



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
MESTRADO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO**

GISLAYNE KERLINY DE AQUINO QUEIROZ

**RESPOSTAS ESPÉCIE-ESPECÍFICAS DE CIANOBACTÉRIAS FRENTE AO
ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL EM RESERVATÓRIOS TROPICAIS
SEMIÁRIDOS**

**CAMPINA GRANDE
2024**

GISLAYNE KERLINY DE AQUINO QUEIROZ

**RESPOSTAS ESPÉCIE-ESPECÍFICAS DE CIANOBACTÉRIAS FRENTE AO
ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL EM RESERVATÓRIOS TROPICAIS
SEMIÁRIDOS**

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Área de concentração: Biodiversidade e Conservação de Ecossistemas.

Orientadora: Prof. Dra. Daniele Jovem da Silva Azevêdo.

Coorientadora: Prof. Dra. Juliana dos Santos Severiano.

**CAMPINA GRANDE
2024**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na 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 do trabalho.

Q3r Queiroz, Gislayne Kerliny de Aquino.

Respostas espécie-específicas de cianobactérias frente ao enriquecimento nutricional em reservatórios tropicais semiáridos [manuscrito] / Gislayne Kerliny de Aquino Queiroz. - 2024.

52 p. : il. colorido.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024.

"Orientação : Profa. Dra. Daniele Jovem da Silva Azevêdo, UEPB - Universidade Estadual da Paraíba."

"Coorientação: Profa. Dra. Juliana dos Santos Severiano , Coordenação de Curso de Biologia - CCBS. "

1. Eutrofização. 2. Reservatórios tropicais semiáridos. 3. Manutenção da qualidade hídrica. I. Título

21. ed. CDD 577.7

GISLAYNE KERLINY DE AQUINO QUEIROZ

RESPOSTAS ESPÉCIE-ESPECÍFICAS DE CIANOBACTÉRIAS FRENTE AO ENRIQUECIMENTO
NUTRICIONAL EM RESERVATÓRIOS TROPICAIS SEMIÁRIDOS

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Área de concentração: Biodiversidade e Conservação de Ecossistemas.

Aprovada em: 21/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Daniele Jovem da Silva Azevêdo (Orientadora)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Prof. Dr. José Etham de Lucena Barbosa
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

Prof. Dr. Cihelio Alves Amorim
Middle East Technical University

AGRADECIMENTOS

Ao meu bom e amado Deus e minha adorada Nossa Senhora, tudo até aqui não teria dado certo sem nossas incontáveis conversas. Obrigada pelo amparo.

À minha mãe, a mulher mais forte e incrível que conheço, a mulher em que sempre penso antes de qualquer decisão. Eu aprendi tantas coisas com ela, mas uma das mais marcantes sempre foi: não permita que façam com você aquilo que você não faria ao outro. Obrigada pelos valores e educação, a mulher que sou hoje tem muito da senhora. Depois de tantas dores que passamos juntas, saiba que se eu cheguei até aqui, foi também e, principalmente, pela senhora. Amo-te profundamente!

Ao meu esposo, Maíke, meu companheiro de vida. Como eu queria ter a sua paciência e enxergar a vida como você. Obrigada pelo apoio de sempre, isso aqui teria sido muito mais exaustivo sem sua presença. Amo-te imensamente! Ao Peter também, nosso cachorro. Eu sei que ele nunca irá ler isso, mas aprendo com ele diariamente sobre paciência, cumplicidade, perseverança e perdão. Amo você, Peter!

À minha orientadora, Dra. Daniele Jovem da Silva Azevêdo, uma mulher tão inteligente que qualquer conversa vira fácil uma daquelas aulas inspiradoras que nós sempre desejamos ter. Obrigada por todos os ensinamentos, paciência, compreensão e dedicação para que este trabalho fosse realizado com sucesso. Sou muito grata por ter sido sua orientanda.

À minha coorientadora, Dra. Juliana dos Santos Severiano, pelos ensinamentos e por todo apoio dedicado a este trabalho ao longo desse mestrado.

Ao professor Dr. José Etham, por todo apoio logístico na minha pesquisa ao longo desses dois anos.

À Dany com Y no final (tem duas Dani's, então é necessário diferenciar), pela ajuda imensa no Lapeca durante aquelas semanas das análises químicas de minhas amostras. Aprendi muito com você e agradeço pelas conversas. A rotina era menos cansativa graças à você.

À Raquel Cordeiro, minha orientadora de graduação e amiga. Minha gratidão pela senhora é eterna. Obrigada por sempre ter confiado em mim, a senhora fez isso até nos dias mais desafiadores da minha vida. Saudades!

Aos meus colegas de laboratório, que além das risadas para tornarem os dias mais leves, também me ajudaram na identificação, na estatística e nas análises químicas deste trabalho: Dayrla, Camila, Rani, Dany, Manu, Tati e Myrna.

Aos PIBICs do laboratório, que por tantas vezes me ajudaram com a etiquetagem, lavagem de garrafas e vidrarias: Ellen, Aluska e Pedro.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

À Universidade Estadual da Paraíba.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Muito obrigada!

RESUMO

O enriquecimento por nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo, representa uma das principais causas de degradação dos corpos hídricos. Identificar o nutriente considerado limitante ao crescimento das cianobactérias é imprescindível para elaboração de estratégias de manutenção da qualidade hídrica, particularmente em ambientes onde a população convive com o desafio da escassez hídrica. O presente trabalho de dissertação buscou determinar, experimentalmente, o nutriente que limita o crescimento de cianobactérias em reservatórios tropicais semiáridos. Quatro reservatórios (Serrinha II, Jazigo, Cachoeira II e Barra do Juá), integrantes da bacia hidrográfica do rio Pajeú, estado de Pernambuco, semiárido brasileiro, foram selecionados para a obtenção de dados durante o período seco da região (junho de 2022). Para a obtenção dos dados, 5 pontos foram selecionados em cada reservatório. As amostras direcionadas para a montagem do experimento foram compostas por 25L de água, sendo 5L coletados em cada local de amostragem de forma integrada nas três profundidades: subsuperfície, 1% de luminosidade e zona afótica. Destes 25L coletados, quatro amostras foram separadas antes de ter início o experimento, a fim de representarem o Tinicial. Na etapa experimental, quatro tratamentos foram estabelecidos, contendo 4 réplicas cada: controle (sem adição de nutrientes), +N (adição de 14 mg/L^{-1} de nitrato/ NaNO_3), +P (adição de $1,4 \text{ mg/L}^{-1}$ de fosfato/ Na_2PO_3) e +NP (combinados nas concentrações mencionadas), a fim de simular condições eutróficas. Após 24 horas de duração do bioensaio, foram retiradas amostras de cada réplica para análise quantitativa e análises químicas da água. No reservatório considerado oligotrófico (Cachoeira II), observou-se diferença significativa entre o tratamento controle e os demais tratamentos do bioensaio ($p < 0.05$), enquanto nos dois reservatórios considerados mesotróficos e no reservatório eutrófico (Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, respectivamente) não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0.05$). No entanto, apesar de não ter sido verificado que a adição de N e P influencia significativamente no aumento da biomassa total na maioria dos ambientes estudados, foi observado que a resposta das cianobactérias a esse aporte de nutrientes é espécie-específica.

Palavras-Chave: eutrofização; reservatórios tropicais semiáridos; manutenção da qualidade hídrica.

ABSTRACT

Enrichment by nutrients, especially nitrogen and phosphorus, represents one of the main causes of degradation of water bodies. Identifying the nutrient considered to be limiting the growth of cyanobacteria is essential in order to develop strategies to maintain water quality, particularly in environments where the population lives with the challenge of water scarcity. The present dissertation work sought to determine, experimentally, the nutrient that limits the growth of cyanobacteria in semi-arid tropical reservoirs. Four reservoirs (Serrinha II, Jazigo, Cachoeira II and Barra do Juá), belonging to the Pajeú river basin, state of Pernambuco, semi-arid region of Brazil, were selected for data capture during the region's dry season (June 2022). To obtain the data, 5 points were selected in each reservoir. The samples directed to the setup of the experiment were composed of 25L of water, 5L of which were collected at each sampling site in an integrated manner at the three depths: subsurface, 1% luminosity and aphotic zone. From these 25L collected, four samples were separated before starting the experiment, in order to understand the Tinitial. These were destined to the quantitative analysis of the phytoplankton groups and chemical analysis of the water. In the experimental stage, four treatments were established, containing 4 replicates each: control (no addition of nutrients), +N (addition of 14 mL of nitrate/ NaNO_3), +P (addition of 1.4 ml of phosphate/ Na_2PO_3) and +NP (combined at the mentioned concentrations) in order to simulate eutrophic conditions. After 24 hours of duration of the bioassay, samples were taken from each replica for quantitative analysis and chemical analysis of the water. In the reservoir considered oligotrophic (Cachoeira II), a significant difference was observed between the control treatment and the other bioassay treatments ($p < 0.05$), while in the two reservoirs considered mesotrophic and in the eutrophic reservoir (Serrinha II, Jazigo and Barra do Juá, respectively) no significant differences were observed between treatments ($p > 0.05$). However, although it was not verified that the addition of N and P significantly influences the increase in total biomass in most of the environments studied, it was observed that the response of cyanobacteria to this nutrient input is species-specific.

Keywords: eutrophication; semi-arid tropical reservoirs; maintenance of water quality.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Distribuição dos locais de amostragem nos reservatórios Serrinha II, Cachoeira II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil 18
- Figura 2– Bioensaios e respectivos tratamentos realizados a partir dos reservatórios integrantes da bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. Onde: Controle = sem adição de nutrientes; +N = adição de 14 ml de nitrato/ NaNO_3 , +P = adição de 1,4 ml de fosfato/ Na_2PO_3 , e +NP = combinação de +N e +P..... 19
- Figura 3 – Biomassa relativa da comunidade fitoplanctônica nos reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil.....23
- Figura 4 - Biomassa da comunidade fitoplanctônica sob diferentes condições de enriquecimento de nutrientes e sua contribuição por grupo taxonômico em reservatórios da bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. Onde: A e A' – Cachoeira II; B e B' – Serrinha II; C e C' – Jazigo; D e D' – Barra do Juá.....25
- Figura 5 - Biomassa das espécies de cianobactérias a partir dos experimentos de enriquecimento de nutrientes. Onde: A – Cachoeira II; B – Serrinha II; C – Jazigo; D – Barra do Juá..... 28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Tabela 1 – Variáveis físicas e químicas (média e desvio padrão) dos reservatórios Cachoeira II, Jazigo, Serrinha II e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. Tipologia trófica dos reservatórios estudados, IET: Índice de Estado Trófico (Carlson,1977, modificado por Toledo et al., 1983)..... 22

Tabela 2 – Tabela 2 – Resultados da ANOVA de medidas repetidas e teste de Friedman para os reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. - = não realizado..... 26

Tabela 3 – Resultados das análises de nutrientes dos bioensaios (média e desvio padrão) dos reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil..... 27

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL	10
1.1 Estrutura geral da dissertação	12
2 Artigo I - Capítulo I	13
3 INTRODUÇÃO	14
4 MATERIAL E MÉTODOS	17
4.1 Área de estudo	17
4.2 Amostragem em campo	17
4.3 Delineamento experimental	19
4.4 Análise quali-quantitativa	20
4.5 Variáveis físicas e químicas e clorofila-a	20
4.6 Análise de dados	21
5 RESULTADOS	22
5.1 Caracterização do Tinicial	22
5.2 Bioensaios	23
5.3 Resposta espécie-específica das cianobactérias	28
6 DISCUSSÃO	30
7 CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

1 INTRODUÇÃO GERAL

O intenso desenvolvimento agrícola, urbano e industrial resultante do acentuado crescimento populacional contribui com o enriquecimento de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, fenômeno conhecido como eutrofização cultural ou antropogênica (Kruk et al., 2021; Sivarajah et al., 2021; Xu et al., 2021; Zhou et al., 2021). Esse enriquecimento por nutrientes nos corpos hídricos favorece o crescimento de cianobactérias sobre o fitoplâncton eucariótico, em razão de vantagens competitivas presentes neste grupo, como a capacidade de fixação do nitrogênio atmosférico por diversas espécies, presença de vesículas gasosas proporcionando flutuabilidade às células e mecanismos de concentração de CO₂ que permitem o aumento na concentração do CO₂ pelas células para níveis em que a enzima rubisco possa operar eficientemente (Huisman et al., 2018; Wang et al., 2021).

Dentre os principais impactos associados a esses eventos que alteram os sistemas limnéticos, as florações de cianobactérias, incluindo espécies potencialmente produtoras de cianotoxinas, representam uma das principais ameaças à saúde humana e ambiental, uma vez que estas proliferações continuam a aumentar em intensidade e toxicidade (Paerl; Barnard, 2021; Wang et al., 2021). A distribuição e a contribuição das cepas para essas florações podem variar a depender das propriedades da água (Śliwińska-Wilczewska et al., 2019).

Quando o crescimento das cianobactérias torna-se excessivo nos ecossistemas aquáticos, é observado a presença de efeitos nocivos para estes ambientes, tornando essas proliferações uma das ameaças mais graves à biodiversidade dos ambientes de água doce (Amorim; Moura, 2021). É observado a alteração da estrutura trófica e funcionalidade destes ecossistemas, a promoção da depleção de oxigênio na coluna d'água que acarreta a morte de organismos aquáticos, como os peixes, e produção de metabólitos secundários que alteram o sabor e odor, reduzindo os serviços ecossistêmicos ofertados (Jüttner; Watson, 2007; Catherine et al., 2013). As alterações nas propriedades organolépticas da água e o potencial de produção de cianotoxinas por diversas espécies de cianobactérias ameaçam a segurança da água destinada ao abastecimento humano (Codd; Morrison; Metcalf, 2005; Barros et al., 2019).

Estas florações de cianobactérias ocorrem sob a combinação de fatores que criam condições favoráveis ao crescimento destes organismos, como a concentração adequada de nutrientes, salinidade, intensidade de luz e temperatura (Ho et al., 2017; Prihantini et al., 2019; Singh et al., 2022). A temperatura, por exemplo, representa um dos principais fatores relacionados ao crescimento e manutenção da variedade de ecótipos, uma vez que está

envolvida em uma série de reações enzimáticas e no processo de fotossíntese (Zheng et al., 2023). Contudo, apesar das diversas discussões acerca da forte influência da temperatura nas florações, são os nutrientes, sobretudo, o nitrogênio e o fósforo, os principais impulsionadores destes eventos (Bonilla et al., 2023).

O enriquecimento nutricional está relacionado diretamente com o crescimento excessivo das cianobactérias, contudo, nem todas as espécies são afetadas igualmente, sendo observado que estes organismos não respondem de forma uniforme e indicado que sejam tratados individualmente e não como um grupo homogêneo (Loza; Perona; Mateo, 2014). As diferentes espécies apresentam assim variações nas respostas fisiológicas às condições ambientais (Shan et al., 2019).

A importância destes nutrientes para as cianobactérias está relacionada com a participação em biomoléculas essenciais à vida, como os ácidos nucleicos (DNA e RNA), síntese de proteínas, pigmentos (clorofila e ficocianina), fosfolipídios e ATP (Markou; Vandame; Muylaert, 2014; Dong et al., 2019). O nitrogênio constitui aproximadamente 78% da atmosfera terrestre, contudo, em razão das fortes ligações em sua molécula, ele é um elemento não reativo e a sua utilização pelos organismos é dependente da fixação de sua forma gasosa em amônia, enquanto os principais reservatórios de fósforo nos ecossistemas aquáticos são resultantes de sedimentos e da erosão/intemperismo de rochas (House; House, 2016; Worsfold; Mckelvie; Monbet, 2016).

As cianobactérias apresentam diversas formas de aproveitamento de fósforo em resposta às diferentes formas encontradas nos ecossistemas aquáticos, contudo, o ortofosfato é geralmente considerado a fonte de fósforo preferida devido sua alta biodisponibilidade (Zhang et al., 2020; Song et al., 2023). Sob condições abundantes deste nutriente no meio, algumas espécies de cianobactérias conseguem armazenar o fósforo inorgânico em grânulos de polifosfato a fim de utilizá-lo em cenários com déficit de fósforo (Wan et al., 2019).

Ao contrário do fósforo que tem seu ciclo mediado, principalmente, por processos físicos e químicos, o ciclo biogeoquímico do nitrogênio é conduzido em sua maior parte por atividades microbianas (Martens-Habbena; Stahl, 2011; Maier, 2015; Stein; Klotz, 2016). Em ecossistemas aquáticos, a fixação do nitrogênio atmosférico por cianobactérias diazotróficas é um importante processo ecológico que sustenta a abundância destes organismos (Osburn; Wagner; Scott, 2021). As concentrações destes nutrientes nos corpos hídricos determinam a composição das assembleias nos corpos hídricos, uma vez que as demandas nutricionais podem variar entre as espécies por múltiplos fatores, entre eles, a melhor eficiência no armazenamento do nutriente considerado limitante no ambiente, como a espécie *Planktothrix*

agardhii, que consegue armazenar fósforo quando este é abundante no meio e aumentar de 3 a 4 vezes seu número de células (Tilman; Kilham; Kilham, 1982; Levine; Schindler, 1999; Reynolds, 2006; Lee; Rollwagen-Bollens; Bollens, 2015; Wan et al., 2019).

Nos ambientes de água doce, a produção primária é tradicionalmente vista como limitada por fósforo a longo prazo, enquanto o nitrogênio é visto como nutriente limitante temporário, contudo, o paradigma de que apenas um nutriente limita essa produtividade não é mais aceita em decorrência do aumento nas cargas antropogênicas desses nutrientes nas últimas décadas (Li et al., 2022). Em regiões semiáridas, o aumento na entrada de nitrogênio e fósforo em reservatórios representa um grave problema, haja visto que estes ambientes são construídos com o intuito de mitigar a escassez de água (Barbosa et al., 2012; De Araújo; Medeiros, 2013).

Os baixos índices pluviométricos e altas taxas de evapotranspiração reduzem o volume de água nestes sistemas e promovem o aumento na concentração de nutrientes, favorecendo o crescimento de cianobactérias (Wiegand et al., 2021). As espécies *Raphidiopsis raciborskii* e *Microcystis aeruginosa* são frequentes em florações nos reservatórios do semiárido, representando o potencial risco de produção de saxitoxina e microcistina (Barros et al., 2019; Mendes et al., 2022).

Diante da presente problemática, determinar o nível de concentração dos nutrientes, nitrogênio e fósforo, em que ocorre limitação no crescimento de espécies potencialmente formadoras de florações em reservatórios do semiárido, pode ser a chave para o avanço nas informações acerca dos padrões dinâmicos das assembleias.

1.1 Estrutura geral da dissertação

O presente trabalho está organizado em um capítulo redigido no formato de manuscrito com objetivo principal de obter as respostas espécie-específicas das cianobactérias de reservatórios tropicais a partir de um enriquecimento nutricional. O manuscrito está intitulado "Respostas espécie-específicas das cianobactérias frente ao enriquecimento nutricional em reservatórios tropicais semiáridos" e será submetido à revista "Perspectives in Ecology and Conservation".

2 Artigo I - Capítulo I

Respostas espécie-específicas das cianobactérias frente ao enriquecimento nutricional em reservatórios tropicais semiáridos

Gislayne Kerliny de Aquino Queiroz¹; Juliana Santos Severiano¹ & Daniele Jovem-Azevêdo^{1,2,3}

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, *Campus* Campina Grande – PB. Autor correspondência: gikerliny@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Ciências Naturais e Biotecnologia, Universidade Federal de Campina Grande, *Campus* Cuité – PB.

³Instituto Federal do Sertão Pernambucano, *Campus* Floresta – PE.

3 INTRODUÇÃO

O elevado crescimento populacional, associado ao aumento do impacto das atividades humanas em ecossistemas aquáticos, mostra uma relação direta com as ocorrências frequentes de florações de cianobactérias (De Mello et al., 2020; Mizael et al., 2020; Zuccarello et al., 2021; Cunha; Da Cunha et al., 2023). Apesar das cianobactérias desempenharem papel fundamental como base de cadeia alimentar e produção primária (Tiam et al., 2022), esse cenário de florações gera preocupação acerca da qualidade dos corpos hídricos. Isto porque, as florações tendem a modificar a dinâmica dos ecossistemas, induzindo mudanças nos parâmetros ambientais, quadro que gera efeitos negativos sobre a abundância e a diversidade das comunidades (Li et al., 2022; Zhao et al., 2022; Mishra et al., 2022; Zhang et al., 2023).

As florações provocam impactos relacionados com alterações nas propriedades organolépticas da água, a exemplo da redução na transparência do corpo d'água. Esta última afeta diretamente as taxas de produtividade primária, provocando desequilíbrio na cadeia alimentar e depleção de oxigênio (Zhang et al., 2019; Munoz et al., 2021; Xue et al., 2023). Além desses riscos, muitas espécies de cianobactérias formadoras de florações, têm o potencial de produção de cianotoxinas, substâncias que representam risco à saúde humana e a diversos organismos aquáticos (Mutoti et al., 2023; McGowan et al., 2023; Zhang et al., 2023). A exposição das populações humanas às cianotoxinas, ocorre especialmente através da ingestão de peixes e de outros organismos contaminados, mas também através da ingestão de água bruta, exposição recreativa e inalação de aerossóis (Malik et al., 2020; Souza; Metcalf, 2020; Ramos et al., 2021).

Dentro do grupo das cianotoxinas, destacam-se as saxitoxinas e as microcistinas. Produzidas por uma diversidade de cianobactérias, como algumas espécies pertencentes aos gêneros *Microcystis* e *Dolichospermum*, as microcistinas são potencialmente promotoras de tumores hepáticos, enquanto as saxitoxinas apresentam efeitos neurotóxicos e têm a espécie *Raphidiopsis raciborskii* como principal cianobactéria mais estudada em ecossistemas de água doce (Zhou et al., 2021; Shi et al., 2021; Podduturi et al., 2021). Dentre os fatores associados ao crescimento das cianobactérias, incluindo aquelas potencialmente tóxicas, temperatura e nutrientes representam os principais fatores limitantes (Huo et al., 2019). Contudo, Bonilla et al. (2023) elucidaram que apesar da temperatura ser superestimada nas discussões atuais acerca de sua influência no aumento da biomassa de cianobactérias, os

nutrientes são, na verdade, os principais condutores deste evento. A importância dos nutrientes para o crescimento das cianobactérias, especialmente o nitrogênio (N) e o fósforo (P), está relacionada com o papel biológico que estes desempenham nesses organismos, como: participação na síntese de proteínas, integração à moléculas de transferência de energia e ao material genético (Kumar; Bera, 2020; Dai et al., 2023).

A disponibilidade adequada desses nutrientes, associada aos demais fatores, como luz e temperatura, permitem o crescimento e replicação das cianobactérias, aumentando assim a sua biomassa (Giani et al., 2020). Devido a ampla capacidade de reprodução, sobrevivência e potencial de síntese de metabólitos contaminantes, sob as mais variadas condições ambientais, os cientistas têm ampliado o interesse em determinar os principais fatores limitantes associados à dominância e a dinâmica das assembleias de cianobactérias nos ecossistemas de água doce.

Particularmente, em regiões quentes, como as semiáridas, o regime irregular de chuvas e as altas concentrações de nutrientes e salinidade, decorrentes do elevado tempo de residência das águas (3 a 5 anos), são fatores que criam condições ambientais específicas e favorecem o aumento na concentração de nutrientes nos ecossistemas aquáticos, contribuindo com o aumento na ocorrência e intensidade dos eventos das florações (Amorim et al., 2020; Cortez et al., 2022). Em eventos de florações observados nesses ambientes, é observado a predominância de *R. raciborskii*, *M. aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*, espécies potencialmente produtoras de toxinas (Lucena-Silva et al., 2019; Severiano et al., 2023). No entanto, lacunas na identificação do nutriente limitante nestes ambientes ainda são observadas, uma vez que isto parece variar, a depender das condições ambientais locais e composição taxonômica (Su et al., 2019).

Durante muito tempo, o P foi considerado o principal fator limitante para o crescimento das cianobactérias, em razão de que a fixação do N atmosférico por espécies diazotróficas poderia compensar às necessidades por este elemento (Smith, 1990; Carpenter, 2008). No entanto, a premissa de que o P limita a produtividade primária através da ideia do paradigma “P apenas”, não é mais aceita em virtude da compreensão de que a fixação biológica do N nem sempre poderá atender as demandas fisiológicas, bem como, pelo fato de que o N pode ser perdido através da desnitrificação e que a carga antropogênica de ambos os nutrientes aumentou drasticamente ao longo das últimas décadas (Paerl et al. 2016; Paerl et al., 2020). Deste modo, o limite nutricional que determina o crescimento das espécies e que gera o gatilho para o surgimento das florações, pode ser uma resposta a interação de fatores que atuam sinergicamente, e não isoladamente.

É importante considerar que as cargas desses nutrientes geram uma resposta espécie-específica na estrutura e diversidade das assembleias de cianobactérias, isto porque, diferentes espécies podem apresentar demandas nutricionais distintas (Tilman et al., 1982; Levine; Schindler, 1999; Tanvir et al., 2021). Estudos anteriores, incluindo ambientes semiáridos, mostram que a flutuação dos nutrientes se relaciona ao padrão dinâmico das assembleias de cianobactérias, selecionando aquelas espécies mais adaptadas dentro do grupo, a exemplo de *Planktothrix agardhii* conseguir armazenar nitrogênio e fósforo excedentes no meio, *Raphidiopsis raciborskii* estar positivamente relacionada com a relação N:P e *Microcystis aeruginosa* positivamente associada com o fósforo total (Barros et al., 2019; Liu et al., 2021).

Compreender então a dinâmica das respostas espécie-específicas ao influxo do N e P pode otimizar ações de tratamento das águas e auxiliar na proposição de medidas que previnam a perda da biodiversidade e serviços ecossistêmicos, diante do quadro de redução da qualidade hídrica (Loza; Perona; Mateo, 2014). Esse fator se torna ainda mais importante em ecossistemas onde o quadro de florações é frequente, como em ecossistemas aquáticos presentes em regiões secas (Lorenzi et al., 2018; Walter et al., 2018; Mendes et al., 2022). Os riscos associados à estas proliferações de cianobactérias exigem um manejo complexo em razão da variabilidade própria dos diferentes corpos hídricos e da diversidade das vias dos nutrientes, fatores que implicam na impossibilidade de um plano de ação universal e na consequente necessidade de abordagens locais (Merel et al., 2013; Stroom et al., 2016; Lürding et al., 2020).

O presente trabalho buscou, então, determinar em uma escala experimental, através de bioensaios, o nutriente (N e/ou P) que limita o crescimento de cianobactérias em reservatórios tropicais semiáridos. Diante da premissa que o aumento no aporte dos nutrientes, N e P, promovem a dominância de cianobactérias em reservatórios tropicais (Barros et al., 2019), duas hipóteses foram testadas: i) a resposta das cianobactérias ao aumento no aporte desses nutrientes é espécie específica; ii) as espécies formadoras de florações potencialmente tóxicas, como *Raphidiopsis raciborskii*, *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*, apresentarão melhor crescimento em condições com a adição de N e P combinados, podendo dominar nos ecossistemas em que ocorrem.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

Amostras de água para os bioensaios em laboratório foram obtidas em quatro reservatórios localizados no estado de Pernambuco, região Nordeste do Brasil, sendo eles: o reservatório Serrinha II (8°12'8.73"S e 38°31'52.59"O), o reservatório Cachoeira II (7°56'59.06"S e 38°19'59.05"O) e o reservatório Jazigo (7°59'57.37"S e 38°14'18.58"O), localizados no município de Serra Talhada, e o reservatório Barra do Juá (8°26'49.63" S e 38°4'24.69"O), localizado no município de Floresta.

Esses reservatórios integram a bacia hidrográfica do rio Pajeú (07°16'20" e 08°56'01"S e 36°59'00" e 38°57'45"O), a maior bacia hidrográfica do estado de Pernambuco, com área de 16.685,63 km² e a área de drenagem que contempla 27 municípios (Apac, 2021). O uso prioritário dos reservatórios é para abastecimento público e dessedentação animal, além de atividades de irrigação e uso industrial (Apac, 2015).

O clima na região, de acordo com a classificação de Köppen-Geiger, é do tipo BSh semiárido quente, com temperatura média de 24,5 °C, precipitação anual inferior a 700 mm/ano, com o período chuvoso correspondendo a três meses: março, abril e maio (Köppen; Geiger, 1928). A vegetação varia de arbórea a arbustiva, com predominância da formação vegetal do tipo Caatinga hiperxerófila (Assis et al., 2014).

O reservatório Barra do Juá faz parte do principal afluente do rio Pajeú, o riacho do Navio, e é um dos reservatórios receptores do projeto de transferência de águas interbacias do Rio São Francisco no seu eixo Leste, o Project for Integration of the São Francisco River with Basins of the Northeastern Northeast (São Francisco River Integration Project-Brazil, Ministério do Desenvolvimento Regional, Brasil – gov.br/mdr/pt-br), implantado em março de 2017. Esse projeto tem como objetivo transferir água do rio São Rio Francisco, o maior rio inserido exclusivamente no Brasil e o quarto maior rio da América Latina, para sanar o déficit hídrico nas bacias do semiárido para abastecimento público, consumo de animais e irrigação (Araújo, 2004).

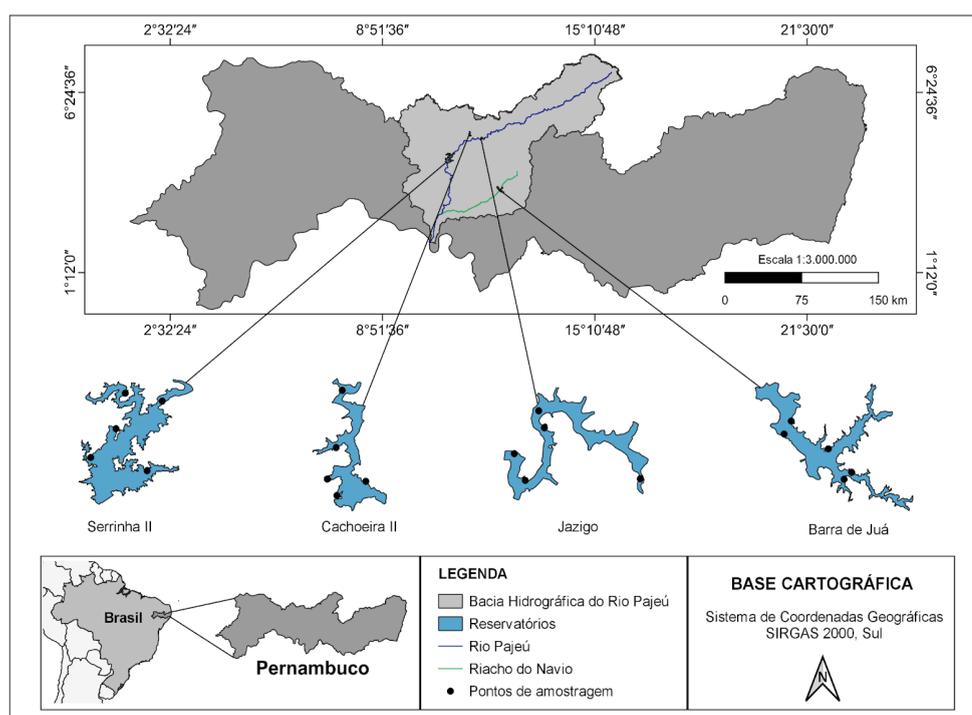
4.2 Amostragem em campo

A amostragem ocorreu durante a estação seca, em junho de 2022, sempre no mesmo dia do início dos bioensaios. Em cada um dos 5 locais amostrados na região limnética, 5 L de água foram coletados de forma integrada nas diferentes profundidades (subsuperfície, limite da zona eufótica e fundo), depositados em um balde de 5 L e em seguida, transferidos para

uma bombona que recebeu todas as amostras misturadas dos 5 locais, totalizando 25 L por reservatório (Fig.1). Essas amostras foram obtidas com o auxílio da garrafa de Van Dorn e filtradas em rede de plâncton com abertura de malha de 68 μm para remoção do zooplâncton herbívoro que poderia interferir no delineamento experimental, conforme recomendado por Maberly et al. (2002). Após o fim da coleta, a água coletada foi conduzida ao laboratório sob temperatura ambiente ($\sim 25\text{ }^\circ\text{C}$), abrigados da luz solar. Ainda *in situ*, a transparência da água foi estimada utilizando o Disco de Secchi, bem como, foi mensurada a temperatura da água ($^\circ\text{C}$), pH, oxigênio dissolvido (mg/L) e condutividade elétrica (mS/cm), utilizando multianalisador (Akrom Kr8405).

Ao chegar no laboratório, uma parte da amostra dos 25 L de água coletado (500 mL), foi separada para posterior avaliação quanto às suas características químicas. A água para a análise das cianobactérias e outras espécies fitoplanctônicas foi obtida também a partir dos 25 L coletados, sendo armazenada em fracos de polietileno com capacidade de 200 mL e fixadas com Lugol à 1%, enquanto para a análise da clorofila-*a* foi armazenada em fracos de 50 mL e conduzida ao laboratório em caixas de isopor com gelo.

Figura 1 – Distribuição dos locais de amostragem nos reservatórios Serrinha II, Cachoeira II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

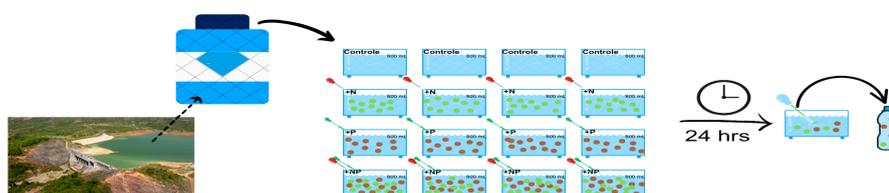


Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

4.3 Delineamento experimental

Os bioensaios foram realizados em aquários de 1L, nos quais foram adicionados 800 mL da água dos reservatórios. A etapa seguinte consistiu nas manipulações nas concentrações de nitrogênio e fósforo a partir de quatro tratamentos, sendo estes (Fig. 2): Controle, sem adição de nutrientes; +N, adição de 14 mg L^{-1} de nitrato/ NaNO_3); +P, adição de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de fosfato/ Na_2PO_3); e +NP, adição combinada de N e P nas concentrações descritas anteriormente). O controle e cada tratamento foi montado com quatro réplicas e as concentrações de nutrientes adicionados no experimento foram baseadas na proposta de Lürling et al. (2018), a fim de simular um cenário de eutrofização.

Figura 2 - Bioensaios e respectivos tratamentos realizados a partir dos reservatórios integrantes da bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. Onde: Controle = sem adição de nutrientes; +N = adição de 14 mg L^{-1} de nitrato/ NaNO_3 , +P = adição de $1,4 \text{ mg L}^{-1}$ de fosfato/ Na_2PO_3 , e +NP = combinação de +N e +P.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os aquários foram dispostos em uma estante com os tratamentos distribuídos de forma aleatória, havendo controle de temperatura ($\sim 25^\circ\text{C}$), luz (fotoperíodo 12h claro: 12h escuro) e mantidos sob aeração branda e constante. O ciclo experimental durou 24 horas em razão da pequena dimensão das unidades experimentais, o que reduziria os possíveis efeitos aleatórios e de borda (Maredová; Altman; Kaštovský, 2021; Willmer; Püttker; Prevedello, 2022). Ao final, foram coletados ao total 700ml da água dos aquários em garrafas plásticas a partir de cada réplica dos quatro tratamentos. Alíquotas de 200ml fixadas com Lugol à 1% foram destinadas para análise quali-quantitativa da assembleia de cianobactérias e outros grupos fitoplanctônicos e as alíquotas com 500ml para as análises da concentração de nutrientes.

4.4 Análise quali-quantitativa

A quantificação das cianobactérias e outros grupos fitoplanctônicos foi realizada através do método de sedimentação (Utermöhl, 1958), utilizando um microscópio invertido com ampliação de 400x (Zeiss Axiovert 40 C). A comunidade fitoplanctônica foi representada através dos grupos taxonômicos observados a partir de literatura específica (Komárek; Anagnostidis, 1999; Sant'Anna et al., 2007; Bicudo, 2004; Silva, 1999). Para obtenção dos dados de volume, 20 indivíduos de cada espécie por amostra foram fotografados para posteriores medições, a partir das formas geométricas aproximadas aos morfotipos celulares, de acordo com Hillebrand et al. (1999). Para a medição foi utilizado o programa AxioVision Rel. 4.8. Para espécies que apareceram menos de 20 vezes na amostra, os dados de volume adotados foram extraídos a partir do banco de dados do Laboratório de Ecologia Aquática da Universidade Estadual da Paraíba (LEAq/UEPB). O banco de dados de referência, reúne listas de espécies e medidas padrão obtidas a partir da identificação de indivíduos amostrados em reservatórios tropicais semiáridos. Quando alguma espécie não estava representada neste banco de dados, os volumes foram então obtidos a partir da literatura.

Após a contagem dos indivíduos, a densidade (cell mL^{-1}) foi calculada de acordo com Ross (1979). O biovolume ($\text{mm}^3 \text{L}^{-1}$) foi estimado multiplicando-se a densidade das espécies pelo volume celular calculado a partir de modelos geométricos, conforme descrito por Hillebrand et al. (1999). Por fim, realizou-se a conversão da biomassa (mg L^{-1}) expresso como massa de $1 \text{ mm}^3 \text{L}^{-1} = 1 \text{ mg L}^{-1}$ e foi determinada segundo Wetzel e Likens (2000).

4.5 Variáveis físicas e químicas e clorofila-a

Para as análises químicas da água do Tinicial e daquelas retiradas após o término dos bioensaio, um total de 250ml da amostra coletada foram filtrados em uma bomba de vácuo (TECNAL TE-058), sendo posteriormente utilizados para determinação das concentrações da série nitrogenada (amônia - NH_3 ; nitrito - NO_2 ; e nitrato - NO_3) e de fósforo solúvel reativo (PSR). A fração da amostra bruta foi utilizada para determinação fósforo total (PT). Todas essas análises foram realizadas de acordo com APHA (2005) e as concentrações foram determinadas em $\mu\text{g L}^{-1}$. Para obtenção dos dados de clorofila-a, as amostras foram analisadas com menos de 48 horas pós-coleta utilizando o Phyto-Pam (WALZ-PHYTO-PAM II/ED).

Os dados de PT e clorofila-a foram utilizados para calcular o Índice de Estado Trófico (IET), de acordo com o proposto por Carlson (1977) e modificado por Toledo et al., (1983). Os seguintes critérios foram utilizados para determinar o IET dos reservatórios: oligotrófico,

TSI < 44; mesotrófico, 44 < TSI < 54; e eutrófico, TSI > 54. Neste modelo, há a combinação dos valores de alguns subíndices para o resultado da classificação do IET. O índice foi calculado utilizando a equação 1 e os subíndices foram calculados a partir das equações 2-5:

$$IET = \frac{IET(DS) + 2[IET(PT) + IET(PSR) + IET(CHL)]}{7} \quad \text{Equação 1}$$

$$IET(DS) = 10 \left[6 - \frac{0.64 + \ln(DS)}{\ln(2)} \right] \quad \text{Equação 2}$$

$$IET(CHL) = 10 \left[6 - \frac{2.04 - 0.695 * \ln(CHL)}{\ln(2)} \right] \quad \text{Equação 3}$$

$$IET(PSR) = 10 \left[6 - \frac{\ln\left(\frac{21.67}{PSR}\right)}{\ln(2)} \right] \quad \text{Equação 4}$$

$$IET(PT) = 10 \left[6 - \frac{\ln\left(\frac{80.32}{PSR}\right)}{\ln(2)} \right] \quad \text{Equação 5}$$

4.6 Análise de dados

Para verificar as diferenças significativas ($p < 0,05$) da biomassa fitoplanctônica total e das espécies de cianobactérias entre os tratamentos testados, foi realizado uma análise de variância (ANOVA fatorial de medidas repetidas), utilizando o software R 4.0.4 (R development core team, 2023), com o pacote *stats*. Quando verificado diferenças significativas nos testes da ANOVA, foi realizado o teste a posteriori de Tukey. Em reservatórios onde a distribuição dos dados obtidos nos experimentos não seguia os pressupostos da ANOVA, como a normalidade dos resíduos testada através do teste de Kolmogorov-Smirnov e o teste de Bartlett, a fim de avaliar a homocedasticidade dos dados, foi então utilizado a função *decostand* do pacote *vegan*, com o método “log”. Após a logaritmização, se a distribuição ainda não cumpria os requisitos necessários, os dados foram então submetidos ao teste de Friedman, teste não-paramétrico.

5 RESULTADOS

5.1 Caracterização do Tinicial

O IET demonstrou que os ambientes analisados apresentam variação em seus estados tróficos, sendo observado um reservatório oligotrófico (Cachoeira II), dois reservatórios mesotróficos (Serrinha II e Jazigo) e um reservatório eutrófico (Barra do Juá). A temperatura da água foi alta entre os ambientes, com valores médios variando entre $24,76 \pm 0,41$ a $27,12 \pm 1,65$ °C. As águas foram predominantemente ácidas, com valores entre $3,25 \pm 0,05$ a $4,06 \pm 0,35$. O maior valor médio de oxigênio dissolvido foi verificado em Cachoeira II ($7,84 \pm 0,97$ mg/L), enquanto o menor ocorreu em Jazigo ($2,2 \pm 1,13$ mg/L). Os ambientes estiveram com altos níveis de condutividade elétrica, com valores variando de $128,22 \pm 0,45$ a $375 \pm 3,53$ mS/cm. Os maiores valores médios de NH_3 ($76,93 \pm 9,12$ µg/L) e de NO_2 ($100,99 \pm 1,38$ µg/L) foram observados em Serrinha II, enquanto o maior valor médio de NO_3 foi identificado em Barra do Juá ($393,64 \pm 86,5$ µg/L). Durante o período de estudo, as águas dos reservatórios estiveram enriquecidas com fósforo, sendo os maiores valores médios de PSR ($21,57 \pm 5,83$ µg/L) e PT ($87,83 \pm 11,9$ µg/L) observados também em Barra do Juá e os menores valores médios achados em Cachoeira II (PSR de $1,21 \pm 2,14$; PT de $25,75 \pm 5,67$ - Tabela 1).

Tabela 1 – Variáveis físicas e químicas (média e desvio padrão) dos reservatórios Cachoeira II, Jazigo, Serrinha II e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil e IET: Índice de Estado Trófico (Carlson, 1977, modificado por Toledo et al., 1983).

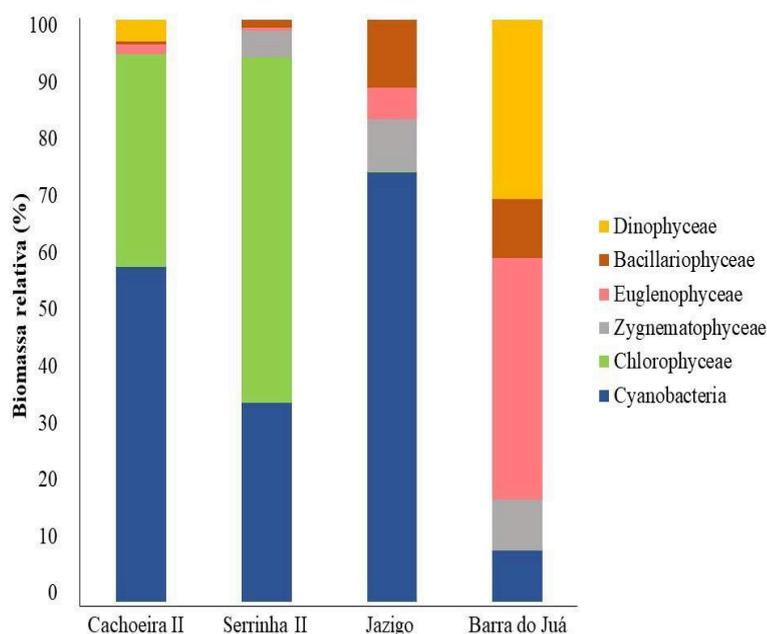
Variáveis	Cachoeira II	Serrinha II	Jazigo	Barra do Juá
IET	42,57	52,4	51,9	60,45
pH	$3,78 \pm 0,08$	$4,06 \pm 0,35$	$3,78 \pm 0,07$	$3,25 \pm 0,05$
Temperatura (°C)	$26,62 \pm 1,10$	$27,12 \pm 1,65$	$25,72 \pm 0,39$	$24,76 \pm 0,41$
Oxigênio dissolvido (mg/L)	$7,84 \pm 0,97$	$5,01 \pm 1,97$	$2,2 \pm 1,13$	$4,88 \pm 0,69$
Condutividade (mS/cm)	$375 \pm 3,53$	$356 \pm 2,88$	$351,8 \pm 1,30$	$128,22 \pm 0,45$
NH_3 (µg/L)	$47,73 \pm 3,43$	$76,93 \pm 9,12$	$54,32 \pm 10,5$	$46,25 \pm 8,60$
NO_2 (µg/L)	$1,21 \pm 0$	$100,99 \pm 1,38$	$3,12 \pm 0,70$	$6,72 \pm 4,11$
NO_3 (µg/L)	$11,50 \pm 6,84$	$370,43 \pm 38,1$	$37,57 \pm 26,2$	$393,64 \pm 86,5$

PSR ($\mu\text{g/L}$)	1,21 \pm 2.14	6,21 \pm 2.44	6,57 \pm 5.28	21,57 \pm 5.83
PT ($\mu\text{g/L}$)	25,75 \pm 5.67	43,25 \pm 3.43	64,08 \pm 9.46	87,83 \pm 11.9

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

A biomassa algal variou entre os reservatórios, sendo Cyanobacteria o grupo dominante em dois reservatórios (Cachoeira II e Jazigo), seguido das Chlorophyceae e Euglenophyceae. No reservatório Jazigo, Cyanobacteria (71%) foi dominante dominância sobre os demais grupos: Bacillariophyceae (13%) e Zygnematophyceae (9%). Cachoeira II foi o segundo reservatório com o grupo de Cyanobacteria (57%) sendo dominante na comunidade, seguido de Chlorophyceae (34%) e Dinophyceae (4%). Nos demais reservatórios estudados, outros grupos fitoplanctônicos foram dominantes. Em Serrinha II, é observado Chlorophyceae (59%) apresentando um percentual maior que Cyanobacteria (32%) e seguido de Zygnematophyceae (6%). Em Barra do Juá, Euglenophyceae (40%) representa o grupo com maior dominância, seguido de Dinophyceae (31%) e Bacillariophyceae (10%) (Figura 3).

Figura 3 – Biomassa relativa da comunidade fitoplanctônica nos reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil.



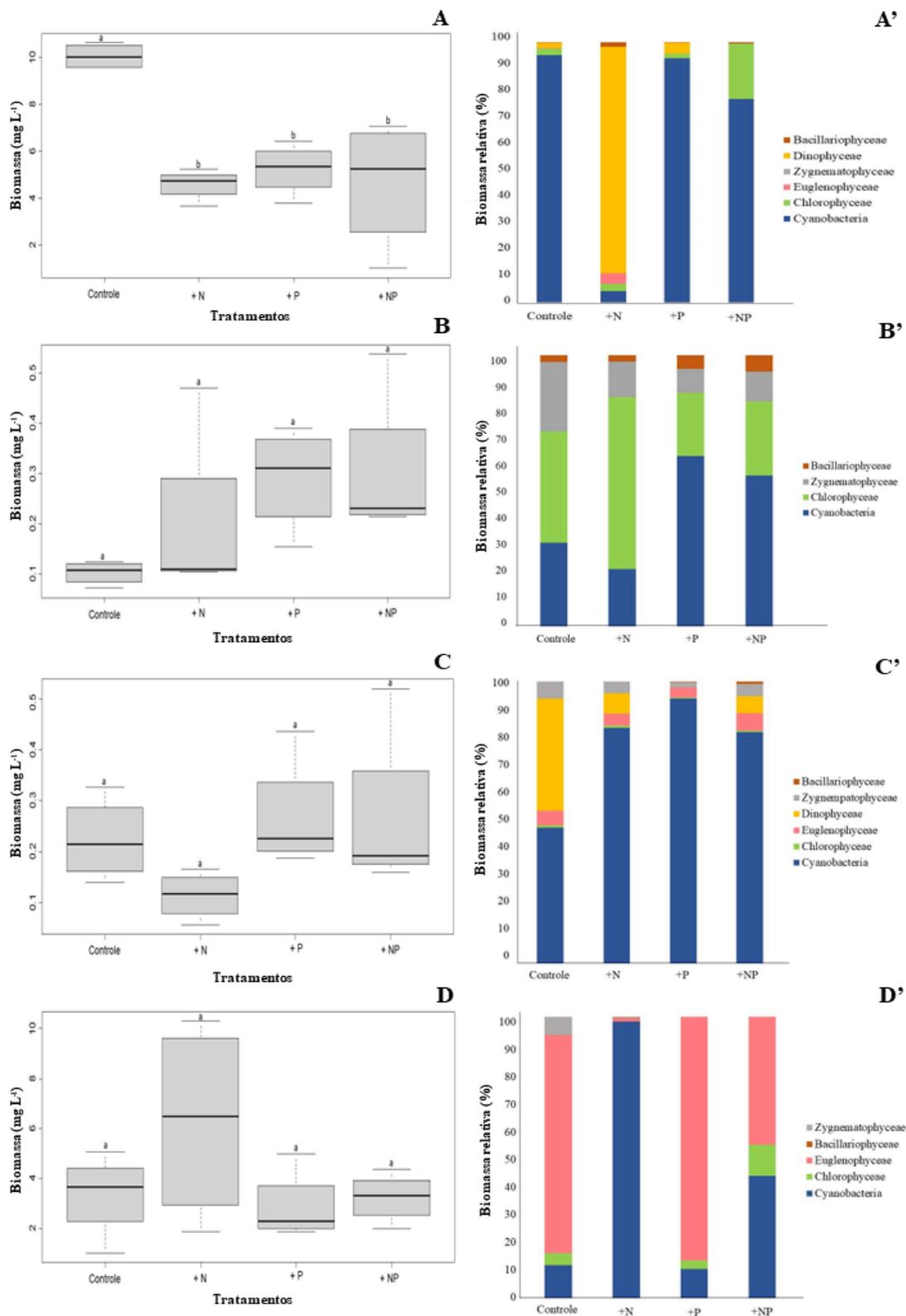
Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

5.2 Bioensaios

Os resultados referentes ao conjunto de dados experimentais indicam que as condições nutricionais simuladas nos bioensaios proporcionaram uma redução na biomassa da comunidade após a adição dos nutrientes no reservatório Cachoeira II. Diferenças significativas foram encontradas entre o controle e os demais tratamentos ($p < 0,05$) para este reservatório. No controle, Cyanobacteria é o grupo dominante com a espécie *Microcystis aeruginosa* sendo dominante, no entanto, ao adicionar N, esse grupo reduz sua biomassa e Dinophyceae passa a dominar, tendo como principal espécie *Ceratium furcoides*. Com a adição de P, Cyanobacteria volta a ser dominante com *Microcystis* sp. Com a adição de NP, Cyanobacteria exibe uma mínima redução em sua biomassa e Chlorophyceae mostra o seu maior crescimento dentre os quatro tratamentos com *Chlorella vulgaris* sendo dominante dentro deste grupo, contudo, Cyanobacteria continua sendo o grupo com maior dominância. Nos demais ecossistemas estudados, a adição de nutrientes não influenciou no aumento da biomassa total: Jazigo ($F=2,270$; $p > 0,05$), Serrinha II ($F=1,476$; $p > 0,05$) e em Barra do Juá ($p > 0,05$) (Figura 4; Tabela 2). Em Serrinha II, Cyanobacteria com *Raphidiopsis raciborskii*, Chlorophyceae com *Monoraphidium contortum* e Zygnematophyceae com *Closterium acutum* são os principais grupos e espécies presentes com biomassa semelhante, entretanto, com a adição de N, Chlorophyceae torna-se dominante sobre os demais. Ao adicionar P, Cyanobacteria se sobressai e Chlorophyceae reduz sua biomassa. Com a adição de NP, Chlorophyceae apresenta aumento em sua biomassa quando comparada ao tratamento +P, contudo, Cyanobacteria continua sendo o grupo dominante. Em Jazigo, no controle, Cyanobacteria com *Planktothrix agardhii* e Dinophyceae com *Peridinium* sp. são os principais representantes e apresentam valores próximos de biomassa, enquanto ao adicionar N, Dinophyceae reduz sua biomassa e Cyanobacteria aumenta. Com a adição de P, Cyanobacteria aumenta ainda mais a sua biomassa e continua sendo o grupo dominante no tratamento +NP. Em Barra do Juá, Euglenophyceae com *Trachelomonas volvocina* é dominante no tratamento controle, no entanto, com a adição de N, Cyanobacteria, tendo como dominante a espécie *Epigloeosphaera brasílica* aumenta a sua biomassa e torna-se o principal grupo observado no ambiente. Com a adição de P, Cyanobacteria tem sua biomassa reduzida e Euglenophyceae retorna à sua dominância. Ao adicionar NP, Cyanobacteria e Euglenophyceae apresentam valores próximos de biomassa.

Figura 4 – Biomassa da comunidade fitoplanctônica sob diferentes condições de enriquecimento de nutrientes e sua contribuição por grupo taxonômico em reservatórios da

bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. Onde: A e A' – Cachoeira II; B e B' – Serrinha II; C e C' – Jazigo; D e D' – Barra do Juá.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Tabela 2 – Resultados da ANOVA de medidas repetidas e teste de Friedman para os reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil. - = não realizado

Reservatórios	df	F	p	Friedman chi-squared
Cachoeira II	3	–	<0,05	9,3
Serrinha II	3	1,476	>0,05	-
Jazigo	3	2,270	>0,05	-
Barra do Juá	3	–	>0,05	1,8

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Os resultados das análises de nutrientes apresentam ainda variações entre os reservatórios. No tratamento controle, NH_3 , NO_2 e NO_3 tiveram os seus menores valores médios observados em Cachoeira II: $1,02 \pm 0,43$, $1,43 \pm 0,28$ e $5,43 \pm 4,20$, respectivamente. Em contrapartida, seus maiores valores médios foram observados em Serrinha II: $158,64 \pm 2,83$, $103,41 \pm 1,83$ e $358,29$, respectivamente. PSR e PT também apresentaram seus menores valores médios em Cachoeira II (PSR de $1,57 \pm 1,64$ e PT de $11,44 \pm 0,96$), enquanto os maiores valores médios foram observados em Barra do Juá (PSR de $7,29 \pm 15,71$ e PT de $44,92 \pm 15,71$). No tratamento com adição de N, NH_3 teve seu menor valor médio observado em Jazigo ($27,61 \pm 1,45$) e seu maior valor médio em Serrinha II ($82,05 \pm 12,6$). NO_2 apresentou menor valor médio em Cachoeira II ($23,04 \pm 23,03$) e maior valor médio em Barra do Juá ($464,44 \pm 176,49$). NO_3 teve seu menor valor médio em Cachoeira II ($19252,57 \pm 11024,02$) e maior valor médio em Serrinha II ($25666,86 \pm 5168,24$). PSR apresentou menor valor médio em Jazigo ($4,79 \pm 1,37$) e maior em Cachoeira II ($5,86 \pm 6,7$). PT teve seu menor valor médio em Cachoeira II ($17,83 \pm 7,99$) e maior valor médio em Barra do Juá ($36,17 \pm 5,7$). No tratamento +P, NH_3 teve seu menor valor médio observado em Jazigo ($26,59 \pm 0,64$) e maior valor médio em Cachoeira II ($43,41 \pm 6,11$). NO_2 apresentou menor valor médio em Cachoeira II ($1,21 \pm 0$) e maior valor médio em Barra do Juá ($3,93 \pm 2,23$). NO_3 teve seu menor valor médio em Cachoeira II ($15,07 \pm 7,41$) e maior valor médio em Serrinha II ($34,36 \pm 25,48$). PSR e PT apresentaram menores valores médios em Cachoeira II e Serrinha II ($1109,07 \pm 19,91$ e $1775,33 \pm 211,91$, respectivamente), enquanto seus maiores valores médios foram observados em Barra do Juá (PSR de $1380,14 \pm 44,44$ e PT de $2158,67 \pm 104,03$). Com o tratamento +NP, NH_3 apresentou seu menor valor médio em Serrinha II ($101,82 \pm 92,53$) e maior valor médio em Jazigo ($539,32 \pm 192,04$). NO_2 e NO_3 tiveram seus menores valores médios em Barra do Juá ($344,59 \pm 259,96$ e $18406,50 \pm 12286,43$, respectivamente), enquanto NO_2 teve maior valor

médio em Serrinha II ($827,68 \pm 49,36$) e NO_3 em Jazigo ($23331,14 \pm 3208,27$). PSR e PT apresentaram maiores valores médios em Barra do Juá (PSR de $1207,64 \pm 170,72$ e PT de $2303,25 \pm 682,08$), enquanto PSR teve menor valor médio em Cachoeira II ($1045,86 \pm 62,68$) e PT em Jazigo ($1767,42 \pm 106,52$). (Tabela 3.)

Tabela 3 – Resultados das análises de nutrientes dos bioensaios (média e desvio padrão) dos reservatórios Cachoeira II, Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá, bacia hidrográfica do rio Pajeú, Nordeste do Brasil.

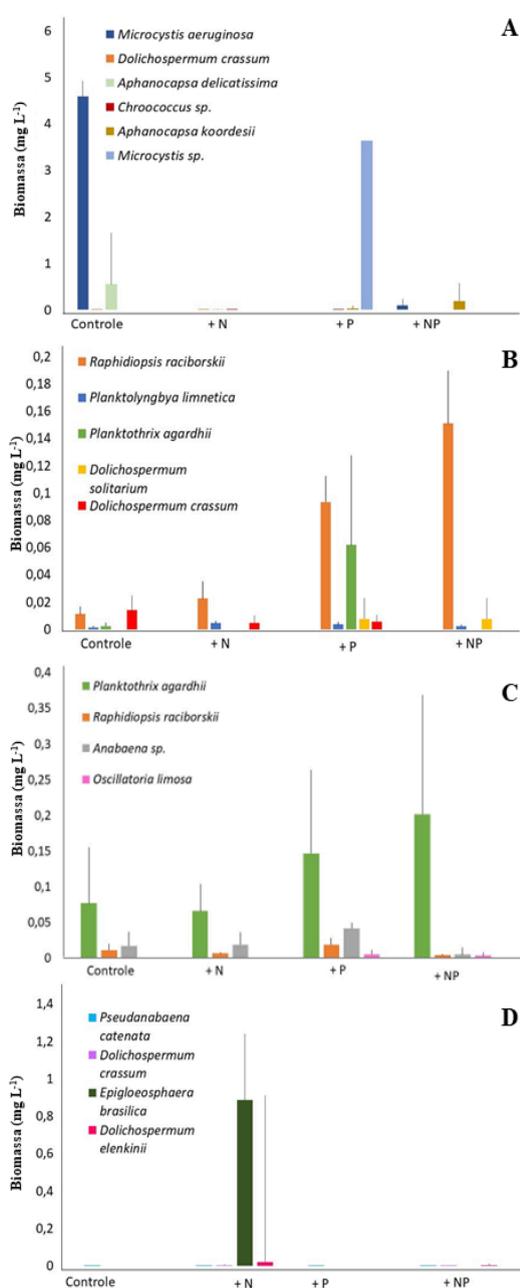
Variáveis	Cachoeira II				Serrinha II				Jazigo				Barra do Juá			
	C	+N	+P	+NP	C	+N	+P	+NP	C	+N	+P	+NP	C	+N	+P	+NP
NH_3 ($\mu\text{g/L}$)	1,02 \pm 0,43	41,14 \pm 2,38	43,41 \pm 6,11	519,43 \pm 541,55	158,6 \pm 4	82,05 \pm 12,6	27,16 \pm 3,84	101,82 \pm 92,53	2,50 \pm 0,98	27,61 \pm 1,45	26,59 \pm 0,64	539,32 \pm 192,04	3,75 \pm 2,81	29,77 \pm 2,13	29,89 \pm 2,47	419,55 \pm 459,7
NO_2 ($\mu\text{g/L}$)	1,43 \pm 0,28	23,04 \pm 23,03	1,21 \pm 0	626,94 \pm 152,29	103,4 \pm 1	104,37 \pm 3,29	2,09 \pm 0,58	827,68 \pm 49,36	2,38 \pm 0,63	39,44 \pm 30,26	2,82 \pm 0,51	412,24 \pm 752,58	3,19 \pm 1,81	464,44 \pm 176,49	3,93 \pm 2,23	344,59 \pm 259,96
NO_3 ($\mu\text{g/L}$)	5,43 \pm 4,20	1925 \pm 2,57	15,07 \pm 7,41	21738,2 \pm 9	358,2 \pm 9	25666,8 \pm 6	34,36 \pm 6	23052,5 \pm 7	23,2 \pm 9	22002,5 \pm 7	21,14 \pm 4	23331,1 \pm 3208,27	21,86 \pm 10,2	23124 \pm 2619,5	24,36 \pm 10,11	18406,5 \pm 12286,4
PSR ($\mu\text{g/L}$)	1,57 \pm 1,64	5,86 \pm 6,7	1109,0 \pm 7	1045,86 \pm 62,68	5,14 \pm 2,73	5,50 \pm 4,1	1333,3 \pm 6	1197,64 \pm 14,06	4,43 \pm 2,02	4,79 \pm 1,37	1143,7 \pm 1	1094,43 \pm 35,28	7,29 \pm 15,71	5,50 \pm 1,37	1380,1 \pm 4	1207,64 \pm 170,72
PT ($\mu\text{g/L}$)	11,4 \pm 0,96	17,83 \pm 7,99	1822,8 \pm 3	1859,50 \pm 40,7	28,67 \pm 1,36	33,25 \pm 8,31	1775,3 \pm 3	1774,08 \pm 53,07	25,7 \pm 12,1	29,08 \pm 6,44	1869,5 \pm 0	1767,42 \pm 106,52	44,92 \pm 15,71	36,17 \pm 5,7	2158,6 \pm 7	2303,25 \pm 682,08

Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

5.3 Resposta espécie-específica das cianobactérias

A adição de N e P não influenciou significativamente no aumento da biomassa total na maioria dos ambientes estudados, contudo, foi verificado que a resposta das assembleias de cianobactérias a esse aporte de nutrientes é espécie-específica (Figura 5).

Figura 5 – Biomassa das espécies de cianobactérias a partir dos experimentos de enriquecimento de nutrientes. Onde: A – Cachoeira II; B – Serrinha II; C – Jazigo; D – Barra do Juá.



Fonte: Elaborado pela autora, 2023.

Em Serrinha II, *R. raciborskii* que já estava presente no controle, aumenta a sua biomassa e mantém a dominância no ambiente com a adição de P. Resultado semelhante é observado em Jazigo, onde, embora *Anabaena* sp. também apresente aumento em sua biomassa com +P, *P. agardhii* continua mantendo a dominância com o aumento de sua biomassa. Ainda em Serrinha II e em Jazigo, a adição de N não influenciou no aumento da biomassa das espécies, incluindo aquelas dominantes nos ambientes (*R. raciborskii* e *P. agardhii*, respectivamente), sendo esse valor de biomassa similar ao observado no tratamento controle. Em Cachoeira II, *Microcystis* sp. apresentou redução em sua biomassa quando comparado ao controle, sob a condição de enriquecimento de N e aumento de biomassa no tratamento +P. Em contrapartida, no reservatório Barra do Juá, a adição de N influenciou no aumento da biomassa de *Epigloeosphaera brasílica*, representando a maior biomassa dentre os quatro tratamentos. Quando considerados os tratamentos com adição de nitrogênio e fósforo combinados em Serrinha II, *P. agardhii* apresenta redução em sua biomassa quando comparada ao tratamento +P e apenas *R. raciborskii* continua a crescer e ser dominante no reservatório. O mesmo padrão é observado em Jazigo, ambiente onde *P. agardhii* é dominante. Neste reservatório, *R. raciborskii* reduz seu crescimento e *P. agardhii* permanece apresentando dominância, sendo este resultado, um potencial indicativo de competição entre as espécies.

6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir dos experimentos realizados simulando um cenário de enriquecimento nutricional, não apresentaram diferenças significativas no aumento da biomassa algal total para a maior parte dos reservatórios testados (Serrinha II, Jazigo e Barra do Juá). Contudo, apesar da ausência de diferenças significativas, as respostas aos tratamentos empregados diferem a partir da análise espécie-específica. Algumas espécies do fitoplâncton, como *R. raciborskii*, possuem um mecanismo chamado de “absorção de luxo”, que consiste na capacidade de absorver fósforo além das suas necessidades celulares e armazená-lo, como grânulos de polifosfato no citoplasma, logo, espécies com tal capacidade utilizam o estoque desse nutriente quando as condições ambientais passam a apresentar déficit de fósforo (Gomez-Garcia et al., 2013). Esse fato corrobora com os resultados do estudo, uma vez que *R. raciborskii* aumentou a sua biomassa sob a condição de enriquecimento de P e de NP combinados.

Quando a oferta deste nutriente é abundante no meio, frequentemente as espécies de cianobactérias aumentam a biomassa da assembleia como uma resposta ao seu potencial biótico (Shi et al., 2022), como observado nos tratamentos contendo adição apenas de P e NP combinados. Tais resultados contribuem com a validação da primeira hipótese do presente trabalho, que consistiu na resposta das cianobactérias ao aumento no aporte desses nutrientes ser espécie-específica, uma vez que é possível identificar diferenças nas respostas das diferentes espécies identificadas nos ambientes aos nutrientes.

A adição de apenas P aumentou a biomassa de *R. raciborskii* e *P. agardhii*, espécies potencialmente produtoras de saxitoxina, microcistinas e cilindrospermopsina (Kurmayer; Deng; Entfellner, 2016; Ramos et al., 2021; Tan et al., 2021). Entretanto, no presente estudo, o enriquecimento em consórcio dos nutrientes (+NP) foi responsável pelo máximo crescimento apenas de *R. raciborskii* e *P. agardhii*, resultado que invalida a segunda hipótese, uma vez que, *Microcystis* sp. apresenta esse resultado no tratamento contendo adição apenas de P e a segunda hipótese do trabalho previa que a adição de N e P combinados apresentaria o melhor crescimento das cianobactérias formadoras de florações.

Em Cachoeira II, a adição de nitrogênio desencadeou a redução da biomassa de cianobactérias e favoreceu a dominância do grupo Dinophyceae, enquanto em Serrinha II, o grupo Chlorophyceae teve aumento em sua biomassa quando comparado ao controle. Em Jazigo, o nitrogênio isolado aumentou a biomassa das cianobactérias, assim como no ambiente eutrófico. Estes resultados indicam que apesar de espécies diazotróficas demonstrarem capacidade de fixação desse elemento em sua estrutura celular, esses

organismos podem ter uma necessidade constante de N, de modo que em condições limitantes, a fotossíntese é afetada provocando declínios nos reservatórios de Rubisco (Jiang; Nakano, 2022).

O fósforo é um outro importante macronutriente para o fitoplâncton, uma vez que está diretamente relacionado com a síntese de moléculas biológicas essenciais à vida, como ácidos nucleicos e ATP (CHU et al., 2019). Algumas espécies, além de apresentar flexibilidade estratégica ao fósforo ambiental, como *R. raciborskii*, também possui uma alta capacidade de armazenamento de excesso deste nutriente após um pulso de saturação e uma capacidade de absorção específica de fósforo, fatores que contribuem para a dominância dessa espécie oportunista (Isvánovics et al., 2000; Bai et al., 2014; Burford et al., 2016; Shi et al., 2022). A maior presença de *R. raciborskii* em relação às demais espécies, como *P. agardhii*, é então resultado de suas relações competitivas associadas com suas estratégias de crescimento (Reynolds, 1984).

Ao adicionar N e P combinado, *R. raciborskii* teve a maior taxa máxima de biomassa representada entre as espécies identificadas. Apesar de *R. raciborskii* possuir a capacidade de fixar nitrogênio atmosférico através de heterocistos, esse processo requer do organismo altas demandas energéticas, logo, maiores concentrações de nitrogênio na água aumentam a disponibilidade biológica e a utilização deste nutriente pela espécie (Barros et al., 2019; Jia et al., 2021). Quando o nitrato, fonte de nitrogênio utilizada neste experimento, é alta no ambiente, *R. raciborskii* produz menos heterocistos, o que sugere a preferência dessa espécie por formas de nitrogênio dissolvido quando disponíveis (Vico et al., 2016).

Lu et al. (2022), relatam que essa espécie apresenta genes e grânulos associados à cianoficina em condições simuladas de nitrogênio flutuante. Esse N armazenado intracelularmente em grânulos de cianoficina é utilizado pelas cianobactérias quando o nitrogênio inorgânico dissolvido (DIN) está esgotado na coluna de água, sendo mobilizado e degradado pela cianoficinase (Hampel et al., 2019).

Microcystis sp. aumentou sua biomassa quando foi adicionado fósforo ao tratamento, mostrando a importância deste nutriente para o seu crescimento. Em condições de limitação desse nutriente, processos celulares como metabolismo energético e síntese celular não funcionarão de maneira eficiente (Song et al., 2023). Tais resultados reforçam ainda a necessidade de ampliar as investigações acerca das florações ao longo do gradiente trófico, evitando focar apenas nos ambientes eutróficos, uma vez que em razão de suas adaptações fisiológicas, cianobactérias são capazes de prosperar sob diversas condições ambientais, incluindo aquelas com baixo teor nutricional (Reinl et al., 2019), como observado em

Cachoeira II, ambiente classificado como oligotrófico. Espécies do gênero *Microcystis*, por exemplo, podem se beneficiar de uma variedade de fontes de fósforo, utilizando mecanismos distintos para diferentes fontes e exibindo assim um poder competitivo dentro da comunidade fitoplanctônica (Xie et al., 2021). A formação de colônias em *Microcystis*, forma observada no ambiente em que o gênero foi identificado, fornece vantagens como: resistência ao pastoreio pelo zooplâncton, proteção contra estressores químicos e adaptação a diferentes intensidades de luz, influenciando assim na possibilidade de dominância sobre outras espécies (Wang et al., 2022).

As diferenças no tamanho celular e estratégias de utilização dos nutrientes também implicam no domínio de uma sobre outras em cenários com diferentes níveis nutricionais (Tan et al., 2019). A presença de vesículas de gás é outro mecanismo presente em *Microcystis* e fornecem fluabilidade, permitindo o movimento para cima e para baixo na coluna d'água, o que aumenta o acesso a nutrientes e outros fatores de crescimento, proporcionando o crescimento do nicho de *Microcystis* (Huang et al., 2018). A adição combinada de nitrogênio e fósforo reduziu a biomassa total da espécie. Esse resultado pode ter ocorrido em razão de um desequilíbrio na relação entre os dois nutrientes, que provoca alteração na fisiologia celular além da alocação de recursos para moléculas de reservas como os polissacarídeos ao invés do crescimento celular (Ma et al., 2014; Arias et al., 2021).

Outra espécie que apresentou crescimento em condições com adição de P foi *P. agardhii* e isso pode estar relacionado com a sua capacidade de armazenar fósforo excedente no meio como polifosfato, o que permite um aumento no número de células de 3 a 4 vezes (Reynolds, 2006). As principais atividades antrópicas que provocam aumento nas concentrações de fósforo em reservatórios são a agricultura, aquicultura e lançamentos de esgoto (Rocha; Lima Neto, 2021). O gênero *Planktothrix* está distribuído em lagos e reservatórios de todo mundo e o seu sucesso em ambientes com diferentes características está relacionado com a diversidade de genótipos, o que permite sua adaptação a grandes espectros ambientais, (Willame et al., 2005; Kurmayer et al., 2011; Tiam et al., 2022). As formas de vida variam de acordo com os habitats e a diversidade de bases genéticas de *Planktothrix* permitem que estes organismos sobrevivam e prosperem em vários nichos (Zhang et al., 2020).

P. agardhii apresenta vantagens competitivas, como potencial de produção de microcistina, capacidade de armazenamento de fósforo excedente como polifosfato, armazenamento de nitrogênio como cianoficina e a presença de pigmentos acessórios, as ficobilinas, que conferem uma ótima eficiência para captação de luz e aumentam sua

capacidade fotossintética (Reynolds, 2006; Van De Waal et al., 2010; Kurmayer; Deng; Entfellner, 2016; Dondajewska et al., 2019).

Além de ter o crescimento favorecido quando espécies que crescem na superfície reduzem a sua biomassa, aumentando assim a disponibilidade luz, *Planktothrix* também consegue crescer em ambientes com irradiância limitada e ter acesso aos nutrientes (Su et al., 2015). As condições encontradas durante este estudo foram favoráveis ao crescimento de *P. agardhii*. Contudo, vale ressaltar que a dinâmica das assembleias de cianobactérias pode sofrer modificações sazonais a depender de fatores como variação na temperatura, intensidade de luz e disponibilidade dos nutrientes, fósforo e nitrogênio (Tanvir et al., 2021). Oberhaus et al. (2007) observaram, por exemplo, que em temperaturas mais quentes, *Planktothrix* teria o crescimento favorecido sobre *Anabaena*.

Assim como *R. raciborskii*, *P. agardhii* também teve seu crescimento máximo representado em condições com adição de N e P combinados. O presente estudo mostra ainda a relação de competição entre *P. agardhii* e *R. raciborskii*, onde cada uma mantém sua dominância nos ambientes em que já são dominantes em razão das condições físicas e químicas estabelecidas (Bittencourt-Oliveira et al., 2012). A forma de nitrogênio disponível no meio também influencia no crescimento de *P. agardhii*, que tem preferência por condições ricas em nitrato (Zhang et al., 2021). Em ecossistemas aquáticos, o nitrato está disponível de maneira natural através do ciclo do nitrogênio, no entanto, as altas concentrações de nitrato são provenientes de atividades antrópicas, como o uso excessivo de fertilizantes e a descarga de fossas sépticas (PAstén-Zapata, et al., 2014; Czekaj et al., 2016). O lançamento desse nutriente influencia na ocorrência de florações de cianobactérias, sobretudo, florações de gêneros com preferência por esta forma de nitrogênio. Li et al. (2020) exploram ainda que a presença de espécies diazotróficas podem também contribuir com o suprimento de nitrogênio no ambiente. Os ambientes analisados apresentam ainda valores de biomassa reduzidos, o que pode estar relacionado ao pH ácido observado nos reservatórios. A diminuição no valor dessa variável tende a estabelecer uma condição de estresse para o fitoplâncton ao provocar efeitos na integridade da membrana, alterações nas vias metabólicas e perdas extracelulares (Vilar; Molica, 2020).

Todavia, apesar das diversas vantagens competitivas identificadas nas cianobactérias, ambientes que apresentam baixa disponibilidade de luz proporcionam uma condição extrema até mesmo para estes organismos, conferindo então uma condição ideal para organismos mixotróficos (Costa et al., 2023), a exemplo do reservatório considerado eutrófico segundo o IET (Barra do Juá). Apesar da espécie *E. brasilica* apresentar maior crescimento no

tratamento com adição de N, não é observado presença significativa de outras espécies no controle, assim como em +P e +NP.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou importantes resultados acerca do padrão de crescimento de cianobactérias em reservatórios tropicais semiáridos. O conjunto de dados indica que a resposta das assembleias de cianobactérias ao aporte de nitrogênio e fósforo é espécie-específica. Apesar de não ter sido verificadas diferenças significativas em três reservatórios, a adição de fósforo representa uma tendência no crescimento de *R. raciborskii*, *P. agardhii* e *Microcystis* sp. Tais resultados são relevantes dentro do contexto em que ecossistemas alimentados por fontes ricas em fósforo (p. exe., fonte de poluição difusas de origem doméstica e/ou industrial), estão sujeitos a um maior risco de surgimento de florações, sendo necessário o controle nutricional dentro e fora desses reservatórios.

O risco de florações com quadro de dominância de tais espécies apresentam um alto potencial de produção de metabólitos secundários, como microcistina e saxitoxina, que apresentam efeitos tóxicos para organismos aquáticos e para a saúde humana. Ações devem ser consideradas, por parte dos órgãos gestores, no que se refere a elaboração de estratégias que mitiguem o enriquecimento e reduzam os riscos de florações. Estudos futuros também são encorajados a partir da perspectiva temporal, a fim de investigar se há variações e aumento de risco em função das alterações resultantes das mudanças hidrológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABELL, J. M.; ÖZKUNDAKCI, D.; HAMILTON, D. P. Nitrogen and Phosphorus Limitation of Phytoplankton Growth in New Zealand Lakes: Implications for Eutrophication Control. **Ecosystems**, v. 13, p. 966-977, 2010.
- AMORIM, C. A.; DANTAS, Ê. W.; MOURA, do N. A. Modeling cyanobacterial blooms in tropical reservoirs: The role of physicochemical variables and thropic interactions. **Science of The Total Environment**, v. 744, p. 140659, 2020.
- AMORIM, C. A.; MOURA, N. Ariadne. Ecological impacts of freshwater algal blooms on water quality, plankton biodiversity, structure, and ecosystem functioning. **Science of the Total Environment**, v. 758, p. 143605, 2021.
- APAC – Agência Pernambucana de Águas e Clima. **Bacia do Rio Pajeú**. Disponível em: <https://www.apac.pe.gov.br/169-bacias-hidrograficas-rio-pajeu/202-bacia-do-rio-pajeu>. Acesso em 20 jul. 2023.
- APHA. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater.
- ARAÚJO, J. C. et al. (2004). Water Scarcity Under Scenarios for Global Climate Change and Regional Development in Semiarid Northeastern Brazil. *Water International*, 29(2):209–220. <https://doi.org/10.1080/02508060408691770>
- ARIAS, D. M. et al. A review on cyanobacteria cultivation for carbohydrate-based biofuels: cultivation aspects, polysaccharides accumulation strategies, and biofuels production scenarios. **Science of The Total Environment**, v. 794, p. 148636, 2021.
- ASSIS, J. M. (2014). Mapeamento do uso e ocupação do solo no município de Belém de São Francisco-PE nos anos de 1985 e 2010. **Revista Brasileira de Geografia**, v. 7, n. 05, p. 858-869, 2014.
- BAI, F. et al. Dissolved organic phosphorus use by the invasive freshwater diazotroph cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Harmful Algae**, v. 39, p. 112-120, 2014.
- BARBOSA, J. E. de L. et al. Aquatic systems in semi-arid Brazil: limnology and management. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 24, p. 103-118, 2012.
- BARROS, M. U. G. Environmental factors associated with toxic cyanobacterial blooms across 20 drinking water reservoirs in a semi-arid region of Brazil. **Harmful Algae**, v. 86, p. 128-137, 2019.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. et al. Seasonal dynamics of cyanobacteria in a eutrophic reservoir (Arcoverde) in a semi-arid region of Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 72, p. 533-544, 2012.
- BONILLA, S. et al. Nutrients and not temperature are the key drivers for cyanobacterial biomass in the Americas. **Harmful Algae**, v. 121, p. 102367, 2023.

BURFORD, M. A. et al. Understanding the winning strategies used by the bloom-forming cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Harmful Algae**, v. 54, p. 44-53, 2016.

CARLSON, R. E. A trophic state index for lakes 1. **Limnology and oceanography**, v. 22, n. 2, p. 361-369, 1977.

CARPENTER, S. R. Phosphorus control is critical to mitigating eutrophication. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 32, p. 11039-11040, 2008.

CATHERINE, Q. et al. A review of current knowledge on toxic benthic freshwater cyanobacteria—ecology, toxin production and risk management. **Water research**, v. 47, n. 15, p. 5464-5479, 2013.

CODD, G. A.; MORRISON, L. F.; METCALF, J. S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. **Toxicology and applied pharmacology**, v. 203, n. 3, p. 264-272, 2005.

CHU, F. et al. Enhancing lipid production in microalgae *Chlorella* PY-ZU1 with phosphorus excess and nitrogen starvation under 15% CO₂ in a continuous two-step cultivation process. **Chemical Engineering Journal**, v. 375, p. 121912, 2019.

CORTEZ, F. et al. Effects of prolonged drought on water quality after drying of a semiarid tropical reservoir, Brazil. **Limnologia**, v. 93, p. 125959, 2022.

COSTA, M. R. A. et al. Phytoplankton functional responses induced by extreme hydrological events in a tropical reservoir. **Hydrobiologia**, p. 1-19, 2023.

CUNHA, G. K. G.; DA CUNHA, K. P. V. Effects of land use changes on the potential for soil to contribute phosphorus loads in watersheds. **Environmental Development**, v. 45, p. 100825, 2023.

CZEKAJ, J. et al. Identification of nitrate sources in groundwater and potential impact on drinking water reservoir (Goczałkowice reservoir, Poland). **Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C**, v. 94, p. 35-46, 2016.

DAI, R. et al. Evaluation of changes in *M. aeruginosa* growth and microcystin production under phosphorus starvation via transcriptomic surveys. **Science of The Total Environment**, p. 164848, 2023.

DE ARAÚJO, J. C.; MEDEIROS, P. H. A. Impact of dense reservoir networks on water resources in semiarid environments. **Australasian Journal of Water Resources**, v. 17, n. 1, p. 87-100, 2013.

DE MELLO, K. et al. Multiscale land use impacts on water quality: Assessment, planning, and future perspectives in Brazil. **Journal of Environmental Management**, v. 270, p. 110879, 2020.

DONDAJEWSKA, R. et al. Water quality and phytoplankton structure changes under the influence of effective microorganisms (EM) and barley straw—Lake restoration case study. **Science of the Total Environment**, v. 660, p. 1355-1366, 2019.

- DONG, C. et al. Physiological and transcriptomic analyses to determine the responses to phosphorus utilization in *Nostoc* sp. **Harmful algae**, v. 84, p. 10-18, 2019.
- ERRATT, K. J.; CREED, I. F.; TRICK, C. G. Harmonizing science and management options to reduce risks of cyanobacteria. **Harmful Algae**, v. 116, p. 102264, 2022.
- GIANI, A. et al. Comparing key drivers of cyanobacteria biomass in temperate and tropical systems. **Harmful Algae**, v. 97, p. 101859, 2020.
- GOMEZ-GARCIA, M. R. Role of Polyphosphate in Thermophilic *Synechococcus* sp. from Microbial Mats. **Journal of Bacteriology**, v. 195, n. 15, p. 3309-3319, 2013
- HAMPEL, J. J. et al. Ammonium recycling supports toxic Planktothrix blooms in Sandusky Bay, Lake Erie: Evidence from stable isotope and metatranscriptome data. **Harmful Algae**, v. 81, p. 42-52, 2019.
- HILLEBRAND, H. et al. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of Phycology**, v. 35, n. 2, p. 403-424, 1999.
- HO, M. et al. Light regulation of pigment and photosystem biosynthesis in cyanobacteria. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 37, p. 24-33, 2017.
- HOUSE, J. E.; HOUSE, K. A. Nitrogen. In: **Descriptive Inorganic Chemistry**. Academic Press, 2016. p.197-214.
- HUANG, Y. et al. Pressurized *Microcystis* can help to remove nitrate from eutrophic water. **Bioresource technology**, v. 248, p. 140-145, 2018.
- HUISMAN, J. et al. Cyanobacterial blooms. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 8, p. 471-483, 2018.
- HUO, S. et al. Stricter nutrient criteria are required to mitigate the impact of climate change on harmful cyanobacterial blooms. **Journal of Hydrology**, v. 569, p. 698-704, 2019.
- ISVÁNOVICS, V. et al. Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. **Freshwater biology**, v. 43, n. 2, p. 257-275, 2000.
- JIA, N. et al. Occurrence of *Raphidiopsis raciborskii* blooms in cool waters: Synergistic effects of nitrogen availability and ecotypes with adaptation to low temperature. **Environmental Pollution**, v. 270, p. 116070, 2021.
- JIANG, M.; NAKANO, S. The crucial influence of trophic status on the relative requirement of nitrogen to phosphorus for phytoplankton growth. **Water Research**, v. 222, p. 118868, 2022.
- JÜTTNER, F.; WATSON, S. B. Biochemical and ecological control of geosmin and 2-methylisoborneol in source waters. **Applied and environmental microbiology**, v. 73, n. 14, p. 4395-4406, 2007.

KÖPPEN, W. & GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha, Verlag Justus Perthes, Wall-map 150 x 200 cm. 1928.

KRUK, C. et al. Rapid freshwater discharge on the coastal ocean as a mean of long distance spreading of an unprecedented toxic cyanobacteria bloom. **Science of The Total Environment**, v. 754, p. 142362, 2021.

KUMAR, A.; BERA, S. Revisiting nitrogen utilization in algae: A review on the process of regulation and assimilation. **Bioresource Technology Reports**, v. 12, p. 100584, 2020.

KURMAYER, R. et al. Spatial divergence in the proportions of genes encoding toxic peptide synthesis among populations of the cyanobacterium *Planktothrix* in European lakes. **FEMS Microbiology Letters**, v. 317, n. 2, p. 127-137, 2011.

KURMAYER, R.; DENG, L.; ENTFELLNER, E. Role of toxic and bioactive secondary metabolites in colonization and bloom formation by filamentous cyanobacteria *Planktothrix*. **Harmful algae**, v. 54, p. 69-86, 2016.

LEE, T. A.; ROLLWAGEN-BOLLENS, G.; BOLLENS, S. M. The influence of water quality variables on cyanobacterial blooms and phytoplankton community composition in a shallow temperate lake. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, p. 1-19, 2015.

LEVINE, S. N.; SCHINDLER, D. W. Influence of nitrogen to phosphorus supply ratios and physicochemical conditions on cyanobacteria and phytoplankton species composition in the Experimental Lakes Area, Canada. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 56, n. 3, p. 451-466, 1999.

LI, H. et al. Microbial community successions and their dynamic functions during harmful cyanobacterial blooms in a freshwater lake. **Water research**, v. 185, p. 116292, 2020.

LI, H. et al. Nitrogen fixation contribution to nitrogen cycling during cyanobacterial blooms in Utah Lake. **Chemosphere**, v. 302, p. 134784, 2022.

LI, Y. et al. Eutrophication decrease compositional dissimilarity in freshwater plankton communities. **Science of The Total Environment**, v. 821, p. 153434, 2022.

LIU, X. Spatiotemporal dynamics of succession and growth limitation of phytoplankton for nutrients and light in a large shallow lake. **Water Research**, v. 194, p. 116910, 2021.

LORENZI, A. S. et al. Cyanotoxin contamination of semiarid drinking water supply reservoirs. **Environmental Earth Sciences**, v. 77, p. 1-8, 2018.

LOZA, V.; PERONA, E.; MATEO, P. Specific responses to nitrogen and phosphorus enrichment in cyanobacteria: Factors influencing changes in species dominance along eutrophic gradients. **Water Research**, v. 48, p. 622-631, 2014.

LU, Z. et al. Cyanophycin accumulated under nitrogen-fluctuating and high-nitrogen conditions facilitates the persistent dominance and blooms of *Raphidiopsis raciborskii* in tropical waters. **Water Research**, v. 214, p. 118215, 2022.

- LUCENA-SILVA, D. et al. Impacts of the Floc and Sink technique on the phytoplankton community: A morpho-functional approach in eutrophic reservoir water. **Journal of Environmental Management**, v. 308, p. 114626, 2022.
- LÜRLING, M. et al. Response of natural cyanobacteria and algae assemblages to a nutrient pulse and elevated temperature. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 1851, 2018.
- LÜRLING, M. et al. Coagulation and precipitation of cyanobacterial blooms. **Ecological Engineering**, v. 158, p. 106032, 2020.
- MA, J. et al. Environmental factors controlling colony formation in blooms of the cyanobacteria *Microcystis* spp. in Lake Taihu, China. **Harmful algae**, v. 31, p. 136-142, 2014.
- MABERLY, S. C. et al. Nutrient limitation of phytoplankton and periphyton growth in upland lakes. **Freshwater Biology**, v. 47, n. 11, p. 2136-2152, 2002.
- MAIER, R. M. Biogeochemical cycling. In: **Environmental microbiology**. Academic Press, 2015. p. 339-373.
- MALIK, J. K. et al. Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. **Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents**. Academic Press, p. 467-478, 2020.
- MAREDOVÁ, N.; ALTMAN, J.; KAŠTOVSKÝ, J. The effects of macrophytes on the growth of bloom-forming cyanobacteria: Systematic review and experiment. **Science of the Total Environment**, v. 792, p. 148413, 2021.
- MARKOU, G.; VANDAMME, D.; MUYLAERT, K. Microalgal and cyanobacterial cultivation: The supply of nutrients. **Water research**, v. 65, p. 186-202, 2014.
- MARTENS-HABBENA, W.; STAHL, D. A. Nitrogen metabolism and kinetics of ammonia-oxidizing archaea. **Methods in enzymology**, v. 496, p. 465-487, 2011.
- MCGOWAN, S. Harmful algal blooms. **Biological and Environmental Hazards, Risks, and Disasters**, p. 9-53, 2023.
- MENDES, C. F. et al. The reduction in water volume favors filamentous cyanobacteria and heterocyst production in semiarid tropical reservoirs without the influence of the N: P ratio. **Science of The Total Environment**, v. 816, p. 151584, 2022.
- MEREL, S. et al. State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins. **Environment international**, v. 59, p. 303-327, 2013.
- MISHRA, P. et al. Algal bloom, hypoxia, and mass fish kill events in the backwaters of puducherry, southeast coast of India. **Oceanologia**, v. 64, n. 2, p. 396-403, 2022.
- MIZAEL, J. de O. S. S. et al. Ecosystem history of a tropical reservoir revealed by metals, nutrients and photosynthetic pigments preserved in sediments. **Catena**, v. 184, p. 104242, 2020.

MUNOZ, M. et al. Overview of toxic cyanobacteria and cyanotoxins in Ibero-American freshwaters: Challenges for risk management and opportunities for removal by advanced technologies. **Science of the Total Environment**, v. 761, p. 143197, 2021.

MUTOTI, M. I. et al. Cyanotoxins in groundwater; occurrence, potential sources, health impacts and knowledge gap for public health. **Toxicon**, p. 107077, 2023.

NASELLI-FLORES, L.; PADISÁK, J.; ALBAY, M. Shape and size in phytoplankton ecology: do they matter? **Hydrobiologia**, v. 578, p. 157-161, 2007.

OBERHAUS, L. et al. Comparative effects of the quality and quantity of light and temperature on the growth of *Planktothrix agardhii* and *P. rubescens* 1. **Journal of Phycology**, v. 43, n. 6, p. 1191-1199, 2007.

OSBURN, F. S.; WAGNER, N. D.; SCOTT, J. Thad. Biological stoichiometry and growth dynamics of a diazotrophic cyanobacteria in nitrogen sufficient and deficient conditions. **Harmful Algae**, v. 103, p. 102011, 2021.

PAERL, H. W. et al. It takes two to tango: when and where dual nutrient (N & P) reductions are needed to protect lakes and downstream ecosystems. **Environmental science & technology**, v. 50, n. 20, p. 10805-10813, 2016.

PAERL, H. W.; BARNARD, M. A. Mitigating the global expansion of harmful cyanobacterial blooms: Moving targets in a human-and climatically-altered world. **Harmful Algae**, v. 96, p. 101845, 2020.

PAERL, H. W. et al. Mitigating eutrophication and toxic cyanobacterial blooms in large lakes: The evolution of a dual nutrient (N and P) reduction paradigm. **Hydrobiologia**, v. 847, p. 4359-4375, 2020.

PASTÉN-ZAPATA, Ernesto et al. Assessment of sources and fate of nitrate in shallow groundwater of an agricultural area by using a multi-tracer approach. **Science of the Total Environment**, v. 470, p. 855-864, 2014.

PODDUTURI, R. et al. Monitoring of saxitoxin production in lakes in Denmark by molecular, chromatographic and microscopic approaches. **Harmful Algae**, v. 101, p. 101966, 2021.

PRIHANTINI, N. B. et al. The effect of temperature variation on the growth of *Leptolyngbya* (cyanobacteria) HS-16 and HS-36 to biomass weight in BG-11 medium. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 19, p. 101105, 2019.

RAMOS, T. K. et al. Saxitoxins from the freshwater cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* can contaminate marine mussels. **Harmful Algae**, v. 103, p. 102004, 2021.

REINL, K. L. et al. Cyanobacterial blooms in oligotrophic lakes: Shifting the high-nutrient paradigm. **Freshwater Biology**, v. 66, n. 9, p. 1846-1859, 2021.

REYNOLDS, C. S. **Ecology of Phytoplankton**. Cambridge University Press, 552 p, 2006.

REYNOLDS, C. S. Phytoplankton periodicity: the interactions of form, function and environmental variability. **Freshwater biology**, v. 14, n. 2, p. 111-142, 1984.

REYNOLDS, C. S. **Ecology of Phytoplankton**. Cambridge University Press, 552 p, 2006.

ROCHA, M. de J. D.; NETO, I. E. L. Modeling flow-related phosphorus inputs to tropical semiarid reservoirs. **Journal of Environmental Management**, v. 295, p. 113123, 2021.

ROSS, J. **Práticas de Ecologia**. Editorial Omega, Barcelona, 1979.

SANT'ANNA, C. L. et al. Planktic Cyanobacteria from São Paulo State, Brazil: Chroococcales. **Brazilian Journal of Botany**, v. 27, p. 213-227, 2004.

SEVERIANO, J. dos S. et al. The role of bioturbation triggered by benthic macroinvertebrates in the effectiveness of the Floc & Lock technique in mitigating eutrophication. **Water Research**, v. 246, p. 120691, 2023.

SHAN, K. et al. Analysis of environmental drivers influencing interspecific variations and associations among bloom-forming cyanobacteria in large, shallow eutrophic lakes. **Harmful algae**, v. 84, p. 84-94, 2019.

SHI, L. et al. Update on the adverse effects of microcystins on the liver. **Environmental Research**, v. 195, p. 110890, 2021.

SHI, J. et al. Transcriptomic responses to phosphorus in an invasive cyanobacterium, *Raphidiopsis raciborskii*: Implications for nutrient management. **Harmful Algae**, v. 111, p. 102150, 2022.

SINGH, R. P. et al. Cyanobacteria and salinity stress tolerance. In: **Cyanobacterial lifestyle and its applications in biotechnology**. Academic Press, 2022. p. 253-280.

SIVARAJAH, B. et al. Eutrophication and climatic changes lead to unprecedented cyanobacterial blooms in a Canadian sub-Arctic landscape. **Harmful Algae**, v. 105, p. 102036, 2021.

ŚLIWIŃSKA-WILCZEWSKA, S. et al. Environmental drivers of bloom-forming cyanobacteria in the Baltic Sea: Effects of salinity, temperature, and irradiance. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 219, p. 139-150, 2019.

SMITH, V. H. Nitrogen, phosphorus, and nitrogen fixation in lacustrine and estuarine ecosystems. **Limnology and Oceanography**, v. 35, n. 8, p. 1852-1859, 1990.

SONG, Y. et al. *Microcystis* spp. and phosphorus in aquatic environments: A comprehensive review on their physiological and ecological interactions. **Science of The Total Environment**, v. 878, p. 163136, 2023.

SOUZA, N. R.; METCALF, J. S. Cyanobacterial toxins and their effects on human and animal health. In: **Handbook of Algal Science, Technology and Medicine**. Academic Press, 2020. p. 561-574.

- STEIN, L. Y.; KLOTZ, M. G. The nitrogen cycle. **Current Biology**, v. 26, n. 3, p. R94-R98, 2016.
- STROOM, J. M.; KARDINAAL, W. E. A. How to combat cyanobacterial blooms: strategy toward preventive lake restoration and reactive control measures. **Aquatic Ecology**, v. 50, n. 3, p. 541-576, 2016.
- SU, M. et al. MIB-producing cyanobacteria (*Planktothrix* sp.) in a drinking water reservoir: Distribution and odor producing potential. **water research**, v. 68, p. 444-453, 2015.
- SU, X. et al. The influence of nutrients limitation on phytoplankton growth and microcystins production in Spring Lake, USA. **Chemosphere**, v. 234, p. 34-42, 2019.
- SUN, Y. et al. Iron availability is a key factor for freshwater cyanobacterial survival against saline stress. **Environmental Research**, v. 194, p. 110592, 2021.
- TAN, X. et al. Effects of nitrogen on interspecific competition between two cell-size cyanobacteria: *Microcystis aeruginosa* and *Synechococcus* sp. **Harmful Algae**, v. 89, p. 101661, 2019.
- TAN, F. et al. Precision early detection of invasive and toxic cyanobacteria: a case study of *Raphidiopsis raciborskii*. **Harmful Algae**, v. 110, p. 102125, 2021.
- TANVIR, R. U. et al. Cyanobacterial community succession and associated cyanotoxin production in hypereutrophic and eutrophic freshwaters. **Environmental Pollution**, v. 290, p. 118056, 2021.
- TIAM, S. K. et al. The success of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix*: Genotypes variability supports variable responses to light and temperature stress. **Harmful Algae**, v. 117, p. 102285, 2022.
- TILMAN, D.; KILHAM, S. S.; KILHAM, P. Phytoplankton community ecology: The role of limiting nutrients. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 13, p. 349-372, 1982.
- TOLEDO, A.; et al. A aplicação de modelos simplificados para a avaliação do processo de eutrofização em lagos e reservatórios tropicais. **Anais do 12 Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária e Ambiental**, p. 1-34, 1983.
- TUNDISI, J. G. Reservoirs: new challenges for ecosystem studies and environmental management. **Water Security**, v. 4, p. 1-7, 2018.
- UTERMÖHL, H. Zur vervollkommnung der quantitativen phytoplankton-methodik: Mit 1 Tabelle und 15 abbildungen im Text und auf 1 Tafel. **Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie: Mitteilungen**, v. 9, n. 1, p. 1-38, 1958.
- VAN DE WAAL, D. B. et al. Pulsed nitrogen supply induces dynamic changes in the amino acid composition and microcystin production of the harmful cyanobacterium *Planktothrix agardhii*. **FEMS microbiology ecology**, v. 74, n. 2, p. 430-438, 2010.

- VICO, P. et al. Influence of nitrogen availability on the expression of genes involved in the biosynthesis of saxitoxin and analogs in *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Harmful Algae**, v. 56, p. 37-43, 2016.
- VILAR, M. C. P.; MOLICA, R. J. R. Changes in pH and dissolved inorganic carbon in water affect the growth, saxitoxins production and toxicity of the cyanobacterium *Raphidiopsis raciborskii* ITEP-A1. **Harmful Algae**, v. 97, p. 101870, 2020.
- WALTER, J. M. et al. Occurrence of harmful cyanobacteria in drinking water from a severely drought-impacted semi-arid region. **Frontiers in Microbiology**, p. 176, 2018.
- WAN, L. et al. Phosphorus strategy in bloom-forming cyanobacteria (*Dolichospermum* and *Microcystis*) and its role in their succession. **Harmful Algae**, v. 84, p. 46-55, 2019.
- WANG, Z. et al. Cyanobacterial dominance and succession: Factors, mechanisms, predictions, and managements. **Journal of Environmental Management**, v. 297, p. 113281, 2021.
- WANG, Z. et al. Adverse role of colonial morphology and favorable function of microcystins for *Microcystis* to compete with *Scenedesmus*. **Harmful Algae**, v. 117, p. 102293, 2022.
- WETZEL, R. G. et al. Composition and biomass of phytoplankton. **Limnological analyses**, p. 147-174, 2000.
- WIEGAND, M. C. et al. Trophic state changes of semi-arid reservoirs as a function of the hydro-climatic variability. **Journal of arid environments**, v. 184, p. 104321, 2021.
- WILLAME, R. et al. Distribution of hepatotoxic cyanobacterial blooms in Belgium and Luxembourg. **Hydrobiologia**, v. 551, p. 99-117, 2005.
- WILLMER, J. N. G.; PÜETTKER, T.; PREVEDELLO, J. A. Global impacts of edge effects on species richness. **Biological Conservation**, v. 272, p. 109654, 2022.
- WORSFOLD, P.; MCKELVIE, I.; MONBET, P. Determination of phosphorus in natural waters: a historical review. **Analytica Chimica Acta**, v. 918, p. 8-20, 2016.
- XIE, E. et al. Significant influence of phosphorus resources on the growth and alkaline phosphatase activities of *Microcystis aeruginosa*. **Environmental pollution**, v. 268, p. 115807, 2021.
- XU, H. et al. Environmental controls of harmful cyanobacterial blooms in Chinese inland waters. **Harmful Algae**, v. 110, p. 102127, 2021.
- XUE, Y. et al. Evaluation of water quality pollution and analysis of vertical distribution characteristics of typical Rivers in the Pearl River Delta, South China. **Journal of Sea Research**, v. 193, p. 102380, 2023.
- ZHANG, R. et al. Cyanobacteria derived taste and odor characteristics in various lakes in China: Songhua Lake, Chaohu Lake and Taihu Lake. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 181, p. 499-507, 2019.

ZHANG, X. et al. Functional role of bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix* in ecologically shaping aquatic environments. **Science of the Total Environment**, v. 710, p. 136314, 2020.

ZHANG, T. et al. Response of extracellular and intracellular alkaline phosphatase in *Microcystis aeruginosa* to organic phosphorus. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 42304-42312, 2020.

ZHANG, Z. et al. Alteration of dominant cyanobacteria in different bloom periods caused by abiotic factors and species interactions. **Journal of Environmental Sciences**, v. 99, p. 1-9, 2021.

ZHANG, M. et al. The synergistic effect of rising temperature and declining light boosts the dominance of bloom-forming cyanobacteria in spring. **Harmful Algae**, v. 116, p. 102252, 2022.

ZHANG, Y. et al. Harmful cyanobacteria-diatom/dinoflagellate blooms and their cyanotoxins in freshwaters: A nonnegligible chronic health and ecological hazard. **Water Research**, p. 119807, 2023.

ZHENG, B. et al. Does temperature favour the spread of *Raphidiopsis raciborskii*, an invasive bloom-forming cyanobacterium, by altering cellular trade-offs?. **Harmful Algae**, v. 124, p. 102406, 2023.

ZHOU, Y. et al. Transcriptomic survey on the microcystins production and growth of *Microcystis aeruginosa* under nitrogen starvation. **Science of the Total Environment**, v. 700, p. 134501, 2020.

ZHOU, C. et al. Microcystin biosynthesis and toxic effects. **Algal Research**, v. 55, p. 102277, 2021.

ZUCCARELLO, P. et al. Water quality and human health: A simple monitoring model of toxic cyanobacteria growth in highly variable Mediterranean hot dry environments. **Environmental Research**, v. 192, p. 110291, 2021.

