de uma floração de cianobactérias, depositando-se geralmente nas margens, sob efeito do vento dominante, e em locais protegidos.
- Espessamento:** aumento na espessura da parede celular na extremidade externa da célula apical de tricomas.
- Eutrófico:** ambiente com alta concentração de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, que pode ser devido a processos naturais ou a despejos de esgotos domésticos e/ou industriais e também pela lavagem de solos ricos em nutrientes (adubo), causando a chamada eutrofização. A eutrofização normalmente é acompanhada de aumento de biomassa vegetal e multiplicação excessiva de cianobactérias.
- Filamento:** conjunto constituído pela bainha mucilaginosa e pela fileira de células (tricoma).
- Fissão primária:** divisão da célula em duas células-filhas que atingem o tamanho da célula-mãe antes da próxima divisão.

- Florações:** proliferação excessiva de uma ou algumas espécies fitoplanctônicas, normalmente conferindo coloração esverdeada, amarelada ou avermelhada à água.
- Grânulos:** inclusões no protoplasma visíveis ao microscópio ótico; armazenam substâncias de diferentes tipos ou carotenóides. Vistos ao microscópio ótico como corpos arredondados (regulares), escuros.
- Heterocitados:** tricomas constituídos por células vegetativas e células diferenciadas, os heterocitos e acinetos.
- Heterocitos:** células vegetativas diferenciadas onde ocorre a fixação de nitrogênio atmosférico. Apresentam parede espessada, conteúdo celular freqüentemente verde-amarelado e possuem nódulos polares na zona de contato com as células vizinhas.
- Homocitados:** tricomas constituídos somente por células vegetativas.
- Hormocistos:** hormogônios envolvidos por bainha mucilaginosa; funcionam como estrutura de resistência. Estes crescem através de divisões celulares formando novos tricomas.
- Hormogônios:** pedaços de tricomas resultantes da fragmentação dos mesmos, geralmente constituídos por poucas células, com função de reprodução. Estes crescem através de divisões celulares formando novos tricomas.
- Lise:** destruição da célula, com rompimento da membrana celular e liberação do conteúdo citoplasmático.
- Monitoramento:** observação, medição e avaliação contínua ou repetida do ambiente para propósitos definidos, considerando a variação espacial e temporal, utilizando métodos comparáveis para a coleta e medição de dados.
- Necrídios:** células mortas que auxiliam a fragmentação do tricoma para formação de hormogônios, hormocitos e ramificações.
- Oligotrófico:** ambiente aquático onde o teor de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, é muito baixo.
- Ramificações falsas:** ramificações produzidas sem mudança no plano de divisão celular em relação ao eixo principal do tricoma.
- Ramificações verdadeiras:** ramificações produzidas quando ocorre mudança no plano de divisão celular, passando a ser paralelo ao eixo principal do tricoma.
- Retículo de Whipple:** retículo colocado em uma das oculares do microscópio, utilizado para contagem de células, apresentando-se dividido em 100 quadrados, sendo que o quadrado central apresenta 25 subdivisões.
- Tricoma:** fileira de células.