



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA AMBIENTAL

CAMILA FERREIRA MENDES

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA E ANÁLISE DE MICROCISTINA EM
PESCADO DE TANQUES-REDES EM RESERVATÓRIOS DE ABASTECIMENTO
PÚBLICO.

CAMPINA GRANDE - PB

2013

CAMILA FERREIRA MENDES

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA E ANÁLISE DE MICROCISTINA EM
PESCADO DE TANQUES-REDES EM RESERVATÓRIOS DE ABASTECIMENTO
PÚBLICO.

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Ambiental da Universidade Estadual da
Paraíba, como pré-requisito para obtenção
do título de Mestre.

Nome do Orientador: PROF^o. DR^o. JOSÉ ETHAM DE LUCENA BARBOSA

CAMPINA GRANDE – PB

2013

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL-UEPB

M538a Mendes, Camila Ferreira.
Avaliação da qualidade da água e análise de microcistina em pescado de tanques-redes em reservatórios de abastecimento público. [manuscrito] / Camila Ferreira Mendes. – 2013.
66 f. : il. color.

Digitado
Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental), Centro de Ciências e Tecnologia, Universidade Estadual da Paraíba, 2013.

“Orientação: Prof. Dr. José Etham de Lucena Barbosa, Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental.”

1. Qualidade da água. 2. Cianobactérias. 3. Reservatórios de água. 4. Eutrofização. 5. Piscicultura. I. Título.

21. ed. CDD 628.3

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA E ANÁLISE DE MICROCISTINA EM
PESCADO DE TANQUES-REDES EM RESERVATÓRIOS DE ABASTECIMENTO
PÚBLICO.

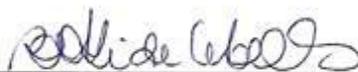
CAMILA FERREIRA MENDES

Orientador:



Prof^o Dr^o José Erham de Lucena Barbosa

Examinadores:



Prof^a Dr^a Beatriz Suzana Ovruski de Ceballos/ UEPB



Prof^o Dr^o Ênio Wocylí Dantas/ UEPB

CAMPINA GRANDE

2013

Dedicatória

*Dedico este trabalho, com todo amor existente em
minh'alma aos meus pais, Adelita e Reginaldo, que são os
principais responsáveis por minhas conquistas.*

Agradecimentos

Momento mais que especial estar escrevendo os agradecimentos da minha dissertação, é quase como redigir um outro capítulo da mesma, rrsrsr... Isto me remete a recordações que vão desde o processo de seleção até pensar em como será o futuro.

Mas para começar quero dizer obrigada ao meu querido e eterno professor Ênio Wocyli, que me apoiou em meio a um fracasso na seleção para o mestrado em Ecologia e abriu as portas junto ao professor José Etham para o mestrado em Ciência e Tecnologia Ambiental. Obrigada aos dois mestres que também fizeram parte da minha formação durante a graduação. Espero tê-los sempre presentes em minha caminhada acadêmica.

Passada a seleção veio o desafio de morar em outra cidade, sem minha família, ter que dividir apartamento com outras pessoas que nunca tinham visto antes, obrigada as meninas com quem dividi vários momentos Dani, Olga, Gaby, Klívia, Adrieline e Adna. Foi ótima a experiência de ter que cuidar de mim sozinha, limpar a casa, pensar durante o dia o que eu iria jantar, cresci, amadureci bastante e pude ter mais autoconfiança.

Um grande obrigada a minha turma do mestrado: Aline Carlos, Aline Gurjão, Cris, Josué, Júlia, Luciana, Mateus, Sara e Zé Carlos, pessoas com as quais dividi os primeiros momentos de ser mestranda, as dificuldades nas disciplinas, e também muitas risadas e momentos descontraídos. Lembrando também dos professores que conheci e que serão referências em meu futuro. Aproveito também para agradecer especialmente a professora Beatriz a qual convivi desde a graduação e está acompanhando todo o processo de realização desta dissertação.

Outro desafio a ser encarado foi a integração no laboratório. De início as coisas não foram nada fáceis, mas depois de passados 7 meses, entre uma coleta e outra, ou em meio as análises na "EAD", o algo em comum com as pessoas foi surgindo e a amizade não demorou pra crescer. Hoje eu tenho mais uma família, o povo do Laboratório de Ecologia Aquática (LEAq): Flávia, Gustavo, Iara, Leandro, Morgana, Paulo, Shakira, Silvana, Vanessa e Climélia e tantas outras que também fazem parte, mas são tantas que não dá pra citar. Vocês foram importantíssimos pra mim, a alegria de todos os dias, os sorrisos, gargalhadas foram energéticos para minha alma que também passava por situações escuras e tristes. Obrigado por tudo!! Não sei como serão os meus dias sem a presença de vocês!

Em especial quero agradecer a Jany, por todo apoio nesse mestrado, desde a seleção quando me hospedou em sua casa até os últimos momentos, pelas dúvidas esclarecidas e todos os conselhos para a elaboração do trabalho, obrigada Jany!

Nem sei como falar desse casal que tiveram enorme importância nesses últimos momentos na minha vida, Evaldo e Dani. Obrigada pelos momentos de alegria, piadas, risos, e principalmente pela companhia até as 22:00h no laboratório e as caronas até a minha casa, amizade como a de vocês não tem preço e espero que aceitem este simples obrigada como agradecimento! Dani, como é bom quando as amizades surgem assim, do inesperado né!? Espero que perdure até o fim de nossas vidas!

Obrigada ao meu povo de Santa Rita, onde eu tinha a minha fuga das dificuldades do mestrado e das tristezas do coração! A amiga e comadre Rejane, que ouviu e participou de todas as minhas dores e também me animou e incentivou para o melhor, obrigada mulher! As amigas Geane, Rayane, Karlinha (e seus esposos), Iolanda, Jaqueline, ao compadre Edson, o povo do Grupo de Oração Leão de Judá, da Comunidade São João Batista, aos amigos da infância, adolescência, da escola, da graduação, obrigadaaaa! Foram vocês que me alegraram quando eu precisei e a minha vida seria incompleta sem a presença de vocês!

E por trás de todo o esforço, existe uma base forte e sólida que é a minha família. Meus pais Adelita e Reginaldo, obrigada por acreditarem e confiarem em mim e nas decisões que tomei até aqui, espero nunca decepcioná-los e carregarei sempre comigo a gratidão por tudo que fizeram por mim, amo vocês! Obrigada ao meu irmão William e minha cunhada Bela e sua família, pelo incentivo de sempre e pelo novo membro que está chegando Benjamim Gabriel, meu sobrinho que será muito amado pela Tia! A todos os meus tios e tias, em especial Tia Nena e Edu pelo apoio, aos primos e primas queridos, obrigadaaaa!!

E finalmente, meu amado Deus, obrigada por minha fé e confiança, pela força que me fez continuar, por me tirar sempre dos profundos poços e problemas que apareciam. Obrigada pelas oportunidades que apareceram e cuide por mim do meu futuro, está tudo em suas mãos!

LISTA DE TABELAS

PRIMEIRO CAPÍTULO

Tabela 1: Reservatórios e os municípios e bacias hidrográficas onde estão localizados e suas respectivas capacidade máxima (m³).....32

SEGUNDO CAPÍTULO

Tabela 1: Reservatórios e os municípios e bacias hidrográficas onde estão localizados e suas respectivas capacidade máxima (m³).....51

Tabela 2: Parâmetros físicos e químicos analisados nos reservatórios de Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro, Paraíba. T (°C) – temperatura, Trans – transparência, NH₃ – amônia, NO₂ – nitrito, NO₃ – nitrato, P-total – fósforo total, Cloa a – clorofila a, AC – Acauã, AR – Araçagi, BC – Boqueirão do Cais, CV – Cacimba de Várzea, CO – Cordeiro.....55

Tabela 3: Composição dos grupos algais encontradas nos reservatórios de AC - Acauã, AR - Araçagi, BC - Boqueirão do Cais, CV - Cacimba de Várzea e CO - Cordeiro.....59

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRO CAPÍTULO

Figura 1: Localização geográfica dos cinco reservatórios de abastecimento público do estado da Paraíba.....33

Figura 2: Valores de A – Temperatura; B – pH; C – Transparência da água; D – Oxigênio dissolvido encontrados nos Reservatórios de AC- Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....36

Figura 3: Concentrações de A – Nitrogênio total; B – Amônia; C – Nitrito; D – Nitrato; E – Fósforo total; F – Clorofila a encontrados nos Reservatórios de AC- Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....37

Figura 4: Contribuição das densidades das classes fitoplanctônicas (ciano – cianobactérias, cloro, Chlorophyta, baci – Bacillariophyta, eugle – Euglenophyta) observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....41

Figura 5: Contribuição das espécies de cianobactérias em número de cel/mL observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....42

Figura 6: Análise de Coordenadas Principais (PCO), utilizando como base uma matriz de densidade de células de cianobactérias e variáveis preditoras (NH_3 – amônia, turbidez, sechi – transparência e SD – sólidos totais) observadas nos Reservatórios de R1 – Acauã; R2 – Araçagi; R3 – Boqueirão do Cais; R4 – Cacimba de Várzea e R5 – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....43

SEGUNDO CAPÍTULO

Figura 1: Localização geográfica dos cinco reservatórios de abastecimento público do estado da Paraíba.....51

Figura 2: Etapas do processo de extração de microcistinas no músculo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). (A – músculo extraído do peixe; B – músculo no microprocessador; C – músculo processado; D – pesagem de 20g do músculo triturado; E – amostras em becker com TFA 0,1%; F – amostras na mesa agitadora; G – amostras nos tubos de clorofila; H – amostras na centrífuga; I – material

centrifugado; J – evaporação do material; K – material ressuspenso em água mili-Q na mesa agitadora; L – filtração em filtro C18; M – frascos de metanol a 10%, 20% e 30%; N – filtração com TFA 0,1%; O – evaporação da solução; P – material ressuspenso com 1mL de água Mili-Q, levados para mesa agitadora; Q – Solução final usada para análise com o kit ELISA).....54

Figura 3: Contribuição das densidades das classes fitoplanctônicas (ciano – cianobactérias, cloro, Chlorophyta, baci – Bacillariophyta, eugle – Euglenophyta) observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.....56

Figura 4: nMDS mostrando a distribuição dos reservatórios localizados no estado da Paraíba a partir de uma matriz de densidade da comunidade fitoplanctônica (AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro).....57

Figura 5: Concentração de microcistina verificadas nos músculos dos peixes em diferentes estágios de desenvolvimento (alevino, juvenil e adulto).....57

Figura 6: Análise de regressão linear simples entre a densidade de cianobactérias e concentração de microcistina no músculo dos peixes A – alevino, B – juvenil, C – adulto.....58

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
4. PRIMEIRO CAPÍTULO (Qualidade de água para abastecimento: análise da aplicação da legislação em reservatórios do semiárido paraibano).....	28
Resumo.....	28
Abstract.....	30
4.1 Introdução.....	31
4.2 Material e métodos.....	32
4.2.1 Área de estudo.....	32
4.2.2 Variáveis ambientais.....	33
4.2.3 Variáveis biológicas.....	33
4.2.4 Índice de Qualidade de Água em Reservatórios (IQAR).....	33
4.2.5 Análise dos dados.....	34
4.3 Resultados e Discussão.....	35
4.3.1 Características ambientais.....	35
4.3.2 Avaliação da qualidade da água.....	38
4.3.3 O problema das cianobactérias.....	39
4.4 Considerações finais.....	43
4.5 Referências bibliográficas.....	44
5. SEGUNDO CAPÍTULO (Análise de microcistina em pescado de tanques-redes em reservatórios do semiárido paraibano e seus potenciais riscos ao consumo humano).....	48
Resumo.....	48
Abstract.....	49
5.1 Introdução.....	50

5.2 Material e métodos.....	51
5.2.1 Área de estudo.....	51
5.2.2 Épocas e locais de coletas.....	52
5.2.3 Variáveis ambientais.....	52
5.2.4 Variáveis biológicas.....	52
5.2.5 Amostragem dos peixes.....	53
5.2.6 Extração e análise de microcistinas no músculo de tilápia do Nilo (<i>Oreochromis niloticus</i>).....	53
5.2.7 Análise dos dados.....	54
5.3 Resultados.....	55
5.4 Discussão.....	59
5.5 Referências bibliográficas.....	63

Mendes, Camila Ferreira, mestrado pela Universidade Estadual da Paraíba, março de 2013. Avaliação da qualidade da água e análise de microcistina em pescado de tanques-redes em reservatórios de abastecimento público. José Etham de Lucena Barbosa (Orientador).

Resumo: Os ecossistemas aquáticos são de extrema importância para a vida dos seres vivos, e se tornam ainda mais importantes em regiões onde este recurso é escasso. Dentre as utilidades múltiplas está o cultivo de pescado em tanque-rede que vem se destacando no Brasil por ser considerado de fácil manejo e por sua alta produtividade de proteína nobre e de baixo custo. Os objetivos do presente estudo foram: i) avaliar os parâmetros utilizados pelos diferentes órgãos fiscalizadores para a determinação da qualidade da água em reservatórios do estado da Paraíba; ii) investigar a presença de microcistina nos músculos de tilápias cultivadas em tanques-redes em diferentes estágios de desenvolvimento (alevinos, juvenis e adultos) e seus riscos potenciais para o consumo humano. A amostragem foi realizada em Janeiro de 2012 em cinco reservatórios distribuídos em quatro bacias hidrográficas (Paraíba, Mamanguape, Curimataú, Jacu) do estado. Foram avaliados parâmetros físicos (temperatura e transparência), químicos (oxigênio dissolvido, pH, nitrogênio total, amônia, nitrato, nitrito, fósforo total e clorofila a), algas e cianobactérias. Com relação aos valores máximos permitidos de nutrientes, os reservatórios estão dentro dos limites estabelecidos pela Resolução CONAMA 357/2005, e pela Portaria 2.914, no entanto, a densidade de cianobactérias mostrou-se acima do que é colocado pelos órgãos fiscalizadores. O Índice de Qualidade de Água de Reservatórios (IQAR) mostrou que os reservatórios estão classificados como não impactado a muito pouco degradado. Análises toxicológicas mostraram diferença significativa ($p < 0,001$) na concentração de microcistina nos músculos dos diferentes estágios de desenvolvimento dos peixes. No conteúdo estomacal foi observada elevadas densidades de *Planktothrix agardhii*, havendo correlação significativa com a concentração de microcistina que foi maior nos alevinos. Os resultados não ultrapassam os limites de ingestão diária tolerável (TDI) estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Faz-se pertinente a recomendação de uma reformulação e revisão dos parâmetros utilizados na classificação da qualidade da água, visto que os valores máximos permitidos das variáveis contempladas não são favoráveis ao correto monitoramento das florações de cianobactérias. O

acompanhamento da sazonalidade de proliferação desses organismos nos sistemas evitando o consumo do peixe nesses períodos são medidas mitigadoras para a prevenção de potenciais riscos à saúde da população. Além de uma adequada gestão da atividade de piscicultura a fim de minimizar ou não acelerar a deterioração dos reservatórios.

Palavras-chave: cianobactérias, eutrofização, Resolução CONAMA 357/2005, Portaria 2.914, Índice de Qualidade de Água de Reservatórios (IQAR), piscicultura intensiva, Tilápia do Nilo.

1. INTRODUÇÃO GERAL

Nos últimos anos, a piscicultura vem se destacando no Brasil como relevante atividade econômica, principalmente devido ao fator climático brasileiro que possibilita a produção com custos quatro vezes inferior a países da Europa, e também pela grande disponibilidade dos recursos hídricos (HASHIMOTO *et al*, 2003). A prática desta atividade está sendo amplamente difundida nos estados nordestinos especialmente pela possibilidade eficaz de obtenção de proteína nobre de baixo custo.

Segundo Rocha (2006) a criação de peixes em tanques-redes apresenta algumas vantagens, como o fácil manejo, menor investimento inicial e a alta produtividade. As tilápias são nativas da África, e têm sido as principais contribuintes para o crescimento da aquicultura. A espécie *Oreochromis niloticus* (L.), conhecida como tilápia do Nilo, é onívora e micrófaga, e consome basicamente o plâncton e detritos em suspensão, e vem sendo uma das mais utilizadas nesta prática (BRASIL, 2006). Por ter o fitoplâncton inserido na sua dieta, a tilápia consome conseqüentemente cianobactérias, que são os organismos potencialmente produtores de toxinas. A possibilidade das florações serem potencialmente tóxicas implica na provável acumulação das toxinas nos organismos aquáticos, que dessa forma se inclui uma rota de possível exposição e conseqüente ameaça para a saúde de pessoas que utilizam este tipo de pescado na sua dieta alimentar (BERRY & LIND, 2010).

Dentre os tipos de cianotoxinas, as microcistinas são as mais estudadas, estas são peptídeos cíclicos hepatotóxicos que contêm sete aminoácidos, tendo os dois aminoácidos terminais do peptídeo linear condensado, podendo ser encontradas diversas formas variantes conforme a estrutura química apresentada (DAWSON, 1998). Hoje se tem o conhecimento de que estas toxinas são produzidas por várias espécies de cianobactérias formadoras de florações: *Anabaena*, *Aphanocapsa*, *Cylindrospermopsis*, *Hapalosiphon*, *Nostoc*, *Pseudanabaena*, *Planktothrix* e *Microcystis* (DEBLOIS *et al*, 2008).

Das formas existentes, a mais comum é a microcistina-LR, a qual têm sido responsável por intoxicações agudas em humanos e animais, além de ser considerada grande promotora de tumores (ALVERCA *et al*, 2009). Quatro métodos potenciais têm sido utilizados em trabalhos voltados à detecção das microcistinas,

que são os testes de fluorescência, ensaio imunoenzimático (ELISA), inibição de proteínas fosfatases e espectrometria de massa.

Na Paraíba, já foram registrados eventos de florações de cianobactérias tóxicas em muitos reservatórios utilizados para abastecimento público (VASCONCELOS *et al*, 2011). No presente estudo serão avaliados os açudes de Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro, localizados respectivamente nas cidades de Itatuba, Araçagi, Cuité, Cacimba de Dentro e Congo que são usados tanto para a aquicultura como para abastecimento público dos seus municípios. Destes, apenas no primeiro se tem registros publicados da ocorrência de cianobactérias (BARBOSA & MENDES, 2004), e quanto a análises de toxinas em pescados não se têm publicações efetivas para o estado.

Diante do exposto, os objetivos do presente estudo foram: i) avaliar os parâmetros utilizados pelos diferentes órgãos fiscalizadores para a determinação da qualidade da água em reservatórios do estado da Paraíba; ii) investigar a presença de microcistina nos músculos de tilápias cultivadas em tanques-redes em diferentes estágios de desenvolvimento (alevinos, juvenis e adultos) e seus riscos potenciais para o consumo humano.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O crescente desenvolvimento da sociedade e suas atividades requerem um acréscimo na demanda dos recursos hídricos e a utilização de fontes de abastecimento para suprir a falta de água como os reservatórios, especialmente em áreas de baixa pluviosidade. O crescimento na demanda de água resulta em um aumento na formação de esgotos e conseqüente poluição e eutrofização das águas superficiais.

O termo eutrofização é utilizado há muitos anos em todo mundo e muitos estudos foram desenvolvidos sendo de grande importância na avaliação não só do estado trófico dos sistemas aquáticos, mas também na compreensão e entendimento dos impactos causados pela eutrofização na ecologia dos organismos biológicos, como exemplo o fitoplâncton, e na qualidade da água (SILVA, 1999; TUCCI & SANT'ANNA, 2003; TUCCI *et al*, 2006; CHELLAPPA *et al*, 2008; SANTIAGO *et al*, 2010).

Em todo o mundo a eutrofização se tornou um grande problema para os ecossistemas aquáticos e o uso da comunidade fitoplanctônica têm sido de grande importância na avaliação do estado trófico desses sistemas (EHRENHAUS & VIGNA, 2006; DESORTOVÁ & PUNCOCHÁR, 2011; SONDERGAARD *et al*, 2011). Segundo Chorus e Bartram (1999), na América do Sul 41% dos lagos são eutróficos, e no Brasil muitos trabalhos relatam casos de eutrofização em lagos e reservatórios utilizados para abastecimento público, tendo como discriminador da qualidade da água o fitoplâncton (MOURA *et al*, 2007a; GENTIL *et al*, 2008; CHELLAPPA *et al*, 2009; CORDEIRO-ARAÚJO *et al*, 2010).

Dentre as espécies de algas planctônicas que formam a estrutura das comunidades nos sistemas aquáticos, as cianobactérias ganham destaque quanto a sua adaptação às condições de enriquecimento de nutrientes (nitrogênio e fósforo) na água. Além disso, o tempo de retenção da água, a estratificação, a temperatura, pH alcalino (CARVALHO *et al*, 2008; DANTAS, 2010) são fatores que influenciam a formação de florações, sendo um problema intensificado em nosso país pelo fato de que a maioria dos reservatórios de água para abastecimento apresentam as características necessárias para o crescimento intenso desses organismos durante todo o ano (FUNASA, 2003).

A presença de florações de cianobactérias nos sistemas utilizados para abastecimento público causa grande preocupação devido à perda dos aspectos agradáveis aos consumidores, dificuldade de remoção e encarecimento no processo de tratamento da água (LAPOLLI *et al*, 2010), e principalmente pela capacidade que esses organismos possuem de produzirem uma diversidade de metabólitos secundários, as cianotoxinas (CARVALHO *et al*, 2008), que trazem sérios riscos à saúde humana.

Segundo Bevilacqua *et al* (2009), a região tropical brasileira apresentou menor diversidade de cianobactérias tóxicas (14 espécies) em relação à região subtropical (27 espécies). Os gêneros *Microcystis* e *Anabaena* apresentaram sete e seis espécies respectivamente, e foram os que apresentaram o maior número de espécies tóxicas. As espécies *Microcystis aeruginosa* e *Cylindrospermopsis raciborskii* foram as de maior ocorrência nas diferentes regiões. Costa & Azevedo (1994) registraram que, dentre 16 cepas coletadas nos estados do Rio de Janeiro, Amazonas, São Paulo, Minas Gerais, e no Distrito Federal e, testadas quanto à toxicidade, cerca de 75% delas mostraram-se tóxicas.

Na região Nordeste, os estados do Rio Grande do Norte (COSTA *et al*, 2006; PANOSSO *et al*, 2007; CHELLAPPA *et al*, 2008; COSTA *et al*, 2009) e Pernambuco (BOUVY *et al*, 1999; BOUVY *et al*, 2000; MOURA *et al*, 2007; DANTAS *et al*, 2008; BITTENCOURT-OLIVEIRA *et al*, 2010; NASCIMENTO & MOURA, 2010; BITTENCOURT-OLIVEIRA *et al*, 2011) destacam-se na publicação de trabalhos que relatam a ocorrência de florações dos principais gêneros potencialmente tóxicos em reservatórios utilizados para abastecimento público. Inclusive, foi no estado de Pernambuco, na cidade de Caruaru, onde ocorreu um dos casos de intoxicação por cianotoxinas mais conhecidos no mundo. O trabalho de Azevedo *et al* (2002) relatou o caso em que 52 pacientes morreram após serem submetidos à hemodiálise com água contaminada com cianotoxina.

Na Paraíba também foram registradas elevadas densidades de cianobactérias em reservatórios (BARBOSA & MENDES, 2005; DINIZ, 2005). Macedo (2009) realizou análises de microcistina na água de 20 reservatórios de abastecimento público do estado, detectando a presença da toxina em 55% destes, sendo as concentrações mais elevadas no período seco, quando os reservatórios estavam com menor volume de água.

O meio pelo qual as cianotoxinas podem atingir os humanos é através da água de abastecimento, no entanto, existe também a possibilidade destas toxinas chegarem por transferência pela cadeia alimentar, como por exemplo, pela ingestão de pescado que possui como fonte de alimento cianobactérias. A aquicultura apresentou um grande desenvolvimento dentre as práticas zootécnicas em atividade no Brasil, com aumento da oferta de produtos e ganhos de produtividade a partir dos anos 80, assumindo características de atividade econômica. É considerada pela ONU como atividade estratégica para segurança alimentar, sendo bastante difundida tanto em países desenvolvidos como nos que estão em desenvolvimento (BOMBARDELLI *et al*, 2005).

Estudos sobre bioacumulação de cianotoxinas estão sendo amplamente desenvolvidos em todo mundo em diversos organismos aquáticos como em peixes (MAGALHÃES *et al*, 2003; SOARES *et al*, 2004; CAZENAVE *et al*, 2005; CHEN *et al*, 2006; CHEN *et al*, 2007; ADAMOVSKY *et al*, 2008; BERRY *et al*, 2011), moluscos (CHEN & XIE, 2007; GERARD *et al*, 2009; BERRY & LIND, 2010) e crustáceos (KARJALAINEN *et al*, 2005). Em um trabalho pioneiro realizado em um lago Chinês, Chen *et al* (2009) compararam padrões de acumulação de microcistina entre diferentes grupos de vertebrados aquáticos (peixe, tartaruga, pato e ave aquática) discutindo os possíveis efeitos da floração tóxica sobre a sobrevivência destes animais, como também avaliaram os riscos potenciais para consumo humano. Através dos resultados os autores concluíram que existe uma tendência geral de acumulação de microcistina no fígado, enquanto músculos e gônadas acumularam substancialmente. Embora houvesse diferenças nos teores de microcistina de um órgão específico entre os diferentes grupos, os níveis de microcistina em tartaruga, pato, ave aquática foram em geral dentro dos limites de peixe, indicando que os peixes não são os únicos vertebrados a serem afetados por microcistina.

Entretanto, os peixes são alimentos comuns na dieta humana, fonte importante de proteína e podem custar mais barato que outras fontes alimentares. Nos estudos sobre acumulação e os efeitos tóxicos das cianotoxinas os peixes são os organismos mais utilizados (BEST *et al*, 2002; MALBROUCK *et al*, 2003; CAZENAVE *et al*, 2008; GUTIÉRREZ-PRAENA *et al*, 2011; GUTIÉRREZ-PRAENA *et al*, 2012; PAVAGADHI *et al*, 2012). Nos trabalhos realizados no Brasil, são mais utilizadas espécies de tilápias, em especial *Oreochromis niloticus* e *Tilapia rendalli*,

que são bastante comuns nos ecossistemas brasileiros, e nas análises são usados músculo, fígado e vísceras (DEBLOIS *et al*, 2008; DEBLOIS *et al*, 2011). Magalhães *et al* (2001), estudou a acumulação de microcistina no peixe (*Tilapia rendalli*) na Lagoa de Jacarepaguá no Rio de Janeiro que é pescado e consumido pela população local de pescadores. Os resultados confirmaram a presença de microcistina no músculo do peixe acima do limite recomendado pela Organização Mundial de Saúde ($0.04 \mu\text{g kg}^{-1} \text{ dia}$), o que evidencia a necessidade de monitoramento e controle da qualidade de peixes das lagoas que apresentam florações de cianobactérias.

As principais cianotoxinas são as neurotoxinas (anatoxina-a, anatoxina-a(s) e saxitoxina) que causam sérios problemas ao sistema nervoso, sendo produzidas pelos gêneros *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria*, *Trichodesmium*, *Cylindrospermopsis* e *Lyngbya*. E as hepatotoxinas (microcistina, nodularina e cilindrospermopsina) que atacam fortemente o fígado, produzidas pelos gêneros *Anabaena*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc*, *Oscillatoria*, e *Planktothrix* (CHORUS & BARTRAN, 1999; FUNASA, 2003).

Dentre os diversos tipos de cianotoxinas, a mais estudada é a microcistina, que é um potente inibidor das proteínas fosfatases 1 e 2A as quais regulam as enzimas presentes no citosol das células de mamíferos. São potentes promotoras de tumores, causando grandes perturbações estruturais e funcionais no fígado. E entre as suas variantes, a primeira que foi quimicamente identificada e é a mais tóxica e frequentemente encontrada é a microcistina-LR, que contem os aminoácidos leucina (L) e arginina (R) nas posições variáveis.

A toxicidade e ubiquidade das microcistinas faz com que se torne necessário o desenvolvimento de métodos rápidos, sensíveis e confiáveis para detectá-las. No entanto, algumas técnicas desenvolvidas e bastante utilizadas nem sempre são eficazes quantitativamente e qualitativamente, ou mesmo se tornam inadequadas ou inconvenientes na detecção das toxinas. Sassolas *et al* (2011), cita as desvantagens de alguns métodos, como por exemplo, os ensaios em ratos, que provocam problemas éticos devido a experimentação animal; ensaios *in vitro* baseado em mudanças morfológicas da célula depois de expor a toxina, que geram resultados subjetivos.

A cromatografia líquida de alta eficiência e espectrometria de massa são técnicas que permitem alta identificação seletiva e sensível quantificação das

diferentes toxinas (MERILUOTO *et al.*, 1998; OLIVEIRA *et al.*, 2006; VINOGRADOVA *et al.*, 2011). No entanto requerem equipamentos caros, processos complexos, longo tempo de análises e pessoas treinadas; os métodos imunológicos são os mais comuns e utilizados hoje em dia. Um estudo realizado por Bláhová *et al* (2009), avaliou o desempenho de dois métodos analíticos, comparando o método imunológico ELISA e cromatografia líquida/ espectrometria de massa para análise de cilindrospermopsina. Os resultados mostraram que houve uma concordância qualitativa entre os dois métodos, entretanto, o ELISA se mostrou mais eficaz na detecção de concentrações mais baixas da toxina.

Ainda não existem relatos de intoxicações humanas a partir da transferência pela cadeia alimentar, no entanto, é fato que existe a acumulação das toxinas em peixes e assim se torna indispensável o acompanhamento dos sistemas quanto às florações de cianobactérias, a fim de prevenir os potenciais riscos gerados por estes organismos.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOVSKY, O. et al. Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 26, n. 12, p.2687-2693, 2007.

ALVERCA, E. et al. Morphological and ultrastructural effects of microcystin-LR from *Microcystis aeruginosa* extract on a kidney cell line. **Toxicon**, Austrália, v. 54, p.283-294, 2009.

AZEVEDO, S.M.F.O. et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. **Toxicology**, v. 182, p.441-446, 2002.

BARBOSA, J.E. & MENDES, J. Estrutura da comunidade fitoplanctônica e aspectos físicos e químicos da água do reservatório Acauã, semi-árido paraibano. Reunião Brasileira de Ficologia, 10, 2004, Salvador. Anais da Reunião Brasileira de Ficologia, Rio de Janeiro, Museu Nacional, 2005, p.339-390.

BEVILACQUA, P. D. et al. Microrganismos emergentes: Protozoários e Cianobactérias, in: Remoção de microrganismos emergentes de microcontaminantes orgânicos no tratamento de água para consumo humano/ Valter Lúcio de Pádua (coordenador). Rio de Janeiro: ABES, 2009. 392p. Projeto PROSAB.

BERRY, J. P.; LIND, O. First evidence of “paralytic shellfish toxins” and cylindrospermopsin in a Mexican freshwater system, Lago Catemaco, and apparent bioaccumulation of the toxins in “tegogolo” snails (*Pomacea patula catemacensis*). **Toxicon**, Austrália, n. 55, p.930-938, 2010.

BERRY, J. P. et al. Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in lago de Patzcuaro (Michoacan, Mexico). **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 30, p.1-8, 2011.

BEST, J.H. et al. Effects of enteric bacterial and cyanobacterial lipopolysaccharides, and of microcystin-LR, on glutathione S-transferase activities in zebra fish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 60, p.223-231, 2002.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; SANTOS, D.M.S.; MOURA, A.N. Toxic cyanobacteria in reservoirs in northeastern Brazil: detection using a molecular method. **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, v. 70, n. 4, p.1005-1010, 2010.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C; OLIVEIRA, M.C; PINTO, E. Diversity of microcystin-producing genotypes in Brazilian strains of *Microcystis* (Cyanobacteria). **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, v. 71, n. 1, p.209-216, 2011.

BLÁHOVÁ, L. et al. The first occurrence of the cyanobacterial alkaloid toxin cylindrospermopsin in the Czech Republic as determined by immunochemical and LC/MS methods. **Toxicon**, Austrália, v. 53, p.519-524, 2009.

BOMBARDELLI; R. A.; SYPPERRECK, M. A.; SANCHES, E. A. Situação atual e perspectivas para o consumo, processamento e agregação de valor ao pescado. **Arq. ciên. vet. zool. UNIPAR**, 8(2): p. 181-195, 2005.

BOUVY, M. et al. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis raciborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 20, p.285-297, 1999.

BOUVY, M. et al. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 23, p.13-27, 2000.

CARVALHO, L.R. de et al. A toxic cyanobacterial bloom in an urban coastal lake, Rio Grande do Sul state, southern Brazil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, Brasil, v. 39, p.761-769, 2008.

CAZENAVE, J. et al. Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in *Corydoras paleatus*, *Jenynsia multidentata* and *Odontesthes bonariensis* A field and laboratory study. **Aquatic Toxicology**, v. 75, p.178-190, 2005.

CAZENAVE, J. et al. Changes in the swimming activity and the glutathione S-transferase activity of *Jenynsia multidentata* fed with microcystin-RR. **Water Research**, v. 42, p.1299-1307, 2008.

CHELLAPPA, N.T.; BORBA, J.M; ROCHA, O. Phytoplankton community and physical-chemical characteristics of water in the public reservoir of Cruzeta, RN,

Brazil. **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, v. 68, n. 3, p.477-494, 31 ago. 2008.

CHELLAPPA, N.T; CÂMARA, F.R; ROCHA, O. Phytoplankton community: indicator of water quality in the Armando Ribeiro Gonçalves Reservoir and Pataxó Channel, Rio Grande do Norte, Brazil. **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, p. 241-251. 31 maio 2009.

CHEN, J. et al. In situ studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stocked in Lake Taihu with dense toxic *Microcystis* blooms. **Aquaculture**, v. 261, p.1026-1038, 2006.

CHEN, J. et al. In situ studies on the distribution patterns and dynamics of microcystins in a biomanipulation fish e bighead carp (*Aristichthys nobilis*). **Environmental Pollution**, v. 147, p.150-157, 2007.

CHEN, J.; XIE, P. Microcystin accumulation in freshwater bivalves from lake Taihu, China, and the potential risk to human consumption. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 26, n. 5, p.1066-1073, 2007.

CHEN, J. et al. Simultaneous determination of microcystin contaminations in various vertebrates (fish, turtle, duck and water bird) from a large eutrophic Chinese lake, Lake Taihu, with toxic *Microcystis* blooms. **Science Of The Total Environment**, v. 407, p.3317-3322, 2009.

CHORUS, I.; BARTRAM, J. (eds) *Toxin cyanobacteria in water*. Londres. E & FN Spon, 1999.

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. 56 pg

CORDEIRO-ARAÚJO, M.K. et al. Dinâmica fitoplanctônica relacionada às condições ambientais em reservatório de abastecimento público do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Brasil, v. 5, n. 4, p.592-599, 2010.

COSTA, S.M. & AZEVEDO, S.M.F.O. Implantação de um banco de cultura de cianofíceas tóxicas. **Iheringia** v. 45, p.69-74, 1994.

COSTA, I.A.S. et al. Occurrence of toxin-producing cyanobacteria blooms in a Brazilian semiarid reservoir. **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, v. 66, n. 1, p.211-219, 2006.

COSTA, I.A.S. et al. Dinâmica de cianobactérias em reservatórios eutróficos do semi-árido do Rio Grande do Norte. **Oecologia Brasiliensis**, Brasil, v. 13, n. 2, p.382-401, 2009.

DANTAS, Ê.W.; MOURA, A.N.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; NETO, J.D.T.A.; CAVALCANTI, A.D.C. Temporal variation of the phytoplankton community at short sampling intervals in the Mundaú reservoir, Northeastern Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasil, v. 22, n. 4, p.970-982, 2008.

DANTAS, Ê.W. **Ecologia da comunidade da algas planctônicas em reservatórios de Pernambuco** (Nordeste, Brasil). Tese de Doutorado em Botânica. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

DAWSON, R. M. The toxicology of microcystins. **Toxicon**, Austrália, v. 36, n. 7, p.930-938, 1998.

DEBLOIS, C. P. et al. Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. **Toxicon**, Austrália, v. 51, p.435-448, 2008.

DEBLOIS, C. P.; GIANI, A.; BIRD, D. F. Experimental model of microcystin accumulation in the liver of *Oreochromis niloticus* exposed subchronically to a toxic bloom of *Microcystis* sp. **Aquatic Toxicology**, v. 103, p.63-70, 2011.

DESORTOVÁ, B.; PUNCOCHÁR, P. Variability of phytoplankton biomass in a lowland river: Response to climate conditions. **Limnologica**, v. 41, p.160-166, 2011.

DINIZ, R. 2005. Ritmos nictemerais e distribuição espaço temporal de variáveis limnológicas e sanitárias em dois açudes do trópico semi-árido (PB). Tese de Doutorado, UFCG, Campina Grande, PB. 194p.

EHRENHAUS, C.; VIGNA, M.S. Changes in the phytoplankton of Lake Planetário after a restoration process. **Darwiniana**, Buenos Aires, v. 44, n. 2, p.319-328, 2006.

GENTIL, R.C.; TUCCI, A.; SANT'ANNA, C.L. Dinâmica da comunidade fitoplanctônica e aspectos sanitários de um lago urbano eutrófico em São Paulo, SP. **Hoehnea**, Brasil, v. 2, n. 35, p.265-280, 06 jun. 2008.

GÉRARD, C. et al. Influence of toxic cyanobacteria on community structure and microcystin accumulation of freshwater molluscs. **Environmental Pollution**, v. 157, p.609-617, 2009.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D. et al. Oxidative stress responses in tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to a single dose of pure cylindrospermopsin under laboratory conditions: Influence of exposure route and time of sacrifice. **Aquatic Toxicology**, v. 105, p.100-106, 2011.

GUTIÉRREZ-PRAENA, D. et al. Time-dependent histopathological changes induced in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) after acute exposure to pure cylindrospermopsin by oral and intraperitoneal route. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 76, p.102-113, 2012.

HASHIMOTO, E. H.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; HIROOKA, E. Y. H. Risco de *Microcystis* spp. tóxico no cenário da piscicultura brasileira. **Biosaúde**, Londrina, v. 5, n. 1/2, p.59-68, 2003.

KARJALAINEN, M. et al. Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: Consequences for pike larvae and mysid shrimps. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 20, p.354-362, 2005.

LAPOLLI, F.R.; CORAL, L.A.; RECIO, M.A.L. **Cianobactérias em mananciais de abastecimento – problemática e métodos de remoção**. **Revista Dae**, São Paulo, n. 185, p.09-17, jan. 2011.

MACEDO, D. R. G. Microcistina na água e biomagnificação em peixes de reservatórios de abastecimento público do Estado da Paraíba. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2009, 82p.

MAGALHÃES, V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. **Toxicon**, Austrália, v. 39, p.1077-1085, 2001.

MAGALHÃES, V. F. et al. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). **Toxicon**, Austrália, v. 42, p.289-295, 2003.

MALBROUCK, C. et al. Hepatic accumulation and effects of microcystin-LR on juvenile goldfish *Carassius auratus* L. **Comparative Biochemistry And Physiology Part**, v. 135, p.39-48, 2003.

MERILUOTO, J. et al. Electrochemical detection of microcystins, cyanobacterial peptide hepatotoxins, following high-performance liquid chromatography. **Journal Of Chromatography A**, v. 810, p.226-230, 1998.

MOURA, A.N. et al. Microalgas e qualidade da água de manancial utilizado para abastecimento público localizado na região metropolitana da cidade do Recife, PE, Brasil. **Revista de Geografia**, Recife, v. 24, n. 2, p.154-178, 2007a.

MOURA, A.N.; DANTAS, Ê.W.; OLIVEIRA, M.C.B.-. Structure of the Phytoplankton in a Water Supply System in the State of Pernambuco - Brazil. **Brazilian Archives Of Biology And Technology: AN INTERNATIONAL JOURNAL**, Paraná, p. 645-654. jul. 2007b.

NASCIMENTO, E.C.; MOURA, A.N. Ocorrência de cianobactérias potencialmente tóxicas no reservatório de Jucazinho – Pernambuco. In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX 2010 – UFRPE: Recife, 18 a 22 de outubro.

OLIVEIRA, E. J. A. et al. A Fluorescent-Labeled Microcystin-LR Terbium Cryptate. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 17, n. 2, p.243-250, 2006.

PANOSSO, R., et al. Cianobactérias e cianotoxinas em reservatórios do estado do Rio Grande do Norte e o potencial controle das florações pela tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*). **Oecologia Brasiliensis**, Brasil, v. 11, n. 3, p.433-449, 2007.

PAVAGADHI, S. et al. Biochemical response of diverse organs in adult *Danio rerio* (zebrafish) exposed to sub-lethal concentrations of microcystin-LR and microcystin-RR: A balneation study. **Aquatic Toxicology**, v. 109, p.1-106, 2012.

ROCHA, A. A.; BRANCO, S. M. A eutrofização e suas implicações na ciclagem de nutrientes. **Acta Limnolca Brasiliensis**, São Paulo, v. 1, p.201-242, 1986.

ROCHA, E. S. **Sustentabilidade ambiental do cultivo intensivo de tilápias (*Oreochromis niloticus*) em tanques-rede e a capacidade de suporte de quatro reservatórios em uma região semi-árida tropical**. 2006. 41 f. Dissertação - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2006.

SANTIAGO, M.F. et al. Phytoplankton dynamics in a highly eutrophic estuary in tropical Brazil. **Brazilian Journal Of Oceanography**, São Paulo, v. 58, n. 3, p.189-205, 2010.

SASSOLAS, A. et al. Development of a colorimetric inhibition assay for microcystin-LR detection: Comparison of the sensitivity of different protein phosphatases. **Talanta**, v. 85, p.2498-2503, 2011.

SILVA, L. H. S. Fitoplâncton de um reservatório eutrófico (Lago Monte Alegre), Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, São Paulo, v. 59, n. 2, p.281-303, 30 jun. 1999.

SOARES, R. M.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. **Aquatic Toxicology**, v. 70, p.1-10, 2004.

SONDERGAARD, M.; et al. Using chlorophyll a and cyanobacteria in the ecological classification of lakes. **Ecological Indicators**, v. 11, p.1403-1412, 2011.

TUCCI, A; Sant'ANNA, C.L. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju (Cyanobacteria): variação semanal e relações com fatores ambientais em um reservatório eutrófico, São Paulo, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 26, n. 1, p.97-112, mar. 2003.

TUCCI, A. et al. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 2, p.147-175, 2006.

VINOGRADOVA, T. et al. Rapid surface plasmon resonance immunobiosensor assay for microcystin toxins in blue-green algae food supplements. **Talanta**, v. 84, p.638-643, 2011.

PRIMEIRO CAPÍTULO

A ser encaminhado para publicação na
Revista Ciência e Saúde Coletiva

QUALIDADE DE ÁGUA PARA ABASTECIMENTO: ANÁLISE DA APLICAÇÃO DA LEGISLAÇÃO EM RESERVATÓRIOS DO SEMIARIDO PARAIBANO.

Resumo: O presente trabalho propõe avaliar os parâmetros utilizados pelos diferentes órgãos fiscalizadores para a determinação da qualidade da água em reservatórios do estado da Paraíba. A amostragem foi realizada em Janeiro de 2012 em cinco reservatórios distribuídos em quatro bacias hidrográficas (Paraíba, Mamanguape, Curimataú, Jacu) do estado. Foram avaliados parâmetros físicos (temperatura, pH, e transparência), químicos (oxigênio dissolvido, nitrogênio total, amônia, nitrato, nitrito, fósforo total e clorofila a), algas e cianobactérias. Todos os reservatórios foram classificados como classe 3 na Resolução CONAMA 357/2005, águas que podem ser destinadas: ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; a irrigação; a pesca amadora; à recreação de contato secundário; e à dessedentação de animais. Os parâmetros físicos e químicos analisados nos cinco reservatórios estão dentro dos valores máximos permitidos pela Portaria 2.914 do Ministério da Saúde, no entanto, entre eles não são cobrados as concentrações de nitrogênio e fósforo totais, que são fatores limitantes na proliferação de algas e cianobactérias. Todos os reservatórios foram classificados dentro do IQAR (Índice de Qualidade da Água de Reservatório) como não impactado e muito pouco degradado. A comunidade fitoplanctônica apresentou um total de 26 táxons, sendo o maior número e a maior densidade de Cianobactérias. A densidade de cianobactérias em número de células variou de 2×10^3 a 6×10^3 . A DISTLM mostrou que a baixa transparência da água, sólidos totais, turbidez e as elevadas concentrações de amônia foram os principais parâmetros responsáveis pelas altas densidades de cianobactérias nos reservatórios. Faz-se pertinente a recomendação de uma reformulação e revisão dos parâmetros utilizados na classificação da qualidade da água, visto que os valores máximos

permitidos das variáveis contempladas não são favoráveis ao correto monitoramento das florações de cianobactérias.

Palavras-chave: cianobactérias, eutrofização, Resolução CONAMA 357/2005, Portaria 2.914, Índice de Qualidade de Água de Reservatórios (IQAR).

Abstract: (Quality of water supply: analysis of law enforcement in reservoirs semiarid paraibano) The present study proposes to evaluate the parameter used by different regulatory agencies for determining water quality reservoirs in Paraíba state. Sampling was conducted in January 2012 in five reservoirs distributed in four watersheds (Paraíba, Mamanguape, Curimataú, Jacu) state. Were evaluated physical parameters (temperature, pH, and transparency), chemical (dissolved oxygen, total nitrogen, ammonia, nitrate, nitrite, total phosphorus and chlorophyll a), algae and cyanobacteria. All reservoirs were classified as Class 3 in CONAMA Resolution 357/2005, which can be aimed waters: the supply for human consumption, after conventional treatment or advanced; irrigation; amateur fishing, the secondary contact recreation, and watering animals. The physical and chemical parameters analyzed in the five reservoirs are within the maximum permitted by the Resolution 2.914 of the Ministry of Health, however, they are charged between concentrations of total phosphorus and nitrogen, which are limiting factors in the proliferation of algae and cyanobacteria. All reservoirs were ranked within the IQAR (Quality Water Reservoir Index) as not impacted and degraded very little. The phytoplankton community showed a total of 26 taxa, with the largest number and highest density of Cyanobacteria. The density of cyanobacteria in cell numbers ranged from $201,70 \times 10^3$ to $627,35 \times 10^3$. The DISTLM showed that low water transparency, total solids, turbidity and high concentrations of ammonia were the main parameters responsible for the high densities of cyanobacteria in reservoirs. It is the recommendation of a relevant reformulation and revision of the parameters used in the classification of water quality, since the maximum permissible values of the variables included are not conducive to proper monitoring of cyanobacterial blooms.

Keywords: cyanobacteria, eutrophication, CONAMA Resolution 357/2005, Resolution 2914, Water Quality Reservoir Index (IQAR).

4.1. INTRODUÇÃO

O elemento água é fundamental para qualquer ser vivo e para que estes realizem suas atividades diárias (MARTINEZ & GALERA, 2011). Algumas regiões do mundo são marcadas pela pouca chuva e escassez deste recurso, e no Brasil, a região Nordeste, está incluída entre essas áreas que possuem um baixo índice pluviométrico. Mesmo sendo tão importante, a qualidade da água dos sistemas aquáticos está sendo cada vez mais diminuída, principalmente devido a atividades antrópicas, como descarga de esgotos domésticos e industriais, os fertilizantes carreados de áreas de cultivo próximas aos reservatórios, a criação de peixes em tanques-redes sem o correto manejo, entre outros, acarretando ou acelerando o processo de eutrofização (BITTENCOURT-OLIVEIRA *et al.*, 2001; MANKIEWICZ *et al.*, 2003; VIEIRA *et al.*, 2005).

O termo qualidade de água refere-se especialmente para as condições da água utilizada para o abastecimento público (MORETTO *et al.*, 2012) e para que este recurso possa ser usado sem causar danos à saúde da população existem órgãos públicos nacionais responsáveis pela fiscalização, elaboração de leis e portarias que exprimem as exigências ou mesmo classificam os sistemas como próprios ou não para seus usos múltiplos. Entre eles estão: ANA – Agência Nacional de Águas, que utiliza índices de qualidade da água visando informar a população e orientar as ações de planejamento e gestão da qualidade da água, a partir da sintetização da informação sobre vários parâmetros físico-químicos; CONAMA – Comissão Nacional do Meio Ambiente dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de água superficiais, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes; e Ministério da Saúde que através da Portaria 2.914/2011 dispõe sobre procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.

Estes órgãos utilizam como requisitos de avaliação alguns parâmetros físicos e químicos específicos, e como biológicos as cianobactérias que devido ao processo acelerado de eutrofização são um problema cada vez mais comum nos reservatórios. Estes organismos foram inseridos nas legislações vigentes rigorosamente após o acidente ocorrido em uma clínica em Caruaru, Pernambuco no ano 1996, onde 52 pacientes vieram a óbito após a contaminação da água

utilizada para a hemodiálise com a toxina produzida pelas cianobactérias (AZEVEDO et al., 2002).

Na Europa, foi introduzido o conceito de estado ecológico, a partir da Diretiva Quadro da Água, que exprime a qualidade estrutural e funcional dos ecossistemas aquáticos, visando os atributos físicos, químicos, hidromorfológicos e biológicos. Desse modo, mostra-se a importância de contemplar os sistemas não só pelos valores de nutrientes de seu estado trófico, mas sim em todos os seus aspectos, inserindo também como parâmetro a caracterização da área no entorno do sistema, e seus atributos biológicos (MOLOZZI et al., 2012).

Como devem ser vistos os ecossistemas aquáticos? Conciliar todas as características dos reservatórios na avaliação de sua qualidade voltada para o abastecimento público seria uma forma de garantir a escolha de reservatórios ou pontos dentro dos sistemas em bom estado de conservação. Neste contexto, o presente trabalho propõe avaliar os parâmetros utilizados pelos diferentes órgãos fiscalizadores da qualidade da água no Brasil.

4.2. MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1. ÁREA DE ESTUDO

A amostragem foi realizada em cinco reservatórios distribuídos em três bacias hidrográficas no estado da Paraíba, nos quais desenvolve-se atividade de piscicultura intensiva em tanques rede. (Tabela 1; Figura 1). Além de serem utilizados para esta prática, estes reservatórios também são usados para outras finalidades como o abastecimento público, agricultura, sedentação de animais, e recreação.

Tabela 1: Reservatórios e os municípios e bacias hidrográficas onde estão localizados e suas respectivas capacidade máxima (m³).

Açude	Município	Bacia Hidrográfica	Capacidade máxima (m ³)
Acauã	Itatuba	Bacia do Rio Paraíba	253.000.000
Araçagi	Araçagi	Bacia do Rio Mamanguape	63.289.037
Boqueirão do Cais	Cuité	Bacia do Rio Jacu	12.367.300
Cacimba de Várzea	Cacimba de Dentro	Bacia do Rio Curimataú	9.264.321
Cordeiro	Congo	Bacia do Rio Paraíba	69.965.945

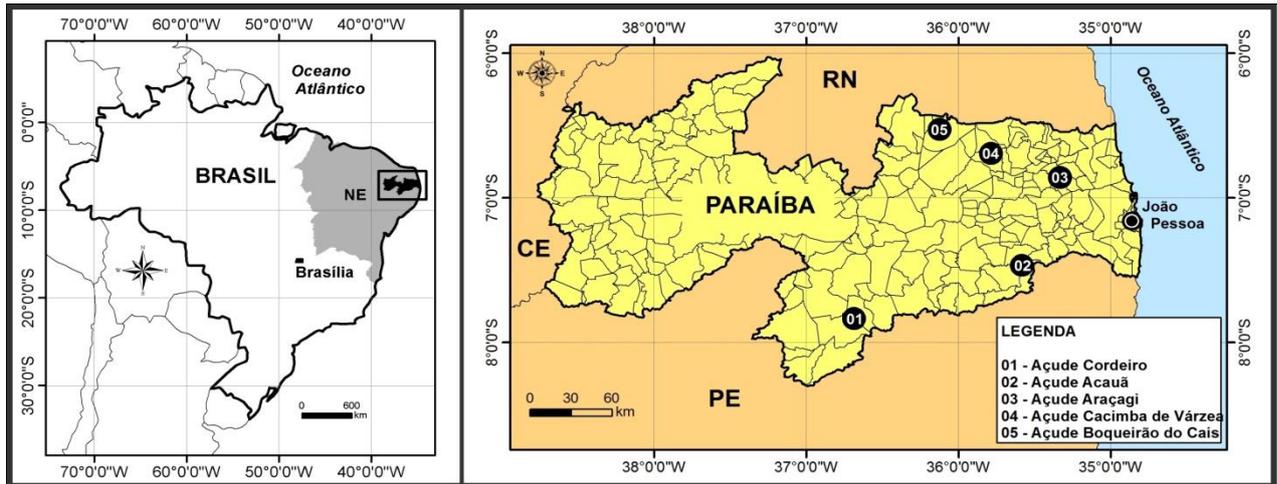


Figura 1: Localização geográfica dos cinco reservatórios de abastecimento público do estado da Paraíba.

4.2.2. ÉPOCAS E LOCAIS DE COLETAS.

A amostragem foi realizada em Janeiro de 2012 nos cinco reservatórios. Foram escolhidos três pontos em cada reservatório, um próximo a barragem (ponto 1), outro próximo aos tanques-redes (ponto 2) e o terceiro (ponto 3) a montante dos tanques. As amostras foram coletadas com garrafa do tipo Van Dorn a cada três metros de profundidade, e integradas em uma única amostra representativa, de onde foram retiradas sub-amostras para as análises químicas e biológicas.

4.2.3. VARIÁVEIS AMBIENTAIS

Foram medidos in situ dados de temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido através de sonda portátil multiparamétrica da marca Horiba. A transparência da água foi determinada através da extinção do disco de Secchi.

Para as análises de nutrientes dissolvidos, as amostras foram filtradas com filtro de fibra de vidro Whatman GF/C de 47 mm de diâmetro, acondicionadas em frascos de polietileno e congeladas para posterior análise. As amostras não filtradas foram utilizadas para determinar as concentrações de fósforo e nitrogênio totais (APHA, 1995). Para determinação da concentração de clorofila *a* foi utilizada acetona 90% como solvente e a fórmula proposta por Wetzel & Likens (1991).

4.2.4. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

Para estudo qualitativo do fitoplâncton, as amostras foram coletadas com rede de plâncton com abertura de malha de 20 μ m, através de arrasto horizontal na superfície da água. Depois de coletadas foram acondicionadas em frascos de plástico e fixadas com formol 4%. A análise do material biológico foi realizada no laboratório de Ecologia Aquática do Campus I da UEPB, a partir da confecção de lâminas semi-permanentes e posteriores observações em microscópio óptico da marca Olympus, modelo CX31. Foram analisados em cada amostra, características morfológicas dos organismos, as quais foram utilizadas para o enquadramento taxonômico dos mesmos em chaves de identificação disponíveis em artigos e livros especializados para cada grupo algal. Os táxons foram identificados a partir de amostras populacionais, sempre que possível a níveis específicos e intraespecíficos. O sistema de classificação para as classes e gêneros seguiu as indicações de Bicudo e Menezes (2006).

Para a quantificação do fitoplâncton, as amostras serão tomadas diretamente dos pontos de coleta, com o auxílio de um frasco de boca larga. Serão coletadas réplicas por ponto amostral, as quais serão acondicionadas em frascos âmbar com capacidade de 100mL. As alíquotas serão fixadas com lugol acético até a sua contagem. A densidade do fitoplâncton será estimada pelo método de Utermöhl (1958) em microscópio invertido, utilizando-se tempo de sedimentação de pelo menos três horas para cada centímetro de altura da câmara.

4.2.5. ÍNDICE DE QUALIDADE DE ÁGUA EM RESERVATÓRIOS (IQAR)

O Índice de Qualidade de Água em Reservatórios (IQAR) foi criado pelo Instituto Ambiental do Paraná - IAP para verificar a degradação da qualidade da água dos reservatórios.

Antes de ser calculado o índice, os valores dos parâmetros analisados nos reservatórios são enquadrados numa matriz desenvolvida pelo IAP que apresenta seis classes de qualidade da água, as quais foram estabelecidas a partir do cálculo dos percentis 10%, 25%, 50%, 75% e 90% de cada uma das variáveis selecionadas:

Variáveis	1	2	3	4	5	6
Déficit de Oxigênio dissolvido (%)	≤5	6-20	21-35	36-50	51-70	>70
Clorofila a (µg/L)	≤1,5	1,5-3,0	3,1-5,0	5,1-10,0	11,0-32,0	>32
Fósforo total (PO2-mg/L)	≤0,010	0,011-0,025	0,026-0,040	0,041-0,085	0,086-0,210	>0,210
Profundidade – Disco de Secchi (m)	≥3	3-2,3	2,2-1,2	1,1-0,6	0,5-0,3	<0,3
Demanda química de oxigênio – DQO (mg/L)	≤3	3-5	6-8	9-14	15-30	>30
Tempo de residência (dias)	≤10	11-40	41-120	121-365	366-550	>550
Nitrogênio inorgânico total (N-mg/L)	≤0,15	0,16-0,25	0,26-0,60	0,61-2,00	2,00-5,00	>5,00
Cianobactérias (nº de células /mL)	≤1.000	1.001-5.000	5.001-20.000	20.001-50.000	50.001-100.000	>100.000
Profundidade média (metros)	≥35	34-15	14-7	6-3,1	3-1,1	<1

Para o cálculo do IQAR as variáveis selecionadas recebem pesos em função do seu nível de importância para a avaliação da qualidade da água do reservatório:

Parâmetro de Qualidade da Água	Peso (w)
Déficit de Oxigênio dissolvido (%) ¹	17
Clorofila a (µg/L)	15
Fósforo total (PO2-mg/L) ²	12
Profundidade Secchi (m)	12
Demanda química de oxigênio – DQO (mg/L) ²	12
Tempo de residência (dias)	10
Nitrogênio inorgânico total (N-mg/L) ²	8
Cianobactérias (nº de células /mL) ³	8
Profundidade média (metros)	6

O IQAR é calculado pela seguinte fórmula:

$$\text{IQAR} = \frac{\sum (w_i \cdot q_i)}{\sum w_i}$$

sendo,

w_i = peso da variável i ;

q_i = classe de qualidade em relação a variável i (pode variar de 1 a 6).

Os valores do IQAR são classificados em 6 faixas:

Valor do IQAR	Qualificação
0 – 1,50	Não impactado a muito pouco degradado
1,51 – 2,50	Pouco degradado
2,51 – 3,50	Moderadamente degradado
3,51 – 4,50	Criticamente degradado a poluído
4,51 – 5,50	Muito poluído
> 5,51	Extremamente poluído

4.2.5. ANÁLISE DOS DADOS

O teste ANOVA (um fator) foi empregado para verificar diferenças nos valores das variáveis ambientais entre os reservatórios, o programa estatístico adotado foi o Statistica 7, da Statsoft Inc. Para determinar variáveis preditoras a densidade de cianobactérias foi realizada uma DISTLM (Distance-based linear models), que analisa a relação entre um conjunto multivariado de dados selecionando as variáveis que foram direcionadoras do parâmetro biológico proposto (LEGENDRE & ANDERSON, 1999). O padrão de distribuição dos casos foi disposto em uma PCO (Principal coordinates analysis), considerando apenas os parâmetros selecionados pela DISTLM (TORGERSON, 1958; GOWER, 1966). Para as duas análises foi utilizado o programa estatístico PRIMER + PERMANOVA, 2006 (MC ARDELLE & ANDERSON, 2001).

4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1. CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS

Os fatores abióticos são decisivos para o estabelecimento do padrão de funcionamento dos ecossistemas (CORDEIRO-ARAÚJO et al., 2010). Neste sentido, a caracterização limnológica dos ambientes aquáticos pode responder a questões a cerca da qualidade da água, como também sobre o estado biológico do sistema. No nosso estudo, a temperatura da água apresentou uma amplitude de variação entre os reservatórios de 2,6°C com a mínima de 26,2°C no reservatório Cordeiro e máxima de 28,8°C no reservatório Araçagi, o pH da água foi alcalino em todos os reservatórios, a maior transparência da água foi verificada em Cordeiro e as menores em Acauã, tais parâmetros apresentaram diferença significativa entre os sistemas ($p < 0,05$). As concentrações de oxigênio dissolvido indicam a existência de colunas de água bem oxigenadas, porém não se verificou diferença significativa entre os sistemas (figura 2).

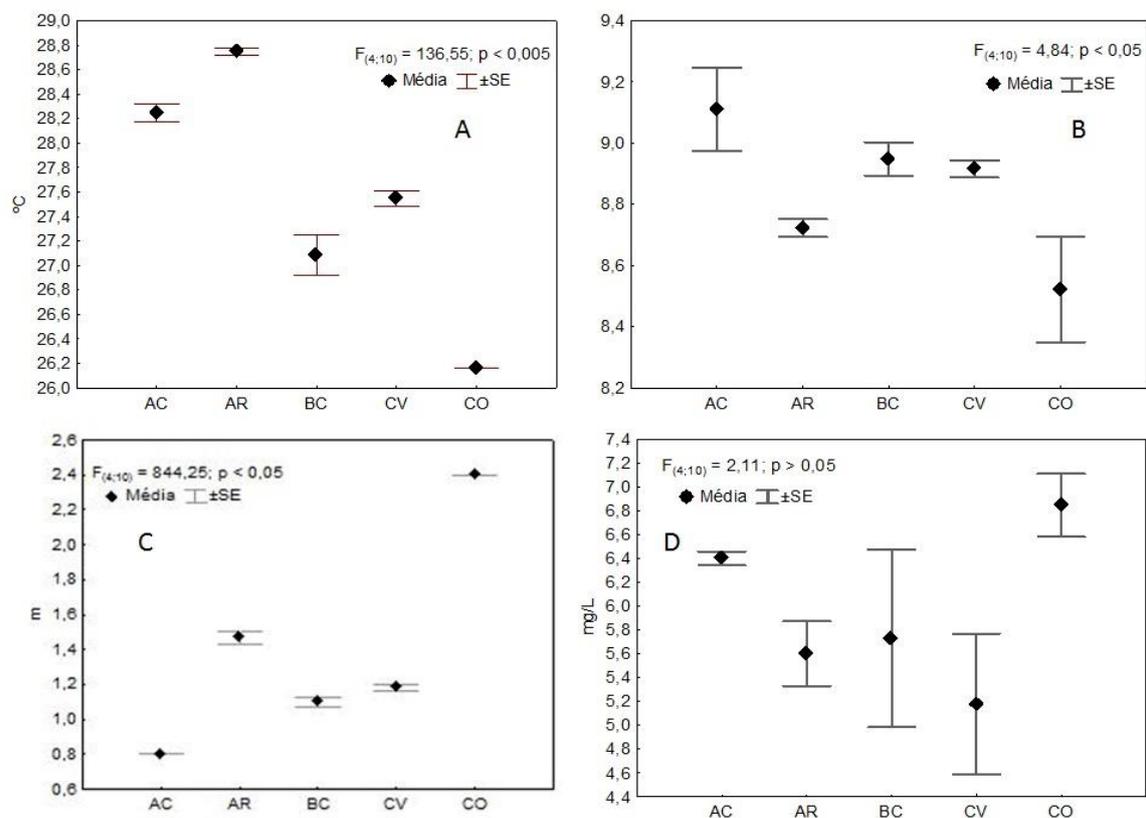


Figura 2: Valores de A – Temperatura; B – pH; C – Transparência da água; D – Oxigênio dissolvido encontrados nos Reservatórios de AC- Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

O nitrogênio é um elemento indispensável aos organismos pois faz parte da constituição celular dos mesmos, sendo então um fator limitante à produção primária e ao crescimento de algas (JAMES et al., 2011). Entre os reservatórios, o nitrogênio total apresentou maior concentração no reservatório de Boqueirão do Cais com média de 1,22 mg/L e menor em Cordeiro, média de 0,77 mg/L (Figura 3).

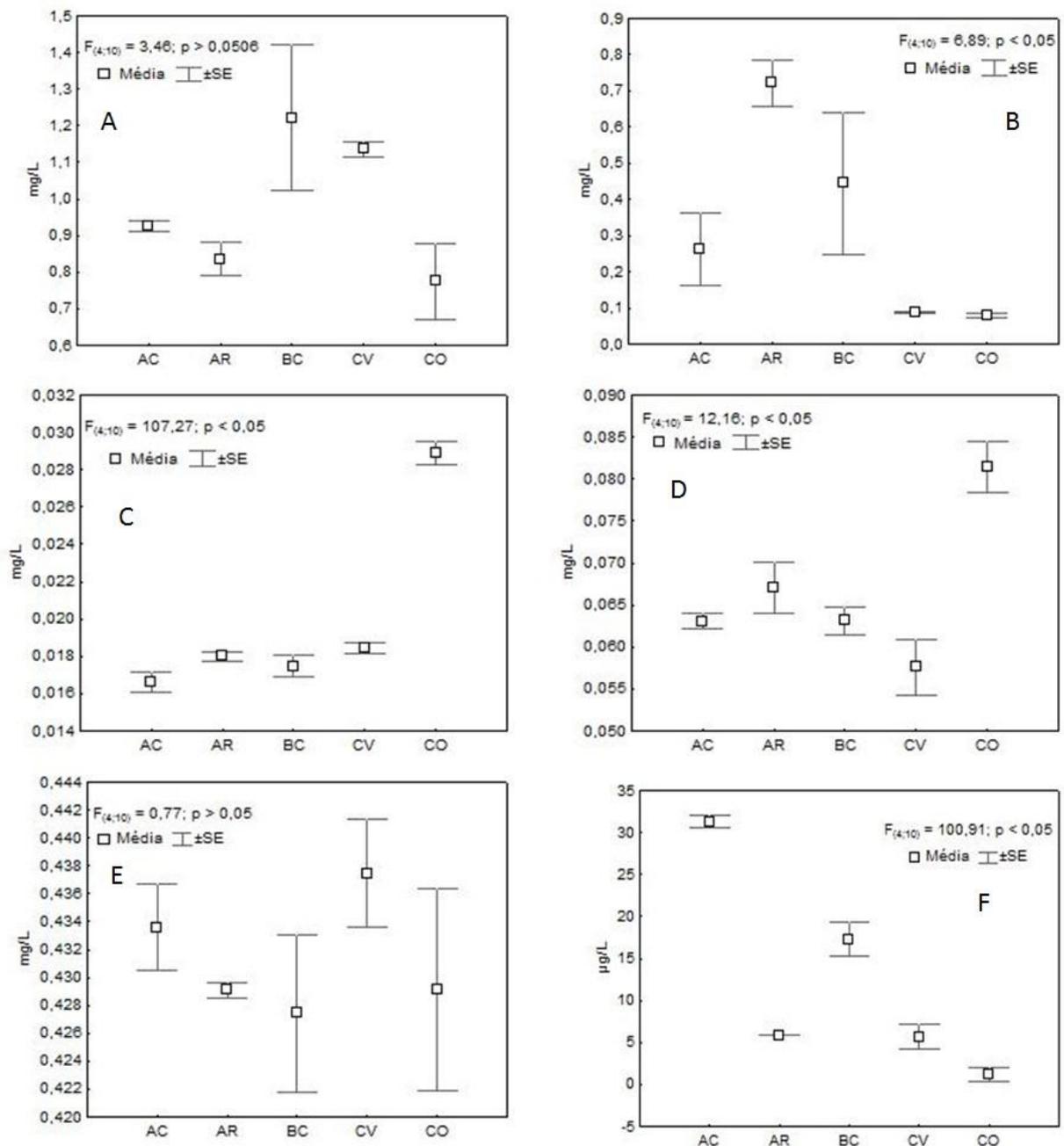


Figura 3: Concentrações de A – Nitrogênio total; B – Amônia; C – Nitrito; D – Nitrato; E – Fósforo total; F – Clorofila a encontrados nos Reservatórios de AC- Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

As concentrações de amônia foram elevadas nos reservatórios de Acauã, Araçagi e Cordeiro com 5,061 mg/L cada, enquanto que Boqueirão do Cais e Cacimba de Várzea apresentaram médias de 0,72 mg/L e 0,64 mg/L respectivamente, não havendo diferença significativa entre os sistemas (Figura 3). Em todos os reservatórios o pH foi básico, favorecendo a existência da amônia na água, além disso, os ambientes são utilizados para a prática da piscicultura o que também favorece a produção de nutriente (ATTAYDE et al., 2011).

Concentrações de nitrito e nitrato foram maiores em Cordeiro 0,02 mg/L e 0,08 mg/L, e menores em Acauã (0,01mg/L NO_2) e Cacimba de Várzea (0,05 mg/L NO_3), apresentando diferença significativa entre os reservatórios. Em termos energéticos, estas duas formas de nitrogênio são importantes pois são facilmente assimiláveis pelos produtores primários (PARPAROV & GAL 2012).

O fósforo total não apresentou diferença significativa entre os reservatórios, porém as concentrações foram mais elevadas em Cacimba de Várzea (média de 0,43 mg/L) e menor em Boqueirão do Cais (média de 0,42 mg/L). Juntamente com o nitrogênio, o fósforo pode regular a produtividade primária em ecossistemas aquáticos. O reservatório de Acauã apresentou os maiores valores de clorofila com média de $31,3 \mu\text{gL}^{-1}$, seguido por Boqueirão do Cais, $17,2 \mu\text{gL}^{-1}$, Araçagi, $5,8 \mu\text{gL}^{-1}$, Cacimba de Várzea $4,9 \mu\text{gL}^{-1}$, e Cordeiro com $1,2 \mu\text{gL}^{-1}$. no entanto, a clorofila a apresentou variação significativa (figura 3).

4.3.2. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA

A resolução CONAMA 357/2005 apresenta cinco classes para a classificação da qualidade das águas doces: especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4. Relacionando os valores das concentrações apresentadas nos reservatórios com o CONAMA 357/2005, todos podem ser classificados como classe 3, águas que podem ser destinadas: ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; a irrigação; a pesca amadora; à recreação de contato secundário; e à dessedentação de animais. Os sistemas foram inseridos nesta

classe especialmente devido a elevada densidade de cianobactérias em nº cel/mL que apresentaram valores três vezes maiores do que o exigido pela resolução para águas da classe 3. Levando-se em consideração que o tratamento da água para abastecimento é realizado.

Em todos os reservatórios são desenvolvidas atividades de piscicultura intensiva, e segundo Islam (2005), a criação de peixes em tanques-redes pode acarretar o aumento de matéria orgânica nos reservatórios, advindo da ração que é utilizada para alimentação dos peixes e não é consumida, como também produtos do metabolismo desses organismos, contribuindo assim com alterações das características tanto físicas como químicas na água, acelerando o processo de eutrofização e degradação da qualidade da água para seus usos múltiplos. Visto que todos os reservatórios foram enquadrados na classe 3 da resolução, não deveriam ser desenvolvidas tais práticas, portanto, é certo que a longo prazo as características dos corpos d'água estão comprometidas.

A Portaria nº 2.914/2011 do Ministério da Saúde estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Os parâmetros físicos e químicos analisados nos cinco reservatórios estão dentro dos valores máximos permitidos, no entanto, entre eles não são cobrados as concentrações de nitrogênio e fósforo totais, que são elementos de extrema relevância nos ecossistemas aquáticos, especialmente por serem fatores limitantes na proliferação de algas e cianobactérias. Inclusive, as densidades desses organismos nos sistemas estão bem acima do nível de alerta previsto pela portaria que é de > 10.000 cel/mL para que haja um monitoramento semanal.

O Índice de Qualidade de Água em Reservatórios (IQAR) foi criado pelo Instituto Ambiental do Paraná - IAP para verificar a degradação da qualidade da água dos reservatórios e estes são classificados como: não impactado a muito pouco degradado, pouco degradado, moderadamente degradado, criticamente degradado, muito poluído e extremamente poluído. Os reservatórios Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro foram classificados dentro do IQAR como não impactado e muito pouco degradado. Isto nos remete a sistemas com uma boa qualidade de água, porém, se faz necessário o constante monitoramento e correto manejo de suas utilizações, visando a não evolução do estado trófico e comprometimento de seus usos múltiplos.

4.3.3. O PROBLEMA DAS CIANOBACTÉRIAS

Muitos são os casos reportados no mundo de problemas de saúde em populações humanas após o contato com águas com cianobactérias em floração, em atividades recreacionais ou pelo consumo de águas de reservatórios contaminados (Codd et al., 2000). A intensa necessidade de utilização da água em diversas finalidades, e em especial para o abastecimento público, remete a uma vigilância mais estreita em muitos lugares, a fim de que se possa garantir a disponibilidade de água de boa qualidade.

Reservatórios que são usados para abastecimento precisam ser monitorados corretamente, visando justamente o acompanhamento de suas características físicas, químicas e biológicas para que seja prevenida a ocorrência de fenômenos como as florações de cianobactérias. Caso ocorra nos sistemas este acontecimento, além do comprometimento da qualidade da água, com a perda dos aspectos agradáveis aos consumidores, como cor, odor e gosto da água, existe a dificuldade da remoção dos organismos que se proliferaram e encarecimento no processo de tratamento (Lapoli et al., 2010).

A composição das algas planctônicas nos cinco reservatórios apresentou um total de 26 táxons, divididos em 4 divisões: Cianobactérias, Chlorophyta, Euglenophyta, e Bacillariophyta. A maior riqueza foi verificada no reservatório de Cordeiro (16 táxons), e a menor em Cacimba de Várzea (10 táxons). O reservatório Cordeiro apresentou o maior número de táxons de Cianobactérias (9 táxons), seguido por Acauã e Boqueirão do Cais que apresentaram 8 táxons cada, Cacimba de Várzea (7 táxons) e Araçagi (6 táxons). Chlorophyta foi a segunda divisão de maior riqueza com 5 táxons em Acauã e Araçagi.

A maior contribuição de densidade entre as divisões fitoplanctônicas foi das Cianobactérias em todos os reservatórios, seguido pela divisão Chlorophyta, com exceção do reservatório Cordeiro que apresentou como segunda maior contribuinte para densidade a divisão Bacillariophyta (Figura 4). Com relação a densidade de cianobactérias em número de células, a maior foi verificada em Boqueirão do Cais ($627,35 \times 10^3$ cel/mL) e a menor em Araçagi ($201,70 \times 10^3$ cel/mL). Entre as espécies, a maior contribuição foi de *Cylindrospermopsis raciborskii*, especialmente nos reservatórios Araçagi, Boqueirão do Cais e Cacimba de Várzea. No reservatório Acauã a espécie *Planktothrix agardhii* foi a principal contribuinte, enquanto em

Cordeiro, foi verificada principalmente *Sphaerocavum brasiliensis* (Figura 5). Das espécies citadas, a primeira e a segunda são potencialmente produtoras de toxinas.

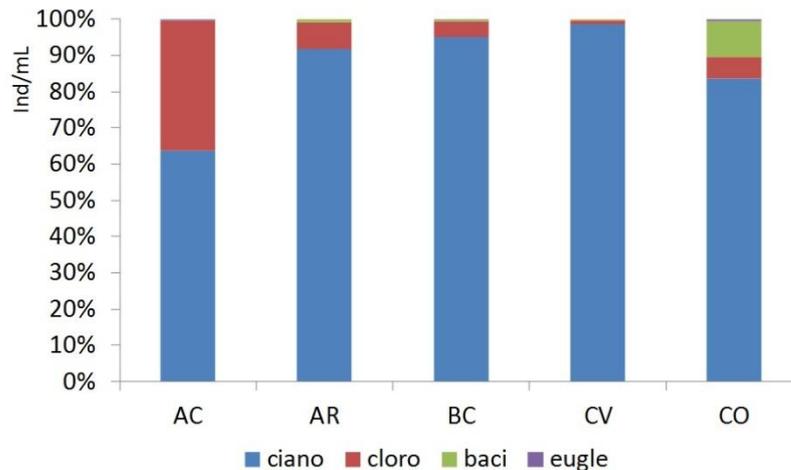


Figura 4: Contribuição das densidades das classes fitoplanctônicas observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

Para Chellappa *et al.* (2008), os efeitos do impacto ambiental da eutrofização cultural, ocorridas nos reservatórios do semiárido favorecem o aumento drástico das populações de cianobactérias e este fenômeno está sendo frequente nos reservatórios paraibanos (Vasconcelos *et al.*, 2011). As florações de cianobactérias são resultado da interação de fatores físicos, químicos e biológicos e segundo Kosten *et al.*, (2009), cianobactérias fixadoras de nitrogênio ocorrem com mais frequência em ambientes enriquecidos por fósforo (TP > 200 µg/L) e nitrogênio (NID > 100 µg/L), sendo este o caso dos nossos sistemas que apresentaram concentrações de fósforo e nitrogênio totais de > 400 µg/L e ≥ 100 µg/L respectivamente. Possivelmente em consequência das concentrações registradas, foram verificadas altas densidades desses organismos em todos os reservatórios, bem acima dos limites permitidos ou alertados pelas legislações vigentes.

Além disso, a presença de cianobactérias com potencial para produzir toxinas nos reservatórios, trazem mais um problema, que é a possibilidade de contaminação da população pelas cianotoxinas, tanto pela ingestão ou contato com a água, como através da transferência pela cadeia trófica, já que os peixes utilizam as cianobactérias em sua dieta, podendo haver bioacumulação de cianotoxinas nos músculos e demais órgãos dos peixes (MAGALHÃES *et al.*, 2001). Ocorrendo o consumo e acumulação das toxinas no organismo humano, uma diversidade de

graves problemas neurológicos, hepatológicos, ou até mesmo a morte podem ser gerados.

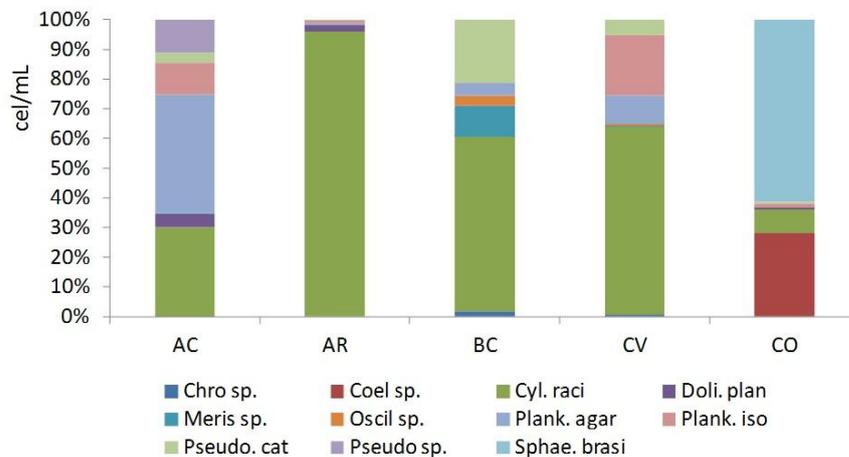


Figura 5: Contribuição das espécies de cianobactérias em número de cel/mL observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

A Análise de Coordenadas Principais (PCO), utilizando como base uma matriz de densidade de cianobactérias mostrou que houve diferença entre os reservatórios com relação a esta variável. O eixo 1 foi responsável por 49% de explicação da variação total, enquanto o eixo 2 explicou 18.9% e apesar de outros parâmetros terem sido significativos na análise, os testes identificaram quatro variáveis predictoras das densidades de cianobactérias nos reservatórios: amônia, sólidos totais, turbidez e transparência (Figura 6).

Vasconcelos *et. al.* (2011), verificou que disponibilidade de nitrogênio e fósforo, associada à baixa transparência da água, favorecem o desenvolvimento de cianobactérias. Esta afirmação pode ser usada para explicar a separação do reservatório Cordeiro dos demais sistemas na PCO, pois este apresentou maior transparência, predominância de *Sphaerocavum brasiliensis*, espécie não observada nos outros sistemas, como também significativa contribuição de Bacillariophyta.

A espécie *Cylindrospermopsis raciborskii* foi dominante em três dos cinco reservatórios, e esta é considerada um organismo de sombra e sua dominância é frequentemente relacionada à reduzida disponibilidade de luz (PADISÁK, 1997). Os reservatórios de Boqueirão do Cais e Cacimba de Várzea foram influenciados principalmente pela variável sólidos totais dissolvidos, e este, dentro de um

ecossistema aquático pode ser responsável pela diminuição da penetração da luz e consequente redução da luminosidade disponível para os organismos aquáticos. Nos reservatórios Araçagi e Acauã, a amônia apresentou uma elevada concentração e segundo Gomes (2007), em comparação com as algas eucarióticas, as cianobactérias possuem grande habilidade em competir por amônia, e não por nitrato, explicando assim a alta densidade de *C. raciborskii* nesse sistema.

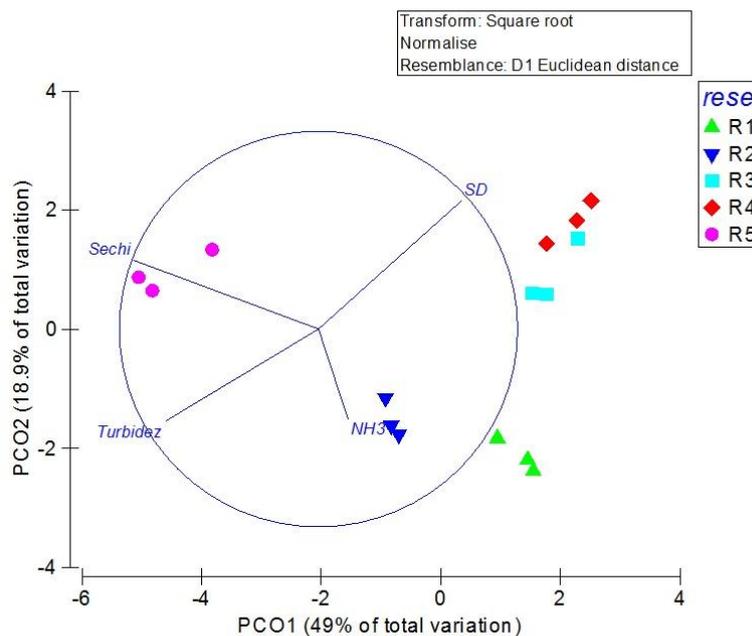


Figura 6: Análise de Coordenadas Principais (PCO), utilizando como base uma matriz de densidade de células de cianobactérias e variáveis predictoras (NH₃ – amônia, turbidez, sechi – transparência e SD – sólidos totais) observadas nos Reservatórios de R1 – Acauã; R2 – Araçagi; R3 – Boqueirão do Cais; R4 – Cacimba de Várzea e R5 – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

4. 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A eutrofização traz consequências negativas aos corpos aquáticos, entre elas as florações de cianobactérias que mudam as características do ambiente, dificultam e encarecem o processo de tratamento, necessitando assim de maior atenção por parte dos órgãos responsáveis pelo monitoramento desses sistemas.

Considerando os parâmetros analisados em nosso estudo é possível verificar que o fenômeno de florações de cianobactérias está relacionado a um conjunto de fatores. No entanto, apesar de todas as variáveis que influenciam este

acontecimento nos sistemas aquáticos serem contempladas pelas legislações e portarias, se faz pertinente a revisão dos limites máximos permitidos utilizados na classificação da qualidade da água, uma vez que estes são apresentados com níveis bem superiores aos que são necessários a proliferação de cianobactérias. Também são recomendáveis acompanhamentos e análises mais rigorosas dos sistemas, sendo uma maneira de prevenção de alguns problemas relacionados à qualidade da água dos reservatórios, e consequente facilitação no processo de tratamento.

Uma maior atenção também é necessária no que diz respeito a detecção de cianotoxinas na água bruta, como também no processo de tratamento, uma vez que o procedimento convencional utilizado nas estações de tratamento (floculação, precipitação, filtro de areia e cloração), não é suficiente na remoção das toxinas de cianobactérias. Alguns métodos já foram desenvolvidos e testados no que diz respeito a esta problemática, como a utilização de carvão ativado no processo de filtração, no entanto, este é um procedimento de alto custo, se tornando praticamente inviável de ser inserido nas estações de tratamento do país.

Por fim, é importante considerar que estamos nos referindo a sistemas localizados em regiões semiáridas, então a ocorrência de eventos mais prolongados de estiagem, podem favorecer o desenvolvimento de cianobactérias devido ao aumento no tempo de residência e na estabilidade térmica dos sistemas. Em função disso, torna-se indispensável o monitoramento limnológico dos reservatórios para fins de conservação da qualidade da água e preservação da saúde pública.

4. 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANA – Agência Nacional de Águas. Disponível em www.ana.gov.br

APHA, AWWA & WPCF. Standard methods for the examination of waster and wasterwater. 20^a ed. Washington, APHA/AWWA/WPCF. 1998. 1193p. 1995.

ATTAYDE, J . L .; BRASIL, J .; MENESCAL, R . A . Impacts of introducing Nile tilapia on the fisheries of a tropical reservoir in North-eastern Brazil. **Fisheries Management And Ecology**, v. 18, n. 6, p.437-443, 2011.

AZEVEDO, S.M.F.O. et al. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru-Brazil. **Toxicology**, v. 182, p.441-446, 2002.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, Maria do Carmo; OLIVEIRA, Mariana Cabral de; YUNES, João Sarkis. CIANOBACTÉRIAS TÓXICAS: o uso de marcadores moleculares para avaliar a diversidade genética. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 23, p.44-47, 2001.

CHELLAPPA, N.T.; BORBA, J.M; ROCHA, O. Phytoplankton community and physical-chemical characteristics of water in the public reservoir of Cruzeta, RN, Brazil. **Brazilian Journal Of Biology**, São Carlos, v. 68, n. 3, p.477-494, 31 ago. 2008.

CODD, A. G.; MARRISON, L. F.; METCALF, J. S. Cyanobacterial toxins: risk management for hearth protection. **Toxical. Applied Pharmacology**, v. 230, 264-272p. 2005.

CONAMA. Conselho Nacional do Meio Ambiente. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União** – Seção 1, nº 53, 18 de março de 2005.

CORDEIRO-ARAÚJO, M.K. et al. Dinâmica fitoplanctônica relacionada às condições ambientais em reservatório de abastecimento público do semiárido brasileiro. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Brasil, v. 5, n. 4, p.592-599, 2010.

Gêneros de algas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições) – Segunda edição / organizado por Carlos E. de M. Bicudo, Mariângela Menezes. – São Carlos: RiMa, 2006.

GOMES, A. M. A.; MARINHO, M. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. The success of *Cylindrospermopsis* at Brazilian aquatic systems. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON TOXIC CYANOBACTERIA, 7, 2007. Rio de Janeiro. p. 55. **Anais 2007**.

GOWER, J. C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. **Biometrika**, v. 53, p. 325-338, 1966.

ISLAM, M. D. S. Nitrogen and phosphorus budget in coastal and marine cage aquaculture and impacts of effluent loading on ecosystem: review and analysis towards model development. **Marine Pollution Bulletin**, n. 50, p. 48-61, 2005.

JAMES, R. Thomas et al. Nitrogen dynamics in Lake Okeechobee: forms, functions, and changes. **Hydrobiologia**, v. 669, p.199-212, 2011.

KOSTEN, S. HUZSAR, V. L. M; MAZZEO, N; SCHEFFER, M. JEPPESEN. 2009. E. Lake and watershed characteristics rather than climate influence nutrients limitation in shallow lakes. **Ecological applications**, v.19.p 1791-1804, 2009.

LAPOLLI, F.R.; CORAL, L.A.; RECIO, M.A.L. **Cianobactérias em mananciais de abastecimento – problemática e métodos de remoção. Revista Dae**, São Paulo, n. 185, p.09-17, jan. 2011.

MAGALHÃES, V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. **Toxicon**, Austrália, v. 39, p.1077-1085, 2001.

MANKIEWICZ, Joanna et al. NATURAL TOXINS FROM CYANOBACTERIA. **Acta Biologica Cracoviensia**, v. 2, n. 45, p.9-20, 2002.

MARTINEZ, Felipe B.; GALERA, Imelda C.. MONITORING AND EVALUATION OF THE WATER QUALITY OF TAAL LAKE, TALISAY, BATANGAS, PHILIPPINES. **Academic Research International**, v. 1, n. 1, p.1-8, jul. 2011.

MINISTÉRIO DO ESTADO DA SAÚDE – Portaria 2.914, de 12 de Dezembro de 2011.

MORETTO, D. L. et al. Calibration of water quality index (WQI) based on Resolution nº 357/2005 of the Environment National Council (CONAMA). **Acta Limnologica Brasiliensia**, Brasil, v. 24, n. 1, p.29-42, 2012.

PADISÀK, J. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayyaet Subba Raja, an expanding high lyad aptative cyanobacterium: worldwide distribution and review of its ecology. **Archfür Hydrobiology**, 107: 563-593, 1997.

PARPAROV, A.; GAL, G. Assessment and implementation of a methodological framework for sustainable management: Lake Kinneret as a case study. **Journal Of Environmental Management**, v. 101, p.111-117, 2012.

TORGERSON, W. S. **Theory and methods of scaling**. John Wiley & Sons, New York, 1958.

VIEIRA, José Maria Dos S. et al. Toxic cyanobacteria and microcystin concentrations in a public water supply reservoir in the Brazilian Amazonia region. **Toxicon** 45, p.901-909, 2005.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. *Limnological analysis*. 2 ed. New York: Springer Verlag, 2001, 391p.

SEGUNDO CAPÍTULO

Análise de microcistina em pescado de tanques-redes em reservatórios do semiárido Paraibano e seus potenciais riscos ao consumo humano.

Resumo: O trabalho tem por objetivo investigar a presença de microcistina nos músculos de tilápias cultivadas em tanques-redes em diferentes estágios de desenvolvimento (alevinos, juvenis e adultos) e seus riscos potenciais para o consumo humano nos reservatórios de Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro, localizados no estado da Paraíba. A amostragem foi realizada em Janeiro de 2012 em cinco reservatórios distribuídos em quatro bacias hidrográficas do estado. Foi realizada coleta de parâmetros químicos (oxigênio dissolvido, amônia, nitrito, nitrato, fósforo total, clorofila a), físicos (temperatura, transparência e pH), algas e cianobactérias. Peixes em diferentes estágios de desenvolvimento foram coletados para análise de microcistina no músculo e contagem de cianobactérias presentes no conteúdo estomacal. As análises físicas e químicas indicam que os reservatórios oferecem condições favoráveis a prática da piscicultura, porém, também favorecem o desenvolvimento de cianobactérias potencialmente tóxicas como *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Planktothrix agardhii*. Análises toxicológicas mostraram diferença significativa ($p < 0,001$) na concentração de microcistina nos músculos dos diferentes estágios de desenvolvimento dos peixes. No conteúdo estomacal foi observada elevadas densidades de *Planktothrix agardhii*, havendo correlação significativa com a concentração de microcistina que foi maior nos alevinos. Os resultados não ultrapassam os limites de ingestão diária tolerável (TDI) estabelecido pela Organização Mundial de Saúde (OMS). No entanto, se faz necessário o acompanhamento, tanto da sazonalidade das florações de cianobactérias nos reservatórios, evitando o consumo do peixe nesses períodos, como medidas mitigadoras para a eutrofização. Além de uma adequada gestão da atividade de piscicultura a fim de minimizar ou não acelerar a deterioração dos reservatórios.

Palavras-chave: cianobactérias, cianotoxinas, piscicultura intensiva, Tilápia do Nilo.

Abstract: (Analysis of microcystin in fish tank-networks in semiarid Paraibano reservoirs and their potential risks for human consumption) The study aims to investigate the presence of microcystin in the muscles of tilapia cultured in net cages at different developmental stages (fingerlings, juveniles and adults) and their potential risks for human consumption in reservoirs Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba Várzea and Cordeiro, located in the Paraíba state. Sampling was conducted in January 2012 in five reservoirs distributed in four watersheds in the state. Was collected for chemical parameters (dissolved oxygen, ammonia, nitrite, nitrate, total phosphorus, chlorophyll a), physical (temperature, pH and transparency), algae and cyanobacteria. Fish at different stages of development were collected for analysis of microcystin in the muscle and counting of cyanobacteria present in the stomach contents. The physical and chemical analyzes indicate that the reservoirs offer favorable conditions for fish farming, but also favor the development of potentially toxic cyanobacteria such as *Cylindrospermopsis raciborskii* and *Planktothrix agardhii*. Toxicological analysis showed a significant difference ($p < 0.001$) in the concentration of microcystin in the muscles of the different stages of fish development. In the stomach contents was observed high densities of *Planktothrix agardhii*, significant correlation with the concentration of microcystin that was higher in fingerlings. The results do not exceed the limits of tolerable daily intake (TDI) set by the World Health Organization (WHO). However, it is necessary to monitor both the seasonality of cyanobacterial blooms in reservoirs, avoiding consumption of fish during these periods, as mitigation measures for eutrophication. Besides a proper management of farming activities in order to minimize or do not accelerate the deterioration of the reservoirs.

Keywords: cyanobacteria, cyanotoxins, intensive fish farming, Nile tilapia

5.1. INTRODUÇÃO

A piscicultura intensiva em tanques redes é uma prática que vem sendo crescente no Brasil por apresentar diversas vantagens, como o fácil manejo, alta produtividade, e necessitar de certa forma, de baixos investimentos iniciais quando comparada a outros tipos de atividades (HASHIMOTO *et al*, 2003). Além disso, o produto comercializado oferece aos consumidores proteína nobre e de baixo custo.

Dentre as diversas espécies de peixes existentes, a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* (L.)) está entre as mais utilizadas para a prática, sendo esta um organismo onívoro e micrófago, que consome basicamente o plâncton e detritos em suspensão (ATTAYDE *et al.*, 2011). Dessa forma, o fitoplâncton está incluído em sua dieta e conseqüentemente as cianobactérias, sendo este fato de relevante preocupação pela capacidade que estes organismos possuem de produzir substâncias tóxicas, as cianotoxinas (WILSON *et al.*, 2008).

Estas toxinas podem ser bioacumuladas e este acontecimento tem sido motivo para o desenvolvimento de pesquisas em todo o mundo nos diferentes tipos de organismos aquáticos: peixes (MAGALHÃES *et al*, 2003; SOARES *et al*, 2004; CAZENAVE *et al*, 2005; CHEN *et al*, 2006; CHEN *et al*, 2007; ADAMOVSKY *et al*, 2008; BERRY *et al*, 2011), moluscos (CHEN & XIE, 2007; GERARD *et al*, 2009; BERRY & LIND, 2010) e crustáceos (KARJALAINEN *et al*, 2005). No Brasil, os estudos estão voltados para os peixes, sendo realizadas análises dos músculos, vísceras e fígado para a detecção de microcistina que é a mais comum dentre as diversas formas existentes de cianotoxinas (MAGALHÃES *et al*, 2001; DEBLOIS *et al*, 2008; DEBLOIS *et al*, 2011).

É visto que a acumulação das cianotoxinas nos peixes pode se dar em intensidades diferentes nos diferentes estágios de desenvolvimento dos organismos, parecendo ser mais fácil o acúmulo em alevinos (DEBLOIS *et al.*, 2011). A depuração das toxinas nos indivíduos pode variar tanto devido ao metabolismo do peixe e seu estágio de vida como pelo tipo de variante produzida pela floração tóxica que está presente no organismo (CHEN *et al.*, 2006).

Diante da problemática exposta e da comprovada possibilidade de acumulação de microcistinas nos organismos, este trabalho tem por objetivo investigar a presença de microcistina nos músculos de peixes de tanques-redes nos reservatórios de Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro,

localizados no estado da Paraíba, discutindo o potencial de depuração das cianotoxinas nos músculos e os potenciais riscos para o consumo humano.

5.2. MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1. ÁREA DE ESTUDO

A amostragem foi realizada em cinco reservatórios distribuídos em quatro bacias hidrográficas no estado da Paraíba, nos quais desenvolve-se atividade de piscicultura intensiva em tanques rede. (Tabela 1; Figura 2). Além de serem utilizados para esta prática, estes reservatórios também são usados para outras finalidades como o abastecimento público, agricultura, sedentação de animais, e recreação.

Tabela 1: Reservatórios e os municípios e bacias hidrográficas onde estão localizados e suas respectivas capacidade máxima (m³).

Açude	Município	Bacia Hidrográfica	Capacidade máxima (m ³)
Acauã	Itatuba	Bacia do Rio Paraíba	253.000.000
Araçagi	Araçagi	Bacia do Rio Mamanguape	63.289.037
Boqueirão do Cais	Cuité	Bacia do Rio Jacu	12.367.300
Cacimba de Várzea	Cacimba de Dentro	Bacia do Rio Curimataú	9.264.321
Cordeiro	Congo	Bacia do Rio Paraíba	69.965.945

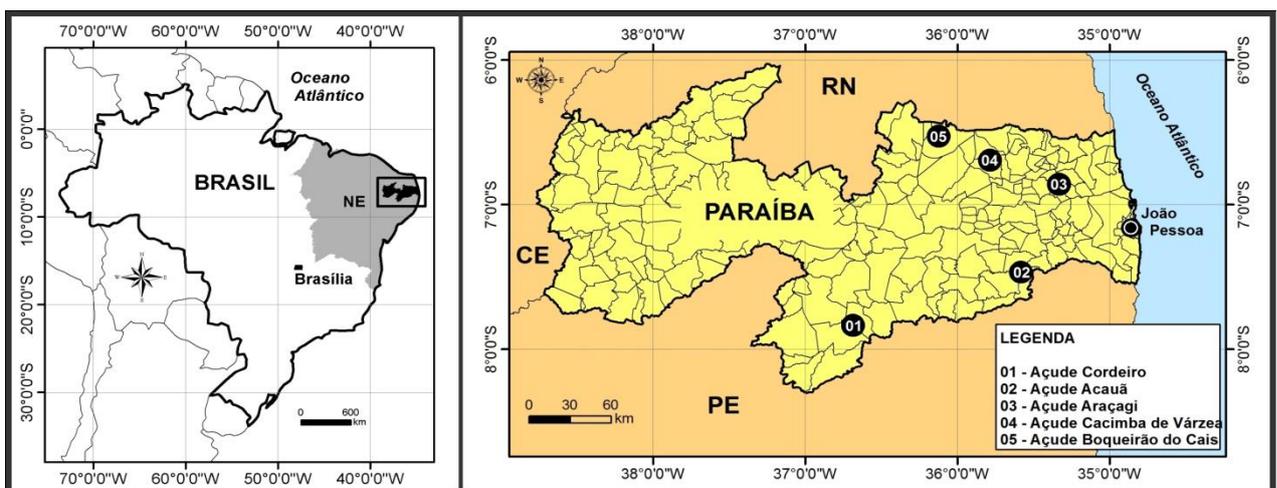


Figura 2: Localização geográfica dos cinco reservatórios de abastecimento público do estado da Paraíba.

5.2.2. ÉPOCAS E LOCAIS DE COLETAS.

A amostragem foi realizada em Janeiro de 2012 nos cinco reservatórios. Foram escolhidos três pontos em cada reservatório, um próximo a barragem (ponto 1), outro próximo aos tanques-redes (ponto 2) e o terceiro (ponto 3) a montante dos tanques. As amostras foram coletadas com garrafa do tipo Van Dorn a cada três metros de profundidade, e integradas em uma única amostra representativa, de onde foram retiradas sub-amostras para as análises químicas e biológicas.

5.2.3. VARIÁVEIS AMBIENTAIS

Foram medidos in situ dados de temperatura da água, pH, oxigênio dissolvido, através de sonda portátil multiparamétrica da marca Horiba. A transparência da água foi determinada através da extinção do disco de Secchi.

Para as análises de nutrientes dissolvidos, as amostras foram filtradas com filtro de fibra de vidro Whatman GF/C de 47 mm de diâmetro, acondicionadas em frascos de polietileno e congeladas para posterior análise. As amostras não filtradas foram utilizadas para determinar as concentrações de fósforo e nitrogênio totais (APHA, 1995). Para determinação da concentração de clorofila *a* foi utilizada acetona 90% como solvente e a fórmula proposta por Wetzel & Likens (1991).

5.2.4. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

Para estudo qualitativo do fitoplâncton, as amostras foram coletadas com rede de plâncton com abertura de malha de 20 μ m, através de arrasto horizontal na superfície da água. Depois de coletadas foram acondicionadas em frascos de plástico e fixadas com formol 4%. A análise do material biológico foi realizada no laboratório de Ecologia Aquática do Campus I da UEPB, a partir da confecção de lâminas semi-permanentes e posteriores observações em microscópio óptico da marca Olympus, modelo CX31. Foram analisados em cada amostra, características morfológicas dos organismos, as quais foram utilizadas para o enquadramento taxonômico dos mesmos em chaves de identificação disponíveis em artigos e livros especializados para cada grupo algal. Os táxons foram identificados a partir de amostras populacionais, sempre que possível a níveis específicos e intraespecíficos.

O sistema de classificação para as classes e gêneros seguiu as indicações de Bicudo e Menezes (2006).

Para a quantificação do fitoplâncton, as amostras serão tomadas diretamente dos pontos de coleta, com o auxílio de um frasco de boca larga. Serão coletadas réplicas por ponto amostral, as quais serão acondicionadas em frascos âmbar com capacidade de 100mL. As alíquotas serão fixadas com lugol acético até a sua contagem. A densidade do fitoplâncton será estimada pelo método de Utermöhl (1958) em microscópio invertido, utilizando-se tempo de sedimentação de pelo menos três horas para cada centímetro de altura da câmara.

5.2.5. AMOSTRAGEM DOS PEIXES

Em cada um dos cinco reservatórios foram coletados 30 espécimes da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) de diferentes idades (alevinos, juvenis e adultos) diretamente dos tanques. Os peixes foram medidos, pesados e mantidos congelados até a extração do músculo. O estômago foi extraído, aberto e seu conteúdo foi separado e conservado em álcool para posterior contagem das cianobactérias.

5.2.6. EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE MICROCISTINAS NO MÚSCULO DA TILÁPIA DO NILO (*Oreochromis niloticus*)

A extração das amostras de músculo dos peixes foi realizada seguindo a metodologia citada em Magalhães e Azevedo (2008).

A figura 3 mostra as etapas do processo de extração de microcistinas no músculo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). Os músculos foram triturados em microprocessador. Foram recolhidas 20g do triturado e colocadas em um becker onde foram adicionados 20mL de ácido trifluoroacético 0,1% (TFA) em metanol, a solução foi agitada durante 1 hora em mesa agitadora. O material foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos. O sobrenadante, resultante da centrifugação, foi colocado em outro becker e levado para a evaporação.

Após esta etapa, o extrato seco foi ressuspenso em 20mL de água mili-Q e agitado por 1 hora em mesa agitadora. Esta solução foi filtrada em cartucho C18 para purificação parcial das microcistinas. O processo de purificação foi concluído

com a adição de 20mL de metanol a 10%, a 20% e a 30%. Por fim foram adicionados 20mL de TFA 0,1% em metanol e a solução resultante foi evaporada. O material seco foi ressuspensão em 1mL de água Mili-Q, agitado por mais 1 hora e analisado por imunoenensaio usando-se o kit ELISA para microcistina.

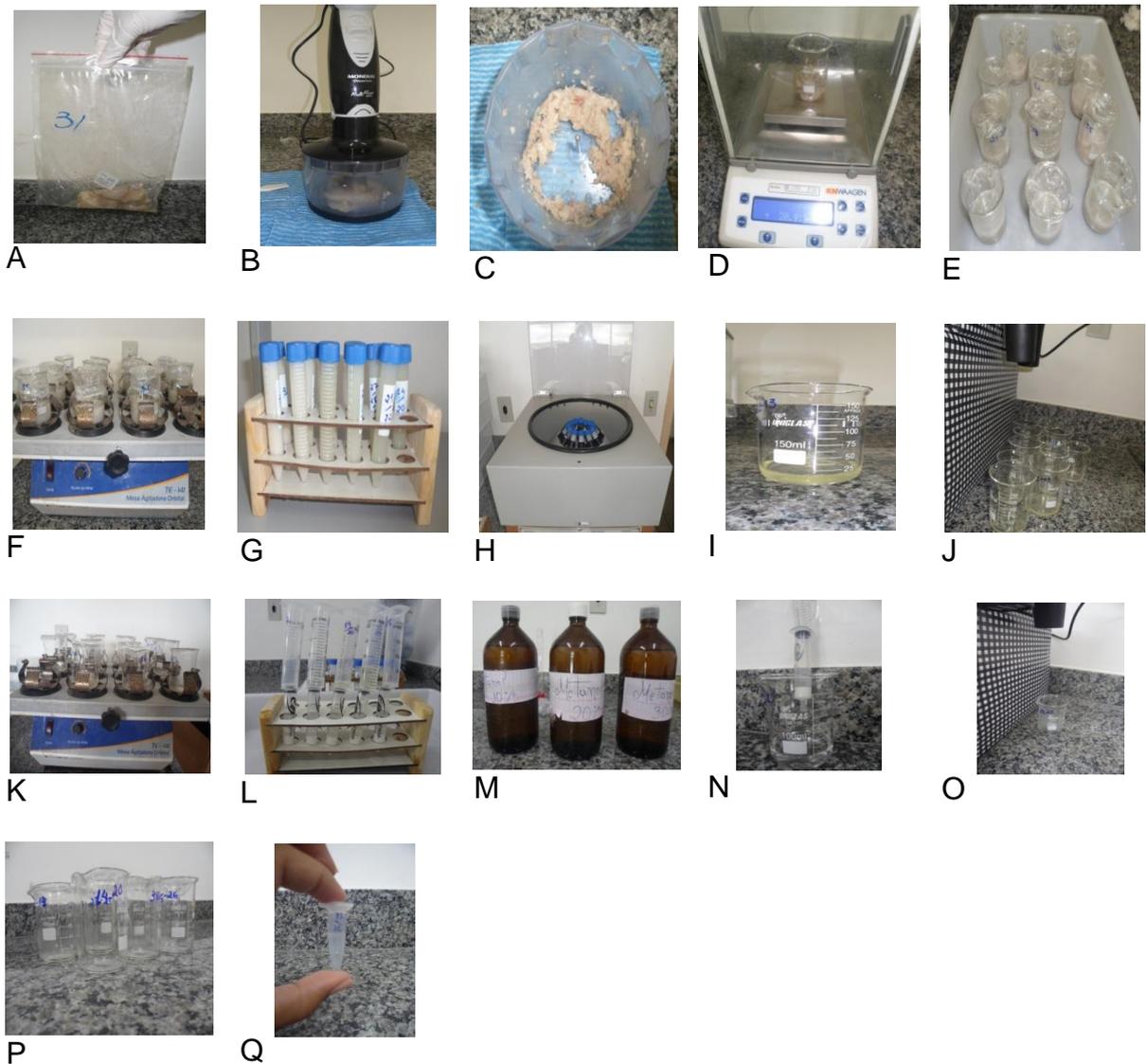


Figura 3: Etapas do processo de extração de microcistinas no músculo da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). (A – músculo extraído do peixe; B – músculo no microprocessador; C – músculo processado; D – pesagem de 20g do músculo triturado; E – amostras em becker com TFA 0,1%; F – amostras na mesa agitadora; G – amostras nos tubos de clorofila; H – amostras na centrífuga; I – material centrifugado; J – evaporação do material; K – material ressuspensão em água mili-Q na mesa agitadora; L – filtração em filtro C18; M – frascos de metanol a 10%, 20% e 30%; N – filtração com TFA 0,1%; O – evaporação da solução; P – material ressuspensão com 1mL de água Mili-Q, levados para mesa agitadora; Q – Solução final usada para análise com o kit ELISA).

5.2.7. ANÁLISE DOS DADOS

O teste ANOVA (um fator) foi empregado para verificar diferenças nos valores das variáveis ambientais entre os reservatórios, o programa estatístico adotado foi o Statistica 7, da Statsoft Inc. A análise de escalonamento multi-dimensional não-métrica (nMDS) foi realizada para diferenciar os ambientes quanto a densidade de cianobactérias e foi feita uma regressão linear simples para se verificar a relação entre a densidade de cianobactérias e concentração de microcistina no músculo dos peixes nas diferentes fases de desenvolvimento utilizando o programa Microsoft Office Excel 2007.

5.3. RESULTADOS

As características limnológicas dos reservatórios estão apresentadas na tabela 2. A temperatura da água apresentou uma amplitude de variação entre os reservatórios de 2,6°C com a mínima de 26,2°C no reservatório Cordeiro e máxima de 28,8°C no reservatório Araçagi, o pH da água variou de 8,5 a 9,1 em Cordeiro e Acauã respectivamente, a maior transparência da água foi verificada em Cordeiro (2,4 m) e a menor em Acauã (0,8 m), tais parâmetros apresentaram diferença significativa entre os sistemas ($p < 0,05$). As concentrações de oxigênio dissolvido alcançaram máxima de 6,2 mg/L em Cordeiro e mínima de 5,2 mg/L em Cacimba de Várzea, porém não se verificou diferença significativa entre os sistemas ($p > 0,05$).

Tabela 2: Parâmetros físicos e químicos analisados nos reservatórios de Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais, Cacimba de Várzea e Cordeiro, Paraíba. T (°C) – temperatura, Trans – transparência, NH₃ – amônia, NO₂ – nitrito, NO₃ – nitrato, P-total – fósforo total, Clo a – clorofila a, AC – Acauã, AR – Araçagi, BC – Boqueirão do Cais, CV – Cacimba de Várzea, CO – Cordeiro.

Ambientes	Parâmetros								
	T (°C)	pH	Trans (m)	OD (mg/L)	N-NH ₃	N-NO ₂	N-NO ₃	P-total	Clo a
AC	28,2±0,1	9,1±0,2	0,8±0,0	6,4±0,1	0,261±0,2	0,016±0,0	0,063±0,0	0,433±0,0	31,3±1,1
AR	28,7±0,1	8,7±0,1	1,4±0,1	5,6±0,5	0,721±0,1	0,018±0,0	0,067±0,0	0,429±0,0	5,8±0,0
BC	27,0±0,3	8,9±0,1	1,1±0,0	5,7±1,3	0,444±0,3	0,017±0,0	0,063±0,0	0,427±0,0	17,2±3,5
CV	27,5±0,1	8,9±0,1	1,1±0,0	5,1±1,0	0,087±0,0	0,018±0,0	0,057±0,0	0,437±0,0	5,7±2,6
CO	26,1±0,0	8,5±0,3	2,4±0,0	6,8±0,5	0,078±0,0	0,028±0,0	0,081±0,0	0,429±0,0	1,2±1,4

A concentração de amônia foi elevada no reservatório Araçagi (0,722 mg/L), e menor em Cordeiro (0,078 mg/L), nitrito e nitrato apresentaram maiores

concentrações em Cordeiro, enquanto as menores concentrações foram verificadas em Acauã e Boqueirão do Cais para o nitrito e em Cacimba de Várzea para o nitrato (Tabela 2). Foi verificada diferença significativa entre os reservatórios ($p < 0,05$) para essas variáveis. O fósforo total não apresentou grande variação entre os reservatórios, porém a concentração foi mais elevada em Cacimba de Várzea (0,437 mg/L) e menor em Boqueirão do Cais (0,427 mg/L). O reservatório de Acauã apresentou os maiores valores de clorofila (31,3 $\mu\text{g/L}$), e Cordeiro o menor (1,2 $\mu\text{g/L}$). Fósforo total não se mostrou significativamente diferente entre os sistemas, no entanto, a clorofila a apresentou variação significativa.

As análises da comunidade de algas planctônicas mostraram que os reservatórios apresentaram um total de 26 táxons, divididos em 4 divisões: Cianobactérias, Chlorophyta, Euglenophyta, e Bacillariophyta (Tabela 3). Em todos os sistemas, Cianobactérias foi a de maior contribuição de densidade, seguida pela divisão Chlorophyta, com exceção do reservatório Cordeiro que apresentou como segunda maior contribuinte para densidade Bacillariophyta (Figura 4).

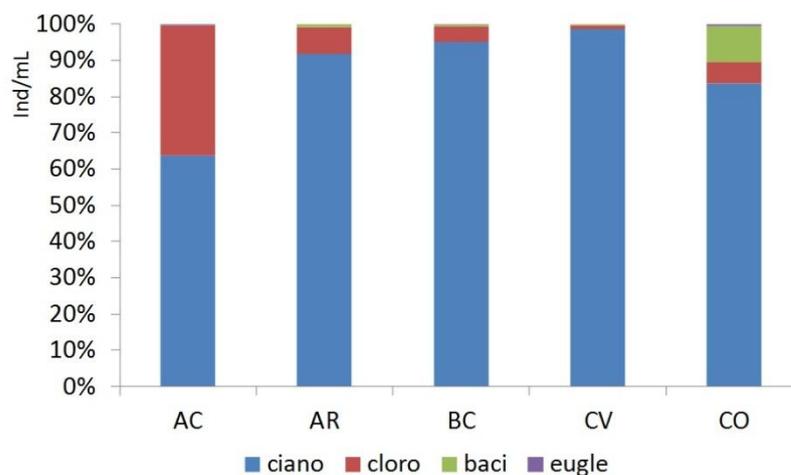


Figura 3: Contribuição das densidades das classes fitoplanctônicas (ciano – cianobactérias, cloro, Chlorophyta, baci – Bacillariophyta, eugle – Euglenophyta) observadas nos Reservatórios de AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro localizados no estado da Paraíba.

A análise nMDS mostrou que a densidade da comunidade fitoplanctônica foi diferente entre os reservatórios, o valor do stress obtido (0.06) corresponde a uma boa ordenação com baixo risco de interpretação equivocada. O gráfico mostrou a existência de três grupos, onde Araçagi, Boqueirão do Cais e Cacimba de Várzea

formam um grupo mais próximo, Acauã um segundo grupo, porém mais associado ao primeiro e Cordeiro se apresentando distante dos demais (Figura 4).

Nas análises toxicológicas, foi verificada uma diminuição significativa ($p < 0,001$) na concentração de microcistina nos músculos dos diferentes estágios de desenvolvimento dos peixes. Nos alevinos o nível médio de toxina foi de $0,031 \text{ ng.g}^{-1}$, nos juvenis $0,012 \text{ ng.g}^{-1}$ e nos adultos $0,005 \text{ ng.g}^{-1}$ (Figura 5).

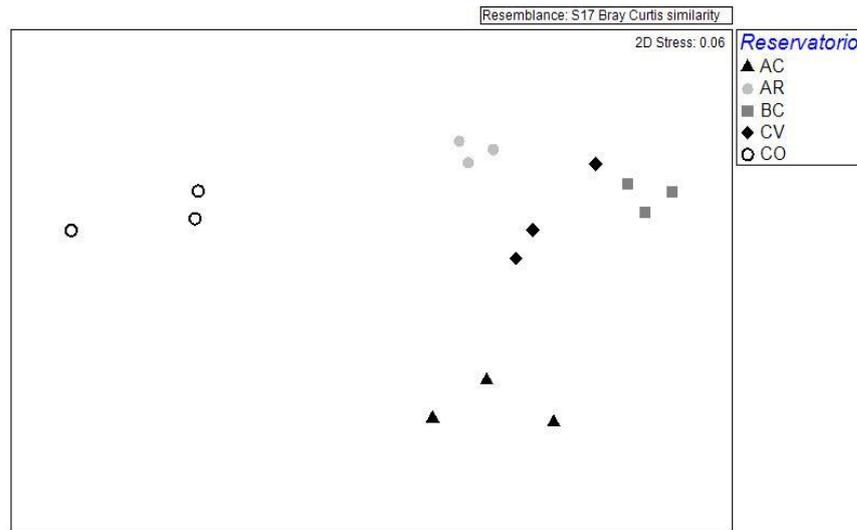


Figura 4: nMDS mostrando a distribuição dos reservatórios localizados no estado da Paraíba a partir de uma matriz de densidade da comunidade fitoplânctônica (AC – Acauã; AR – Araçagi; BC – Boqueirão do Cais; CV – Cacimba de Várzea e CO – Cordeiro).

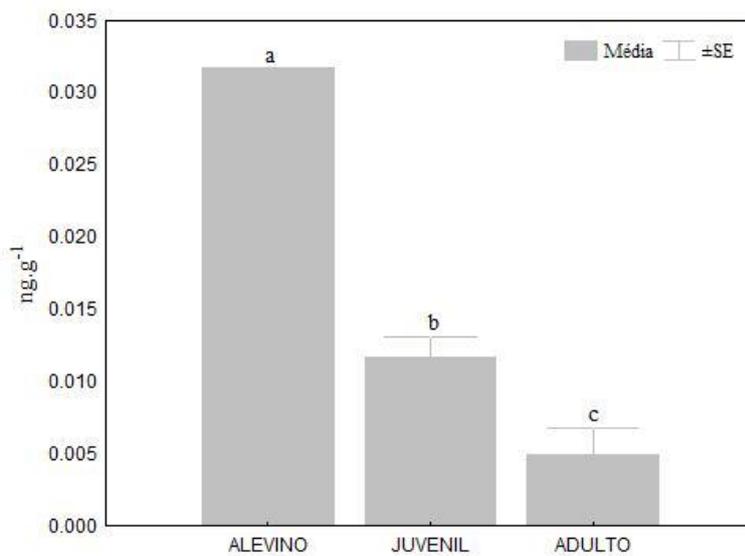


Figura 5: Concentração de microcistina verificadas nos músculos dos peixes em diferentes estágios de desenvolvimento (alevino, juvenil e adulto).

A análise do conteúdo estomacal mostrou a presença das espécies *Planktothrix agardhii*, *Pseudoanabaena* sp., *Aulacoseira granulata*, *Cyclotella* sp., *Fragillaria* sp., *Staurodesmus* sp. Nos peixes alevinos e juvenis foi verificada a contribuição quase total de *Planktothrix agardhii*, enquanto nos adultos a densidade de *Aulacoseira granulata* foi maior, seguida por *Planktothrix agardhii* e *Pseudoanabaena* sp. Houve correlação direta entre a concentração de microcistina no músculo e a densidade de cianobactérias nos peixes alevinos. Nos juvenis e adultos relações inversas foram observadas (Figura 6).

A Ingestão Diária Tolerável (TDI), considerando os peixes alevinos mostrou que para uma pessoa de 60 kg que consome 300g do peixe por dia, a ingestão de microcistina seria de $0,00155 \mu\text{g.Kg}^{-1}$, para os juvenis $0,0006 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ e para os adultos de $0,00025 \mu\text{g.Kg}^{-1}$.

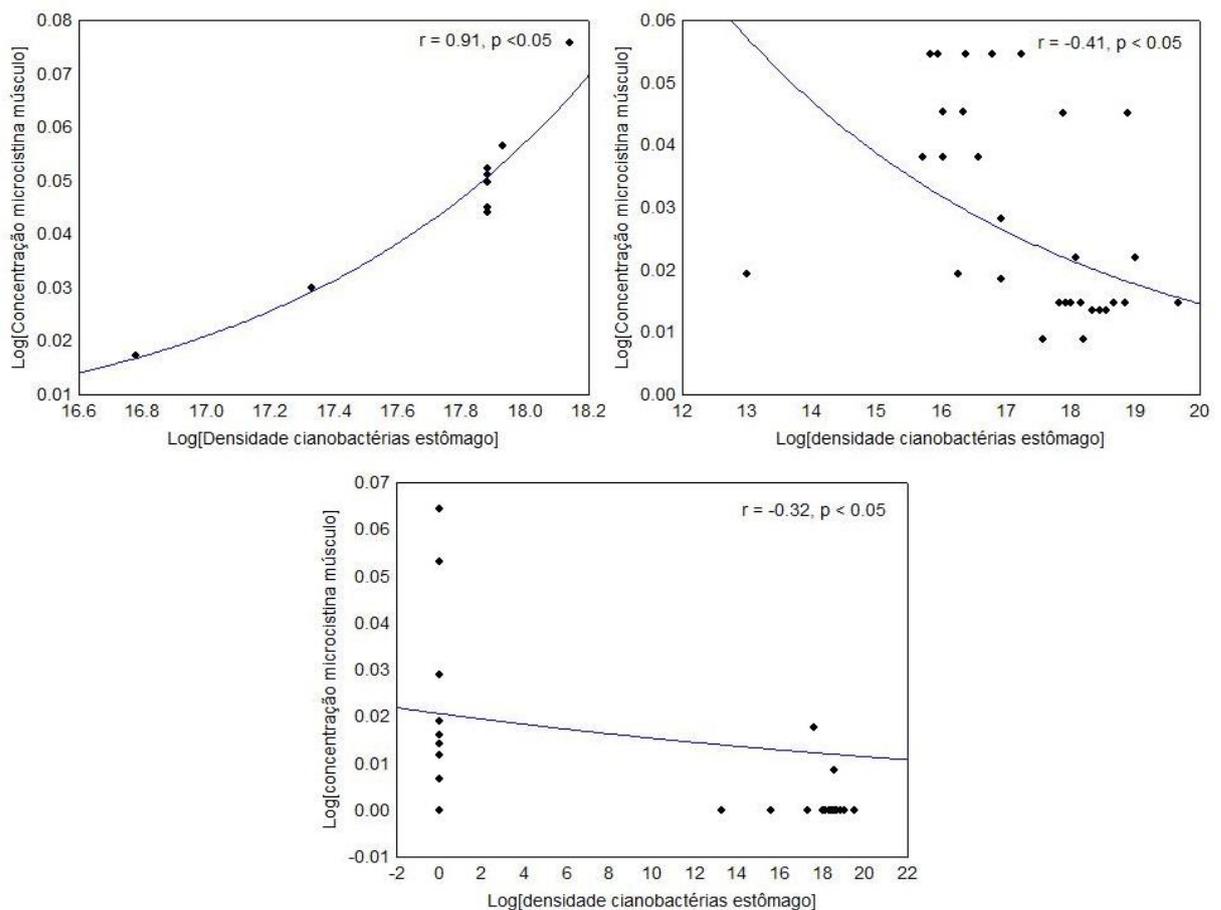


Figura 6: Análise de regressão linear simples entre a densidade de cianobactérias e concentração de microcistina no músculo dos peixes A – alevino, B – juvenil, C – adulto.

Tabela 3: Composição dos grupos algais encontradas nos reservatórios de AC - Acauã, AR - Araçagi, BC - Boqueirão do Cais, CV - Cacimba de Várzea e CO - Cordeiro.

Espécies	Ambientes														
	AC			AR			BC			CV			CO		
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3
Cyanophyta															
<i>Aphanizomenon</i> sp.	X	X	X	X	X	X		X					X	X	X
<i>Chroococcus</i> sp.	X		X				X	X	X			X			
<i>Coelomorom</i>													X	X	X
<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Merismopedia</i> sp.			X				X	X	X			X	X		
<i>Microcystis</i> sp.															X
<i>Oscillatoria</i>							X	X		X					
<i>Planktothrix agardhii</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
<i>Planktothrix isothrix</i>	X	X			X	X	X			X	X		X	X	
<i>Pseudoanabaena catenata</i>	X	X	X		X		X	X	X	X	X	X			X
<i>Pseudoanabaena sp1</i>	X	X	X		X										
<i>Sphaerocavum brasiliensis</i>															X
Chlorophyta															
<i>Closterium</i>	X	X	X	X	X	X									
<i>Coelastrum</i>								X	X						
<i>Cosmarium</i> sp.										X	X				
<i>Crucigenia quadrata</i>	X		X	X	X	X									
<i>Micractinium</i>				X		X							X	X	
<i>Monoraphidium contortum</i>	X	X	X			X	X	X	X	X		X	X		X
<i>Oocystis lacustris</i>	X														X
<i>Scenedesmus acuminatus</i>				X											
<i>Tetraedron minimum</i>			X				X		X						
<i>Tetraedron sp2</i>							X	X							
Euglenophyta															
<i>Trachelomonas</i> sp.	X		X				X						X	X	
Bacillariophyta															
<i>Aulacoseira granulata</i>						X							X	X	X
<i>Cyclotella</i> sp1				X	X	X		X	X			X		X	X
<i>Cyclotella</i> sp2					X		X						X		
<i>Staurones</i> sp.					X										

5.4. Discussão

Nos reservatórios onde existem a prática da piscicultura em tanques-redes as elevadas taxas de excreção dos organismos, associados ao baixo aproveitamento de rações, alta variabilidade nictimeral do pH e altas temperaturas da água formam um conjunto de fatores favoráveis à produção de amônia gerando prejuízos a esse

tipo de empreendimento (ISLAM, 2005). Além disso, os sistemas podem ter tanto suas características físicas e químicas, como seu funcionamento biológico modificado. Alterações químicas podem estar relacionadas com o acréscimo de nutrientes na água, a exemplo da amônia, como citado. Este aumento no nível trófico, associado com outros fatores, como a temperatura, favorecem o florescimento de algas e cianobactérias nos ambientes aquáticos (EL-SHEHAWY et al., 2012).

Os dados físicos e químicos apresentados indicam que os reservatórios oferecem condições favoráveis para a prática da piscicultura, pois as tilápias são mais tolerantes do que a maioria dos peixes de água doce comumente cultivados, podendo se desenvolver bem em altas temperaturas, baixas concentrações de oxigênio dissolvido e altas concentrações de amônia. Entretanto, o estado atual dos sistemas, de elevadas concentrações de nutrientes pode ser uma consequência da atividade que é desenvolvida, e tais efeitos podem então alcançar estágios que sejam danosos aos ambientes (ATTAYDE et al., 2011).

As condições apresentadas pelos reservatórios também são favoráveis ao desenvolvimento de cianobactérias, já que estes são sistemas com elevadas temperaturas, pois se encontram numa região semiárida e valores de pH acima de 8,0 (BOUVY *et al*, 2000). Das espécies que apresentaram maior densidade duas são potencialmente produtoras de toxinas, *Cylindrospermopsis raciborskii* e *Planktothrix agardhii*. Um estudo realizado por El-Shehawy et al. (2012), levou em conta o aumento da temperatura, em decorrência do aquecimento global, em interação sinérgica com a eutrofização para o desenvolvimento de florações de cianobactérias, no entanto os autores verificaram que o aumento nas florações não necessariamente promoveram aumento de florações tóxicas, e a toxicidade é direcionada por fatores genéticos e ambientais.

Considerando as elevadas densidades de cianobactérias observadas nos reservatórios, a nMDS mostrou a separação em três grupos, sendo dois que apresentaram semelhança na composição e na densidade de espécies, especialmente entre as cianobactérias, formados pelos reservatórios Acauã, Araçagi, Boqueirão do Cais e Cacimba de Várzea, enquanto que o terceiro é formado pelo reservatório Cordeiro que apresentou alta densidade de uma espécie de cianobactéria que não estava presente nos demais, além da alta contribuição na densidade da bacilariófita *Aulacoseira granulata*. Esta diferença apresentada pelo

reservatório Cordeiro pode estar relacionada ao seu valor de transparência que foi bem maior em comparação com outros reservatórios.

A tilápia do Nilo é uma espécie exótica e com algumas características que as tornam mais tolerantes a condições ambientais adversas, além disso, por serem filtradoras do fitoplâncton, possuem vantagens sobre outras espécies, principalmente em ambientes de águas eutrofizadas, alcançando dominância e muitas vezes excluindo algumas espécies (ATTAYDE et al., 2011).

A contaminação desses organismos pelas cianotoxinas pode ocorrer por exposição às toxinas extracelulares, que foram lisadas na água; toxinas intracelulares, pela ingestão direta da cianobactéria; ou toxinas incorporadas nos organismos, pelo consumo de presas contaminadas (LANCE et al., 2007). O trabalho de Zhao et al., (2006), sugere que tilápia do Nilo é mais tolerante a microcistina do que algumas espécies de peixe como por exemplo, a carpa comum. Em contrapartida, o trabalho de Deblois et. al., (2008), indica um alto potencial de acumulação de microcistina nesses organismos, mesmo a baixas concentrações no seston e na água.

Verificamos que a concentração de microcistina foi maior nos peixes alevinos, e conforme Deblois et al. (2011), peixes menores parecem acumular mais toxina, devido ao seu tamanho. Malbrouck & Kestmont (2006), considera além do tamanho, a fina camada epitelial, em combinação com uma superfície corporal relativamente grande. Concomitantemente, a depuração das cianotoxinas nos organismos entre os primeiros estágios de vida também parece ser mais rápida, devido às mudanças em seu metabolismo, pois como foi observado, os peixes juvenis apresentaram menor concentração, e nos adultos os níveis foram ainda menores.

Pesquisas relatam que o órgão alvo para se encontrar as cianotoxinas nos peixes é o fígado, no entanto, as toxinas têm sido encontradas em outros órgãos e no músculo (ZHAO et al., 2006; BERRY et al., 2011). Segundo Mohamed et al. (2003), a existência de toxina em outras partes do peixe se dá devido ao sobrecarregamento pela exposição as toxinas do processo conhecido como eliminação hepática pré sistemática que existe no organismo para impedir, ou pelo menos minimizar a distribuição dos produtos químicos estranhos.

A exposição crônica de espécies de peixes a cianobactérias tóxicas, realizadas em experimentos, mostram a possibilidade de acumulação de toxina no músculo (SOARES et al., 2004). Resultados de Cazenave et al. (2005) apresentam

microcistina no músculo do peixe depois de 24 horas de exposição, havendo o aumento da concentração com o tempo. Por outro lado, Adamovsky et al. (2008) concluiu que nas primeiras semanas de exposição houve máxima concentração de microcistinas e em períodos prolongados um aumento menos significativo.

É visto também que a depuração nos músculos é mais lenta do que nos outros órgãos contaminados, como demonstrado por Dong et al. (2009), onde foi observada uma clara diminuição na concentração de cianotoxinas no fígado, rim e intestino, mas não no músculo. Desse modo, é possível explicar a presença da microcistina nos músculos dos peixes adultos em menor concentração.

As análises realizadas nos estômagos dos peixes mostraram uma elevada densidade de cianobactérias mostrando que existe a preferência da tilápia do Nilo por esses organismos, este fato também foi observado por outros autores (DEBLOIS et al., 2011; ISSAM et al., 2011). No trabalho de Chen et al. (2006), foi encontrada alta percentagem de células de *Microcystis* no conteúdo intestinal da carpa prata, sendo também observado correlação significativa entre a concentração de microcistina, similar aos resultados apresentados especialmente com os peixes alevinos.

O tempo de permanência ou depuração das toxinas no organismo pode variar tanto devido ao metabolismo do peixe e seu estágio de vida, como também pela variante existente no indivíduo. As diminuições das concentrações de microcistinas nos tecidos podem ser associadas a excreção através das fezes (CHEN et al., 2006). Kahtam & Fathi (2008), após verificar acumulação de microcistina no fígado e no músculo de tilápia, observou diminuição nas concentrações no período de depuração e aumento na concentração das toxinas nas fezes dos organismos.

Mesmo sendo o fígado o órgão onde se encontram as maiores concentrações de cianotoxinas, é importante considerar e manter-se alerta para possibilidade de acumulação também nos músculos que é a parte consumida pela população. A Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda o limite de ingestão diária tolerável (TDI) de $0,04 \mu\text{g.Kg}^{-1}$ e Magalhães et al. (2001) em seu trabalho na Lagoa de Jacarepaguá no Rio de Janeiro encontrou níveis de microcistina nos músculos do peixes acima do que é permitido pela OMS.

Os nossos resultados não ultrapassaram este limite, no entanto é válido o contínuo monitoramento já que foi provada a existência da microcistina nos músculos dos peixes mesmo que em pequena quantidade. Cazenave et al. (2005)

fala do risco para contaminação em crianças ou pessoas com menor peso do que o referido, alertando assim para possíveis contaminações mesmo que seja baixa a concentração existente.

O acompanhamento dos reservatórios a cerca da sazonalidade em que acontecem as florações mais intensas de cianobactérias também se faz pertinente, pois nesse período pode acontecer concomitantemente a produção ou aumento nas concentrações de toxinas. Assim, deve ser evitado o consumo do peixe quando confirmada a presença de microcistina já na água. Tanto o controle da eutrofização quanto o correto manejo da atividade de piscicultura podem servir de medidas preventivas no controle das florações e seus consequentes riscos à saúde pública.

5.5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMOVSKY, O. et al. Microcystin kinetics (bioaccumulation and elimination) and biochemical responses in common carp (*Cyprinus carpio*) and silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) exposed to toxic cyanobacterial blooms. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 26, n. 12, p.2687-2693, 2007.

AL-KAHTINA, M. A.; FATHI, A. A.. Physiological studies on Tilapia fish (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the cyanobacterial toxins microcystin. **Journal Of Biological Sciences**, v. 8, n. 7, p.1226-1230, 2008.

APHA, AWWA & WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20^a ed. Washington, APHA/AWWA/WPCF. 1998. 1193p. 1995.

ATTAYDE, J. L.; BRASIL, J.; MENESCAL, R. A. Impacts of introducing Nile tilapia on the fisheries of a tropical reservoir in North-eastern Brazil. **Fisheries Management And Ecology**, v. 18, n. 6, p.437-443, 2011.

BERRY, J. P.; LIND, O. First evidence of “paralytic shellfish toxins” and cylindrospermopsin in a Mexican freshwater system, Lago Catemaco, and apparent bioaccumulation of the toxins in “teogolo” snails (*Pomacea patula catemacensis*). **Toxicon**, Austrália, n. 55, p.930-938, 2010.

BERRY, J. P. et al. Bioaccumulation of microcystins by fish associated with a persistent cyanobacterial bloom in lago de Patzcuaro (Michoacan, Mexico). **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 30, p.1-8, 2011.

BOUVY, M. et al. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 23, p.13-27, 2000.

CAZENAVE, J. et al. Uptake, tissue distribution and accumulation of microcystin-RR in *Corydoras paleatus*, *Jenynsia multidentata* and *Odontesthes bonariensis* A field and laboratory study. **Aquatic Toxicology**, v. 75, p.178-190, 2005.

CHEN, J. et al. In situ studies on the bioaccumulation of microcystins in the phytoplanktivorous silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) stocked in Lake Taihu with dense toxic *Microcystis* blooms. **Aquaculture**, v. 261, p.1026-1038, 2006.

CHEN, J. et al. In situ studies on the distribution patterns and dynamics of microcystins in a biomanipulation fish e bighead carp (*Aristichthys nobilis*). **Environmental Pollution**, v. 147, p.150-157, 2007.

CHEN, J.; XIE, P. Microcystin accumulation in freshwater bivalves from lake Taihu, China, and the potential risk to human consumption. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 26, n. 5, p.1066-1073, 2007.

DEBLOIS, C. P. et al. Microcystin accumulation in liver and muscle of tilapia in two large Brazilian hydroelectric reservoirs. **Toxicon**, Austrália, v. 51, p.435-448, 2008.

DEBLOIS, C. P.; GIANI, A.; BIRD, D. F. Experimental model of microcystin accumulation in the liver of *Oreochromis niloticus* exposed subchronically to a toxic bloom of *Microcystis* sp. **Aquatic Toxicology**, v. 103, p.63-70, 2011.

DONG, G. et al. Effects of dietary cyanobacteria of two different sources on growth and recovery of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* O. aureus). **Toxicon**, v. 54, p.208-216, 2009.

EL-SHEHAWY, Rehab et al. Global warming and hepatotoxin production by cyanobacteria: What can we learn from experiments? **Water Re Search**, v. 46, p.1420-1429, 2012.

Gêneros de algas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições) – Segunda edição / organizado por Carlos E. de M. Bicudo, Mariângela Menezes. – São Carlos: RiMa, 2006.

GÉRARD, C. et al. Influence of toxic cyanobacteria on community structure and microcystin accumulation of freshwater molluscs. **Environmental Pollution**, v. 157, p.609-617, 2009.

HASHIMOTO, E. H.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; HIROOKA, E. Y. H. Risco de *Microcystis* spp. tóxico no cenário da piscicultura brasileira. **Biosaúde**, Londrina, v. 5, n. 1/2, p.59-68, 2003.

ISLAM, M. D. S. Nitrogen and phosphorus budget in coastal and marine cage aquaculture and impacts of effluent loading on ecosystem: review and analysis towards model development. **Marine Pollution Bulletin**, n. 50, p. 48-61, 2005.

ISSAM, El G. et al. Effect of different microcystin profiles on toxin bioaccumulation in common carp (*Cyprinus carpio*) larvae via *Artemia* nauplii. **Ecotoxicology And Environmental Safety**, v. 73, p.762-770, 2011.

KARJALAINEN, M. et al. Trophic transfer of cyanobacterial toxins from zooplankton to planktivores: Consequences for pike larvae and mysid shrimps. **Environmental Toxicology And Chemistry**, v. 20, p.354-362, 2005.

LANCE, Emilie et al. Interactions between cyanobacteria and gastropods II. Impact of toxic *Planktothrix agardhii* on the life-history traits of *Lymnaea stagnalis*. **Aquatic Toxicology**, v. 81, p.389-396, 2007.

MAGALHÃES, V. F.; SOARES, R. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Microcystin contamination in fish from the Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil): ecological implication and human health risk. **Toxicon**, Austrália, v. 39, p.1077-1085, 2001.

MAGALHÃES, V. F. et al. Microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) bioaccumulation in fish and crustaceans from Sepetiba Bay (Brasil, RJ). **Toxicon**, Austrália, v. 42, p.289-295, 2003.

MALBROUCK, C.; KESTEMONT, P. Effects of microcystins on fish. **Environmental Toxicology And Chemistry**, Santiago, v. 25, n. 1, p.72-86, 2006.

MOHAMED, Z. A.; CARMICHAEL, W. W.; HUSSEIN, A. A. Estimation of Microcystins in the Freshwater Fish *Oreochromis niloticus* in an Egyptian Fish Farm Containing a Microcystis Bloom. **Wiley Interscience**, 2003.

SOARES, R. M.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. F. O. Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. **Aquatic Toxicology**, v. 70, p.1-10, 2004.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. Limnological analysis. 2 ed. New York: Springer Verlag, 2001, 391p.

WILSON, A. E. et al. Evaluation of the human health threat associated with the hepatotoxin microcystin in the muscle and liver tissues of yellow perch (*Perca flavescens*). **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, v. 65, p.1487-1497, 2008.

ZHAO, Min et al. Effect of dietary cyanobacteria on growth and accumulation of microcystins in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Aquaculture**, v. 261, p.960-966, 2006.