



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**DIFERENTES RESPOSTAS DE ESPÉCIES FITOPLANCTÔNICAS AOS EFEITOS
DA INTERAÇÃO COM *Ceratophyllum demersum* L. E HERBIVORIA POR *Moina
micrura* Kurz, 1875**

VITOR RICARDO DE SOUZA

RECIFE,

2019

VITOR RICARDO DE SOUZA

**DIFERENTES RESPOSTAS DE ESPÉCIES FITOPLANCTÔNICAS AOS EFEITOS
DA INTERAÇÃO COM *Ceratophyllum demersum* L. E HERBIVORIA POR *Moina
micrura* Kurz, 1875**

Monografia apresentada ao Curso
de Licenciatura Plena em
Ciências Biológicas/UFRPE como
requisito parcial para obtenção do
grau de Licenciado em Ciências
Biológicas.

Orientadora: Profa. Ariadne do
Nascimento Moura

RECIFE,

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S729d Souza, Vitor Ricardo de
Diferentes respostas de espécies fitoplanctônicas aos efeitos da interação com *Ceratophyllum demersum* L. e herbivoria por *Moina micrura* Kurz, 1875 / Vitor Ricardo de Souza. - 2019.
37 f. : il.
- Orientadora: Ariadne do Nascimento Moura.
Inclui referências.
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Licenciatura em Ciências Biológicas, Recife, 2020.
1. Aleloquímicos. 2. Cepas. 3. Cianobactéria. 4. Microcistinas. 5. Predação. I. Moura, Ariadne do Nascimento, orient. II. Título

CDD 574

VITOR RICARDO DE SOUZA

**DIFERENTES RESPOSTAS DE ESPÉCIES FITOPLANCTÔNICAS AOS EFEITOS
DA INTERAÇÃO COM *Ceratophyllum demersum* L. E HERBIVORIA POR *Moina
micrura* Kurz, 1875**

Comissão Avaliadora:

Profa. Dra. Ariadne do Nascimento Moura – UFRPE
Orientador

Profa. Dra. Carmen Sílvia Zickel – UFRPE
Titular

MSc. Silvano Lima do Nascimento Filho – UFRPE
Titular

Prof. Dr. Watson Arantes Gama Junior – UFRPE
Suplente

RECIFE,
2019

Dedicatória

A Deus, meu grande amor, que
esteve comigo nos momentos mais
difíceis e me presenteou com
sabedoria, graça e fé. Sou feliz
porque tenho você.

Há beleza em coisas simples.
Há força no olhar do fraco e abatido.
Há esperança para o que tem fé.
Há muito amor para o que espera sabiamente.

Vitor Ricardo.

AGRADECIMENTOS

Antes de tudo e qualquer coisa, agradeço a Deus, pois sem Ele não teria conseguido chegar até aqui. Foi Ele quem me sustentou, deu graça, amor e forças.

Agradeço à Universidade Federal Rural de Pernambuco pelo apoio institucional.

Agradeço à Fundação de Ambaro a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro ao conceder bolsa de iniciação científica.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, a coordenadora Profa. Maria Teresa Buril e a secretária Cynara Leleu.

A concretização do presente trabalho ocorreu, também, graças a cooperação de diversas pessoas, dentre estas quero agradecer:

À Professora Ariadne do Nascimento Moura, minha orientadora, mentora e mãe científica. Suas palavras e tamanho amor ao ler e corrigir meus trabalhos foram essenciais. Agradeço por ter investido e cooperado em minha formação profissional.

À Cihelio Alves Amorim, o “Cici”, que com muita dedicação pensou no projeto e esteve presente durante todas as etapas, desde a escrita, desenvolvimento dos experimentos e obtenção dos resultados. Você é o cara!

Aos meus irmãos e padrinhos científicos, Silvano do Nascimento (“Sil Sil”) e Anamaria Diniz do Nascimento (“Anamary”) que me deram muita força e conselhos maravilhosos. Sou profundamente grato por terem estado comigo nos momentos difíceis.

Aos meus irmãos de iniciação científica, Celina Valença e Rafael Moura-Falcão, por todo apoio, conselhos e as saídas que tanto ajudaram a espairar a mente. Em especial ao Rafa, este esteve durante a realização dos experimentos, colocando as mãos na massa e dando início a um grande sonho.

Ao Prof. Watson Arantes que, mesmo chegando “agora”, me deu conselhos preciosos e esclareceu muitas dúvidas na metodologia, além disto, corrigiu com muito zelo meus resumos.

Aos meus amigos do Laboratório de Ficologia: Raylane, Jhullyrson, Lucas Monteiro, Mota e Samara. Amo vocês!

À Profa. Claudia Ulisses e sua equipe, à Profa. Cristiane Castro e sua equipe, à Profa. Carmen Zickel e sua equipe, e a Edna (Técnica do laboratório de histologia), que me cederam gentilmente água destilada, assim, mesmo em momento de crise, pude iniciar os experimentos. No total, foram mais de 30 L obtidos.

À Profa. Elisangela Bezerra e a Sirlei Silvestre, coordenadora do curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da UFRPE e a secretária da coordenação, respectivamente, por todo apoio e disposição na resolução de problemas administrativos, além da alegria contagiante.

Aos meus pais, Wellington Barros e Márcia Ricardo, que me patrocinaram e me deram suporte para realizar sonhos.

Aos meus irmãos Jocildo Neto e João Manoel, avós Celina Ricardo e Maria Barros, tias Audrey Rose Ricardo e Alcineide Barros, e aos demais tios, tias, primos, primas e agregados.

À família IBM Ur-11 que esteve comigo constantemente em oração e com palavras de exortação e ânimo.

Aos meus amigos, Arthur Macedo, Jade Porfíria e Amanda Albuquerque, se eu fosse citar cada contribuição direta e indireta ao meu trabalho e a minha vida, não haveria espaço neste parágrafo.

À equipe do DRCA: Marcela, Janaína, Alessandra e Evandro, vocês foram incríveis.

A todos os docentes que gentilmente me liberaram das aulas durante os experimentos e que participaram da minha formação profissional e pessoal.

À turma LB3 2016.1.

Obrigado!

RESUMO

O presente trabalho visa compreender os efeitos alelopáticos indiretos de *Ceratophyllum demersum* e a herbivoria de *Moina micrura* sobre *Microcystis aeruginosa* e *Raphidocelis subcapitata*. Para realização do estudo, cepas de algas foram cultivadas em erlenmeyers de 1000 mL preenchidos com 800 mL de meio ASM1, e sob condições de temperatura e luminosidade controladas. Foram realizados dois experimentos paralelos, com duração de seis dias, em uma sala asséptica. O primeiro experimento consistiu em quatro tratamentos com tréplicas, o qual avaliou-se a interação de *C. demersum* + as cepas, *M. micrura* + as cepas, *C. demersum* e *M. micrura* + as cepas, e o controle (cepas em proporções iguais 1:1). O segundo experimento contou com cinco tratamentos com tréplicas, onde as algas foram postas em coexistência sob diferentes concentrações: 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:1. Foram coletadas alíquotas de 2 mL a cada dois dias (0, 2, 4 e 6) para determinação da densidade e posterior obtenção da biomassa. Os dados foram tratados estatisticamente através de uma ANOVA *one-way* com nível de significância estabelecido em 5% ($p > 0,05$). Inicialmente os dados foram testados quanto a normalidade prevista pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. No experimento 1, *C. demersum* e *C. demersum* + *M. micrura* inibiram significativamente *M. aeruginosa* a partir do segundo dia ($p < 0,01$), enquanto que, *R. subcapitata* não apresentou diferenças durante todo o experimento ($p > 0,05$). Nos tratamentos com apenas *M. micrura*, não houve alteração na densidade das cepas ($p > 0,05$). Possivelmente *C. demersum* inibiu o crescimento da cianobactéria através da liberação de aleloquímicos, mas a clorófita foi menos afetada por dispor de maior resistência fisiológica. No experimento 2, *M. aeruginosa* não inibiu o crescimento de *R. subcapitata* em proporções iguais (1:1) e dominantes (3:1), mas foi inibida por *Raphidocelis* em baixas concentrações (1:3). É possível que a clorófita seja estimulada quando algas competidoras estão em menores densidades. Concluimos que a ação de *C. demersum* é eficiente no controle de *M. aeruginosa*, diferentemente de *M. micrura*. Em baixas concentrações, *M. aeruginosa* pode ser inibida por *R. subcapitata*, enquanto que, *R. subcapitata* apresenta possível resistência tanto aos aleloquímicos da macrófita, quanto às microcistinas da cianobactéria.

Palavras-chave: aleloquímicos, cepas, cianobactéria, microcistinas, predação.

ABSTRACT

The present work aims to understand the indirect allelopathic effects of *Ceratophyllum demersum* and the herbivory of *Moina micrura* on *Microcystis aeruginosa* and *Raphidocelis subcapitata*. To carry out the study, the algae strains were grown in 1000 mL erlenmeyers, filled with 800 mL of ASM1 medium, and under controlled temperature and light conditions. Two parallel experiments, lasting six days, were carried out in an aseptic room. The first experiment consisted of four treatments with triples, which evaluated the interaction of *C. demersum* + strains, *M. micrura* + strains, *C. demersum* and *M. micrura* + strains, and the control (strains in proportions equal 1:1). The second experiment had five treatments with triples, where the algae were coexisted under different concentrations: 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 and 0:1. 2 mL aliquots were collected every two days (0, 2, 4 and 6) to determine density and subsequently obtain biomass. The data were treated statistically through ANOVA *one-way* with a significance level set at 5% ($p > 0.05$). Initially, the data were tested for normality predicted by the Kolmogorov-Smirnov test. In experiment 1, *C. demersum* and *C. demersum* + *M. micrura* significantly inhibited *M. aeruginosa* from the second day ($p < 0.01$), whereas *R. subcapitata* did not show any differences during the whole experiment ($p > 0.05$). In treatments with only *M. micrura*, there was no change in the density of the strains ($p > 0.05$). Possibly *C. demersum* inhibited the growth of cyanobacteria through the release of allelochemicals, but chlorophyte was less affected by having greater physiological resistance. In experiment 2, *M. aeruginosa* did not inhibit the growth of *R. subcapitata* in equal (1:1) and dominant (3:1) proportions, but was inhibited by *Raphidocelis* in low concentrations (1:3). It is possible that chlorophyte is stimulated when competing algae are at lower densities. We conclude that the action of *C. demersum* is efficient in the control of *M. aeruginosa*, differently from *M. micrura*. At low concentrations, *M. aeruginosa* can be inhibited by *R. subcapitata*, while *R. subcapitata* is possibly to resist both the macrophyte allelochemicals and the cyanobacterial microcystins.

Keywords: allelochemicals, strains, cyanobacteria, microcystins, predation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Experimentos de interação entre algas, macrófita, cladócero e macrófita + cladócero dispostos aleatoriamente em sala climatizada e asséptica no dia inicial (A) e final (B). 21
- Figura 2:** A: Unidades experimentais durante o experimento de biomanipulação, da esquerda para a direita: tratamentos com adição do cladócero (Z), controle – *Microcystis* em coexistência com *Raphidocelis* na proporção de 1:1 (C), adição da macrófita + cladócero (MZ) e macrófita (M); B: Unidades experimentais durante o experimento de interação entre as algas, da esquerda para a direita: *Microcystis* em coexistência com *Raphidocelis* nas proporções de 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:1. ... 21
- Figura 3:** Efeitos individuais de *C. demersum* (M), *M. micrura* (Z), conjuntos (MZ) e no controle (C) sobre *M. aeruginosa* (A) e *R. subcapitata* (B) em culturas mistas durante seis dias de experimento. As letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos. 25
- Figura 4:** Taxa de crescimento de *M. aeruginosa* (A) e *R. subcapitata* (B) nos tratamentos com diferentes razões M: R (*Microcystis*:*Raphidocelis*): 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:1 durante seis dias de experimento. 25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Descrição dos tratamentos que foram empregados no experimento de controle por alelopatia e pastagem (Exp.1) e no experimento de interação entre as algas (Exp.2) sob diferentes proporções das algas. X: Presença; -: Ausência. ... 22

Sumário

Introdução.....	13
Objetivos.....	14
Geral	14
Específicos	14
Revisão Bibliográfica	15
Florações de cianobactérias.....	15
Efeitos de macrófitas aquáticas sobre o fitoplâncton.....	16
Interações entre o fitoplâncton e o zooplâncton.....	17
Interação entre algas.....	18
Materiais e métodos	19
Organismos fitoplanctônicos e condições de cultivo	19
Coleta e manutenção da macrófita submersa <i>Ceratophyllum demersum</i> L.	19
Obtenção e cultivo do cladócero	20
Delineamento experimental	20
Análises estatísticas.....	23
Resultados.....	24
Discussão	26
Conclusões.....	27
Referências bibliográficas.....	28

Introdução

A crescente ocorrência de florações de cianobactérias, em resposta a eutrofização, tem causado sérios prejuízos a biota local (PAERL; OTTEN, 2013). A ocorrência de florações está fortemente associada a disponibilidade de recursos, dentre estes, nitrogênio e fósforo (DAVIS; KOOP, 2006; O'NEIL et al., 2012; PAERL; OTTEN, 2013; HAMILTON et al., 2016). Entretanto, outros fatores como a luminosidade e elevadas temperaturas, decorrentes das alterações climáticas, são estímulos decisivos para o crescimento desordenado e acelerado das algas (PAERL; HUISMAN, 2009; WINDER; SOMMER, 2012; HAMILTON et al., 2016).

Além dos impactos causados aos níveis tróficos superiores (IBELINGS; CHORUS, 2007; PAERL; OTTEN, 2013), o crescimento exagerado de cianobactérias, ao reduzir a qualidade da água, acarreta em sérios prejuízos econômicos, comprometendo a saúde da população humana que utiliza o recurso para diversos fins (CHEUNG et al., 2013). Algumas espécies de cianobactérias, como *Microcystis aeruginosa* (Kützinger) Kützinger e *Cylindrospermopsis raciborskii* (Woloszynska) Seenayya & Subba Raju, apresentam populações produtoras de toxinas que, dependendo do período de exposição, pode ocasionar distúrbios em humanos, mostrando-se um importante problema de saúde pública (IBELINGS; CHORUS, 2007).

Em regiões tropicais, a fim de minimizar e compreender os impactos causados por cianobactérias, estudos laboratoriais e *in situ*, utilizando organismos zooplancônicos (SEVERIANO et al., 2018; DINIZ et al., 2019; AMORIM et al., 2019a) e plantas aquáticas (AMORIM et al., 2019b), foram realizados. Entretanto, observa-se que a maior parte das pesquisas estão concentradas em regiões de clima temperado.

As macrófitas submersas com potencial alelopático são importantes ferramentas biológicas para redução de cianobactérias (NAKAI et al., 1999; ZHU et al., 2010; CHEN et al., 2012; WANG et al., 2017). A produção de metabólitos secundários pelas plantas aquáticas pode inibir a atividade do fotossistema II e a expressão de genes codificadores de proteínas (MOHAMED, 2017), mostrando-se como importante ferramenta de regeneração de ambientes impactados por florações. Contudo, a alelopatia *in situ* ainda é pouco compreendida (HILT; GROSS, 2008). Diferentemente das cianobactérias, as clorófitas apresentam espécies

dotadas de mecanismos fisiológicos que promovem resistência à ação dos aleloquímicos produzidos por macrófitas (HILT; GROSS, 2008; CHANG et al., 2012; AMORIM et al., 2019).

Diferentes respostas podem ser obtidas a partir da interação zooplâncton-fitoplâncton. Em regiões tropicais e subtropicais, a comunidade zooplanctônica é composta majoritariamente por rotíferos, copépodos e cladóceros de pequeno tamanho corporal (HAVENS; BEAVER, 2009; IGLESIAS et al., 2011). A herbivoria exercida por organismos zooplanctônicos afeta negativamente a biomassa fitoplanctônica (SEVERIANO et al., 2018; AMORIM et al., 2019; DINIZ et al., 2019). Entretanto, efeitos negativos nem sempre são observados, pois longos filamentos, densas colônias, produção de toxinas e baixa palatabilidade reduzem a eficácia do zooplâncton sobre o fitoplâncton (LÜRLING; VAN DONK, 1997; HA et al., 2003; VERSCHOOR et al., 2004; PAN et al., 2014; GER et al., 2016), podendo facilitar a ocorrência de florações de cianobactérias (HONG et al., 2013; LEITÃO et al., 2018).

Diante das frequentes ocorrências de florações de cianobactérias em corpos dulcícolas de regiões tropicais e subtropicais, faz-se necessário a realização de estudos que permitam avaliar e compreender possíveis ferramentas biológicas capazes de reduzir florações de cianobactérias. Estas ferramentas, baseadas na ação alelopática de macrófitas submersas e na ação de pastagem de organismos zooplanctônicos, possibilitarão a melhoria na qualidade da água através da redução de florações nocivas. Além do mais, torna-se importante entender como as interações entre diferentes espécies de algas podem influenciar na ação conjunta de macrófitas e cladóceros.

Objetivos

Geral

- Avaliar indiretamente os efeitos alelopáticos da macrófita submersa *Ceratophyllum demersum* e a herbivoria do cladócero *Moina micrura* isoladamente e em conjunto, sobre a interação entre uma cianobactéria produtora de microcistinas e uma clorófita.

Específicos

- Verificar possíveis interações alelopáticas entre cianobactérias e clorófitas sob diferentes cenários de dominância para ambos os grupos.

- Entender como as cianobactérias e clorófitas interagem e respondem aos efeitos alelopáticos das macrófitas e de predação pelos cladóceros em experimentos laboratoriais, propondo inferências de como seria esta relação em ambientes naturais.

Revisão Bibliográfica

Florações de cianobactérias

Nos últimos anos, florações de cianobactérias são descritas frequentemente em todo o mundo, estando, também, associadas a morte de diversos organismos aquáticos como moluscos, crustáceos e peixes, causando efeitos negativos em toda teia trófica (IBELINGS; CHORUS, 2007). Os desastres observados na biota local, em sua maioria, estão relacionados a capacidade que determinadas populações de algumas espécies, como *M. aeruginosa* e *C. raciborskii*, de produzir compostos tóxicos (CIRES; BALLOT, 2016; HARKE et al., 2016).

Dentre as toxinas produzidas, tem-se as saxitoxinas, anatoxinas, cylindrospermopsinas e microcistinas. Quando em contato com humanos, podem ocasionar problemas dermatológicos, neurológicos, respiratórios e hepáticos (Codd et al., 2005; O'NEIL et al., 2012; HARKE et al., 2016). *Microcystis* é um gênero com ampla distribuição geográfica que conta com a presença de espécies produtoras de compostos potencialmente tóxicos, como às microcistinas (WIEGAND; PFLUGMACHER, 2005; O'NEIL et al., 2012; HARKE et al., 2016). As florações recorrentes de cianobactérias comprometem seriamente a qualidade da água e a inviabilizam para o consumo humano, gerando problemas econômicos, de saúde e, em casos mais graves, a morte (CARMICHAEL et al., 2001; AZEVEDO et al., 2002).

No Brasil, muitos lagos tropicais e subtropicais apresentam constantes florações com diferentes períodos de dominância, sendo muitas espécies nocivas (SANT'ANNA et al., 2008; SOARES et al., 2013). Florações de *C. raciborskii*, *M. aeruginosa*, *Planktothrix agardhii* (Gomont) Anagnostidis & Komárek, em reservatórios de abastecimento público do estado de Pernambuco são relatadas em diversos estudos ao longo dos anos (BOUVY et al., 1999; BOUVY et al., 2000; ARAGÃO-TAVARES et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; MOURA et al., 2018). Em 1996, na cidade de Caruaru/PE, 116 pacientes de uma clínica de hemodiálise apresentaram sintomas de intoxicação por cianotoxinas, dentre estes, mais de 60

foram a óbito em decorrência a distúrbios nas vias hepáticas (POURIA et al., 1998; CARMICHAEL, 2001; AZEVEDO et al., 2002).

Efeitos de macrófitas aquáticas sobre o fitoplâncton

Estudos apontam que diversas espécies de macrófitas são consideradas bons indicadores de poluição e acumuladoras de metais pesados, isto por armazenar compostos químicos em estruturas foliares e raízes, ressaltando, assim, a importância destes organismos nos processos de biorremediação de ambientes degradados (LADISLAS et al., 2012; GALAL; FARAHAT, 2015).

O controle de florações é fundamental para manutenção da qualidade do ambiente aquático. A utilização de macrófitas produtoras de aleloquímicos é uma alternativa biológica para minimizar os impactos causados por algas nocivas e reestabelecer a qualidade da água (HILT; GROSS, 2008; CHEN et al., 2012; ZHANG et al., 2014; VANDERSTUKKEN et al., 2014). Entretanto, a remoção da vegetação submersa influencia significativamente na composição da comunidade fitoplanctônica (DONG et al., 2014).

Estudos com espécies de macrófitas submersas tem evidenciado a capacidade de liberar compostos químicos que inibem o crescimento de microalgas (MULDERIJ et al., 2006; WU et al., 2007; CHANG et al., 2012; DONG et al., 2018), em especial cianobactérias (ZHU et al., 2010; CHEN et al., 2012; DONG et al., 2014; ZHANG et al., 2014).

Com relação aos efeitos alelopáticos causados por uma macrófita sobre microalgas, Zhu et al. (2010) estudaram os efeitos de *Myriophyllum spicatum* L. sobre *M. aeruginosa* e *Selenastrum capricornutum* Printz. Em ensaios com adição da macrófita, *M. aeruginosa* foi severamente inibida por ação alelopática, enquanto *S. capricornutum* não apresentou inibição. Entretanto, Chang et al. (2012) observou que a presença da macrófita submersa *Myriophyllum verticillatum* L. em coexistência com *Desmodesmus armatus* (Chodat) E. H. Hegewald, estimulou *M. aeruginosa*, enquanto que *D. armatus* apresentou retardo em seu crescimento no tratamento em que a abundância da cianobactéria foi de 75%.

Dong et al. (2018) realizaram dois experimentos em que se observou a formação de colônias por *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) Beijerinck quando submetida a coexistência e a extratos de *C. demersum*. Notou-se que, no experimento de coexistência, *C. vulgaris* formou colônias e foi inibida por *C.*

demersum, além disto, o número de indivíduos por colônia cresceu de acordo com o aumento da biomassa de *C. demersum*, bem como a sedimentação da alga. A inibição de *C. vulgaris* por alelopatia proporcionou o crescimento de *C. demersum*. No segundo experimento, *C. vulgaris* foi inserida em tratamentos com diferentes proporções de extratos. Observou-se a formação de colônias e inibição do crescimento da alga, contudo, diferenças foram descritas de acordo com o passar dos dias, onde *C. vulgaris* cresceu e reduziu o número de indivíduos por colônia, fato relacionado a liberação de carboidratos para o meio, fornecendo energia para o desenvolvimento das algas.

Em ensaios laboratoriais, Amorim et al. (2019b) observaram os efeitos alelopáticos de *C. demersum* em espécies fitoplanctônicas durante seis dias de experimentação. Notou-se que *C. demersum* é eficaz na inibição de cepas de cianobactérias, sendo *M. aeruginosa* a mais afetada, havendo redução brusca na biomassa a partir do segundo dia de coexistência. Diferentes respostas foram obtidas da interação entre a planta e as clorófitas. *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs foi inibido no quarto dia de coexistência, enquanto que *R. subcapitata* não foi afetada significativamente pela macrófita.

Interações entre o fitoplâncton e o zooplâncton

Outra forma de promover a redução das florações é através do manejo do zooplâncton, este exerce importante função no controle do fitoplâncton com a ação de pastagem (EKVALL et al., 2014; URRUTIA-CORDERO et al., 2015). Contudo, em casos de florações de cianobactérias, o zooplâncton mais seletivo, como os copepoda, pode apresentar efeitos predatórios pouco significativos (HONG et al., 2013; LEITÃO et al., 2018). Outros fatores, como o enriquecimento de nutrientes e predação por peixes, podem afetar a eficácia do zooplâncton no fitoplâncton (HAVENS et al., 2009; MENEZES et al., 2010; EKVALL et al., 2014; PAN et al., 2014).

Kâ et al. (2012) relatam que pequenos cladóceros de um lago tropical predaram eficientemente filamentos de cianobactérias, mas evitaram consumir colônias de *M. aeruginosa*. Pagano (2008) observou que *M. micrura* consumiu organismos fitoplanctônicos de tamanhos variados, mostrando-se capaz de controlar florações.

As cianobactérias certamente interferem significativamente na qualidade de vida do zooplâncton, os quais podem ingerir as células contendo cianotoxinas,

ocasionando em morte, retardo do crescimento, paralisia de movimento e alterações no ciclo reprodutivo (HANSSON et al., 2007; FERRÃO-FILHO et al., 2009; FREITAS et al., 2014; BOWNIK, 2016). Além do mais, espécies de organismos zooplancônicos podem apresentar alta capacidade de bioacumulação de cianotoxinas, capazes de serem transferidas para níveis tróficos superiores (FERRÃO-FILHO et al., 2011).

Interação entre algas

A dominância de uma espécie na comunidade fitoplanctônica está fortemente relacionada a fatores biológicos e ambientais como competição, disponibilidade de recursos, temperatura e alelopátia (LEFLAIVE; TEM-HAGE, 2007; GRANÉLI et al., 2008; SOARES et al., 2013).

Avaliar os processos alelopáticos entre algas é importante para entender a influência de um fator no processo de dominância e sucessão de uma espécie (GRANÉLI et al., 2008). Estudos relatam que cianobactérias são capazes de liberar compostos químicos que inibem o crescimento de organismos como, por exemplo, algas verdes e dinoflagelados (SUKENIK et al., 2002; LEÃO et al., 2009; LEÃO et al., 2010). Contudo, além de cianobactérias, outras microalgas podem produzir como grande variedade de metabólitos secundários que atuam no processo de fotossíntese, membrana plasmática ou retardam atividades metabólicas da célula alvo (CHIANG et al., 2004; LEFLAIVE; TEM-HAGE, 2007; HAREL et al., 2013).

Em ensaios com culturas mistas, Bittencourt-Oliveira et al. (2015) observou interações entre cepas tóxicas de *M. aeruginosa* e não tóxicas de *Microcystis panniformis* Komárek et al. com duas cepas de algas verdes: *Monoraphidium convolutum* (Corda) Komárková-Legnerová e *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat. Os tratamentos evidenciaram que todas as algas apresentaram inibição, sendo *M. convolutum* a mais afetada. Enquanto que, Harel et al. (2013) constataram, em culturas mistas, que *Scenedesmus* sp. inibiu o crescimento de *Microcystis* sp. através da produção de metabólitos secundários que agiram rompendo a membrana celular.

Materiais e métodos

Organismos fitoplanctônicos e condições de cultivo

Para o desenvolvimento dos experimentos, foram selecionadas duas cepas de algas, sendo uma de cianobactéria tóxica, *M. aeruginosa*, e outra de clorófita, *Raphidocelis subcapitata*. A cepa de *M. aeruginosa* (NPLJ-4) (Cyanobacteria) foi obtida da Coleção de Cultivo de Cianobactérias da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, a qual foi cedida anteriormente pelo Laboratório de Ecofisiologia e Toxicologia de Cianobactérias (LECTA) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, isolada em 1996 da Lagoa de Jacarepaguá, Rio de Janeiro-RJ. A cepa de *Raphidocelis subcapitata* (BMIUFRPE-02) (Chlorophyceae) foi obtida do Banco de Microalgas da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE.

A cianobactéria e a clorófita foram postas em erlenmeyers de 1000 mL contendo 800 mL de meio de cultivo ASM1 (GORHAM et al., 1964), dispostos em uma câmara climática com condições controladas de temperatura a $25^{\circ}\text{C} \pm 1,5$, intensidade luminosa de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pH de 7,5 e fotoperíodo de 12 h. Todos os inóculos foram homogeneizados três vezes ao dia para evitar aglomerados e sedimentação de células. As algas foram cultivadas até a obtenção de uma biomassa de aproximadamente 50 mg L^{-1} .

Coleta e manutenção da macrófita submersa *Ceratophyllum demersum* L.

A macrófita submersa *C. demersum* foi coletada do reservatório de Carpina, município de Lagoa do Carro-PE. Foram selecionadas plantas jovens com 20 cm de comprimento e transportadas para o Laboratório de Ficologia - Taxonomia e Ecologia de Microalgas da UFRPE. Em laboratório, as plantas foram lavadas com jatos de água destilada e raspadas cuidadosamente com auxílio de uma escova de cerdas macias para remoção de organismos perifíticos, pequenos animais invertebrados e sedimentos aderidos.

As macrófitas aquáticas foram cultivadas em aquários de 20 cm² com capacidade para 8 L, contendo água da torneira filtrada. Até a realização dos experimentos, houveram trocas de água duas vezes por semana para evitar proliferação de insetos, pequenos moluscos e microorganismos. Assim como nos cultivos das algas, as macrófitas foram cultivadas sob condições controladas de

temperatura a $25 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$, luminosidade de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, com uso de lâmpadas fluorescentes de 40 watts, aeração constante e fotoperíodo de 12 h.

Obtenção e cultivo do cladóceros

A comunidade zooplancônica foi coletada do reservatório de Cursai, localizado no município de Paudalho (PE). A obtenção ocorreu através da filtragem de 100 L de água do reservatório, contando com o auxílio de um balde milimetrado e uma rede de plâncton com abertura de malha de $68 \mu\text{m}$. O produto concentrado foi armazenado em frascos de polietileno, acondicionados em uma caixa climatizada e transportados ao Laboratório de Ficologia da UFRPE.

Em laboratório, com suporte de um microscópio óptico, foi identificado a espécie de cladóceros *Moina micrura*. Indivíduos foram isolados e, com auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram colocadas gotas em placas de Petri para facilitar a seleção. Dentre os isolados, um indivíduo adulto foi transferido para tubos de ensaio de 10 mL contendo água reconstituída do ambiente (70% água mineral, 30% água do ambiente natural esterilizada, e ácido húmico).

Após o alcance de 10 indivíduos por tubo, os cladóceros foram transferidos para erlenmeyers de 250 mL preenchidos com água reconstituída do ambiente e sob condições laboratoriais controladas. Posteriormente, com a obtenção de 50 a 100 indivíduos, houve a transferência dos espécimes para erlenmeyers de 1L, e postos sob cultivo com temperatura de 27°C , intensidade luminosa de $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, aeração constante, fotoperíodo de 12h, alimentação diária com as clorofíceas *A. falcatus* e *R. subcapitata*, e trocas de água a cada dois dias.

Delineamento experimental

Os experimentos foram realizados em uma sala climatizada asséptica com as mesmas condições previstas para o cultivo das cepas. Foram utilizados 24 erlenmeyers com capacidade de 1000 mL, preenchidos com 500 mL de meio nutritivo ASM1 e inóculos da cianobactéria e da clorófita em fase de crescimento exponencial. Para observação dos efeitos alelopáticos de *C. demersum* e a ação de pastagem de *Moina micrura*, tanto individualmente quanto em conjunto sobre a interação entre *M. aeruginosa* e *R. subcapitata*; e possíveis interações alelopáticas

entre a cianobactéria e a alga verde, dois experimentos paralelos foram desenvolvidos com duração de 06 dias (Figura 1).

O delineamento experimental foi constituído de oito tratamentos com três réplicas. O primeiro experimento verificou o efeito da macrófita e do cladóceros sobre a interação das algas, contou com quatro tratamentos envolvendo: a macrófita, o cladóceros, a macrófita + o cladóceros e o controle – que consistiu apenas no cultivo de *Microcystis* + *Raphidocelis*. O segundo experimento foi realizado para analisar os efeitos da coexistência entre as algas, evidenciando qual ação uma cepa exerceu sobre a outra (Figura 2).

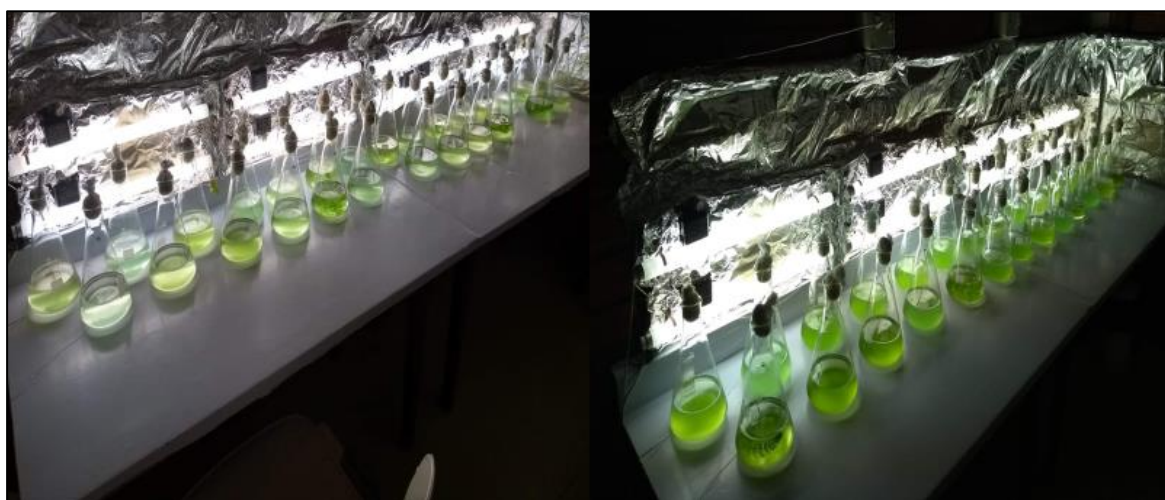


Figura 1: Experimentos de interação entre algas, macrófita, cladóceros e macrófita + cladóceros dispostos aleatoriamente em sala climatizada e asséptica no dia inicial (A) e final (B).

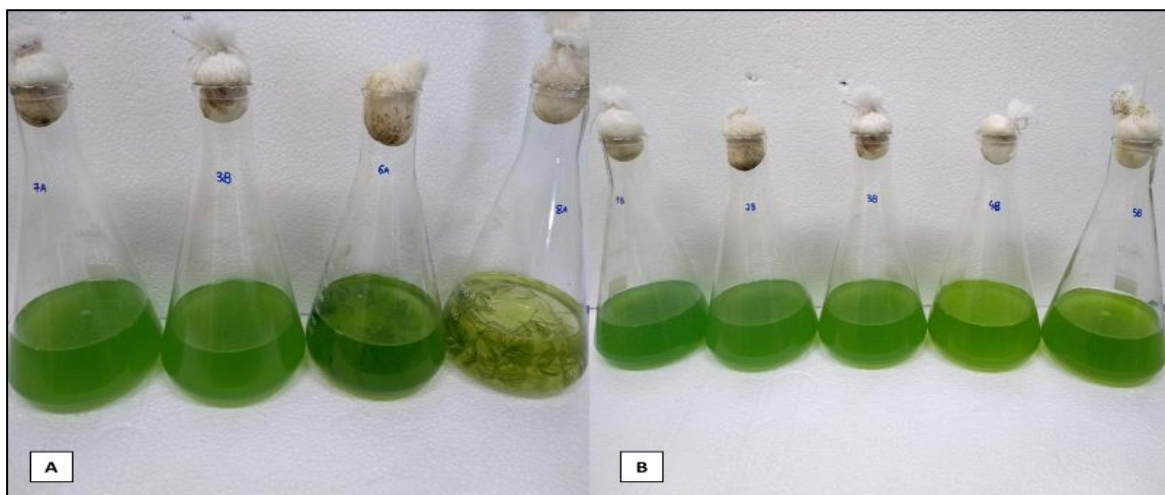


Figura 2: A: Unidades experimentais durante o experimento de biomanipulação, da esquerda para a direita: tratamentos com adição do cladóceros (Z), controle –

Microcystis em coexistência com *Raphidocelis* na proporção de 1:1 (C), adição da macrófita + cladóceros (MZ) e macrófita (M); **B**: Unidades experimentais durante o experimento de interação entre as algas, da esquerda para a direita: *Microcystis* em coexistência com *Raphidocelis* nas proporções de 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:1.

Em todos os tratamentos as algas foram cultivadas em coexistência ou isoladas com uma biomassa final de 20 mg L⁻¹. Os tratamentos de interação foram constituídos de diferentes concentrações entre *Microcystis* e *Raphidocelis*, enquanto que os controles foram os cultivos isolados da cianobactéria e da clorófita. No primeiro experimento a proporção da biomassa das algas foi de 1:1, enquanto que, no segundo, houve um gradiente na proporção entre *Microcystis* e *Raphidocelis* de M:R = 1:0; 3:1; 1:1; 1:3; e 0:1, conforme descrito na tabela 1.

Tabela 1: Descrição dos tratamentos que foram empregados no experimento de controle por alelopatia e pastagem (Exp.1) e no experimento de interação entre as algas (Exp.2) sob diferentes proporções das algas. X: Presença; -: Ausência.

Experimento / Tratamento	Percentual de <i>Microcystis</i>	Percentual de <i>Raphidocelis</i>	<i>Ceratophyllum demersum</i>	<i>Moina micrura</i>
Exp.1 / Trat.1	50%	50%	X	X
Exp.1 / Trat.2	50%	50%	X	-
Exp.1 / Trat.3	50%	50%	-	X
Exp.2 / Trat.1	100%	0%	-	-
Exp.2 / Trat.2	75%	25%	-	-
Exp.2 / Trat.3*	50%	50%	-	-
Exp.2 / Trat.4	25%	75%	-	-
Exp.2 / Trat.5	0%	100%	-	-

* O tratamento 3 do experimento 2 também foi utilizado como controle para o experimento 1, uma vez que, foram desenvolvidos paralelamente.

Para a determinação da proporção exata entre *Microcystis* e *Raphidocelis* dos cultivos dos experimentos, as biomassas e densidades dos cultivos estoques foram analisadas. As proporções foram alcançadas pelo método de diluição com meio ASM1. Três dias antes do início dos experimentos, foram selecionados ramos

jovens e apicais de *C. demersum*, lavados várias vezes com água corrente e destilada, cortados para obtenção de uma biomassa de 8 gPF L⁻¹ (g de peso fresco), inseridos, em seguida, em meio ASM1 para aclimação. Da mesma forma, três dias antes do experimento, os cladóceros visivelmente saudáveis (nadando ativamente) e com idade semelhantes, foram contados (120 ind L⁻¹) e transferidos para erlenmeyers de 250 mL contendo meio ASM1 para aclimação.

No experimento, durante a transferência dos cladóceros para os cultivos das algas, também foram transferidos cerca de 5 mL de meio ASM1, a mesma quantidade de meio dos cultivos do cladóceros foi adicionada a todos os tratamentos. 50 indivíduos de *M. micrura* foram transferidos para cada unidade experimental nos tratamentos com o cladóceros e com a macrófita + cladóceros.

Foram coletadas alíquotas de 1 mL em todas as unidades experimentais para determinação da densidade celular a cada dois dias durante 06 dias, a qual foi determinada através da contagem de células em câmara de Fuchs-Rosenthal (hemocitômetro) em microscópio óptico. Posteriormente, foram verificados o comprimento e a largura das algas seguindo as fórmulas geométricas propostas por Hillebrand et al. (1999). A partir dos dados de densidade e biovolume, calculou-se a biomassa algal.

Análises estatísticas

Foram analisadas três réplicas de cada tratamento para cada dia de amostragem, entretanto, no tratamento com o cladóceros + as algas foram analisadas apenas duas réplicas, pois uma unidade experimental apresentou erros que comprometeram a aplicação de testes estatísticos. Foi empregada uma ANOVA one-way para comparar a biomassa das espécies de algas, durante seis dias de experimento, dos tratamentos de coexistência com a macrófita, cladóceros e macrófita + cladóceros, bem como a taxa de crescimento das cepas do experimento dois, que foi mensurada de acordo com a fórmula proposta por Wood et al. (2005). Antes da realização das análises de variâncias, os dados foram testados quanto à normalidade pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Para a execução das análises estatísticas, foi utilizado o programa R e o nível de significância foi fixado em $p < 0,05$ (R Core Team, 2016).

Resultados

As cepas de cianobactéria e de alga verde responderam diferentemente aos tratamentos com a macrófita, o cladócero e com o cladócero + macrófita. *Ceratophyllum demersum* inibiu significativamente o crescimento de *M. aeruginosa* a partir do segundo dia de experimento (Figura 3A), apresentando diferenças significativas entre o tratamento de coexistência e o controle ($p < 0,001$). Entretanto, *R. subcapitata* não foi afetada significativamente quando comparada ao tratamento controle ($p > 0,05$), mantendo seu crescimento constante ao longo de todos os dias (Figura 3B).

Nos tratamentos com adição do cladócero, houve redução na biomassa de *M. aeruginosa*, diferindo significativamente do controle ($p < 0,001$) a partir do segundo dia (Figura 3A). Com relação a alga verde, *M. micrura* estimulou o crescimento de *R. subcapitata* a partir do quarto dia, apresentando diferenças significativas quando comparado ao controle ($p > 0,05$), evidenciando que não houve pastagem significativa pelo cladócero (Figura 3B).

Em relação ao tratamento com a macrófita aquática + cladócero quando comparado ao tratamento controle, foi observada uma redução significativa da densidade de *M. aeruginosa* a partir do segundo dia de experimento ($p < 0,001$), mas o tratamento não apresentou diferenças significativas do tratamento de coexistência com a macrófita ($p > 0,05$) (Figura 3A). Entretanto, semelhantemente ao tratamento só com o cladócero, *R. subcapitata* não foi afetada significativamente pela ação da planta e do cladócero durante todos os dias de experimento ($p > 0,05$), mas estimulada após o segundo dia (Figura 3B). Além disto, *R. subcapitata* não apresentou diferenças significativas entre o tratamento com cladócero e com cladócero + macrófita após o quarto dia de coexistência ($p > 0,05$).

Os tratamentos com cultura mista em proporções distintas de *M. aeruginosa* e *R. subcapitata*, apresentaram distintos resultados nas biomassas. Nos tratamentos controle, *Microcystis* (100%; 1:0) manteve o crescimento constante, enquanto que, *Raphidocelis* (100%; 0:1) reduziu durante o experimento (Figura 4). No tratamento com 75% de *M. aeruginosa* e 25% de *R. subcapitata* (3:1), a clorófita não apresentou retardo em seu crescimento, não diferindo significativamente do controle ao longo do experimento ($p > 0,05$) (Figuras 4B). Efeito inverso foi observado no tratamento com dominância de *Raphidocelis*, 75% da clorófita em coexistência com 25% da cianobactéria (1:3), onde foi verificado que a cepa de

clorófita inibiu significativamente o crescimento de *Microcystis* a partir do segundo dia de experimento ($p < 0,001$) (Figuras 4A). O tratamento com as mesmas porcentagens entre as algas, ou seja, 50% de ambas as cepas (1:1), *R. subcapitata* não foi inibida por *M. aeruginosa* ($p > 0,05$) (Figuras 4B).

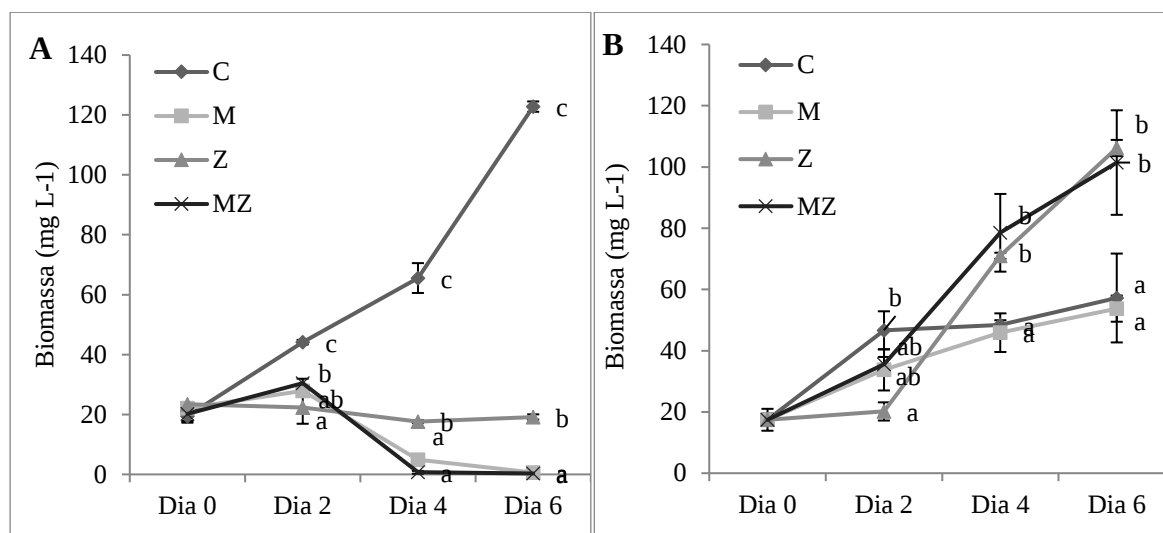


Figura 3: Efeitos individuais de *C. demersum* (M), *M. micrura* (Z), conjuntos (MZ) e no controle (C) sobre *M. aeruginosa* (A) e *R. subcapitata* (B) em culturas mistas durante seis dias de experimento. As letras diferentes indicam diferenças significativas entre os tratamentos.

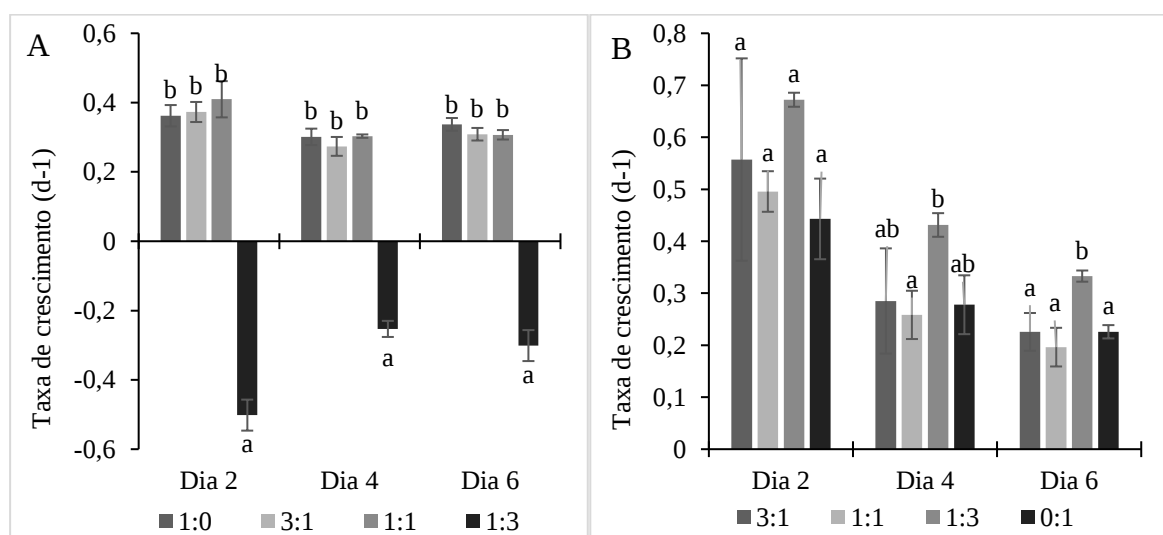


Figura 4: Taxa de crescimento de *M. aeruginosa* (A) e *R. subcapitata* (B) nos tratamentos com diferentes razões M: R (*Microcystis*:*Raphidocelis*): 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 e 0:1 durante seis dias de experimento.

Discussão

Alelopatia, competição por nutrientes e luz podem favorecer a dominância de determinados organismos fotossintetizantes, em especial cianobactérias (HYENSTRAND et al., 2000; LEFLAIVE; TEN-HAGE, 2007; KARDINAAL et al., 2007; GRANÉLI et al., 2008), contudo, em nossos experimentos, excluímos a competição por nutrientes através da utilização de um meio nutritivo, ASM1, e a competição por luz através da distribuição aleatória e alternada dos tratamentos entre si duas vezes ao dia. A sedimentação das algas pode influenciar na captação de luz, entretanto, todos os cultivos foram homogeneizados três vezes ao dia para evitar a aglomeração e a sedimentação de células. Sendo assim, acreditamos que a alelopatia foi o principal fator atuante.

Em todos os tratamentos de coexistência com a macrófita e o cladóceros, tanto individual quanto em conjunto, *R. subcapitata* mostrou-se resistente aos efeitos dos aleloquímicos de *C. demersum* e de pastagem por *M. micrura*. A resposta pode estar relacionada a capacidade de resistência que as clorófitas tem a determinados compostos aleloquímicos liberados por macrófitas, como observado por Zhu et al. (2010), e o potencial de formar colônias nos tratamentos com adição do zooplâncton, dificultando a ingestão e consumo pelos crustáceos (LÜRLING; VAN DONK, 1996). Além disto, a predação seletiva de *M. micrura* à *M. aeruginosa* pode ter favorecido o crescimento de *R. subcapitata* devido à redução de um potencial competidor, possibilitando maior disponibilidade de recurso (YIN et al., 2010).

A produção de cianotoxinas por *M. aeruginosa* pode afetar significativamente a qualidade de vida dos cladóceros (DAO et al., 2010; HERRERA et al., 2015). Nos tratamentos com adição de *M. micrura*, tanto individual quanto em conjunto com a macrófita, alguns cladóceros morreram durante o experimento, o que certamente comprometeu as reduções nas densidades da cianobactéria e da clorófitas.

Estudos relataram que *M. aeruginosa* é sensível aos compostos químicos liberados por espécies de macrófitas aquáticas alelopaticamente ativas (ZHU et al., 2010). Em coexistência com a planta, a partir do segundo dia de experimento, *Microcystis* apresentou reduções constantes no crescimento durante os seis dias experimentais. O efeito pode ser explicado pela capacidade de *C. demersum* de liberar aleloquímicos que atuam sobre *M. aeruginosa*, como verificado por Nakai et al. (1999) ao constatar que *C. demersum*, dentre nove macrófitas estudadas, inibiu

alelopaticamente *M. aeruginosa*. Entretanto, diferentemente do que foi verificado por Chang et al. (2012), *M. aeruginosa*, em coexistência com uma alga verde, não foi estimulada na presença de uma macrófita com alto potencial aleloquímico.

Nos tratamentos de interação entre algas, resultados distintos entre *Microcystis* e *Raphidocelis* foram observados. *Raphidocelis subcapitata* inibiu *M. aeruginosa* no tratamento em que a cianobactéria estava em baixas concentrações, razão M:R de 1:3, sugerindo que a linhagem dominante depende da biomassa de inoculação inicial, como visto por Li e Li, 2012. Além do mais, as clorófitas podem liberar compostos químicos que inibem o crescimento de cianobactérias, como verificado por Zhang et al. (2013), Harel et al. (2013). Além disto, *R. subcapitata* mostrou-se resistente nos tratamentos em que se encontrava em concentrações baixas e iguais, isto pode estar relacionado a resistência fisiológica da espécie às microcistinas liberadas por *M. aeruginosa* (BÁRTOVÁ et al., 2011).

Conclusões

A macrófita submersa *C. demersum* inibe fortemente a cianobactéria *M. aeruginosa* quando encontrada em coexistência, controlando a proliferação do procarioto. Entretanto, não é eficaz na redução da biomassa de *R. subcapitata*.

M. micrura reduziu a biomassa de *M. aeruginosa*, mas mostrou-se menos eficiente que *C. demersum*. Contudo, *R. subcapitata* é estimulada quando em coexistência com *M. micrura*, sugerindo uma possível preferência por parte do cladócero.

Quando encontrada em pequenas concentrações, em comparação ao competidor, *M. aeruginosa* foi enfaticamente inibida por *R. subcapitata*. Contudo, em concentrações iguais e dominantes, a cianobactéria não apresenta redução em seu crescimento.

Diferentemente de *M. aeruginosa*, *R. subcapitata* não é inibida em concentrações mínimas, mas mantém o seu crescimento constante. Quando cultivada em maiores concentrações que *M. aeruginosa*, a clorófita pode apresentar um estímulo significativo.

Referências bibliográficas

AMORIM, C. A.; MOURA-FALCÃO, R. H.; VALENÇA, C. R.; SOUZA, V. R.; MOURA, A. N. Allelopathic effects of the aquatic macrophyte *Ceratophyllum demersum* L. on phytoplankton species: contrasting effects between cyanobacteria and chlorophytes. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 31, 2019.

AMORIM, C. A.; VALENÇA, C. R.; MOURA-FALCÃO, R. H.; MOURA, A. N. Seasonal variations of morpho-functional phytoplankton groups influence the top-down control of a cladoceran in a tropical hypereutrophic lake. **Aquatic Ecology**, v. 53, n. 3, p. 453-464, 2019.

ARAGÃO-TAVARES, N. K. C.; MOURA, A. N.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C. Planktonic Cyanobacteria forming blooms in reservoirs of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 4, p. 662-668, 2013.

AZEVEDO, S. M.; CARMICHAEL, W. W.; JOCHIMSEN, E. M.; RINEHART, K. L.; LAU, S.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. Human intoxication by microcystins during renal dialysis treatment in Caruaru – Brazil. **Toxicology**, v. 181-182, p. 441-446, 2002.

BÁRTOVÁ, K.; HILSCHEROVÁ, K.; BABICA, P.; MARŠÁLEK, B.; BLÁHA, L. Effects of microcystin and complex cyanobacterial samples on the growth and oxidative stress parameters in green alga *Pseudokirchneriella subcapitata* and comparison with the model oxidative stressor – herbicide paraquat. **Environmental toxicology**, v. 26, n. 6, p. 641-648, 2011.

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CHIA, M. A.; OLIVEIRA, H. S. B.; ARAÚJO, M. K. C.; MOLICA, R. J. R.; DIAS, C. T. S. Allelopathic interactions between microcystin-producing and non-microcystin-producing cyanobacteria and green microalgae: implications for microcystins production. **Journal of Applied Phycology**, v. 27, n. 1, p. 275-284, 2015.

BOUVY, M.; MOLICA, R.; OLIVEIRA, S.; MARINHO, M.; BEKER, B. Dynamics of a toxic cyanobacterial bloom (*Cylindrospermopsis rabiborskii*) in a shallow reservoir in the semi-arid region of northeast Brazil. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 20, n. 3, p. 285-297, 1999.

BOUVY, M.; FALCÃO, D.; MARINHO, M.; PAGANO, M.; MOURA, A. Occurrence of *Cylindrospermopsis* (Cyanobacteria) in 39 Brazilian tropical reservoirs during the 1998 drought. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 23, n. 1, p. 13-27, 2000.

BOWNIK, A. Harmful algae: effects of cyanobacterial cyclic peptides on aquatic invertebrates-a short review. **Toxicon**, v. 124, p. 26-35, 2016.

CARMICHAEL, W. W. Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". **Human and ecological risk assessment: An International Journal**, v. 7, n. 5, p. 1393-1407, 2001.

CARMICHAEL, W. W.; AZEVEDO, S. M.; AN, J. S.; MOLICA, R. J.; JOCHIMSEN, E. M.; LAU, S.; RINEHART, K. L.; SHAW, G. R.; EAGLESHAM, G. K. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, n. 7, p. 663-668, 2001.

CHANG, X.; EIGEMANN, F.; HILT, S. Do macrophytes support harmful cyanobacteria? Interactions with a green alga reverse the inhibiting effects of macrophyte allelochemicals on *Microcystis aeruginosa*. **Harmful Algae**, v. 19, p. 76-84, 2012.

CHEN, J.; ZHANG, H.; HAN, Z.; YE, J.; LIU, Z. The influence of aquatic macrophytes on *Microcystis aeruginosa* growth. **Ecological Engineering**, v. 42, p. 130-133, 2012.

CHEUNG, M. Y.; LIANG, S.; LEE, J. Toxin-producing cyanobacteria in freshwater: a review of the problems, impact on drinking water safety, and efforts for protecting public health. **Journal of Microbiology**, v. 51, n. 1, p. 1-10, 2013.

CHIANG, I. Z.; HUANG, W. Y.; WU, J. T. Allelochemicals of *Botryococcus braunii* (chlorophyceae) 1. **Journal of phycology**, v. 40, n. 3, p. 474-480, 2004.

CIRÉS, S.; BALLOT, A. A review of the phylogeny, ecology and toxin production of bloom-forming *Aphanizomenon* spp. and related species within the Nostocales (cyanobacteria). **Harmful Algae**, v. 54, p. 21-43, 2016.

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

DAO, T. S.; DO-HONG, L. C.; WIEGAND, C. Chronic effects of cyanobacterial toxins on *Daphnia magna* and their offspring. **Toxicon**, v. 55, n. 7, p. 1244-1254, 2010.

DAVIS, J. R.; KOOP, K. Eutrophication in Australian rivers, reservoirs and estuaries—a southern hemisphere perspective on the science and its implications. **Hydrobiologia**, v. 559, n. 1, p. 23-76, 2006.

DINIZ, A. S.; SEVERIANO, J. S.; JÚNIOR, M. M.; DANTAS, Ê. W.; MOURA, A. N. Phytoplankton–zooplankton relationships based on phytoplankton functional groups in two tropical reservoirs. **Marine and Freshwater Research**, v. 70, n. 5, p. 721-733, 2019.

DONG, J.; YANG, K.; LI, S.; LI, G.; SONG, L. Submerged vegetation removal promotes shift of dominant phytoplankton functional groups in a eutrophic lake. **Journal of Environmental Sciences**, v. 26, n. 8, p. 1699-1707, 2014.

DONG, J.; GAO, Y.; CHANG, M.; MA, H.; HAN, K.; TAO, X.; LI, Y. Colony formation by the green alga *Chlorella vulgaris* in response to the competitor *Ceratophyllum demersum*. **Hydrobiologia**, v. 805, n. 1, p. 177-187, 2018.

EKVALL, M. K.; URRUTIA-CORDERO, P.; HANSSON, L-A. Linking cascading effects of fish predation and zooplankton grazing to reduced cyanobacterial biomass and toxin levels following biomanipulation. **PloS one**, v. 9, n. 11, 2014.

FERRÃO-FILHO, A. D. S.; SOARES, M. C. S.; MAGALHÃES, V. F.; AZEVEDO, S. M. Biomonitoring of cyanotoxins in two tropical reservoirs by cladoceran toxicity bioassays. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 72, n. 2, p. 479-489, 2009.

FERRÃO-FILHO, A. S.; KOZLOWSKY-SUZUKI, B. Cyanotoxins: bioaccumulation and effects on aquatic animals. **Marine Drugs**, v. 9, n. 12, p. 2729-2772, 2011.

FREITAS, E. C.; PINHEIRO, C.; ROCHA, O.; LOUREIRO, S. Can mixtures of cyanotoxins represent a risk to the zooplankton? The case study of *Daphnia magna* Straus exposed to hepatotoxic and neurotoxic cyanobacterial extracts. **Harmful Algae**, v. 31, p. 143-152, 2014.

GALAL, T. M.; FARAHAT, E. A. The invasive macrophyte *Pistia stratiotes* L. as a bioindicator for water pollution in Lake Mariut, Egypt. **Environmental monitoring and assessment**, v. 187, n. 11, p. 701, 2015.

GER, K. A.; URRUTIA-CORDERO, P.; FROST, P. C.; HANSSON, L. A.; SARNELLE, O.; WILSON, A. E.; LÜRLING, M. The interaction between cyanobacteria and zooplankton in a more eutrophic world. **Harmful algae**, v. 54, p. 128-144, 2016.

GORHAM, P. R.; MCLACHLAN, J.; HAMMER, U. T.; KIM, W. K. Isolation and culture of toxic strains of *Anabaena flos-aquae* (Lyngb.) de Bréb. **Verhandlungen des internationalen Verein Limnologie**, v. 15, p. 796-804, 1964.

GRANELI, E.; WEBERG, M.; SALOMON, P. S. Harmful algal blooms of allelopathic microalgal species: the role of eutrophication. **Harmful algae**, v. 8, n. 1, p. 94-102, 2008.

HA, K.; JANG, M.-H.; TAKAMURA, N. Colony formation in planktonic algae induced by zooplankton culture media filtrate. **Journal of freshwater ecology**, v. 19, n. 1, p. 9-16, 2004.

HAMILTON, D. P.; SALMASO, N.; PAERL, H. W. Mitigating harmful cyanobacterial blooms: strategies for control of nitrogen and phosphorus loads. **Aquatic Ecology**, v. 50, n. 3, p. 351-366, 2016.

HANSSON, L. A.; GUSTAFSSON, S.; RENGEFORS, K.; BOMARK, L. Cyanobacterial chemical warfare affects zooplankton community composition. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 7, p. 1290-1301, 2007.

HAREL, M.; WEISS, G.; HURWITZ, J. L.; GUN, J.; LEV, O.; LEBENDIKER, M.; TEMPER, V.; BLOCK, C.; SUKENIK, A.; ZOHARY, T.; BRAUN, S.; CARMELI, S.; KAPLAN, A. Interactions between *Scenedesmus* and *Microcystis* may be used to

clarify the role of secondary metabolites. **Environmental microbiology reports**, v. 5, n. 1, p. 97-104, 2013.

HARKE, M. J.; STEFFEN, M. M.; GOBLER, C. J.; OTTEN, T. G.; WILHELM, S. W.; WOOD, S. A.; PAERL, H. W. A review of the global ecology, genomics, and biogeography of the toxic cyanobacterium, *Microcystis* spp. **Harmful Algae**, v. 54, p. 4-20, 2016.

HAVENS, K. E.; BEAVER, J. R. Composition, size, and biomass of zooplankton in large productive Florida lakes. **Hydrobiologia**, v. 628, n. 1, p. 165-175, 2009.

HERRERA, N. A.; ECHEVERRI, L. F.; FERRÃO-FILHO, A. S. Effects of phytoplankton extracts containing the toxin microcystin-LR on the survival and reproduction of cladocerans. **Toxicon**, v. 95, p. 38-45, 2015.

HILLEBRAND, H.; DÜRSELEN, C. D.; KIRSCHTEL, D.; POLLINGHER, U.; ZOHARY, T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **Journal of Phycology**, v. 35, n. 2, p. 403–424, 1999.

HILT, S.; GROSS, E. M. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilize Clearwater states in shallow lakes? **Basic and Applied Ecology**, v. 9, n. 4, p. 422-432, 2008.

HONG, Y.; BURFORD, M. A.; RALPH, P. J.; UDY, J. W.; DOBLIN, M. A. The cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* is facilitated by copepod selective grazing. **Harmful Algae**, v. 29, p. 14-21, 2013.

HYENSTRAND, P.; BURKERT, U.; PETTERSSON, A.; BLOMQVIST, P. Competition between the green alga *Scenedesmus* and the cyanobacterium *Synechococcus* under different modes of inorganic nitrogen supply. **Hydrobiologia**, v. 435, n. 1-3, p. 91-98, 2000.

IBELINGS, B. W.; CHORUS, I. Accumulation of cyanobacterial toxins in freshwater “seafood” and its consequences for public health: a review. **Environmental Pollution**, v. 150, n. 1, p. 177-192, 2007.

IGLESIAS, C.; MAZZEO, N.; MEERHOFF, M.; LACEROT, G.; CLEMENTE, J. M.; SCASSO, F.; KRUK, C.; GOYENOLA, G.; GARCÍA-ALONSO, J.; AMSINCK, S. L.; PAGGI, J. C.; PAGGI, S. J.; JEPPESEN, E. High predation is of key importance for dominance of small-bodied zooplankton in warm shallow lakes: evidence from lakes, fish exclosures and surface sediments. **Hydrobiologia**, v. 667, n. 1, p. 133-147, 2011.

KÂ, S.; MENDOZA-VERA, J. M.; BOUVY, M.; CHAMPALBERT, G.; N'GOM-KÂ, R.; PAGANO, M. Can tropical freshwater zooplankton graze efficiently on cyanobacteria? **Hydrobiologia**, v. 679, n. 1, p. 119-138, 2012.

KARDINAAL, W. E. A.; TONK, L.; JANSE, I.; HOL, S.; SLOT, P.; HUISMAN, J.; VISSER, P. M. Competition for light between toxic and nontoxic strains of the harmful cyanobacterium *Microcystis*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 9, p. 2939-2946, 2007.

LADISLAS, S.; EL-MUFLEH, A.; GÉRENTE, C.; CHAZARENC, F.; ANDRÈS, Y.; BÉCHET, B. Potential of aquatic macrophytes as bioindicators of heavy metal pollution in urban stormwater runoff. **Water, Air & Soil Pollution**, v. 223, n. 2, p. 877-888, 2012.

LEÃO, P. N.; VASCONCELOS, M. T. S. D.; VASCONCELOS, V. M. Allelopathic activity of cyanobacteria on green microalgae at low cell densities. **European Journal of Phycology**, v. 44, n. 3, p. 347-355, 2009.

LEÃO, P. N.; PEREIRA, A. R.; LIU, W. T.; NG, J.; PEVZNER, P. A.; DORRESTEIN, P. C.; KÖNIG, G. M.; VASCONCELOS, V. M.; GERWICK, W. H. Synergistic allelochemicals from a freshwater cyanobacterium. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, n. 25, p. 11183-11188, 2010.

LEFLAIVE, J. P.; TEN-HAGE, L. Algal and cyanobacterial secondary metabolites in freshwaters: a comparison of allelopathic compounds and toxins. **Freshwater Biology**, v. 52, n. 2, p. 199-214, 2007.

LEITÃO, E.; GER, K. A.; PANOSSO, R. Selective Grazing by a Tropical Copepod (*Notodiaptomus iheringi*) Facilitates *Microcystis* Dominance. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 301, 2018.

LI, Y.; LI, D. Competition between toxic *Microcystis aeruginosa* and nontoxic *Microcystis wesenbergii* with *Anabaena* PCC7120. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 1, p. 69-78, 2012.

LÜRLING, M.; VAN DONK, E. Zooplankton-induced unicell-colony transformation in *Scenedesmus acutus* and its effect on growth of herbivore *Daphnia*. **Oecologia**, v. 108, n. 3, p. 432-437, 1996.

LÜRLING, M.; VAN DONK, E. Morphological changes in *Scenedesmus* induced by infochemicals released in situ from zooplankton grazers. **Limnology and Oceanography**, v. 42, n. 4, p. 783-788, 1997.

MENEZES, R. F.; ATTAYDE, J. L.; VASCONCELOS, F. Effects of omnivorous filter-feeding fish and nutrient enrichment on the plankton community and water transparency of a tropical reservoir. **Freshwater Biology**, v. 55, n. 4, p. 767-778, 2010.

MOHAMED, Z. A. Macrophytes-cyanobacteria allelopathic interactions and their implications for water resources management – A review. **Limnologica**, v. 63, p. 122-132, 2017.

MOURA, A. N.; ARAGÃO-TAVARES, N. K. C.; AMORIM, C. A. Cyanobacterial blooms in freshwaters bodies in a semiarid region, northeastern Brazil: A review. **Journal of Limnology**, v. 77, n. 2, 2018.

MULDERIJ, G.; SMOLDERS, A. J. P.; VAN DONK, E. Allelopathic effect of the aquatic macrophyte, *Stratiotes aloides*, on natural phytoplankton. **Freshwater Biology**, v. 51, n. 3, p. 554-561, 2006.

NAKAI, S.; INOUE, Y.; HOSOMI, M.; MURAKAMI, A. Growth inhibition of blue-green algae by allelopathic effects of macrophytes. **Water Science and Technology**, v. 39, n. 8, p. 47-53, 1999.

O'NEIL, J. M.; DAVIS, T. W.; BURFORD, M. A.; GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae**, v. 14, p. 313-334, 2012.

OLIVEIRA, F. H. P. C.; SILVA, J. D. B.; COSTA, A. N. S. F.; RAMALHO, W. P.; MOREIRA, C. H. P.; CALAZANS, T. L. S. Cyanobacteria community in two tropical eutrophic reservoirs in northeastern Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 37, n. 2, 2015.

PAERL, H. W.; HUISMAN, J. Climate change: a catalyst for global expansion of harmful cyanobacterial blooms. **Environmental Microbiology Reports**, v. 1, n. 1, p. 27-37, 2009.

PAERL, H. W.; OTTEN, T. G. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. **Microbial Ecology**, v. 65, n. 4, p. 995-1010, 2013.

PAGANO, M. Feeding of tropical cladocerans (*Moina micrura*, *Diaphanosoma excisum*) and rotifer (*Brachionus calyciflorus*) on natural phytoplankton: effect of phytoplankton size-structure. **Journal of Plankton Research**, v. 30, n. 4, p. 401-414, 2008.

PAN, Y.; ZHANG, Y.; SUN, S. Phytoplankton-zooplankton dynamics vary with nutrients: a microcosm study with the cyanobacterium *Coleofasciculus chthonoplastes* and cladoceran *Moina micrura*. **Journal of Plankton Research**, v. 36, n. 5, p. 1323-1332, 2014.

POURIA, S.; ANDRADE, A.; BARBOSSA, J.; CAVALCANTI, R. L.; BARRETO, V. T. S.; WARD, C. J.; PREISER, W.; POON, G. K.; NEILD, G. H.; CODD, G. A. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. **The Lancet**, v. 352, n. 9121, p. 21-26, 1998.

R CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2016. <https://www.R-project.org/>

SANT'ANNA, C. L.; AZEVEDO, M. T. P.; WERNER, V. R.; DOGO, C. R.; RIOS, F. R.; CARVALHO, L. R. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. **Algological Studies**, v. 126, n. 1, p. 251-265, 2008.

SEVERIANO, J. S.; ALMEIDA-MELO, V. L. S.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C.; CHIA, M. A.; MOURA, A. N. Effects of increased zooplankton biomass on

phytoplankton and cyanotoxins: A tropical mesocosm study. **Harmful Algae**, v. 71, p. 10-18, 2018.

SOARES, M. C. S.; HUSZAR, V. L. M.; MIRANDA, M. N.; MELLO, M. M.; ROLAND, F.; LÜRLING, M. Cyanobacterial dominance in Brazil: distribution and environmental preferences. **Hydrobiologia**, v. 717, n. 1, p. 1-12, 2013.

SUKENIK, A.; ESHKOL, E.; LIVNE, A.; HADAS, O.; ROM, M.; TCHERNOV, D.; VARDI, A.; KAPLAN, A. Inhibition of growth and photosynthesis of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* by *Microcystis* sp. (Cyanobacteria): a novel allelopathic mechanism. **Limnology and Oceanography**, v. 47, n. 6, p. 1656-1663, 2002.

URRUTIA-CORDERO, P.; EKVALL, M. K.; HANSSON, L. A. Responses of cyanobacteria to herbivorous zooplankton across predator regimes: who mows the bloom? **Freshwater Biology**, v. 60, n. 5, p. 960-972, 2015.

VANDERSTUKKEN, M.; DECLERCK, S. A.; DECAESTECKER, E.; MUYLEAERT, K. Long-term allelopathic control of phytoplankton by the submerged macrophyte *Elodea nuttallii*. **Freshwater Biology**, v. 59, n. 5, p. 930-941, 2014.

VERSCHOOR, A. M.; VAN DER STAP, I. HELMSING, N. R.; LÜRLING, M.; VAN DONK, E. Inducible colony formation within the Scenedesmaceae: adaptive responses to infochemicals from two different herbivore taxa. **Journal of Phycology**, v. 40, n. 5, p. 808-814, 2004.

WANG, H.; LIU, F.; LUO, P.; LI, Z.; ZHENG, L.; WANG, H.; ZOU, D.; WU, J. Allelopathic effects of *Myriophyllum aquaticum* on two cyanobacteria of *Anabaena flos-aquae* and *Microcystis aeruginosa*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 98, n. 4, p. 556-561, 2017.

WIEGAND, C.; PFLUGMACHER, S. Ecotoxicological effects of selected cyanobacterial secondary metabolites a short review. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 203, n. 3, p. 201-218, 2005.

WINDER, M.; SOMMER, U. Phytoplankton response to a changing climate. **Hydrobiologia**, v. 698, n. 1, p. 5-16, 2012.

WOOD, A. M.; EVERROAD, R. C.; WINGARD, L. M. Measuring growth rates in microalgal cultures. **Algal Culturing Techniques**, v. 18, p. 269-288, 2005.

WU, Z.; DENG, P.; WU, X.; LUO, S.; GAO, Y. Allelopathic effects of the submerged macrophyte *Potamogeton malaianus* on *Scenedesmus olivaceus*. **Hydrobiologia**, v. 592, n. 1, p. 465-474, 2007.

YIN, X. W.; LIU, P. F.; ZHU, S. S.; CHEN, X. X. Food selectivity of the herbivore *Daphnia magna* (Cladocera) and its impact on competition outcome between two freshwater green algae. **Hydrobiologia**, v. 655, n. 1, p. 15-23, 2010.

ZHANG, P.; ZHAI, C.; WANG, X.; LIU, C.; JIANG, J.; XUE, Y. Growth competition between *Microcystis aeruginosa* and *Quadrifidula chodatii* under controlled conditions. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 2, p. 555-565, 2013.

ZHANG, T.; LIU, L.; YANG, X.; XIA, W.; LI, C. Allelopathic control of freshwater phytoplankton by the submerged macrophyte *Najas minor* All. **Acta Ecologica Sinica**, v. 34, n. 6, p. 351-355, 2014.

ZHU, J.; LIU, B.; WANG, J.; GAO, Y.; WU, Z. Study on the mechanism of allelopathic influence on cyanobacteria and chlorophytes by submerged macrophyte (*Myriophyllum spicatum*) and its secretion. **Aquatic Toxicology**, v. 98, n. 2, p. 196-203, 2010.