



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Camila de Araujo Torres

Avaliação dos efeitos da disponibilidade de luz sobre o crescimento e competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.

Rio de Janeiro

2013

Camila de Araujo Torres

Avaliação dos efeitos da disponibilidade de luz sobre o crescimento e competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Manzi Marinho

Rio de Janeiro

2013

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/ REDE SIRIUS/ BIBLIOTECA CTC/A

T693 Torres, Camila de Araujo.

Avaliação dos efeitos da disponibilidade de luz sobre o crescimento e competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*/ Camila de Araujo Torres. - 2012.
54f. : il.

Orientador: Marcelo Manzi Marinho
Dissertação (Mestrado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Cianobactérias – Teses. 2. Fitoplâncton - Teses. 3. Algas – Efeitos da luz. I. Marinho, Marcelo Manzi. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 582.232

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Camila de Araujo Torres

Avaliação dos efeitos da disponibilidade de luz sobre o crescimento e competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro,

Aprovado em 18 de fevereiro de 2013

Orientador :

Prof. Dr. Marcelo Manzi Marinho
Departamento de Biologia Vegetal da UERJ

Banca examinadora:

Prof^a. Dra. Maria Carolina Silva Soares
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^a. Dra. Vera Lúcia de Moraes Huszar
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Sebastião José da Silva Neto
Departamento de Biologia Vegetal da UERJ

Rio de Janeiro

2013

DEDICATÓRIA

A todas as energias positivas que possibilitaram a força necessária para conclusão desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe querida, que tanto amo, por me apoiar em todos os momentos, independentemente das minhas escolhas. Agradeço cada dia mais a Deus por me presentear com uma mãe tão especial.

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro e ao Programa de Pós Graduação em Biologia Vegetal, por possibilitar o desenvolvimento do curso de mestrado.

Aos amigos que nem imaginam o quanto foram importantes para a conclusão desta dissertação.

À turma de mestrado PGBV/UERJ 2011, por todos os momentos inesquecíveis durante as disciplinas, amizade e compreensão ao longo desses dois anos.

Às queridas cepas MIC-03, MIC-08, Plank-03 e Plank-09, que são minhas “filhinhas verdes”, pela colaboração desde o isolamento até os experimentos em quimiostato.

Aos professores que aceitaram integrar a banca examinadora pela disponibilidade e tempo dedicado à avaliação da dissertação.

À CAPES e à FAPERJ pela concessão da bolsa de mestrado e à FAPERJ pelo apoio financeiro.

Existe um momento na vida, em que não há outra coisa a fazer, a não ser seguir seu próprio caminho. Um tempo para seguir seus sonhos. Um tempo para içar as velas de suas próprias crenças.

Sérgio Bambarén.

RESUMO

TORRES, Camila de Araujo. **Avaliação dos efeitos da disponibilidade de luz sobre o crescimento e competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa***. 2013. 54f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

As cianobactérias *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* são espécies formadoras de florações comuns em ecossistemas aquáticos eutrofizados. Nestes ambientes, a disponibilidade de luz é um dos fatores determinantes para o desenvolvimento e estruturação da comunidade fitoplanctônica. O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito da luz na fisiologia de cepas de cianobactérias (*M. aeruginosa* e *P. agardhii*), avaliando o crescimento, a variabilidade inter e intra-específica e a competição por luz. Para tanto foram realizados cultivos estanques em diferentes intensidades luminosas (10, 40, 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e calculadas as taxas de crescimento e os rendimentos máximos das culturas. O requerimento mínimo de luz de cada cepa foi determinado em experimentos com monoculturas em sistemas de cultivo contínuo (quimiostatos) sob condições de limitação de luz. A competição por luz foi avaliada através de experimentos com biculturas em quimiostatos. Foi observada variabilidade intra e inter-específica das cepas, nas diferentes intensidades luminosas testadas. Em 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, as cepas de *M. aeruginosa* obtiveram maior biomassa do que *P. agardhii*, corroborando a maior sensibilidade de *P. agardhii* luz. Embora com rendimento máximo menor, *P. agardhii* cresceu em intensidades luminosas consideradas elevadas para a espécie, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estes resultados evidenciam a capacidade de *P. agardhii* ocorrer em ambientes com grandes amplitudes de luminosidade. Na intensidade de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, *M. aeruginosa* e *P. agardhii* apresentaram crescimento semelhante, demonstrando a habilidade das duas espécies em crescer com pouca luz. Nas monoculturas em quimiostato, sob condições de limitação de luz, as cepas de *M. aeruginosa* atingiram maior biomassa durante o equilíbrio (steady-state) do que *P. agardhii*, refletindo uma capacidade suporte mais elevada, enquanto que os valores de requerimento mínimo de luz foram semelhantes entre as duas espécies. Ao competirem, *M. aeruginosa* superou *P. agardhii* imediatamente após o início do experimento. Esse rápido crescimento resultou na dominância de *M. aeruginosa* em todos os pares de cepas testados e, em dois casos, ocorreu exclusão competitiva de *P. agardhii*. Quando não ocorreu exclusão, *P. agardhii* conseguiu manter-se no sistema com uma baixa biomassa (ca.15%). Estes resultados ajudam a entender a co-ocorrência destas espécies no ambiente e a dominância de *M. aeruginosa* mesmo em condições de baixa luminosidade.

Palavras-chave: Cianobactérias. Intensidades luminosas. Limitação de luz. Variabilidade interespecífica. Variabilidade intraespecífica. Cultivo contínuo. Quimiostato.

ABSTRACT

The bloom-forming cyanobacteria *Microcystis aeruginosa* and *Planktothrix agardhii* are common in eutrophic aquatic ecosystems. In such environments, the availability of light is one of the determining factors for the development and structure of the phytoplankton community. The present study aimed to investigate the effects of light on the physiology of strains of *M. aeruginosa* and *P. agardhii*, assessing growth, inter and intra-specific variability and light competition. The strains were grown in batch cultures at different light intensities (10, 40, 60, 100 and 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Growth rates and maximum yields of cultures were calculated. The minimum requirement of light for each strain was determined in experiments with monocultures under continuous culture (chemostats) and conditions of light limitation. To evaluate the light competition, experiments were performed with bicultures in chemostats. It was observed intra and interspecific strains variability in the different light intensities tested. At 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, both strains of *M. aeruginosa* had higher biomass than *P. agardhii*, confirming that *P. agardhii* has higher sensitivity to light. Despite reducing its maximum yield of culture, *P. agardhii* grew in light intensities considered high for this species (100 and 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). These results demonstrate the ability of *P. agardhii* occur in environments with large amplitudes of light. All the strains showed similar growth at intensity of 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, demonstrating the ability of the two species to grow in low light. In chemostats under conditions of light limitation, the strains of *M. aeruginosa* reached higher biomass during the equilibrium (steady-state) than *P. agardhii*, reflecting a higher carrying capacity. However, values of minimum requirement of light were similar between the two species. Under competition, *M. aeruginosa* exceeded *P. agardhii* immediately after the start of the experiment. This rapid growth resulted in the dominance of *M. aeruginosa* for all pairs of strains tested and, in two cases, there was competitive exclusion of *P. agardhii*. When no exclusion occurred, *P. agardhii* managed to remain in the system with a low biomass (about 15%). These results help to understand the co-occurrence of these species in the environment and the dominance of *M. aeruginosa* even in low light conditions.

Keywords: Cyanobacteria. Light intensities. Light limited. Variability inter-specific. Variability intra-specific. Continuous culture. Chemostat.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Aspecto geral do experimento sobre a avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*21
- Figura 2 – Aspecto geral dos experimentos sobre a avaliação dos efeitos da competição por luz entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.23
- Figura 3 – Taxa de crescimento e rendimento máximo obtido para as cepas MIC-03, MIC-08, Plank-03 e Plank-09 nos tratamentos com diferentes intensidades luminosas..26
- Figura 4 – Crescimento das cepas de *Microcystis aeruginosa* nas diferentes intensidades luminosas testadas (10, 40, 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)27
- Figura 5 – Crescimento das cepas de *Planktothrix agardhii* nas diferentes intensidades luminosas testadas (10, 40, 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).28
- Figura 6 – Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nas intensidades luminosas de (a) 10 e (b) 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 29
- Figura 7 – Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nas intensidades luminosas de (a) 60 e (b) 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 30
- Figura 8 – Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* na intensidade luminosa de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. 31
- Figura 9 – Variação do volume celular (μm^3) das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* em função da intensidade luminosa.32

| | |
|---|----|
| Figura 10 – Tamanho médio dos filamentos (μm) das cepas de <i>Planktothrix agardhii</i> nas cinco intensidades luminosas avaliadas..... | 33 |
| Figura 11 – Variação da biomassa de <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Planktothrix agardhii</i> nos experimentos de monocultura em quimiostato | 34 |
| Figura 12 – Variação da biomassa de <i>Microcystis aeruginosa</i> e <i>Planktothrix agardhii</i> nos experimentos de competição em quimiostato..... | 37 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Composição do meio BG-11modificado. | 18 |
| Tabela 2 - Composição do meio WC modificado..... | 19 |
| Tabela 3 - Dados das cepas em monoculturas durante o estado estável (steady-state) em limitação de luz. | 35 |

SUMÁRIO

| | | |
|-------|--|----|
| | INTRODUÇÃO | 11 |
| 1 | OBJETIVOS | 17 |
| 1.1 | Objetivo geral | 17 |
| 1.2 | Objetivos específicos | 17 |
| 2 | METODOLOGIA | 18 |
| 2.1 | Cepas estudadas | 18 |
| 2.2 | Condições de cultivo | 19 |
| 2.3 | Condições de iluminação e aclimação das cepas | 19 |
| 2.4 | Crescimento celular | 20 |
| 2.5 | Avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de <i>P. agardhii</i> e <i>M. aeruginosa</i> | 21 |
| 2.6 | Avaliação dos efeitos da competição por luz entre cepas de <i>P. agardhii</i> e <i>M. aeruginosa</i> | 22 |
| 2.7 | Análises estatísticas | 24 |
| 3 | RESULTADOS | 25 |
| 3.1 | Avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de <i>P. agardhii</i> e <i>M. aeruginosa</i> | 25 |
| 3.1.1 | <u>Variabilidade intraespecífica</u> | 25 |
| 3.1.2 | <u>Variabilidade interespecífica</u> | 29 |
| 3.1.3 | <u>Alterações morfológicas</u> | 31 |
| 3.2 | Avaliação dos efeitos da competição por luz no crescimento das cepas de <i>P. agardhii</i> e <i>M. aeruginosa</i>. | 33 |
| 4 | DISCUSSÃO | 41 |
| 5 | CONCLUSÕES | 47 |
| | REFERÊNCIAS | 48 |

INTRODUÇÃO

Disponibilidade de luz

Os principais fatores limitantes para o crescimento do fitoplâncton são a temperatura, luz e nutrientes (MUR; SKULBERG; UTKILEN, 1999). Assumindo que as diversas espécies presentes no fitoplâncton tem diferentes sensibilidades, mudanças nas relações entre esses fatores ambientais influenciam a estrutura da comunidade fitoplanctônica (NICKLISCH; SHATWELL; KÖHLER, 2008). As cianobactérias, um dos principais grupos presentes no fitoplâncton, possuem habilidades que possibilitam seu desenvolvimento em ambientes com ampla flutuação de parâmetros físicos e químicos, como disponibilidade de nutrientes, qualidade e intensidade luminosa, temperatura e condições osmóticas (BHAYA; SCHWARZ; GROSSMAN, 2002).

A luz é um fator impactante na fisiologia das cianobactérias, devido às transições diárias entre a noite e o dia, assim como mudanças menos regulares na intensidade luminosa e qualidade do espectro (MANN, 2002). Ambas, intensidade e qualidade da luz, podem variar dramaticamente ao longo do dia ou de um habitat para outro. No ambiente, a luz pode apresentar intensidades muito altas, potencialmente prejudiciais para as células ou intensidades muito baixas e inadequadas para suportar taxas ótimas de fotossíntese (BHAYA; SCHWARZ; GROSSMAN, 2002).

Na coluna d'água, a intensidade da luz diminui com a profundidade, pois os fótons são absorvidos pela própria água, matéria orgânica dissolvida, fitoplâncton, partículas de argila, dentre outras substâncias que absorvem luz. Uma vez que a intensidade da luz diminui com a profundidade, a fotossíntese também varia com a profundidade. Desta forma, esse gradiente de luz pode ser considerado dinâmico, no qual um aumento na população fitoplanctônica absorve mais luz, levando conseqüentemente a uma maior turbidez na coluna d'água (HUISMAN; HULOT, 2005).

Em situações de baixa turbidez pode ocorrer fotoinibição devido à elevada intensidade luminosa, prejudicando seu crescimento e possibilitando o desenvolvimento de outras espécies competidoras. Fotoinibição ocorre quando o fitoplâncton é transferido para irradiâncias substancialmente acima daquelas para a qual eles tenham sido aclimatados. Altas intensidades luminosas podem reduzir a funcionalidade dos centros de reação e ser de particular significância para cianobactérias flutuantes, especialmente durante florações de superfície quando intensidades extremas podem ter sido suportadas por longos períodos (OLIVER; GANF, 2002).

Apesar de a fotoinibição reduzir a taxa de fotossíntese este impacto varia com a intensidade da luz e período de exposição podendo ser revertido com o retorno para luz baixa. O grau de fotoinibição será influenciado pela mescla d'água e movimento vertical dos organismos. Embora tenha sido demonstrado no campo e no laboratório, este impacto em populações naturais é de difícil avaliação uma vez que a amostragem limita as condições naturalmente encontradas no ambiente (OLIVER; GANF, 2002).

As cianobactérias são conhecidas por sua superioridade competitiva em condições de pouca luz frente a grupos de algas eucariotas. Sua capacidade de causar maior turbidez por unidade de fósforo do que outras microalgas favorece sua habilidade competitiva, uma vez que são tolerantes a esta condição (SCHEFFER *et al.*, 1997).

A visão generalizada das cianobactérias como as mais adaptadas às baixas condições de luz do que as algas verdes e, desta forma, melhores competidoras por este recurso pode ser questionável (HUISMAN *et al.*, 1999). Experimentos de competição em culturas contínuas com limitação de luz revelaram que as cianobactérias *Microcystis* e *Aphanizomenon* eram melhores competidoras por luz do que a alga verde *Scenedesmus*. No entanto, ambas as espécies de cianobactérias perderam a competição quando cultivadas com outra clorofícea, *Chlorella* (HUISMAN *et al.*, 1999).

Entender a alternância entre espécies dominantes de cianobactérias em sistemas eutrofizados tornou-se alvo de muitos estudos (SCHEFFER *et al.*, 1997; HALSTVEDT *et al.*, 2007; RÜCKER; WIEDNER; ZIPPEL, 1997). Um modelo conceitual, desenvolvido para um lago eutrófico raso, considerou a disponibilidade

de luz dentro d'água como sendo um dos principais fatores responsáveis por alterações periódicas na estrutura da comunidade fitoplanctônica. Durante períodos com ventos, a resuspensão de sedimentos cria elevada turbidez, limitação de luz e dominância por cianobactérias adaptadas a pouca luz (*Oscillatoria* e *Lyngbya*). Durante períodos calmos prolongados, a luz torna-se um fator menos limitante e espécies adaptadas a elevada intensidade luminosa (*Microcystis* e *Anabaena*) podem proliferar, causando densas florações (HAVENS *et al.*, 1998).

No entanto, a disponibilidade de luz tem recebido pouca atenção como fator seletivo, provavelmente por causa dos gradientes verticais de luz que fazem a competição por este recurso conceitualmente e experimentalmente mais complexa do que a competição por nutrientes (HUISMAN *et al.*, 1999). O crescimento do fitoplâncton geralmente não é limitado apenas por um fator de cada vez, mas a limitação de um único fator pode alterar a demanda por outros. Os efeitos das interações entre diferentes fatores de crescimento são geralmente menos conhecidos do que os efeitos dos fatores isolados (NICKLISCH; SHATWELL; KÖHLER, 2008).

Microcystis aeruginosa

Microcystis (Família Microcystaceae, Ordem Chroococcales) é um gênero de cianobactéria formador de colônia micro ou macroscópica, na qual várias células esféricas, com vesículas de gás intracelulares (aerótopos), encontram-se envolvidas por uma bainha de mucilagem (KOMÁREK; ANAGNOSTIDIS, 1999). *Microcystis aeruginosa* é uma das espécies cosmopolitas de cianobactérias mais bem sucedidas, sendo frequentemente dominante no fitoplâncton de corpos d'água eutrofizados (REYNOLDS *et al.*, 1981; VERSPAGEN *et al.*, 2005).

Aliadas às condições ambientais favoráveis, altas concentrações de nutrientes, baixa turbulência e temperaturas elevadas (AGUIAR; AZEVEDO, 1998), algumas características fisiológicas têm sido consideradas como potencializadoras da dominância de *Microcystis* nos sistemas eutrofizados. Dentre elas destacam-se o potencial de regulação da flutuação, que possibilita melhor aproveitamento da

disponibilidade de luz e nutrientes, maior habilidade competitiva por nitrogênio, além de redução da herbivoria através do incremento no tamanho da colônia ou mesmo produção de toxinas (PAERL, 1988; FERRÃO-FILHO; DOMINGOS; AZEVEDO, 2002). O tamanho da colônia tem importante papel na velocidade de migração na coluna d'água (O' BRIEN *et al.*, 2004), na pressão de predação (OLIVER; GANF, 2002) e na razão superfície / volume (O' BRIEN *et al.*, 2004), o que afeta a atenuação de luz (ROBARTS; ZOHARY, 1984; O' BRIEN *et al.*, 2004), a taxa de crescimento (REYNOLDS, 1997) e a assimilação de nutrientes (O'BRIEN *et al.*, 2004).

Estudos realizados em um lago hipereutrófico no Japão revelaram que a quantidade de luz fornecida à coluna de água pode ser o mais importante fator controlador do crescimento de *M. aeruginosa* no local (TOMIOKA; IMAI; KOMATSU, 2011). Durante a adaptação desta cianobactéria a elevadas intensidades luminosas ocorre redução da concentração de clorofila a e ficocianina, além de alterações na composição de carotenóides. Células cultivadas em baixas intensidades luminosas tem como principais carotenóides o beta-caroteno, equinonina e zeaxantina, enquanto em altas intensidades luminosas também pode ser encontrada mixoxantofila. As mudanças qualitativas nos carotenóides podem estar relacionadas ao seu papel protetor contra fotooxidação (RAPS *et al.* 1983).

Dentre as espécies capazes de produzir toxinas, *M. aeruginosa* é uma das mais estudadas, pois representa um importante impacto negativo em vários ecossistemas aquáticos do mundo por ser potencialmente produtora das cianotoxinas microcistinas (VISSER *et al.*, 2005). A intensidade da luz é um fator relevante que pode interferir no controle da produção de toxina em *M. aeruginosa*. A toxicidade e a taxa de produção da toxina podem aumentar com a intensidade da luz até cerca de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e diminuir em intensidades mais elevadas que esta (UTKILEN; GJØLME, 1992; WIEDNER *et al.* 2003).

Planktothrix agardhii

Planktothrix (Família Phormidiaceae, Subfamília Phormidioideae, Ordem Oscillatoriales) é um gênero de cianobactéria caracterizado por apresentar tricomas solitários, capazes de flutuação e frequentemente planctônicos (KOMÁREK, ANAGNOSTIDIS, 2005), ocorrendo geralmente em águas com menos de 4 metros de profundidade (VISSER *et al.*, 2005). *Planktothrix* pode ser encontrado em dois nichos distintos: (1) estratificado na termoclina (*P. rubescens*) e (2) homogeneamente suspenso no epilímnio (principalmente *P. agardhii*) (VISSER *et al.*, 2005). Populações metalimnéticas formam, algumas vezes, agregados de filamentos aumentando sua velocidade de flutuação e com isso, permitindo uma migração vertical comparável com as espécies coloniais. Espécies que formam essas populações são adaptadas às baixas intensidades luminosas e sensíveis a variação da luz (OLIVER; GANF, 2002).

Além da disponibilidade de luz, um dos principais fatores ambientais controladores do crescimento e distribuição vertical de *Planktothrix* spp. na coluna d'água é a temperatura. Alguns macronutrientes, especialmente o nitrogênio, podem limitar seu crescimento. A redução do fornecimento de nutrientes ao longo do tempo poderia, em adição às condições não favoráveis de temperatura e luz, evitar a formação de florações de *Planktothrix* spp. (HALSTVEDT *et al.*, 2007).

Planktothrix agardhii é uma das espécies mais comuns nas florações em lagos temperados (SCHEFFER *et al.*, 1997), sendo capaz de dominar o fitoplâncton em condições de alta concentração de fósforo total e baixa disponibilidade de luz (BONILLA *et al.*, 2012). Esta espécie é capaz de produzir diferentes variantes de microcistinas, podendo alterar sua composição interna para uma variante mais tóxica com aumento da intensidade luminosa (TONK *et al.*, 2005). Fatores ambientais podem ter efeito indireto sobre a taxa de produção de microcistinas e na seleção de cepas produtoras e não produtoras da toxina em competição, através do impacto direto sobre a taxa de crescimento e densidade celular nas culturas (BRIAND *et al.* 2008).

Variabilidade interespecífica e intraespecífica

Cianobactérias possuem numerosas propriedades especiais que determinam sua relativa importância nas comunidades do fitoplâncton. O comportamento de diferentes grupos de cianobactérias na natureza não é semelhante, pois diferem em suas propriedades ecofisiológicas (MUR; SKULBERG; UTKILEN, 1999). Competição por recursos (luz e nutrientes), interações químicas (alelopatia), e relações predador-presa podem ter importante papel na seleção e sucessão entre as espécies (HUISMAN *et al.*, 1999; PRINCE *et al.*, 2008; OLIVER; GANF, 2002). Ainda que essas relações tenham sido estudadas entre cianobactérias e outras algas, padrões intraespecíficos de sucessão de cianobactérias têm recebido pouca atenção.

A partir do ponto de vista ecológico e fisiológico, estudos recentes têm mostrado que cianobactérias possuem alta diversidade intra-específica (VIA-ORDORIKA *et al.*, 2004; WILSON, A. E.; WILSON, W. A.; HAY, 2006; YOSHIDA *et al.*, 2005). Considerável variação foi documentada nas respostas fisiológicas à manipulação da temperatura, luz, salinidade e macronutrientes (OH *et al.*, 2000; WEBB *et al.*, 2009; ZAPOMĚLOVÁ *et al.*, 2008). Entretanto, muitos experimentos em laboratório enfocam uma ou poucas cepas congênicas e conespecíficas de cianobactérias (LYCK; CHRISTOFFERSEN, 2003; REPKA *et al.*, 2001; ISTVÁNOVICS *et al.*, 2000), e isso limita a compreensão do papel que a variação genética e fisiológica pode ter na definição do crescimento e do potencial para formação de florações (WILSON, A. E.; WILSON, W. A.; HAY, 2006).

Significativa variedade genética foi observada dentro e entre populações de *Microcystis* na natureza (BRIAND *et al.*, 2009; WILSON *et al.*, 2005). Dependendo das condições ambientais pode ocorrer a seleção de um determinado genótipo existente na população, como por exemplo, cepas potencialmente produtores de microcistinas (BRIAND *et al.*, 2009). Variações na morfologia, toxicidade e taxa de crescimento também foram relatadas para cepas de *Microcystis aeruginosa* isoladas de diferentes lagos (WILSON, A. E.; WILSON, W. A.; HAY, 2006).

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

O presente estudo teve como objetivo investigar o efeito da luz na fisiologia de cepas de cianobactérias (*Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*), avaliando o crescimento, a variabilidade inter e intra-específica e a competição por luz.

1.2 Objetivos Específicos

- Comparar o crescimento (taxas de crescimento e rendimento máximo dos cultivos) de cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* sob condições de diferentes intensidades luminosas.
- Avaliar os efeitos da disponibilidade de luz sobre a competição entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.

2 METODOLOGIA

2.1 Cepas estudadas

As cepas estudadas foram coletadas e isoladas do Complexo Lagunar de Jacarepaguá no período entre 2009 e 2011. As coletas foram realizadas durante florações de cianobactérias com dominância dos gêneros *Microcystis* e *Planktothrix* em momentos diferentes. Utilizou-se para a obtenção das amostras rede de fitoplâncton com malha de 20 µm.

A metodologia adotada para o isolamento segue a técnica do capilar de vidro utilizando amostras de população natural (LOURENÇO, 2006). As células foram isoladas com auxílio de uma pipeta Pasteur de vidro, em microscópio óptico e transferidas para tubos de ensaio contendo meio BG-11 (ALLEN; STANIER, 1968 – Tabela 1).

No presente trabalho, foram testadas quatro cepas não axênicas, duas da espécie *Microcystis aeruginosa* (MIC-03, MIC-08) e duas de *Planktothrix agardhii* (Plank-03, Plank-09), mantidas no banco de cultivo do Laboratório de Ecologia e Fisiologia do Fitoplâncton, Departamento de Biologia Vegetal / IBRAG / UERJ.

Tabela 1 - Composição do meio BG-11 modificado.

| Nutriente BG-11 | Concentração (mg/L) |
|---------------------------|---------------------|
| $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ | 40 |
| $NaNO_3$ | 1250 |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 75 |
| $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ | 36 |
| Citrato $Fe(III)(NH_4)_3$ | 6.0 |
| Ácido Cítrico | 6.0 |
| H_3BO_3 | 1.4 |
| $NaHCO_3$ | 1.2 |
| Na_2 -EDTA | 1.1 |
| $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ | 0.1 |
| $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ | 0.079 |
| $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ | 0.078 |
| $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ | 0.044 |

2.2 Condições de cultivo

Para a realização dos experimentos, as cepas estudadas foram mantidas em culturas unialgais estanques, utilizando-se meio WC modificado (LÜRLING; BEEKMAN, 1999 - Tabela 2), à temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e iluminação contínua com intensidade luminosa de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obtida com utilização de lâmpadas fluorescentes.

Tabela 2 - Composição do meio WC modificado.

| Nutriente WC | Concentração (mg/L) |
|---|---------------------|
| TES | 85 |
| K_2HPO_4 | 8.71 |
| NaNO_3 | 85.01 |
| $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ | 36.97 |
| $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 36.76 |
| NaHCO_3 | 12.60 |
| $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ | 28.42 |
| H_3BO_3 | 24 |
| $\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 4.36 |
| $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 1 |
| $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ | 0.18 |
| Biotina | 0.0005 |
| B_{12} | 0.00055 |
| Tiamina.HCl | 0.1 |

2.3 Condições de iluminação e aclimação das cepas

As intensidades luminosas testadas foram estabelecidas com base nos dados de campo obtidos para o Complexo Lagunar de Jacarepaguá entre 2007 e 2008, no qual foram consideradas as intensidades da luz na sub-superfície (0,1m). A intensidade luminosa registrada no ambiente variou entre 33 e $1498 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com um valor médio de $515 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Foram adotadas para os experimentos cinco intensidades luminosas variando desde uma intensidade abaixo da observada no campo, $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; próximo ao mínimo observado no ambiente, $40 \mu\text{mol m}^{-2}$

s⁻¹; valores intermediários, 60 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e o valor médio observado nos dados de campo, 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

A iluminação do cultivo foi ajustada com auxílio de um sensor quântico (LiCor - LI-190SA) acoplado a um radiômetro (LiCor - LI-250 light meter), diretamente nas estantes de cultivo. Antes dos experimentos, as cepas estudadas foram previamente aclimatadas às diferentes intensidades luminosas testadas. O processo de aclimação ocorreu com o aumento gradual da intensidade luminosa até alcançar os valores determinados, sendo cultivada por aproximadamente duas semanas nesta condição, possibilitando o crescimento de algumas gerações.

As culturas foram homogeneizadas automaticamente em baixa rotação sete vezes ao dia, com intervalos de três horas entre cada agitação, para evitar a formações de grumos e auto-sombreamento.

2.4 Crescimento celular

O crescimento celular foi acompanhado através da contagem de células em hemocitômetro (câmara de Neubauer) realizada no microscópio óptico. O biovolume ($\mu\text{m}^3\text{ml}^{-1}$) foi estimado multiplicando-se as densidades de cada cepa pelo volume médio de suas células, considerando as dimensões médias de 10 indivíduos de cada cepa aclimatada às intensidades luminosas estudadas. O volume de cada célula foi calculado a partir de modelos geométricos aproximados à forma dos indivíduos. O tamanho médio dos filamentos de *P. agardhii* foi estimado medindo o comprimento de 90 indivíduos.

As taxas de crescimento (μ) foram calculadas de acordo com a formulação proposta por Fogg & Take (1987) durante a fase exponencial de crescimento:

$$\mu = (\ln N_2 - \ln N_1) (t_2 - t_1)^{-1} \quad \text{onde:}$$

μ = Taxa de crescimento

N_2 e N_1 = número de células / mL nos tempos t_2 e t_1 , respectivamente.

O rendimento máximo das culturas (R_{max}) foi calculado pela razão entre a máxima biomassa alcançada por cada cultura e a biomassa dos respectivos inóculos (MARINHO; AZEVEDO, 2007).

2.5 Avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa*.

Os efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa* foram estudados em sistema de cultivo estanques, tipo “batch” (Fig. 1). Neste experimento, as quatro cepas (MIC-03, MIC-08, Plank-03 e Plank-09), previamente aclimatadas às cinco intensidades luminosas (10, 40, 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), tiveram seu crescimento acompanhado durante 10 dias, sendo a biomassa inicial de $2 \times 10^6 \mu\text{m}^3/\text{mL}$. Amostras para contagem de células foram retiradas a cada dois dias, calculados a taxa de crescimento e rendimento máximo das culturas. As curvas de crescimento foram elaboradas no programa SigmaPlot 10.0®.



Figura 1 - Aspecto geral do experimento sobre a avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.

Legenda: 8º dia do experimento em (a) 10, (b) 40, (c) 60, (d) 100 e (e) 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Foto: Camila Torres.

2.6 Avaliação dos efeitos da competição por luz entre cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa*.

Os efeitos da competição por luz entre cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa* foram avaliados em sistemas de cultivo contínuo (quimiostatos – Fig. 2). Os quimiostatos foram montados em kitsatos com volume aproximado de 500 mL e mantidos a temperatura de $24 \pm 2^\circ\text{C}$ com uma taxa de diluição de $0,3 \text{ d}^{-1}$. O meio de cultura WC foi bombeado a partir de garrafões de 10 litros para os frascos de cultivo (kitasatos) através de uma bomba peristáltica (Watson e Marlon 323).

Para evitar a limitação de nutrientes utilizou-se concentração de fósforo (K_2HPO_4) e nitrogênio (NaNO_3) sete vezes maior do que a concentração presente no meio WC original. Todo o material utilizado no cultivo, assim como o meio de cultura, foram autoclavados antes de iniciar o experimento. A aeração nos sistemas garantiu oferta suficiente de CO_2 e culturas homogêneas. Com isso, a liberação de bolhas de ar na porção inferior do frasco gerou um fluxo que atuou na mistura da cultura.

Uma fonte de luz incidente foi posicionada na frente dos quimiostatos a fim de se obter um gradiente unidirecional no sentido horizontal do frasco. Foram utilizadas lâmpadas fluorescentes tubulares 20W Osram. As intensidades luminosas foram mensuradas através de um sensor quântico (LiCor - LI-190SA) acoplado a um radiômetro (LiCor - LI-250 light meter). Para abranger a variação espacial, a luz incidente (I_{in}) e a luz que penetra nas culturas (I_{out}) foi medida em quatro posições regularmente posicionadas, respectivamente, na superfície frontal e posterior dos quimiostatos (Fig. 2c). A intensidade luminosa incidente (I_{in}) adotada para os cultivos durante o experimento foi de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

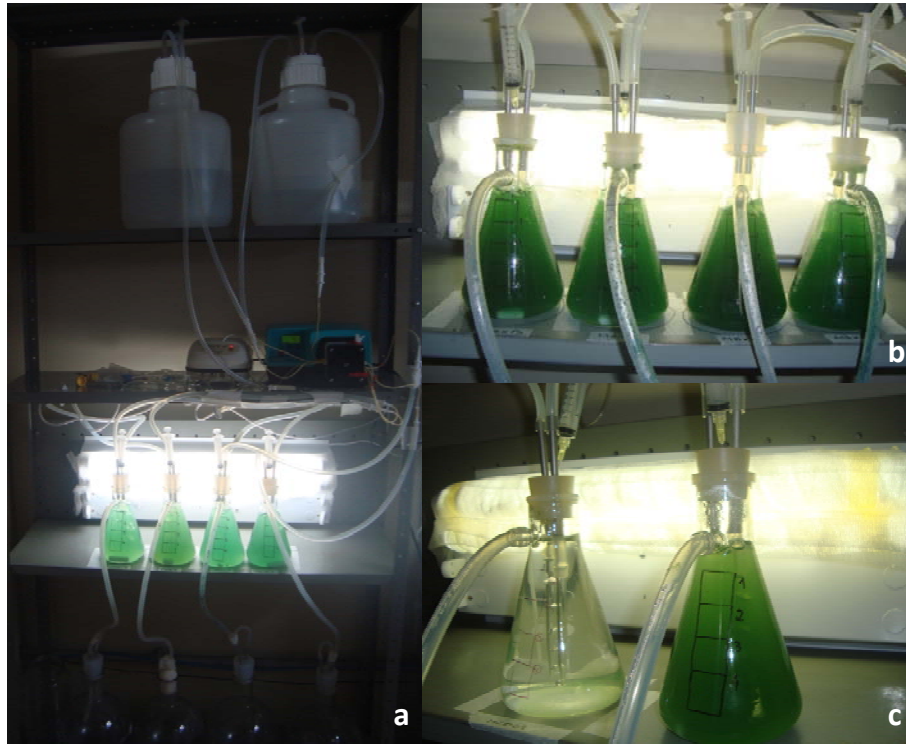


Figura 2 – Aspecto geral dos experimentos sobre a avaliação dos efeitos da competição por luz entre cepas de *Planktothrix agardhii* e *Microcystis aeruginosa*.

Legenda: (a) Experimento de monocultura em quimiostato (b) Experimento de competição (c) Detalhe do quimiostato mostrando os pontos de medição da luz.

Foto: Camila Torres.

O experimento de monocultura foi realizado previamente à competição (bicultura) para determinar os requerimentos mínimos de luz (I_{out}) das espécies estudadas. O crescimento das cepas em monocultura foi acompanhado diariamente até o décimo dia e a cada dois dias até o final do experimento, através de uma regressão linear da densidade óptica das culturas a 750nm (DO) versus contagem do número de células em hemocitômetro. Também foi avaliado o pH, clorofila e atividade fotossintética (ϕ_{PSII}) do cultivo. A concentração de clorofila e a atividade fotossintética (ϕ_{PSII}) foram medidas usando o PHYTO-PAM-ED fluorímetro (Walz.).

O requerimento mínimo de luz (I_{out}) foi obtido durante a fase de equilíbrio (steady-state), na qual a taxa de crescimento é equivalente à taxa de diluição do sistema, através da intensidade de luz (I_{out}) não absorvida pelo cultivo e disponível na parte posterior do kitasato (Fig. 2c). As medições do I_{out} foram feitas no mínimo quatro vezes com intervalos de três dias entre as amostragens para obter total renovação das células presentes no sistema. Cepas com menor requerimento mínimo de luz foram consideradas melhores competidoras do que cepas com maior

requerimento mínimo de luz, consideradas competidoras mais fracas por este recurso.

Após a determinação do requerimento mínimo de luz (I_{out}), as cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa* foram cultivadas, durante 30 dias, em biculturas para o experimento de competição com os seguintes pares: MIC-03xPlank-03; MIC-03xPlank-09; MIC-08xPlank-03; MIC-08xPlank-09. Cada cepa competidora foi inoculada com biomassa igual a $1,5 \times 10^8 \mu\text{m}^{-3}\text{mL}$, sendo a biomassa total inicial do cultivo $3,0 \times 10^8 \mu\text{m}^{-3}\text{mL}$. A cada 3 dias foram retiradas amostras dos frascos de cultivo, usando uma seringa, para contagem de células e medição do pH .

2.7 Análises estatísticas

Para verificar a existência de diferença estatisticamente significativa nas taxas de crescimento, rendimento máximo, variações de volume celular, tamanho dos filamentos foram realizadas análises de variância bidirecional (ANOVA Two way) seguida pelo teste Post Hoc, Holm-Sidak.

Os dados de biomassa, I_{out} e clorofila, obtidos nas monoculturas em quimiostato, foram analisados estatisticamente por análise de variância unidirecional (ANOVA One way) seguido de dois testes Post Hoc, LSD e Student-Newman-Keuls (SNK). O teste LSD foi utilizado para encontrar possíveis diferenças estatísticas entre as cepas testadas, comparando uma a uma. O teste SNK foi utilizado para organizar as cepas em grupos conforme a presença de diferença estatisticamente significativa entre elas.

Em todas as análises, o nível de significância assumido foi de $p < 0,05$ e os testes estatísticos foram realizados com auxílio dos programas SPSS 13.0® e Sigma Plot 11.0®.

3 RESULTADOS

3.1 Avaliação dos efeitos da intensidade luminosa no crescimento das cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa*.

3.1.1 Variabilidade intraespecífica

As cepas de *M. aeruginosa*, MIC-03 e MIC-08, não diferiram intraespecificamente quanto à taxa de crescimento e rendimento máximo nas intensidades de 10, 40 e 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No entanto, os resultados obtidos nas maiores intensidades testadas, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os dados de crescimento analisados para essas cepas, demonstrando existir variabilidade intraespecífica. A cepa MIC-03 apresentou taxa de crescimento e rendimento máximo menor do que a cepa MIC-08 nestas duas intensidades (Fig. 3).

MIC-08 ao crescer em 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ atingiu sua maior taxa de crescimento, reduzida em 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com diferença estatisticamente significativa de $p < 0,001$. MIC-03 obteve sua maior taxa de crescimento em 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, apresentando redução da taxa de crescimento e rendimento máximo quando submetida ao crescimento em 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A intensidade luminosa que apresentou maior rendimento máximo para as duas cepas foi 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 3).

De forma semelhante, *P. agardhii* exibiu variabilidade intraespecífica entre as duas cepas testadas refletindo respostas diferentes às intensidades luminosas. As cepas de *P. agardhii*, Plank-03 e Plank-09, não apresentaram diferença entre as taxas de crescimento, assim como entre os rendimentos máximos, na intensidade luminosa de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em todas as outras intensidades, 40, 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, as cepas apresentaram diferença estatisticamente significativa com $p < 0,001$, ressaltando a variabilidade intraespecífica entre essas duas cepas testadas (Fig.3).

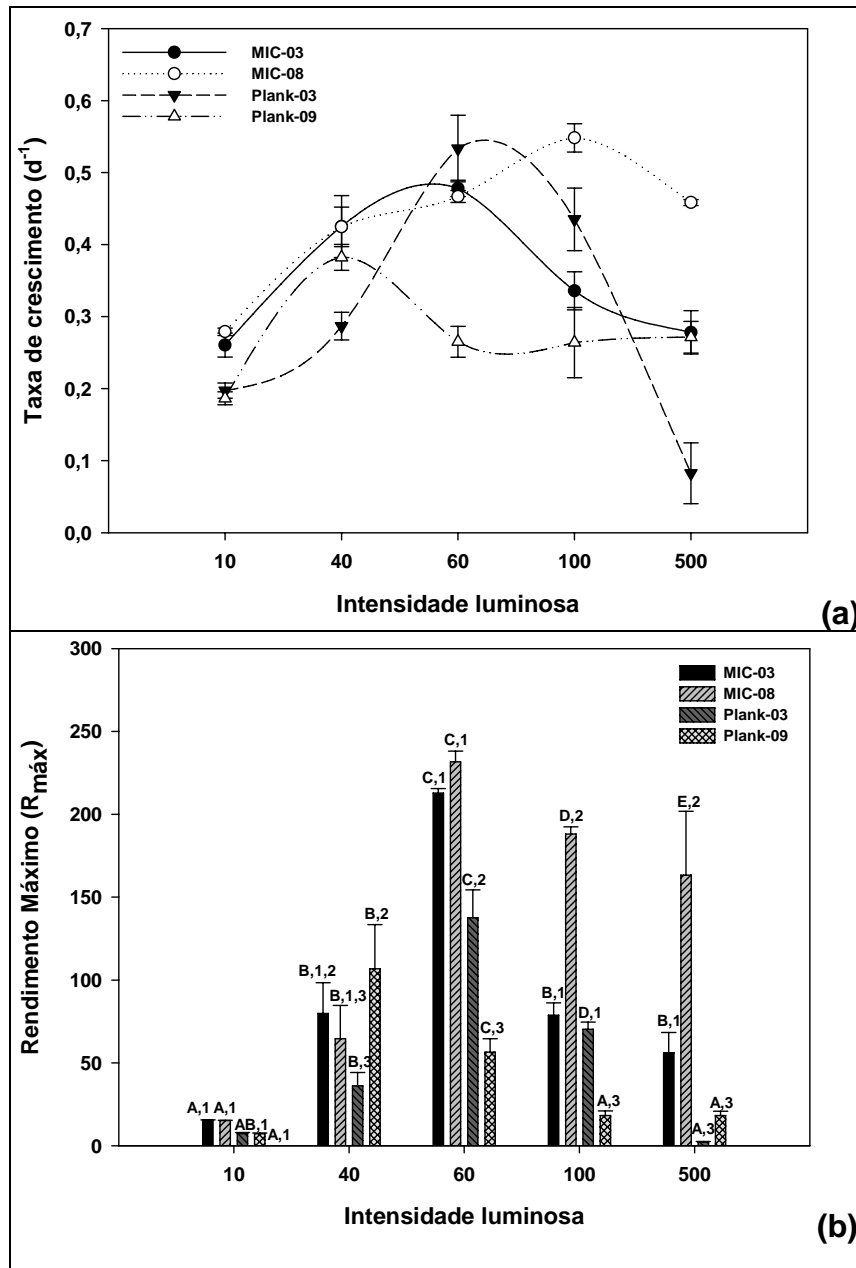


Figura 3 – Taxa de crescimento e rendimento máximo obtido para as cepas MIC-03, MIC-08, Plank-03 e Plank-09 nos tratamentos com diferentes intensidades luminosas.

Legenda: (a) Taxa de crescimento e (b) Rendimento máximo

Nota: As letras indicam grupos homogêneos de cada cepa nas diferentes intensidades luminosas e os números indicam os grupos homogêneos das diferentes cepas por intensidade de acordo com o teste Post Hoc Holm-Sidak, $p < 0,05$.

Das cinco intensidades testadas a cepa Plank-03 obteve maior taxa de crescimento e rendimento máximo quando submetida a $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Plank-03 em $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ diminuiu seu crescimento, e sofreu forte redução quando cultivada em $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Comparando o crescimento em $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a menor intensidade promoveu taxa de crescimento mais elevada.

A cepa Plank-09 quando submetida a $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ obteve maior taxa de crescimento e rendimento máximo do que nas outras intensidades. Em 60, 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a cepa Plank-9 teve a taxa de crescimento reduzida, mas manteve-se constante nessas três intensidades (Fig. 3a), sem diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos ($p > 0,05$). Em síntese, cada cepa de *P. agardhii* analisada cresceu melhor em uma intensidade luminosa diferente (Plank-03: $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e Plank-09: $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) na qual conseguiu alcançar sua maior biomassa e rendimento máximo.

As curvas de crescimento de *M. aeruginosa* seguiram tendência semelhante para as duas cepas. Nas intensidades luminosas de 40, 60, 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, as curvas de crescimento ficaram em geral sobrepostas, apresentando algumas diferenças nos últimos dias de experimento e na biomassa final alcançada pelas cepas (Fig. 4).

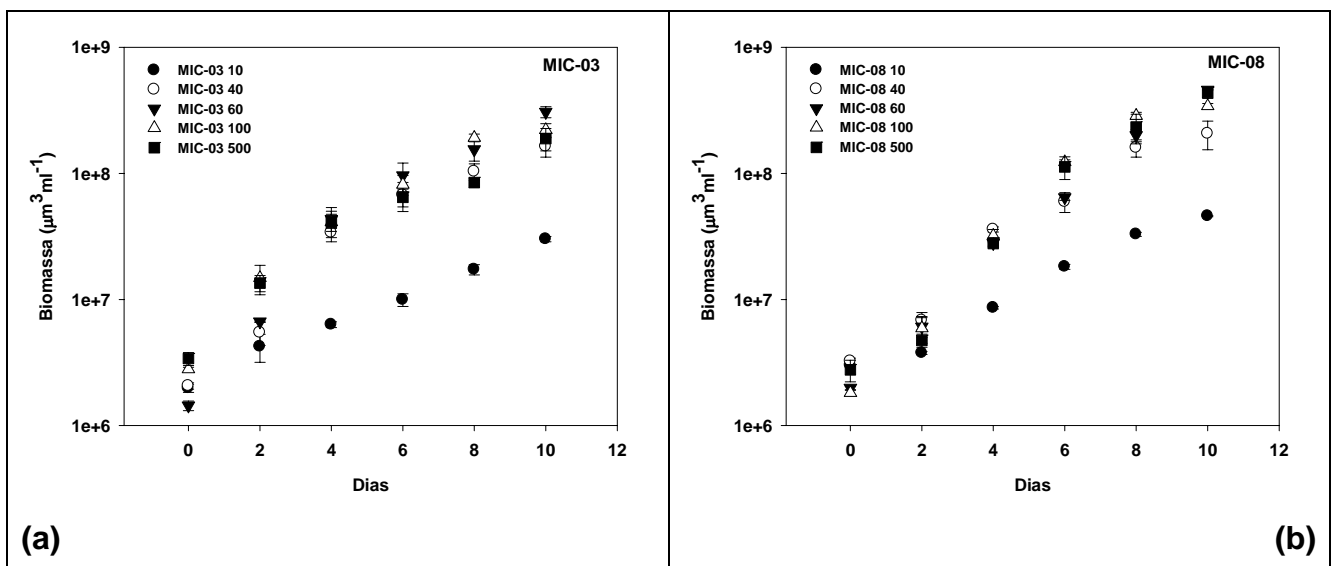


Figura 4 – Crescimento das cepas de *Microcystis aeruginosa* nas diferentes intensidades luminosas testadas ($10, 40, 60, 100$ e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Legenda: (a) MIC-03, (b) MIC-08.

A intensidade luminosa de $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ apresentou menor inclinação da curva de crescimento e menor biomassa final para ambas as cepas, demonstrando que *M. aeruginosa* cresceu menos quando cultivada em baixa intensidade luminosa. A cepa MIC-03 obteve maior biomassa final na intensidade luminosa de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 4a), enquanto a cepa MIC-08 obteve maior biomassa final quando cultivada em intensidades luminosas maiores ou igual a $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 4b).

As curvas de crescimento de *P. agardhii* foram diferentes conforme a intensidade luminosa e a cepa avaliada. A cepa Plank-03, em $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obteve a maior biomassa final quando comparada as outras intensidades. Através da curva de crescimento foi possível notar que esta cepa reduziu seu crescimento a partir do sexto dia, quando entrou na fase estacionária. Em 40 e $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a curva de crescimento foi semelhante até o sexto dia de experimento, a partir do qual Plank-03 crescendo em $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ alcança maior biomassa do que em $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Ao comparar as intensidades extremas (10 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Plank-03 obteve maior biomassa quando cultivada em $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 5a).

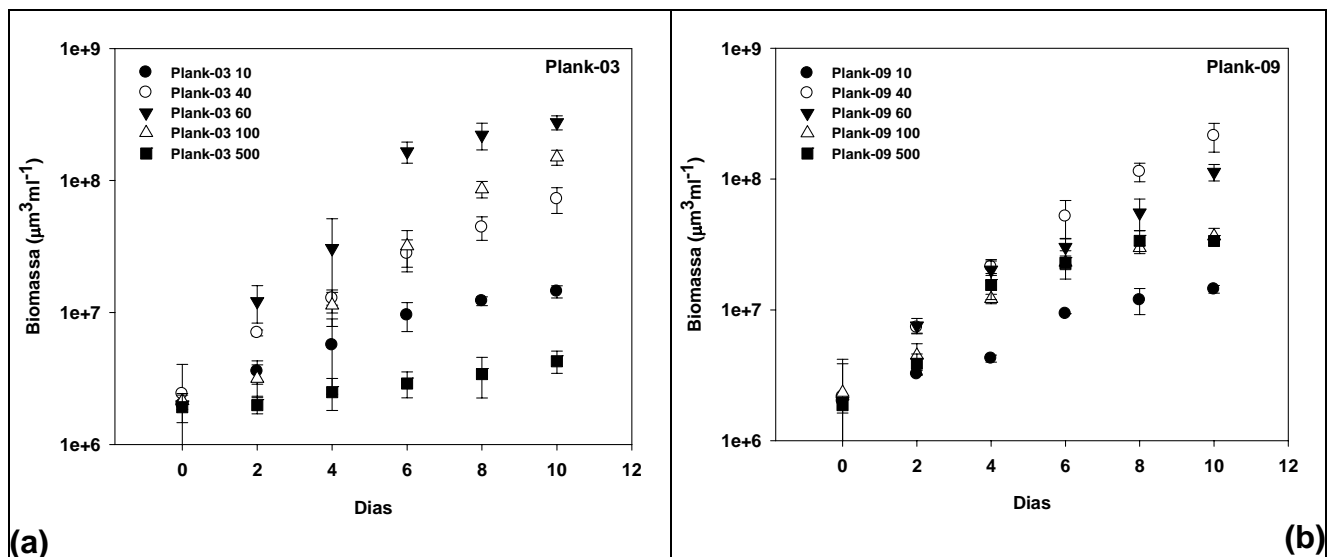


Figura 5 – Crescimento das cepas de *Planktothrix agardhii* nas diferentes intensidades luminosas testadas (10 , 40 , 60 , 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).
Legenda: (a) Plank-03, (b) Plank-09.

A cepa Plank-09, em $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, obteve maior biomassa que nas outras intensidades. A partir da intensidade de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ocorreu uma redução da biomassa, sendo as curvas de crescimento em 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ muito similares. Em ambas as intensidades, 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a cepa Plank-09

entrou na fase estacionária a partir do sexto dia. Na menor intensidade, $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Plank-09 cresceu menos do que em $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 5b).

3.1.2 Variabilidade interespecífica

As espécies *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii*, dependendo da intensidade luminosa avaliada, apresentaram respostas distintas de crescimento que refletiram nos valores obtidos na taxa de crescimento e rendimento máximo do cultivo. Na menor intensidade testada, $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, *P. agardhii* apresentou crescimento inferior a *M. aeruginosa*. O rendimento máximo e as curvas de crescimento foram equivalentes para as duas cepas de cada espécie (Fig. 3b e 6a). Em $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, tanto as cepas MIC-03 e MIC-08 quanto Plank-09 tiveram curvas de crescimento similares e taxas de crescimento com valores semelhantes, sem diferença estatística (Fig. 3a e 6b). Plank-03 foi a cepa que apresentou menor crescimento nesta condição.

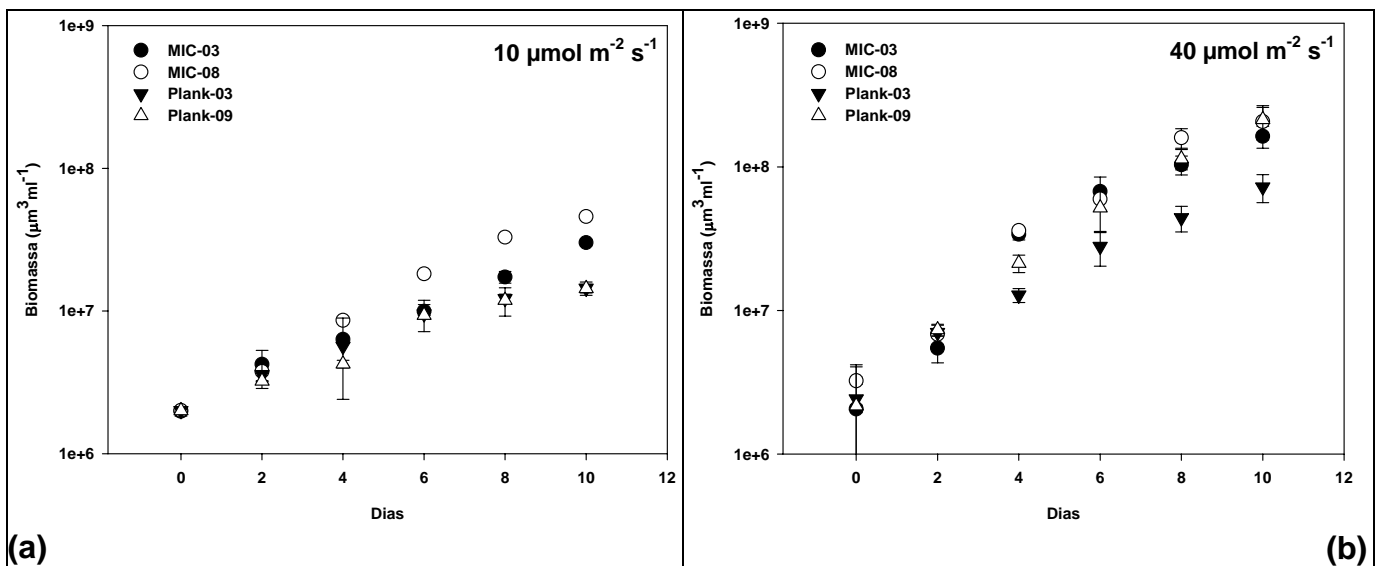


Figura 6 - Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nas intensidades luminosas de (a) 10 e (b) $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

As cepas MIC-03, MIC-08 e Plank-03, em $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, apresentaram curvas de crescimento semelhantes, mas quando comparado o rendimento máximo, Plank-03 obteve menor rendimento do que as cepas de *M. aeruginosa*. A cepa Plank-09 apresentou o menor crescimento e rendimento máximo desta intensidade (Fig. 3b e 7a).

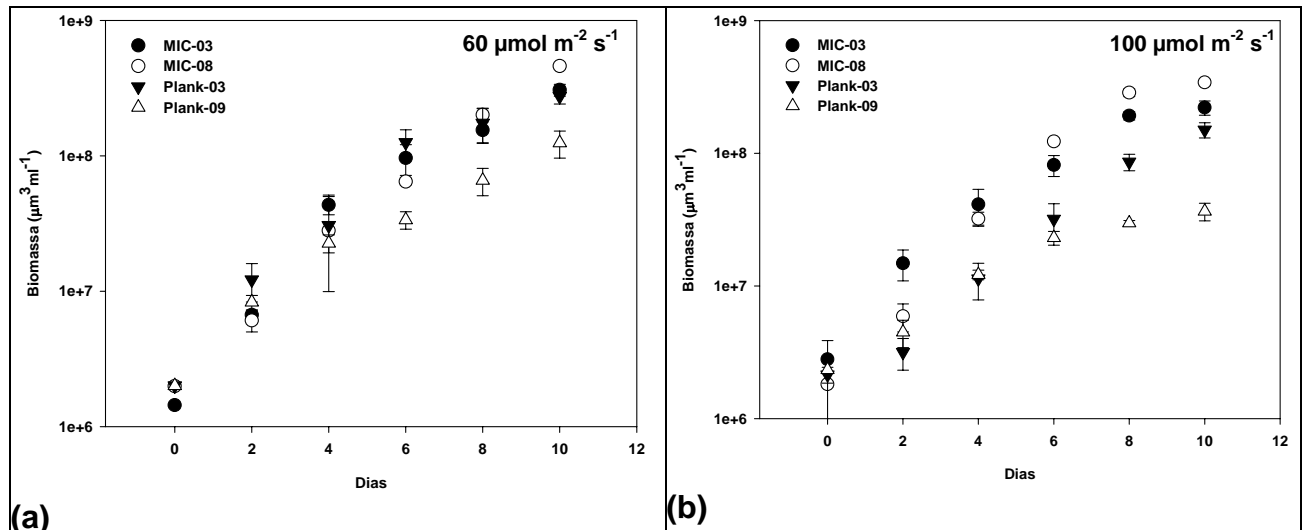


Figura 7 - Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nas intensidades luminosas de (a) $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e (b) $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Em $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, MIC-08 apresentou maior biomassa, taxa de crescimento e rendimento máximo dentre todas as cepas avaliadas. A cepa Plank-3 teve taxa de crescimento maior do MIC-03, mas rendimentos máximos iguais. Plank-9, no entanto, obteve o menor rendimento máximo, alcançando a fase estacionária já no sexto dia do experimento (Fig. 3 e 7b).

Na intensidade luminosa mais elevada ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi possível observar com maior clareza os diferentes comportamentos das espécies estudadas quanto à luminosidade e a variabilidade existente entre as cepas. As curvas de crescimento mostraram que as cepas de *M. aeruginosa* conseguem alcançar maior biomassa do que *P. agardhii* (Fig. 8).

Na condição de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, comparada às outras cepas, MIC-08 apresentou a maior taxa de crescimento e Plank-03 a menor. MIC-03 e Plank-09 apresentaram taxas de crescimento semelhantes, mas a duração da fase exponencial foi diferente. Plank-09 cresceu até o sexto dia, quando entrou na fase estacionária, enquanto MIC-03 continuou crescendo até o décimo dia (Fig. 8). Os rendimentos máximos de *M. aeruginosa* também foram superiores aos de *P. agardhii* (Fig. 3).

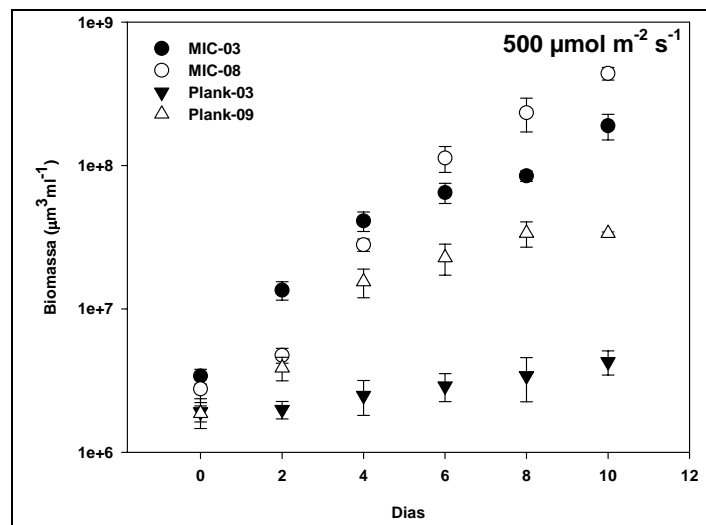


Figura 8 - Crescimento das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* na intensidade luminosa de $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

3.1.3 Alterações morfológicas

Durante o experimento foram observadas alterações quanto ao volume celular e o tamanho dos filamentos das cepas testadas, conforme a intensidade luminosa à qual estavam submetidas. As cepas de *M. aeruginosa* aumentaram o volume celular de forma semelhante da intensidade de 10 para a intensidade de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e mantiveram esse volume nas intensidades mais elevadas de 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($p < 0,05$). A cepa MIC-03, independente da intensidade luminosa, apresentou volume celular maior que MIC-08, evidenciando a diferença existente entre as cepas de *M. aeruginosa* (Fig. 9).

O volume celular das cepas de *P. agardhii* não seguiu o mesmo padrão de alteração que as cepas de *M. aeruginosa*. A cepa Plank-09, independente da

intensidade luminosa, manteve o volume celular constante ($p > 0,05$). Por outro lado, a cepa Plank-03 apresentou redução do volume celular, estatisticamente significativa, em $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($p < 0,05$), demonstrando existir variabilidade entre as respostas dessas cepas de *P. agardhii* a variação de luz. O volume celular da cepa Plank-09 foi maior do que Plank-03 nas intensidades de 10, 40 e $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e semelhante em 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 9).

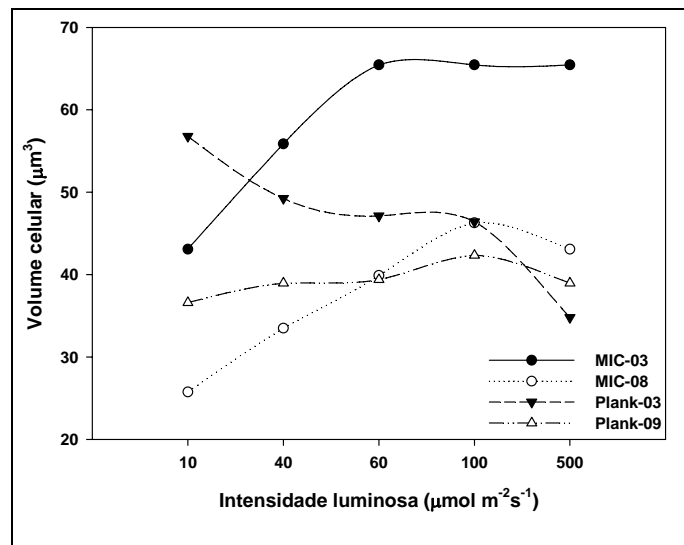


Figura 9 - Variação do volume celular (μm^3) das diferentes cepas de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* em função da intensidade luminosa.

Com relação ao tamanho médio dos filamentos de *P. agardhii*, foram observadas alterações conforme a intensidade luminosa e a cepa testada. A cepa Plank-03 apresentou diferença estatisticamente significativa nas cinco intensidades luminosas ($p < 0,001$). A cepa Plank-09 apresentou diferença no tamanho dos filamentos na intensidade de 10 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto o tamanho foi semelhante em 40, 60 e $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 10).

As cepas Plank-03 e Plank-09 apresentaram variabilidade intraespecífica em relação ao tamanho do filamento nas intensidades luminosas de 40, 60 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Em 40 e $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o tamanho médio dos filamentos de Plank-03 foi maior do que dos filamentos de Plank-09, enquanto em $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o inverso foi observado (Fig. 10).

Na intensidade de 10 e 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ as cepas não apresentaram diferença intraespecífica significativa entre o tamanho dos filamentos. Os menores filamentos foram obtidos quando cultivados na intensidade mais baixa (10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e, principalmente, na mais alta (500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

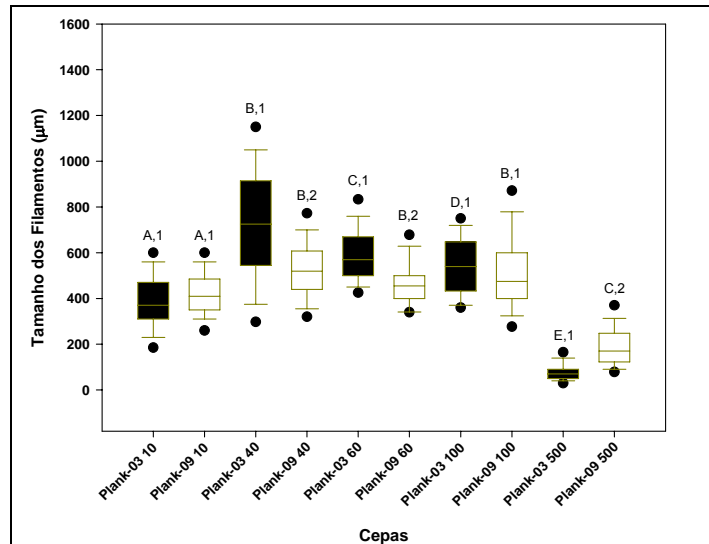


Figura 10 - Tamanho médio dos filamentos (μm) das cepas de *Planktothrix agardhii* nas cinco intensidades luminosas avaliadas.

Nota: As letras indicam grupos homogêneos para cada cepa nas diferentes intensidades luminosas e os números indicam grupos homogêneos das diferentes cepas por intensidade de acordo com o teste Holm-Sidak.

3.2 Avaliação dos efeitos da competição por luz no crescimento das cepas de *P. agardhii* e *M. aeruginosa*.

Todas as cepas de *M. aeruginosa* e *P. agardhii* cresceram em monocultura com taxa de diluição de $0,3 \text{ d}^{-1}$. O aumento da biomassa reduziu a passagem de luz através do cultivo (I_{out}) até que a capacidade de suporte e o estado de equilíbrio ou “steady-state” de cada sistema fossem alcançados (Fig. 11). Em geral, as monoculturas atingiram a estabilidade por volta do décimo dia de cultivo (Fig. 11a-d). As cepas MIC-08 e Plank-09 apresentaram problemas com os capilares e fornecimento do meio de cultura, com consequente redução da biomassa nos dias 24-30 e 10-20, respectivamente. Depois de trocados os capilares, as cepas retornaram ao steady-state alcançado anteriormente.

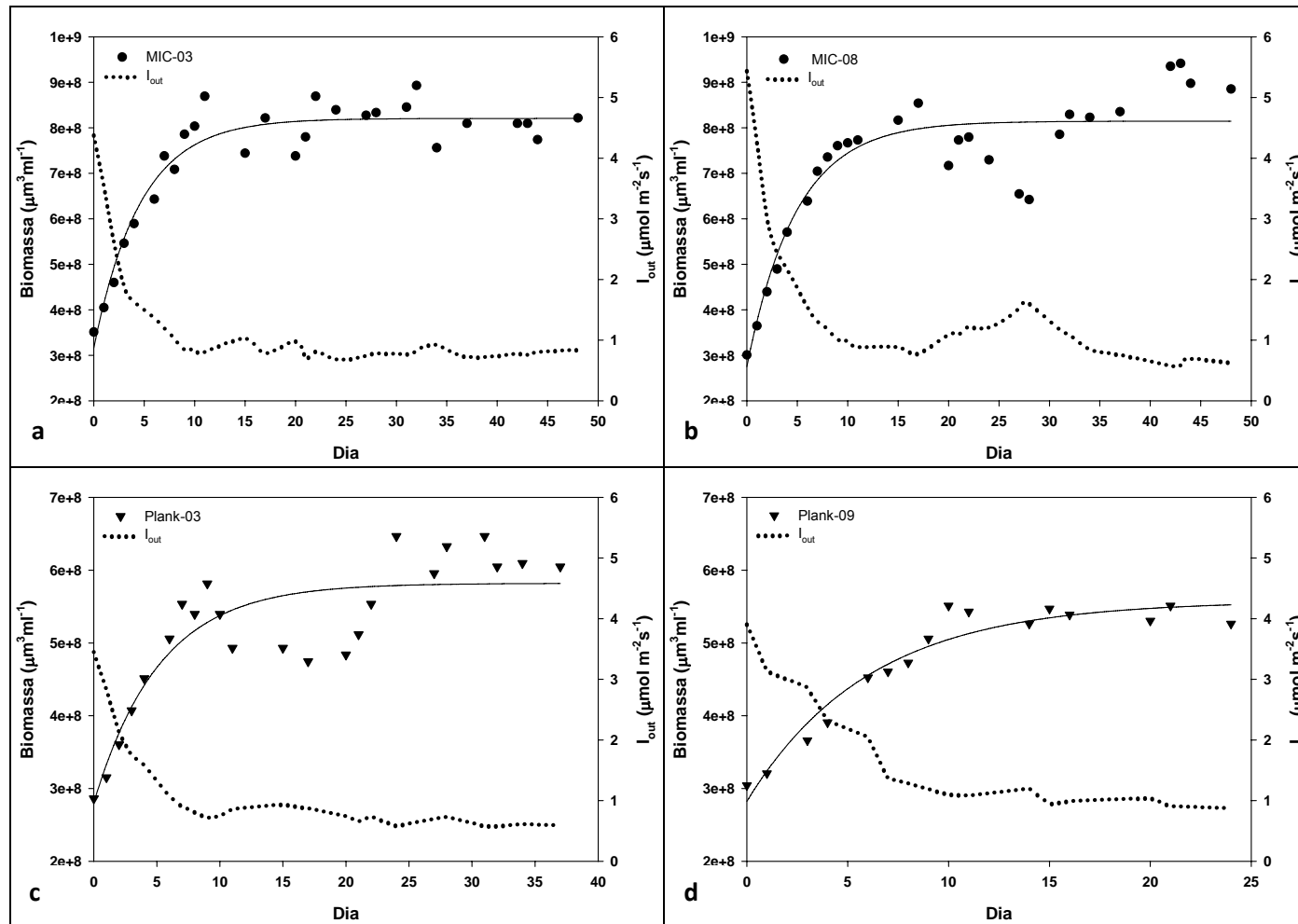


Figura 11 – Variação da biomassa de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nos experimentos de monocultura em quimiostato. Legenda: Variação da biomassa de *M. aeruginosa* (●) e *P. agardhii* (▼) e da penetração de luz nas culturas (I_{out} – linha pontilhada) das cepas (a) MIC-03; (b) MIC-08; (c) Plank-03; (d) Plank-09. A linha sólida representa o crescimento previsto pela regressão segundo a equação $B=B_0+a(1-e^{-kt})$.

A média e o desvio padrão dos dados de biomassa, I_{out} , clorofila, eficiência do fotosistema II (ϕ_{PSII}) e pH obtidos durante o steady-state, foram listados na tabela 3. Ambas as cepas de *M. aeruginosa* alcançaram maior biomassa do que as cepas de *P. agardhii*, com $p < 0,001$. As cepas MIC-03 e MIC-08 não diferiram na quantidade de biomassa produzida ($p > 0,05$), assim como Plank-03 e Plank-09 ($p > 0,05$). A maior biomassa obtida foi $8,18 \times 10^8 \mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ da cepa MIC-03, enquanto a menor biomassa foi $5,37 \times 10^8 \mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$ da cepa Plank-09 (Tabela 3).

Plank-03 apresentou o menor requerimento mínimo de luz ($I_{out} = 0,62 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) entre as cepas testadas, com diferença estatisticamente significativa entre os valores de I_{out} das cepas Plank-09 e MIC-08 ($p < 0,05$). O I_{out} da MIC-03 não diferiu estatisticamente, mas foi superior ao da cepa Plank-03 (Tabela 3). A cepa com maior requerimento mínimo de luz foi Plank-09 ($1,01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), opostamente a outra cepa de *P. agardhii* Plank-03. O I_{out} das cepas MIC-03, MIC-08 e Plank-09 foram semelhantes, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Baseado nesses resultados, a cepa Plank-03 seria considerada a melhor competidora por luz, em comparação com as demais cepas estudadas.

Tabela 3 - Dados das cepas em monoculturas durante o estado estável (steady-state) em limitação de luz.

| | <i>Microcystis aeruginosa</i> | | <i>Planktothrix agardhii</i> | |
|---|--|--|--|--|
| | MIC-03 | MIC-08 | Plank-03 | Plank-09 |
| Biomassa ($\mu\text{m}^3\text{mL}^{-1}$) | $8,18 \times 10^8$ $\pm 5,89 \times 10^7$ | $7,97 \times 10^8$ $\pm 4,48 \times 10^7$ | $6,22 \times 10^8$ $\pm 2,09 \times 10^7$ | $5,37 \times 10^8$ $\pm 9,79 \times 10^6$ |
| I_{out} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) | 0,83 $\pm 0,13$ | 0,96 $\pm 0,18$ | 0,62 $\pm 0,07$ | 1,01 $\pm 0,13$ |
| Clorofila (pg/cél) | 0,66 $\pm 0,03$ | 0,37 $\pm 0,03$ | 0,89 $\pm 0,04$ | 0,70 $\pm 0,04$ |
| ϕ_{PSII} | 0,35 $\pm 0,01$ | 0,53 $\pm 0,01$ | 0,52 $\pm 0,02$ | 0,56 $\pm 0,01$ |
| pH | 8,87 $\pm 0,39$ | 8,72 $\pm 0,43$ | 8,52 $\pm 0,16$ | 8,37 $\pm 0,33$ |

A cepa Plank-03, que apresentou menor I_{out} , também produziu a maior quantidade de clorofila por célula com 0,89 pg/cél, enquanto MIC-08 produziu a menor quantidade, com 0,37pg/cél. Os valores de clorofila apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,001$), exceto para os resultados das cepas MIC-03 e Plank-09 que produziram quantidade semelhante de clorofila por célula (Tabela 3).

O pH dos cultivos apresentou valores abaixo de 9,0 na maior parte do tempo, conforme as médias e desvios mostrados na tabela 3. Desta forma, foi considerado que não houve limitação de CO₂ para o crescimento das cepas.

Nas biculturas, *M. aeruginosa* dominou o cultivo em relação a *P. agardhii* independente da cepa utilizada na competição. A proporção final de *P. agardhii* variou conforme o par de cepas, ocorrendo coexistência para MIC-03/Plank-03 e MIC-08/Plank-09 e exclusão para MIC-03/Plank-09 e MIC-08/Plank-03 (Fig. 12).

O par de cepas MIC-03/Plank-03 cresceu normalmente do 1º ao 6º dia do experimento. A partir do 6º dia Plank-03 permaneceu estável até o 21º dia, quando a biomassa reduziu sutilmente e manteve-se ao final do experimento em $1,4 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$. Apesar de algumas oscilações no crescimento, MIC-03 cresceu durante toda a competição, chegando a uma biomassa final de $7,5 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$, semelhante à biomassa média encontrada no “steady-state” na monocultura, enquanto Plank-03 em bicultura exibiu uma biomassa mais baixa do que em monocultura, indicando que MIC-03 suprimiu o crescimento de Plank-03 em competição. A biomassa total no final da competição foi $8,8 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$ com 85% de contribuição da cepa MIC-03 e 15% da cepa Plank-03.

No cultivo misto das cepas MIC-03/Plank-09, MIC-03 cresceu até o 21º dia do experimento, quando atingiu sua maior biomassa, terminando a competição com $8,7 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$. A biomassa final da cepa MIC-03 em bicultura foi novamente semelhante à encontrada quando cultivada em monocultura. Plank-09 manteve sua biomassa inicial constante até o 12º dia, a partir do qual começou a diminuir gradualmente a biomassa atingindo $2,1 \times 10^7 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$, seu menor valor, no 30º dia (Fig. 12). A redução no crescimento de Plank-09 sugere que esta cepa foi inferior a MIC-03 na competição. A biomassa total no final da competição foi $8,9 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$, sendo 98% de contribuição da cepa MIC-03 e somente 2% da cepa Plank-09.

No cultivo do par MIC-08/Plank-03, ambas as cepas cresceram do 1º ao 6º dia durante a competição. Após o 6º dia, MIC-08 permaneceu com a biomassa estável até o 12º dia, quando voltou a crescer e alcançou o “steady-state” no 21º dia. A cepa Plank-03 reduziu sua biomassa bruscamente entre o 6º e o 9º dia e continuou diminuindo lentamente até o final do experimento, quando alcançou $2,7 \times 10^7 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$.

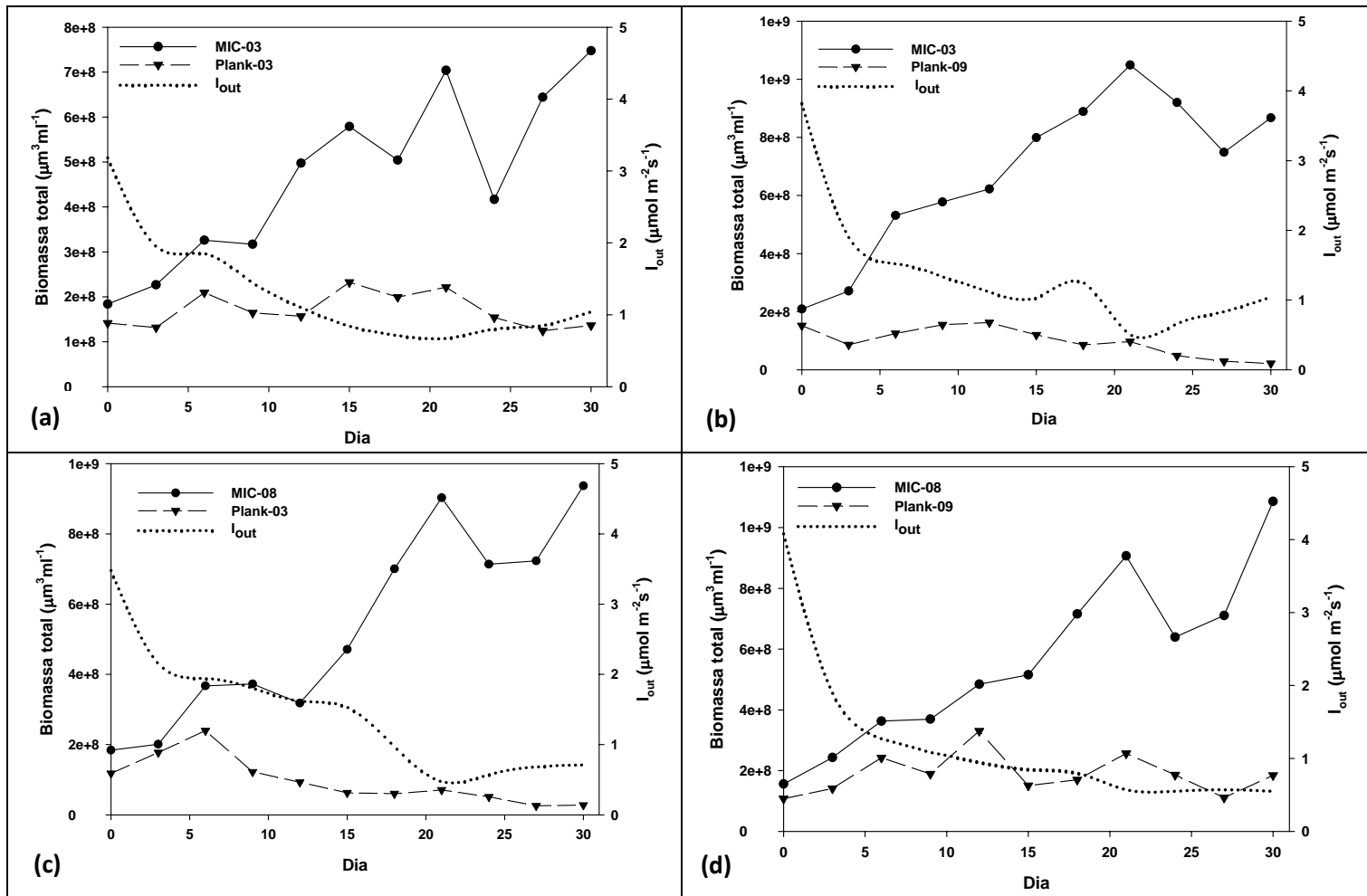


Figura 12 - Variação da biomassa de *Microcystis aeruginosa* e *Planktothrix agardhii* nos experimentos de competição em quimiostato.

Legenda: Variação da biomassa de *M. aeruginosa* (●) e *P. agardhii* (▼) e da penetração de luz nas culturas (I_{out} – linha pontilhada) (a) MIC-03/Plank-03; (b) MIC-03/Plank-09; (c) MIC-08/Plank-03; (d) MIC-08/Plank-09.

Ao final da competição a cepa dominante, MIC-08, contribuiu percentualmente com 97% da biomassa presente no sistema, enquanto Plank-03 contribuiu com apenas 3% (Fig. 12).

A cepa MIC-08, quando cultivada com Plank-09, cresceu do 1º ao 21º dia, obtendo biomassa final igual a $7,5 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$, sendo este valor semelhante ao encontrado durante o “steady-state” da MIC-08 em monocultura ($8,0 \times 10^8 \pm 4,5 \times 10^7 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$). Plank-09 apresentou um pequeno crescimento até o 12º dia, a partir do qual a biomassa foi reduzida e mantida estável até o final da competição, quando obteve $1,8 \times 10^8 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$ (Fig. 12). O crescimento da cepa Plank-09 foi limitado pela competição, uma vez que a biomassa alcançada foi inferior à observada quando cultivada em monocultura ($5,4 \times 10^8 \pm 9,8 \times 10^6 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$). A biomassa total no último dia da competição foi $1,3 \times 10^9 \mu\text{m}^3 \text{mL}^{-1}$, com contribuição percentual de 85% de biomassa da cepa MIC-08 e 15% da cepa Plank-09.

4 DISCUSSÃO

A teoria da competição por luz prediz que as espécies com mais baixos requerimentos mínimos de luz serão os mais fortes competidores (HUISMAN; WEISSING, 1994). Quando a biomassa do fitoplâncton está suficientemente concentrada, é criada a condição ideal de autosombreamento na qual *Planktothrix* se torna dominante, uma vez que tem maior afinidade por luz que *Microcystis* (SCHEFFER *et al.*, 1997). Neste caso, possivelmente *Microcystis* perderá a competição. No entanto, em concentrações mais baixas de biomassa, o crescimento da *Planktothrix* é adversamente afetada devido a fotoinibição e em tais condições *Microcystis* pode vencer a competição (VISSER *et al.*, 2005).

Os resultados do presente estudo demonstram existir uma variabilidade na resposta das cepas de uma mesma espécie quanto à disponibilidade de luz. Esta variabilidade de respostas pode alterar a concepção de que *Planktothrix* sempre vencerá a competição em baixas intensidades luminosas e *Microcystis* em altas intensidades. Enquanto Plank-09 reduziu seu crescimento indicando possivelmente existir um processo de fotoinibição em $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a outra cepa, Plank-03, nesta mesma intensidade, obteve seu maior valor de rendimento máximo e taxa de crescimento dentre as intensidades testadas, apresentando redução do crescimento apenas em $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Fig. 3 e 5). Resultados semelhantes foram observados nos cultivos contínuos em turbidostato que demonstraram o aumento da taxa de crescimento específica de *P. agardhii* até a irradiância de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto em níveis superiores a $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ o crescimento parece ser inibido (TONK *et al.*, 2005). A cepa Plank-09, nas intensidades de 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, entrou na fase estacionária a partir do sexto dia, efeito possivelmente relacionado ao processo de fotoinibição.

Inibição do crescimento de *P. agardhii* também foi observada por Mur, Skulberg e Utkilen (1999) quando exposta por períodos extensos à intensidade luminosa acima de $180 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Muitas cianobactérias são sensíveis a períodos prolongados de alta quantidade de luz. Longas exposições à intensidade luminosa de $320 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ são letais para muitas espécies (MUR; SKULBERG; UTKILEN, 1999). No Complexo Lagunar de Jacarepaguá, ambiente do qual foram isoladas as

cepas estudadas, a intensidade luminosa na superfície pode atingir 500-1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, variação observada ao longo de um ano (GOMES, 2011).

Quando testadas na intensidade de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ as duas cepas de *P. agardhii* apresentaram redução significativa ($p < 0,05$) no rendimento máximo (Fig. 3b), porém de maneiras distintas. A cepa Plank-03 alcançou menor biomassa do que Plank-09 na condição de 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Esta diferença observada pode ser explicada devido às alterações na taxa de crescimento (Fig. 3a e Fig. 5). A cepa Plank-03 sofreu redução significativa na taxa de crescimento de 100 para 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ($p < 0,05$), enquanto a cepa Plank-09 manteve a taxa de crescimento similar àquela encontrada nas outras intensidades, com fase exponencial menos duradoura. Desta forma, Plank-03 produziu biomassa lentamente, mas de maneira constante e Plank-09 cresceu rapidamente até o sexto dia, quando entrou na fase estacionária.

Contudo, a exposição à luz neste experimento ocorreu de forma contínua, característica não observada no ambiente. A flutuação no suprimento de luz pode afetar significativamente interações de competição entre as espécies e promover a coexistência, não podendo ser necessariamente prevista pela dinâmica de monoculturas com luz constante. A heterogeneidade temporal na disponibilidade de luz pode contribuir para a diversidade do fitoplâncton na natureza (LITCHMAN, 2003).

M. aeruginosa é uma espécie conhecida por sua alta resistência a fotoinibição e a elevada disponibilidade de luz (HAVENS, 1998; ELOFF; STEINITZ; SHILO, 1976). As taxas de crescimento da cepa MIC-8 mantiveram-se elevadas em 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, enquanto que para a cepa MIC-3 diminuíram (Fig. 3a). No entanto, não foi possível afirmar a existência de fotoinibição para a cepa MIC-3. A cepa MIC-3 alcançou em 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ seu maior crescimento, indicando, possivelmente, que esta cepa está adaptada a condições de menor intensidade luminosa do que MIC-08. Variações na taxa máxima de crescimento também foram observadas em 32 cepas de *Microcystis aeruginosa* cultivadas em intensidade luminosa de 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As taxas máximas de crescimento variaram de 0,13 a 0,46 por dia (WILSON, A. E.; WILSON, W. A.; HAY, 2006).

Os resultados obtidos para a cepa MIC-08 foram parecidos com o observado por Wiedner *et al.* (2003), onde a taxa de crescimento aumentou até a intensidade de 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Intensidades luminosas superiores não tiveram qualquer efeito

sobre a taxa de crescimento que se manteve constante entre 80 e 403 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (WIEDNER *et al.*, 2003).

Raps *et al.* (1983) observou aumento da taxa de crescimento para *M. aeruginosa* com a elevação dos níveis de intensidade luminosa. Segundo seus resultados, os níveis de intensidade com capacidade de saturar o crescimento parecem exceder 565 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, valores não investigados nos nossos experimentos. Reduções nas taxas de crescimento ocorreram apenas em intensidades abaixo de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, semelhante ao observado nos nossos resultados quando comparado o crescimento em 10 com 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Os dados de crescimento em 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ demonstraram que as cepas de *M. aeruginosa* e *P. agardhii* crescem de forma semelhante com pouca luz. Apesar de não apresentarem diferença estatisticamente significativa entre as taxas de crescimento e rendimentos máximos alcançados, observando as curvas de crescimento parece haver uma tendência de *M. aeruginosa* crescer mais do que *P. agardhii* (Fig. 6). Mais estudos devem ser realizados para melhor esclarecer essa observação. A redução do crescimento, observada nas taxas de crescimento e rendimento máximo para a cepa MIC-03, em 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pode estar relacionada à sua adaptação a pouca luz e, conseqüentemente, maior sensibilidade às altas intensidades luminosas (Fig. 3).

Na condição de 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ uma das cepas de *M. aeruginosa* (MIC-03) alcançou valores de rendimento máximo e taxa de crescimento similares à cepa de *P. agardhii* (Plank-03) (Fig. 3). Uma vez que o gênero *Planktothrix* é conhecido por ser mais sensível a elevadas intensidades luminosas e também por sofrer danos celulares e fotoinibição em irradiâncias mais baixas do que *Microcystis* (VISSER *et al.*, 2005), seria esperado que em 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ as cepas de *M. aeruginosa* apresentassem maior crescimento que as cepas de *P. agardhii*. Os resultados de crescimento em diferentes intensidades luminosas demonstram que *P. agardhii*, uma espécie adaptada a pouca luz, pode crescer em uma ampla variação de intensidade luminosa (Fig. 5). Baseado nestes resultados, caso as duas cepas estejam presentes no ambiente, não seria possível prever a dominância de *Microcystis aeruginosa*.

O mesmo foi observado na intensidade de 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, quando as cepas MIC-03 e MIC-08 (*M. aeruginosa*) e Plank-9 (*P. agardhii*) cresceram de forma

semelhante (Fig. 6b). Os resultados observados quanto ao crescimento em diferentes intensidades luminosas variaram conforme a cepa testada. Logo, o resultado da competição por luz vai depender das cepas presentes no ambiente e da disponibilidade de luz no sistema aquático.

A intensidade luminosa também afetou a morfologia, verificada pela alteração no volume celular e tamanho dos filamentos. Segundo Meffert (1971) *apud* Litchman (2003), o menor comprimento do filamento em cianobactérias pode estar associado com taxas de crescimento mais baixas e estresse fisiológico. As mais baixas taxas de crescimento obtidas nos experimentos de luz foram observadas nas intensidades extremas, 10 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, e coincidiram com os filamentos de menor comprimento. Os filamentos mais curtos foram encontrados em 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, possivelmente relacionado ao estresse da elevada intensidade luminosa.

A variabilidade intraespecífica do comprimento médio dos filamentos observada em cada intensidade luminosa também parece estar associada às taxas de crescimento. Quando as cepas obtiveram taxas de crescimento semelhantes na intensidade de 10 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, o tamanho dos filamentos não apresentou diferença estatística. Em 60, 100 e 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, a cepa com maior taxa de crescimento exibiu o maior comprimento de filamento. Somente em 40 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, provavelmente devido a grande variabilidade dos dados, a relação taxa de crescimento/comprimento do filamento não seguiu o mesmo padrão observado nas outras intensidades (Fig. 3a e Fig. 10).

O aumento do tamanho celular de *M. aeruginosa* foi sugerido por LeBlanc Renaud, Pick e Fortin (2011), quando realizados tratamentos com baixa e alta intensidade luminosa (20 e 80 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), compreendida na faixa de intensidade observada em nossos experimentos. Variações no fotoperíodo também podem induzir alterações morfológicas para *M. aeruginosa*, pois quando cultivada em 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, os fotoperíodos com mais tempo de luz causaram o aumento da área celular (OU *et al.*, 2006).

No presente trabalho, *M. aeruginosa* e *P. agardhii*, quando cultivadas em monocultura no quimiostato, apresentaram diferença na biomassa alcançada no “steady-state” entre as espécies comparadas, no entanto, não exibiram variabilidade entre diferentes cepas da mesma espécie (Fig. 11 e tabela 3). Somente foram observadas diferenças intraespecíficas em relação à produção de clorofila e ao

requerimento mínimo de luz (I_{out}) das cepas. A quantidade de clorofila por célula apresentou diferença estatisticamente significativa entre as cepas MIC-03 e MIC-08 e entre as cepas Plank-03 e Plank-09. Porém, o requerimento mínimo de luz (I_{out}) diferiu apenas entre as cepas de *P. agardhii* (Tabela 3). Segundo os resultados obtidos, a cepa Plank-09 requer mais luz para crescer do que a cepa Plank-03, uma vez que seu I_{out} ($1,01 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foi mais elevado comparativamente à outra cepa. Plank-03 apresentou o menor I_{out} ($0,62 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), apesar de a sua biomassa ter sido inferior a das cepas de *M. aeruginosa*, provavelmente devido ao maior quantidade de clorofila por célula ($0,88 \text{ pg/cél}$) dentre todas as quatro cepas testadas.

Os valores de I_{out} obtidos nos experimentos de monocultura foram similares, sendo a maior diferença observada inferior a $0,4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Segundo a teoria da competição por luz, as espécies com menor requerimento mínimo de luz devem ser as melhores competidoras por este recurso. O conceito de requerimento mínimo de luz somente é capaz de prever o resultado da competição por luz quando os requerimentos das espécies competidoras são suficientemente diferentes (HUISMAN *et al.*, 1999). O único par de cepas que apresentou diferença estatisticamente significativa entre os valores de I_{out} observados nas monoculturas foi MIC-08/Plank-03 com valores, respectivamente, $0,96 (\pm 0,18)$ e $0,62 (\pm 0,07) \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. No entanto, Plank-03 não venceu a competição por luz.

Nos experimentos de competição por luz realizados por Huisman *et al.* (1999), os dados observados de requerimento mínimo de luz também não corresponderam aos resultados dos experimentos de competição. *Aphanizomenon flos-aquae* apresentou I_{out} menor do que *Microcystis* sp., mas não ganhou a competição por luz (HUISMAN *et al.*, 1999). Neste caso, os valores de I_{out} obtidos no experimento de monocultura foram similares entre as espécies e os dados de requerimento mínimo de luz obtidos a partir do ajuste do modelo proposto por Huisman e Weissing (1994) conseguiram explicar melhor os resultados da competição.

As divergências entre os valores de requerimento mínimo de luz observado no experimento e o ajustado pelo modelo foram atribuídas a diferenças no espectro de absorção de luz das espécies e a forma como os dados foram calculados (HUISMAN *et al.* 1999). Os requerimentos mínimos de luz observados foram baseados somente nos dados de “steady-state”. Em contraste, os requerimentos

mínimos de luz ajustados foram derivados de ajustes feitos no modelo durante todo o tempo de curso do experimento de monocultura, sendo possível obter mais informações sobre a espécie estudada. Desta forma, alguns aspectos como a fotoadaptação e a utilização de diferentes comprimentos de onda do espectro de luz pelas espécies, possivelmente foram levados em conta de forma implícita nos parâmetros estimados pelo ajuste do modelo (HUISMAN *et al.*, 1999).

Outros autores observaram a competição por luz entre espécies (*Synechocystis* e *Chlorella*) que, em quimiostato, também alcançaram valores próximos de I_{out} . Experimentos em monocultura mostraram que o requerimento mínimo de luz de *Synechocystis* foi apenas ligeiramente menor do que o requerimento de *Chlorella*, porém, durante dois meses, as espécies coexistiram com biomassas equivalentes (PASSARGE *et al.*, 2006). Nos pares MIC-03/Plank-03 e MIC-08/Plank-09, *P. agardhii* conseguiu manter sua biomassa próxima ao valor inicial do inóculo ao longo dos 30 dias de experimento (Fig. 12a e 12d).

A existência de um pequeno inóculo estável de *P. agardhii* no ambiente pode garantir o seu crescimento e a alternância da dominância entre essas espécies, caso ocorra alguma alteração nas condições ambientais que mantêm *M. aeruginosa* dominante. No entanto, dependendo da combinação das cepas testadas, *P. agardhii* foi excluída nos pares MIC-03/Plank-09 e MIC-08/Plank-03, contribuindo com, respectivamente, 2% e 3% da biomassa total do quimiostato no último dia (Fig. 12b e 12c). Esses dados ressaltam a importância da variabilidade intraespecífica para a manutenção das espécies do ambiente.

Ao competirem, *M. aeruginosa* superou a biomassa de *P. agardhii* imediatamente após o início do experimento, resultando em sua dominância antes de começar a competição por luz (Fig. 12). A biomassa mantida durante o “steady-state” da monocultura demonstrou que *M. aeruginosa*, nas mesmas condições de crescimento de *P. agardhii*, atingiu maior biomassa e, conseqüentemente, maior capacidade de suporte. A competição demonstrou que *M. aeruginosa* cresceu em bicultura assim como em monocultura, não sendo afetada pela interação com a outra espécie, enquanto o crescimento de *P. agardhii* sofreu redução, pois não atingiu a biomassa observada nas monoculturas.

Populações de *Microcystis* apresentam diversidade genética entre diferentes lagos na mesma localidade. Esta diversidade, no entanto, está principalmente

associada à grande variabilidade genética dentro do próprio lago (CAI *et al.* 2012; MILLER; McMAHON, 2011; WILSON *et al.*, 2005). A existência de variabilidade genética é um dos pré-requisitos para que possa ocorrer evolução. A seleção natural direcional e disruptiva favorecem a sobrevivência de genótipos específicos correspondentes às condições ambientais extremas (DVORNYK; NEVO, 2003). As cepas utilizadas nos experimentos foram isoladas do Complexo lagunar de Jacarepaguá, local onde ocorrem florações de cianobactérias há, pelo menos, dez anos (GOMES, *et al.* 2009). A turbidez constantemente elevada nesse sistema aquático pode ter contribuído para selecionar cepas de *Microcystis* adaptadas a esta condição de pouca luz e, com isso, serem melhores competidoras por luz do que *Planktothrix*.

Estresses ambientais, tais como níveis de radiação solar e temperatura, foram altamente correlacionados com polimorfismos observados por Dvornyk e Nevo (2003), sugerindo que genes relacionados a processos fisiológicos e bioquímicos dependentes da luz podem ser suscetíveis ao estresse. Os estresses ambientais de longa duração, ao induzirem a variação genética, podem aumentar as taxas de evolução (DVORNYK; NEVO, 2003).

A hipótese de interação alelopática entre as espécies não pode ser descartada. Efeitos alelopáticos podem ser causados por metabólitos produzidos por cianobactérias que atuam principalmente reduzindo a atividade fotossintética e taxas de crescimento de outros organismos autotróficos planctônicos (SMITH; DOAN, 1999). Dois peptídeos produzidos por cepas do gênero *Microcystis*, “kasumigamide” (ISHIDA; MURAKAMI, 2000) e “microcin SF608” (WIEGAND *et al.* 2002), foram identificados e isolados por apresentar atividade contra organismos fotossintetizantes, respectivamente, *Chlamydomonas neglecta* (Chlorophyta) e *Vesicularia dubyana* (musgo aquático). No entanto, o papel das microcistinas, como substâncias alelopáticas ainda não está totalmente esclarecido, existindo evidências positivas e negativas quanto ao seu efeito de inibição do crescimento (BABICA; BLÁHA; MARŠÁLEK, 2006; LEBLANC RENAUD; PICK; ARANDA-RODRIGUES, 2005; PFLUGMACHER, 2002).

A produção de substâncias inibidoras do crescimento também foi relatada para *Planktothrix rubescens* que, dependendo da origem e da cepa testada, foi capaz de inibir o crescimento de *Planktothrix agardhii* e *Mougeotia gracillima*. Desta

forma, a atividade alelopática pode potencialmente inibir competidores coexistentes, assim como o fitoplâncton isolado de outros ambientes aquáticos, e esta capacidade pode variar entre diferentes linhagens de *Planktothrix* (OBERHAUS; BRIAND; HUMBERT, 2008).

A partir das informações mencionadas acima, a dominância de *M. aeruginosa* durante a competição também pode estar relacionada a inibição do crescimento de *P. agardhii* devido a produção e liberação de algum composto com atividade alelopática por *M. aeruginosa*, uma vez que atividades de vários desses compostos podem afetar a competição entre organismos fotossintetizantes em ecossistemas aquáticos (BABICA; BLÁHA; MARŠÁLEK, 2006). Com isso, o resultado da competição seria afetado por outro fator independente da limitação de luz, principalmente para os pares MIC-03/Plank-09 e MIC-08/Plank-03 em que ocorreu exclusão competitiva.

5 CONCLUSÕES

As cepas de *M. aeruginosa* e *P. agardhii* apresentaram variabilidade intra e interespecífica avaliada através das taxas de crescimento e rendimentos máximos comparados entre os tratamentos com luz. As cepas de uma mesma espécie atingiram seus melhores valores de taxa de crescimento e rendimento máximo em intensidades luminosas diferentes. Com isso, a diversidade de cepas no ambiente pode garantir a dominância da espécie uma vez que conseguem sobreviver em faixas diferentes de intensidade luminosa.

M. aeruginosa obteve maior biomassa do que *P. agardhii* quando cultivada na intensidade luminosa mais elevada ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), corroborando que *P. agardhii* tem maior sensibilidade à luz do que *M. aeruginosa*. Porém, na intensidade mais baixa ($10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) as taxas de crescimento e rendimento máximo das duas espécies foram similares, indicando a possível adaptação de *M. aeruginosa* a baixas intensidades luminosas.

Cepas de *P. agardhii*, apesar de reduzir seu rendimento máximo, conseguiram crescer em intensidades luminosas consideradas elevadas para o gênero, 100 e $500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Evidenciando que *P. agardhii* pode ocorrer em ambientes com grandes amplitudes de luminosidade.

Quando cultivadas em quimiostato, as monoculturas de *M. aeruginosa* alcançaram maior biomassa que *P. agardhii* e valores similares de I_{out} . Ao competirem, *M. aeruginosa* ultrapassa rapidamente a biomassa de *P. agardhii*, excluindo a espécie competidora ou mantendo baixa sua biomassa no quimiostato. Desta forma, *M. aeruginosa* ganha a competição por luz independentemente da cepa avaliada, mas a coexistência de *P. agardhii* variou conforme a combinação do par de cepas competidoras. Estes resultados ajudam a entender a coocorrência destas espécies no ambiente e a dominância de *M. aeruginosa* mesmo em condições de baixa luminosidade.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. G.; AZEVEDO, S. M. F. O. Effects of nutrient concentrations on growth and hepatotoxin production by *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria). *Verhandlungen des Internationalen Verein Limnologie*, Stuttgart, v. 26, p. 1657-1658, 1998.
- ALLEN, M. M.; STANIER, R. Y. Growth and division of some unicellular blue-green algae. *Journal of General Microbiology*, v. 51, p. 199-202, 1968.
- BABICA, P.; BLÁHA, L.; MARŠÁLEK, B. Exploring the natural role of microcystins: a review of effects on photoautotrophic organisms. *Journal of Phycology*, v. 42, p. 9–20, 2006.
- BHAYA, D.; SCHWARZ, R.; GROSSMAN, A. R. Molecular responses to environmental stress. In: WHITTON, B. A. & POTTS, M. (eds.). *The ecology of Cyanobacteria: Their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002. p.397-442.
- BONILLA, S. *et al.* What drives the distribution of the bloom-forming cyanobacteria *Planktothrix agardhii* and *Cylindrospermopsis raciborskii*? *FEMS Microbiology Ecology*, v. 79, n.3, p. 594-607, 2012.
- BRIAND, E. *et al.* Competition between microcystin- and non-microcystin-producing *Planktothrix agardhii* (cyanobacteria) strains under different environmental conditions. *Environmental Microbiology*, v. 10, n.12, p. 3337–3348, 2008.
- BRIAND, E. *et al.* Spatiotemporal changes in the genetic diversity of a bloom-forming *Microcystis aeruginosa* (cyanobacteria) population. *ISME Journal*, v. 3, p. 419–429, 2009.
- CAI, Y. *et al.* Spatial heterogeneity of cyanobacterial communities and genetic variation of *Microcystis* populations within large, shallow eutrophic lakes (Lake Taihu and Lake Chaohu, China). *Journal of Environmental Sciences*, v. 24, n.10, p. 1832–1842, 2012.
- DVORNYK, V.; NEVO, E. Genetic polymorphism of cyanobacteria under permanent natural stress: A lesson from the “Evolution Canyons”. *Research in Microbiology*, v. 154, p. 79–84, 2003.

ELOFF, J. N.; STEINITZ, Y.; SHILO, M. Photooxidation of Cyanobacteria in Natural conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 31, n.1, p. 119-126, 1976.

FERRÃO-FILHO, A. S.; DOMINGOS, P.; AZEVEDO, S. M. F. O. Influences of a *Microcystis aeruginosa* Kutzinger bloom on zooplankton populations in Jacarepagua Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil). *Limnologica*, v. 32, p. 295-308, 2002.

FOGG; TAKE. Algae cultures and phytoplankton ecology. The University of Wisconsin Press, Ltd., London, 1987. 3ª Ed. 269p.

GOMES, A. M. Estudo Ecofisiológico de cianobactérias formadoras de florações na lagoa de Jacarepaguá. 2011. 143 f. Tese de Doutorado. Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

GOMES, A.M. *et al.* Florações de cianobactérias tóxicas em uma lagoa costeira hipereutrófica do Rio de Janeiro/RJ (Brasil) e suas consequências para saúde humana. *Oecologia Brasilienses*, v. 13, n.2, p. 329–345, 2009.

HALSTVEDT, C. B. *et al.* Seasonal dynamics and depth distribution of *Planktothrix* spp. in Lake Steinsfjorden (Norway) related to environmental factors. *Journal of plankton research*, v. 29, n.5, p. 471–482, 2007.

HAVENS, K. E. *et al.* Light availability as a possible regulator of cyanobacteria species composition in a shallow subtropical lake. *Freshwater Biology*, v. 39, p. 547-556, 1998.

HUISMAN, J.; WEISSING F. J. Light-limited growth and competition for light in well-mixed aquatic environments: an elementary model. *Ecology*, v. 75, p. 507–520, 1994.

HUISMAN, J. *et al.* Competition for light between phytoplankton species: experimental testes of mechanistic theory. *Ecology*, v. 80, n.1, p. 211–222, 1999.

HUISMAN, J.; HULOT, F. D. Population dynamics of harmful cyanobacteria: factors affecting species composition. *In*: HUISMAN, J.; MATTHIJS, H. C. P. & VISSER, P. M. *Harmful Cyanobacteria*. Ed. Springer Netherlands, 2005. v. 3, p.109-142.

ISHIDA, K.; MURAKAMI, M. Kasumigamide, an Antialgal Peptide from the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Organic Chemistry*, v. 65, p. 5898-5900, 2000.

ISTVÁNOVICS, V. *et al.* Growth and phosphate uptake kinetics of the cyanobacterium, *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanophyceae) in throughflow cultures. *Freshwater Biology*, v. 43, p. 257-275, 2000.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota: chroococcales. *In: FISCHER, G. Süßwasserflora von Mitteleuropa, Band 19, Teil 1.* 1999. 548 p.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Cyanoprokaryota 2. Teil: Oscillatoriales. *In: B. BÜDEL; L. KRIENITZ; G. GÄRTNER & M. SCHAGERL (eds.). Süßwasserflora von Mitteleuropa.* Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München, 2005. v.19.

LEBLANC RENAUD, S.; PICK, F. R.; ARANDA-RODRIGUES, R. Allelopathic effects of the toxic cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on duckweed, *Lemna gibba* L. *Environmental Toxicology*, v. 20, n. 1, p. 67-73, 2005.

LEBLANC RENAUD, S.; PICK, F. R.; FORTIN, N. Effect of Light Intensity on the Relative Dominance of Toxicogenic and Nontoxicogenic Strains of *Microcystis aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 77, n. 19, p. 7016–7022, 2011.

LITCHMAN, E. Competition and coexistence of phytoplankton under fluctuating light: experiments with two cyanobacteria. *Aquatic Microbiol Ecology*, v. 31, p. 241–248, 2003.

LOURENÇO, S. O. Isolamento de microalgas, purificação e medidas de crescimento. *In: _____.* *Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações.* São Carlos: RiMa, 2006. Cap. 5, p. 221-292.

LYCK, S.; CHRISTOFFERSEN, K. Microcystin quota, cell division and microcystin net production of precultured *Microcystis aeruginosa* CYA 228 (Chroococcales, Cyanophyceae) under field conditions. *Phycologia*, v. 42, p. 667– 674, 2003.

LÜRLING, M.; BEEKMAN W. Grazer-induced defenses in *Scenedesmus* (Chlorococcales; Chlorophyceae): coenobium and spine formation. *Phycologia*, v. 38, p. 368–376, 1999.

MANN, N.H. Detecting the environment. *In: WHITTON, B. A. & POTTS, M. (eds.). The ecology of Cyanobacteria: Their diversity in time and space.* Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002. p.367-395.

MARINHO, M. M.; AZEVEDO, S. M. F. O. Influence of N/P ratio on competitive abilities for nitrogen and phosphorus by *Microcystis aeruginosa* and *Aulacoseira distans*. *Aquatic Ecology*, v. 41, n. 4, p. 525-533, 2007.

MEFFERT, M. E. Cultivation and growth of 2 planktonic *Oscillatoria* species. *Mitt Int Ver Limnol* 19:189–20, apud LITCHMAN, E., 2003. Competition and coexistence of phytoplankton under fluctuating light: experiments with two cyanobacteria. *Aquatic Microbial Ecology*, v. 31, p. 241–248, 1971.

MILLER, T. R.; McMAHON, K. D. Genetic diversity of cyanobacteria in four eutrophic lakes. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 78, p. 336–348, 2011.

MUR, L. C.; SKULBERG, O. M.; UTKILEN, H. Cyanobacteria in the environment. *In*: CHORUS, I. & BARTRAM, J (eds). *Toxic Cyanobacteria in Water. A guide to their public health consequences, monitoring and management*. World Health Organization, Geneva, 1999. 30 p.

NICKLISCH, A.; SHATWELL, T.; KÖHLER, J. Analysis and modelling of the interactive effects of temperature and light on phytoplankton growth and relevance for the spring bloom. *Journal of plankton research*, v. 30, n.1, p. 75-91, 2008.

OBERHAUS, L.; BRIAND, J-F; HUMBERT, J-F. Allelopathic growth inhibition by the toxic, bloom-forming cyanobacterium *Planktothrix rubescens*. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 66, p. 243–249, 2008.

OH, H. *et al.* Microcystin production by *Microcystis aeruginosa* in a phosphorus-limited chemostat. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, p.176–179, 2000.

O'BRIEN, K. R. *et al.* Disaggregation of *Microcystis aeruginosa* under turbulent mixing: laboratory experiments in a grid-stirred tank. *Hydrobiologia*, v. 519, p. 143-152, 2004.

OLIVER, R. L.; GANF, G. G. Freshwater blooms. *In*: WHITTON, B. A. & POTTS, M. (eds.) *The ecology of Cyanobacteria: Their diversity in time and space*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2002. p.150-183.

OU, M. *et al.* Effects of Iron and Phosphorus on *Microcystis* Physiological Reactions. *Biomedical and environmental sciences*, v. 19, p. 399-404, 2006.

PAERL, H.W. Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine and inland waters. *Limnology and Oceanography*, v. 33, n. 4, p. 823-847, 1988.

- PASSARGE, J. *et al.* Competition for nutrients and light: stable coexistence, alternative stable states, or competitive exclusion? *Ecological Monographs*, v. 76, n. 1, p. 57–72, 2006.
- PFLUGMACHER, S. Possible allelopathic effects of cyanotoxins, with reference to microcystin-LR, in aquatic ecosystems. *Environmental Toxicology*, v.17, n. 4, p. 407-13, 2002.
- PRINCE, E. K. *et al.* Competing phytoplankton undermines allelopathy of a bloom-forming dinoflagellate. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 275, p. 2733–2741, 2008.
- RAPS, S. *et al.* Adaptation of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to Light Intensity. *Plant Physiology*, v. 72, p. 829-832, 1983.
- REPKA, S. *et al.* Effects of nutrients on growth and nodularin production of *Nodularia* strains GR8b. *Microbial Ecology*, v. 42, p. 606–613, 2001.
- REYNOLDS, C. S. *et al.* On the annual cycle of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* Kütz. Emend. Elenkin. *Philosophical Transactions of the Royal Society London*, Ser. B, v. 293, p. 419–477, 1981.
- REYNOLDS, C. S. *Vegetation Processes in the Pelagic: a Model for Ecosystem Theory*. Oldendorf, Germany: Ecology Institute, 1997. xxvii, 371 p.
- ROBARTS, R. D.; ZOHARY, T. *Microcystis aeruginosa* and underwater light attenuation in a hypertrophic lake (Hartbeespoort Dam, South Africa). *Journal of Ecology*, v. 72, p. 1001-1017, 1984.
- RÜCKER, J.; WIEDNER, C.; ZIPPEL, P. Factors controlling the dominance of *Planktothrix agardhii* and *Limnothrix redekei* in eutrophic shallow lakes. *Hydrobiologia*, v. 342/343, p. 107–115, 1997.
- SCHEFFER, M. *et al.* On the dominance of filamentous cyanobacteria in shallow, turbid lakes. *Ecology*, v. 78, n.1, p. 272-282, 1997.
- SMITH, G. D.; DOAN, N. T. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants. *Journal of Applied Phycology*, v. 11, p. 337–344, 1999.

TOMIOKA, N.; IMAI, A.; KOMATSU, K. Effect of light availability on *Microcystis aeruginosa* blooms in shallow hypereutrophic Lake Kasumigaura. *Journal of Plankton Research*, v. 33, n. 8, p. 1263–1273, 2011.

TONK, L. *et al.* The Microcystin Composition of the Cyanobacterium *Planktothrix agardhii* Changes toward a More Toxic Variant with Increasing Light Intensity. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n. 9, p. 5177–5181, 2005.

UTKILEN, H.; GJØLME, N. Toxin Production by *Microcystis aeruginosa* as a Function of Light in Continuous Cultures and Its Ecological Significance. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 58, n. 4, p. 1321-1325, 1992.

VERSPAGEN, J. M. H. *et al.* Benthic–pelagic coupling in the population dynamics of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. *Freshwater Biology*, v. 50, p. 854–867, 2005.

VIA-ORDORIKA, L. *et al.* Distribution of microcystinproducing and non-microcystin-producing *Microcystis* sp. in European freshwater bodies: detection of microcystins and microcystin genes in individual colonies. *Systematic Applied Microbiology*, v. 27, p. 592–602, 2004.

VISSER, P. M.; IBELINGS, B. W.; MUR, L. R.; WALSBY, A. A. The ecophysiology of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. In: HUISMAN, J.; MATTHIJS, H. C. P. & VISSER, P. M. (eds.). *Harmful cyanobacteria*. Springer Netherlands, 2005. v. 3, p. 109-142.

WEBB, E. A. *et al.* Phenotypic and genotypic characterization of multiple strains of the diazotrophic cyanobacterium, *Crocospaera watsonii*, isolated from the open ocean. *Environmental Microbiology*, v. 11, n.2, p. 338–348, 2009.

WIEDNER, C. *et al.* Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, p. 1475–1481, 2003.

WIEGAND, C. *et al.* Effects of microcin SF608 and microcystin-LR, two cyanobacterial compounds produced by *Microcystis* sp., on aquatic organisms. *Environmental Toxicology*, v. 17, n.4, p. 400-406, 2002.

WILSON, A.E. *et al.* Genetic Variation of the Bloom-Forming Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* within and among Lakes: Implications for Harmful Algal Blooms. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, n.10, p. 6126–6133, 2005.

WILSON, A. E.; WILSON, W. A.; HAY, M. E. Intraspecific variation in growth and morphology of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, p. 7386–7389, 2006.

YOSHIDA, M. *et al.* Genetic diversity of the toxic cyanobacterium *Microcystis* in Lake Mikata. *Environmental Toxicology*, v. 20, p. 229–234, 2005.

ZAPOMĚLOVÁ, E. *et al.* Morphological Variability in Selected Heterocystous Cyanobacterial Strains as a Response to Varied Temperature, Light Intensity and Medium Composition. *Folia Microbiologica*, v. 53, n.4, p. 333–341, 2008.