



Estado do Paraná

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - Unioeste**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA**

**ABORDAGENS ECOLÓGICAS E BIOTECNOLÓGICAS**  
**DAS MICROALGAS PARA CONSERVAÇÃO E**  
**PRESERVAÇÃO DO RIO TOLEDO**

**Guilherme Miola de Castro**

Toledo – Paraná – Brasil

2017



Estado do Paraná

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS - PPGCA**

**ABORDAGENS ECOLÓGICAS E BIOTECNOLÓGICAS PARA**  
**CONSERVAÇÃO E PRESERVAÇÃO DO RIO TOLEDO**

**Guilherme Miola de Castro**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Unioeste/*Campus* Toledo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Nyamien Yahaut Sebastien  
Co-orientador: Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino

MARÇO/2017

Toledo – PR

Catálogo na Publicação elaborada pela Biblioteca Universitária  
UNIOESTE/Campus de Toledo.

Bibliotecária: Marilene de Fátima Donadel - CRB – 9/924

Castro, Guilherme Miola de  
C355a Abordagens ecológicas e biotecnológicas para conservação e  
preservação do Rio Toledo / Guilherme Miola de Castro. -- Toledo, PR: [s.n.],  
2017.

66 f. : il.(algumas color.), figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Nyamien Yahaut Sebastien

Coorientador: Prof. Dr. Cleber Antônio Lindino

Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) - Universidade Estadual  
do Oeste do Paraná. Campus de Toledo. Centro de Engenharias e  
Ciências Exatas.

1. Ciências ambientais - Dissertações 2. Ecologia aquática 3.  
Fitoplâncton de água doce - Ecologia 3. Alga de água doce 4. Microalga 5.  
Toledo, Rio Toledo (PR) - Conservação 6. Controle de qualidade da água -  
Toledo, Rio Toledo (PR) I. Sebastien, Nyamien Yahaut, orient. II. Lindino,  
Cleber Antônio, coorient. III T.

CDD 20. ed. 574.526323

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Guilherme Miola de Castro**

“Abordagens ecológicas e biotecnológicas das microalgas para conservação e preservação do Rio Toledo”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais – Mestrado, do Centro de Engenharias e Ciências Exatas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais, pela Comissão Examinadora composta pelos membros:

## COMISSÃO EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Nyamien Yahaut Sebastien  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Presidente)

---

Prof. Dr. Cleber Antônio Lindino  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

---

Prof. Dr. Luís Fernando Souza Gomes  
Universidade Federal do Paraná

---

Prof. Dr. Paulo Vanderlei Sanches  
Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Aprovada em: 03 de março de 2017.

Local de defesa: Auditório do Gerpel – UNIOESTE/*campus* de Toledo.

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus e à  
todos que contribuíram para  
realização deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, Arquiteto do Universo, por guiar e iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, Jademir e Claudete, meus eternos heróis que, com muito amor, sabedoria e experiência de vida, me mostraram o caminho da honestidade, caráter, perseverança, além do incentivo e apoio essenciais e incondicionais. À vocês, minha eterna gratidão.

À minha irmã, Julia Miola de Castro, futura oceanógrafa, pela parceria, bons momentos e conselhos valiosos.

À minha noiva, Raquel Ana Klein, pelo amor, carinho e, compreensão nos momentos em que não pude desfrutar de sua agradabilíssima presença.

Aos meus familiares, pelo apoio concedido durante esta etapa. Aos meus avôs Samuel de Castro (*in memoriam*) e Mauricio Miola (*in memoriam*), que guardarei para sempre em meu coração e em meus pensamentos, mesmo não estando neste Plano, se faziam presentes nas minhas lembranças, recordando de ótimos momentos juntos. Saudades eternas!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nyamien Yahaut Sebastien, pela orientação, conselhos, por apresentar o instigante universo das microalgas, pela parceria e por compartilhar suas histórias de vida.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Cleber Antonio Lindino, sempre solícito e disposto a auxiliar com seus conhecimentos e com suas contribuições importantes para este trabalho.

À UNIOESTE, pela excelência e qualidade no ensino, por proporcionar condições para que este trabalho fosse realizado.

Ao Laboratório de Limnologia Aplicada e toda sua equipe (Adriana Tronco, Juliana Taborda, Jean Colombari Neto, Sabrina Endler, Rafael Sarolli, Cristiane Zine, Maicon Dallagnol, Dheniffer Pasa e Guilherme Sganderla) pelos auxílios nas análises laboratoriais, conversas, parcerias e bons momentos vividos. Muito obrigado!

Ao GERPEL, por fornecer estrutura e aporte técnico nas coletas no Rio Toledo.

Aos professores Dr. Paulo Vanderlei Sanches, Dr. Dirceu Baumgartner, Dra. Tatiana R. Baumgartner, Dr. Robie Bombardelli, Dra. Thais Bignotto e, Dr. Luis Fernando Silva Gomes pelos valiosos conselhos, sugestões para melhoria do trabalho. Muito obrigado!

Aos colegas e amigos do InPAA (Gildete Souza, Cristian Silva, Samara Marcon, Bruna Machiavelli, Giovano Neumann, Ahiana Cassia, Ricacio Luan, Vinicius Alcoforado) e, das coletas do rio Toledo (Bruna Fitarelli, Gabriele Nogueira, Mariane Corrêa e, Juliane Cavaglieri), pela amizade construída ao longo do mestrado e que levarei para sempre.

Ao Laboratório de Ficologia da UNIOESTE Cascavel e toda sua equipe (Prof. Dra. Norma Catarina Bueno, Dra. Jascieli Bortolini, Dra. Margareth Seghetto Nardelli, Camila Akemy N. Aquino, Cinthia Coutinho e Mailor Wedig), por estarem sempre disponíveis a ajudar e por disponibilizar livros, microscópios, materiais e dicas valiosas que contribuíram muito para a finalização deste trabalho.

À todos os professores do Mestrado em Ciências Ambientais, pela participação fundamental e marcante na minha formação acadêmica.

Às minhas colegas da turma III do Mestrado em Ciências Ambientais, pelos agradáveis momentos vividos.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

*“Que os vossos esforços desafiem  
as impossibilidades, lembrai-vos de  
que as grandes coisas do homem  
foram conquistadas do que parecia  
impossível”.*

(CHARLES CHAPLIN, [1889-1977])

## RESUMO

CASTRO, G.M. **Aspectos ecológicos e biotecnológicos das microalgas para conservação e preservação do Rio Toledo.** 03/03/2017. 62 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, PR, 03 de março de 2017.

Este trabalho objetivou abordar aspectos ecológicos e biotecnológicos das microalgas para fins de preservação e conservação do Rio Toledo. O estudo foi realizado em cinco pontos no Rio Toledo, com coletas mensais de 300 mL de amostras, filtradas em redes de fitoplâncton de 20 µm de diâmetro, no período de julho/2015 a junho/2016. Foram identificados em nível de gênero a comunidade fitoplanctônica e a concentração de clorofila a. Os parâmetros abióticos pH, condutividade, turbidez, amônia, nitrito, nitrato, ortofosfato, fósforo total e, DBO assim que os Índices de Estado Trófico de Carlson modificado por Lamparelli e de Nygaard foram determinados. Na avaliação do crescimento das microalgas coletadas do Rio Toledo, foram utilizadas quatro cepas, sendo duas mistas (com dois ou mais gêneros) e duas isoladas de *Chlorella sp.*, divididas em quatro tratamentos, todos no meio sintético BM, durante 18 dias com acompanhamento da cinética de crescimento e do pH a cada 2 dias. A qualidade da água do rio Toledo foi diretamente afetada pelas atividades urbanas no seu entorno, principalmente nos pontos P4 e P5. Foram identificados 41 gêneros de algas, divididos em 5 classes, 10 ordens e 20 famílias, com predominância das Chlorophyceae (44%). Especialmente, o ponto P4 foi o mais representativo em número de gêneros com 28 táxons e, temporalmente, a estação verão apresentou 30 táxons, a maior dentre as quatro estações do ano. No IET de Lamparelli, o rio foi classificado como oligotrófico e, no de Nygaard de oligotrófico a mesotrófico. O crescimento das microalgas foi influenciado pelo número de gêneros presentes na cepa e pelo inóculo algal do cultivo. A cepa unialgal T4 apresentou a maior densidade celular máxima – DCM de  $4960 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup> e a menor DCM foi registrada pelo cultivo misto T2 com  $513 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup>. O pH permaneceu em condição alcalina em grande parte do experimento, favorecendo a disponibilidade da fração de ortofosfato HPO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Nos aspectos ecológicos avaliados, a composição do fitoplâncton do Rio Toledo foi diretamente afetada pelas atividades antrópicas do seu entorno, principalmente no trecho urbano e não foi possível afirmar o real estado trófico do Rio Toledo, pelos dois modelos utilizarem metodologias completamente diferentes entre si, devendo ser testado um terceiro índice para confirmar o grau trófico do rio. Na biotecnologia, o crescimento dos cultivos não mistos foram maiores de que os mistos e o pH alcalino é a condição de cultivo mais adequada para o crescimento das microalgas analisados.

**Palavras-chave:** fitoplâncton; grau trófico; crescimento algal; Oeste do Paraná;

## ABSTRACT

CASTRO, G.M. **Ecological and biotechnological aspects of microalgae for conservation and preservation of the Toledo River.** 03/03/2017. 62 p. Dissertation (Master in Environmental Sciences) - State University of West of Paraná. Toledo, PR, March 03, 2017.

This work aimed to address the ecological and biotechnological aspects of microalgae for the preservation and conservation of the Toledo River. The study was carried out in five points in the Toledo River, with monthly collections of 300 mL of samples, filtered in phytoplankton networks of 20  $\mu\text{m}$  in diameter, from July / 2015 to June / 2016. The phytoplankton community and the concentration of chlorophyll a were identified at the genus level. The abiotic parameters pH, conductivity, turbidity, ammonia, nitrite, nitrate, orthophosphate, total phosphorus and, BOD as the Carlson Trophic State Indexes modified by Lamparelli and Nygaard were determined. In the evaluation of the growth of the microalgae collected from the Toledo River, four strains were used, two mixed (with two or more genera) and two isolates of *Chlorella* sp, divided into four treatments, all in the synthetic medium BM, during 18 days with monitoring of Kinetics of growth and pH every 2 days. The water quality of the Toledo river was directly affected by the urban activities in its surroundings, mainly in the points P4 and P5. 41 genera of algae were identified, divided into 5 classes, 10 orders and 20 families, with predominance of Chlorophyceae (44%). Spatially, point P4 was the most representative in number of genera with 28 taxa and, seasonally, the summer season presented 30 taxa, the largest of the four seasons of the year. In the IET of Lamparelli, the river was classified as oligotrophic and, in Nygaard from oligotrophic to mesotrophic. The growth of microalgae was influenced by the number of genera present in the strain and by the algal inoculum of the culture. The unialgal T4 strain had the highest maximum cell density - DCM of  $4960 \times 10^5$  cells  $\text{mL}^{-1}$  and the lowest DCM was recorded by mixed T2 cultivation with  $513 \times 10^5$  cells  $\text{mL}^{-1}$ . The pH remained in alkaline condition in most of the experiment, favoring the availability of the  $\text{HPO}_4^-$  orthophosphate fraction. In the ecological aspects evaluated, the composition of the phytoplankton of the Toledo River was directly affected by the anthropic activities of its surroundings, mainly in the urban stretch and it was not possible to affirm the real trophic state of the Toledo River, by the two models using completely different methodologies, A third index should be tested to confirm the trophic degree of the river. In biotechnology, the growth of the non-mixed cultures was higher than the mixed ones and the alkaline pH is the most adequate cultivation condition for the growth of the analyzed microalgae.

**Key-words:** phytoplankton; trophic degree; algal growth; West of Parana.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> percurso do Rio Toledo e suas estações de amostragem. ....	22
<b>Figura 2:</b> localização dos pontos de amostragem e das estações. Ponto P1 (A); Ponto P2 (B); Ponto P3 (C); Ponto P4 (D), e; Ponto P5 (E). ....	23
<b>Figura 3:</b> Distribuição de classes de fitoplâncton do rio Toledo entre julho de 2015 a julho de 2016 em todas as estações amostrais.....	33
<b>Figura 4:</b> número de gêneros encontrados por classe de algas considerando todas as estações amostrais no Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016. ....	34
<b>Figura 5:</b> composição taxonômica do fitoplâncton do Rio Toledo em cada estação amostral entre julho de 2015 a junho de 2016.....	35
<b>Figura 6:</b> variação temporal (estações do ano) do número de gêneros encontrados por classe de algas no Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016. INV: inverno; PRI: primavera; VER: verão, e; OUN: outono;.....	36
<b>Figura 7:</b> variação temporal percentual (estações do ano) da composição taxonômica do fitoplâncton do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016. INV: inverno; PRI: primavera; VER: verão, e; OUN: outono;.....	37
<b>Figura 8:</b> densidades celulares de crescimento dos diferentes tratamentos durante 18 dias. Resultados apresentados em logaritmo de 2 do valor da densidade celular. ....	53
<b>Figura 9:</b> velocidades de crescimento específico dos diferentes tratamentos em função dos dias de crescimento. ....	54
<b>Figura 10:</b> dinâmica das frações de ortofosfato nos meios de cultivo das cepas analisadas em função dos dias de experimento.....	56

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> descrição dos pontos de coleta no Rio Toledo. ....	22
<b>Tabela 2:</b> (Continuação da Tabela 1): descrição dos pontos de coleta no Rio Toledo. ....	23
<b>Tabela 3:</b> metodologias e equipamentos utilizados para determinação das variáveis abióticas do Rio Toledo. ....	25
<b>Tabela 4:</b> classificação do índice de estado trófico para ambientes lóticos (rios).26	
<b>Tabela 5:</b> valores de pluviosidade mensal no município de Toledo entre julho/2015 a junho/2016. ....	27
<b>Tabela 6:</b> valores máximos, mínimos e médios dos parâmetros físicos e químicos do Rio Toledo, em quatro estações temporais: inverno (julho a setembro/2015), primavera (outubro a dezembro/2015), verão (janeiro a março/2016) e, outono (abril a junho/2016). ....	29
<b>Tabela 7:</b> valores médios do Índice de Estado Trófico – IET, do rio Toledo durante o período amostral em cada ponto de coleta. ....	29
<b>Tabela 8:</b> índice simples de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná. ....	30
<b>Tabela 9:</b> índice de diatomáceas de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná. ....	31
<b>Tabela 10:</b> índice composto de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná. ....	31
<b>Tabela 11:</b> Táxons do fitoplâncton encontrados no rio Toledo, Paraná, Brasil, no período de julho/2015 a julho/2016. ....	33
<b>Tabela 12:</b> descrição dos tratamentos utilizados. ....	50
<b>Tabela 13:</b> taxas de crescimento específico ( $\mu$ ; dia <sup>-1</sup> ), de duplicação celular (k; dia <sup>-1</sup> ) e, tempo de duplicação (G <sub>2</sub> ; hora) dos diferentes tratamentos em função do tempo de cultivo. OBS: G <sub>2</sub> negativos não foram considerados. FCE: fase de crescimento exponencial; FSE = fase de senescência. ....	54
<b>Tabela 14:</b> valores médios de pH e seus respectivos desvios padrão dos diferentes tratamentos, ao longo dos dias de experimento. ....	55

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>17</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	17
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	17
<b>3</b>	<b>ARTIGO 1: VARIAÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA E COMPARATIVO DE DOIS ÍNDICES DE ESTADO TRÓFICO PARA O RIO TOLEDO, TOLEDO-PR.....</b>	<b>18</b>
3.1	INTRODUÇÃO.....	20
3.2	MATERIAL E MÉTODOS .....	21
<b>3.2.1</b>	<b>Área de estudo.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Coleta e identificação do fitoplâncton .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Variáveis abióticas .....</b>	<b>24</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Precipitação pluviométrica .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Índices de estado trófico – iet .....</b>	<b>25</b>
3.2.5.1	IET de Carlson (1977) modificado por Lamparelli (2004) .....	25
3.2.5.2	IET de Nygaard (1949) .....	26
3.3	RESULTADOS .....	27
<b>3.3.1</b>	<b>Precipitação pluviométrica .....</b>	<b>27</b>
3.4	VARIÁVEIS ABIÓTICAS.....	28
<b>3.4.1</b>	<b>Índices de estado trófico .....</b>	<b>29</b>
3.4.1.1	IET de Carlson modificado por Lamparelli.....	29
3.4.1.2	IET de Nygaard (1949) .....	30
<b>3.4.2</b>	<b>Distribuição da comunidade fitoplanctônica .....</b>	<b>32</b>
3.5	DISCUSSÃO .....	37
3.6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
3.7	REFERÊNCIAS.....	42
<b>4</b>	<b>ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA VARIAÇÃO DO PH DE CULTIVOS MISTOS E ISOLADOS DE UM BANCO DE MICROALGAS .....</b>	<b>47</b>
4.1	INTRODUÇÃO.....	48

4.2	METODOLOGIA .....	50
4.3	RESULTADOS .....	52
<b>4.3.1</b>	<b>Curva de crescimento .....</b>	<b>52</b>
<b>4.3.2</b>	<b>pH.....</b>	<b>54</b>
4.4	DISCUSSÃO .....	56
<b>4.4.1</b>	<b>Curva de crescimento .....</b>	<b>56</b>
<b>4.4.2</b>	<b>pH.....</b>	<b>58</b>
4.5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58
4.6	REFERÊNCIAS .....	59
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS.....</b>	<b>62</b>
<b>6</b>	<b>RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>62</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS GERAIS .....</b>	<b>63</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Em relação à temática da água, é impossível não conectá-la com a vida, pois é um elemento essencial na sobrevivência no planeta em todos os seus aspectos: na existência humana, nos processos biológicos, na conservação e preservação dos ecossistemas e nas relações interespecíficas entre os seres vivos e a natureza. (BACCI; PATACA, 2008).

O rio Toledo é o corpo hídrico mais importante na hidrografia do município, responsável por 40% do abastecimento de água, de um consumo total aproximado da população de 20 milhões de litros diários (SCHERER, 2015). Além disso, seu curso engloba uma das maiores cidades do Oeste Paranaense e a influência direta e indireta de atividades industriais, urbanas e de agricultura deterioram significativamente a sua qualidade, de forma a limitar o uso de suas águas pela população (NIEWEGLOWSKI, 2006). Por isso, o monitoramento contínuo de sua qualidade é fundamental para compreender o estado de degradação do rio e propor medidas que visem minimizar os impactos como instrumento de melhoria da qualidade de vida dos munícipes.

Em razão do desenvolvimento econômico e populacional, os ecossistemas aquáticos vêm sofrendo alterações nas suas estruturas e funcionalidades, identificadas pela grande variabilidade e dinamicidade dos parâmetros bióticos e abióticos e, influenciados diretamente pelos usos múltiplos da sua bacia hidrográfica, sendo reflexo do uso e ocupação do solo do entorno (LINDNER; GOMIG; KOBAYAMA, 2007; POLIGNANO et al., 2012; QUEIROZ; SILVA; STRIXINO, 2008). Essas modificações geram impactos diretos e indiretos na biocenose, como a eutrofização, a perda da diversidade biológica, aumento da turbidez e de materiais em suspensão, alteração dos habitats e da qualidade da água. Neste contexto, o monitoramento das comunidades biológicas é importante para detectar modificações nas condições ambientais, pois permite avaliar o risco ecológico e as consequências dos impactos no meio aquático (TUNDISI; TUNDISI, 2008).

As microalgas são constituídas de uma grande diversidade de seres microscópicos, em sua maioria fotossintéticos e de hábitos planctônicos, unicelulares, podendo estar presentes no ambiente de forma isolada, em colônias ou como segmento linear de células. Entretanto, ocorre pouca ou

nenhuma diferenciação entre as funções celulares, sendo cada célula responsável por todas as funções vitais. São organismos aquáticos cosmopolitas, habitando ambientes marinhos e continentais e são altamente sensíveis às condições ambientais do meio, como temperatura, radiação, disponibilidade de nutrientes, pH e oxigenação da água. (ANDRADE; COLOZZI FILHO, 2014; DERNER et al., 2006; LOURENÇO, 2006; SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012).

O interesse recente e crescente no desenvolvimento de estudos relacionados com as microalgas se deve às vastas possibilidades de sua aplicação. As microalgas possuem fundamental importância ambiental por serem base da cadeia alimentar aquática, sendo essenciais ao equilíbrio do ecossistema e por serem altamente sensíveis à distúrbios ambientais provocados por atividades antrópicas (CHELLAPPA; LIMA; CÂMARA, 2007) como a redução dos níveis de oxigênio dissolvido, altas concentrações de nutrientes, principalmente nitrogênio e fósforo, contaminantes de origem tóxica, baixa produtividade, abundância e predação (CASÉ et al., 2008; CHANKAEW et al., 2015) sendo, portanto, uma ferramenta importante para investigação de impactos ambientais sob o ecossistema aquático (BALETA; BOLAÑOS, 2016).

Além disso, apresentam potencialidades significativas de aplicação econômica na alimentação humana e animal, potenciais terapêuticos, no tratamento de efluentes, na produção de bioenergia e, em ensaios ecotoxicológicos (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012; BRENNAN; OWENDE, 2010; GONZÁLEZ; CAÑIZARES; BAENA, 1997; HU, 2004; OLIVEIRA; BASTOS; NEVES, 2011; PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

Para viabilizar a utilização das microalgas de importância econômica, é necessário o conhecimento de fatores envolvidos no crescimento, atrelado diretamente a um conjunto de condições bioquímicas e biológicas (COSTA et al., 2014), tais como: o pH, cujo controle é fundamental para que os nutrientes estejam disponíveis para absorção (LOURENÇO, 2006); o fósforo, considerado um nutriente limitante ao crescimento, influenciando na acumulação de lipídios e na produtividade da biomassa (XIN et al., 2010), e; a competição por recursos entre dois táxons em um cultivo misto (LOURENÇO, 2006).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Abordar os aspectos da variação espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo ecológicos e de crescimento das microalgas do Rio Toledo para aplicações ambientais e econômicas, como instrumento de informação sobre os diversos usos das microalgas

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Caracterizar qualitativamente a comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo em escala espacial e temporal;
- b) Testar dois índices de estado trófico para determinar o grau de trofia do Rio Toledo;
- c) Avaliar o crescimento de cepas mistas e unialgais do banco de microalgas do Rio Toledo, bem como compreender a dinâmica das frações de fósforo em função do pH no meio de cultivo;

### 3 ARTIGO 1: VARIAÇÃO ESPACIAL E TEMPORAL DA COMUNIDADE FITOPLANCTÔNICA E COMPARATIVO DE DOIS ÍNDICES DE ESTADO TRÓFICO PARA O RIO TOLEDO, TOLEDO-PR

#### RESUMO

Este estudo analisou a variação espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo, testando dois índices de estado trófico – IET para determinação do grau de trofia do rio. Cinco estações amostrais foram avaliadas durante um ano (julho/2015 a junho/2016), com parâmetros bióticos (identificação qualitativa do fitoplâncton e clorofila-a) e abióticos (pH, condutividade, turbidez, amônia, nitrito, nitrato, ortofosfato, fósforo total e DBO). Os IET analisados foram o de Carlson modificado por Lamparelli e os índices simples, composto e de diatomáceas de Nygaard. Todas as variáveis abióticas analisadas apresentaram valores máximos nos pontos posteriores à cidade (P4 e P5), caracterizando a influência das atividades urbanas na qualidade da água. No IET de Lamparelli, o rio foi classificado como oligotrófico e, no de Nygaard de oligotrófico a mesotrófico. Foram identificados 41 gêneros de algas, divididos em 5 classes, 10 ordens e 20 famílias, com predominância das Chlorophyceae (44%) nas escalas espaciais e temporais, seguida das Bacillariophyceae (24%), Cyanophyceae (15%), Zygnemaphyceae (10%) e Euglenophyceae (7%). Espacialmente, o ponto P4 foi o mais representativo em número de gêneros com 28 táxons e, temporalmente, a estação verão apresentou 30 táxons, a maior dentre as quatro estações do ano. A comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo foi diretamente influenciada pelas condições físicas e químicas da água, pelas interferências externas do entorno do rio e, embora os dois IET apresentarem resultados semelhantes, não foi possível afirmar o real estado trófico do Rio Toledo, por utilizarem metodologias completamente diferentes entre si.

**Palavras-chave:** fitoplâncton; qualidade da água; impactos antrópicos; Oeste do Paraná;

#### ABSTRACT

The aim of this study was to analyze the spatial and temporal variation of Toledo's River phytoplanktonic community, as well as to test two trophic state index – TSI to determinate the trophic degree of the river. Were evaluated five sampling stations during one year (July/2015 to June/2016) with biotic (qualitative identification of

phytoplankton and chlorophyll-a) and abiotic parameters (pH, conductivity, turbidity, ammonia, nitrite, nitrate, orthophosphate, total phosphorus and BOD). The analysed TSI were of Carlson modified by Lamparelli and the simple, compound and diatoms index of Nygaard. 41 genera of algae were identified, divided into 5 classes, 10 orders and 20 families, with Chlorophyceae predominating (44%) in spatial and temporal scales, followed by Bacillariophyceae (24%), Cyanophyceae (15%), Zygnemaphyceae (10%) and Euglenophyceae (7%). Spatially, point P4 was the most representative in number of genera with 28 taxa and, seasonally, the summer season presented 30 taxa, the largest of the four seasons of the year. The phytoplankton community of the Toledo River was directly influenced by the physical and chemical conditions of the water, due to the external interferences of the river and, although the two TSI's presented similar results, it was not possible to affirm the real trophic state of the Toledo River, from user completely different methodologies.

**Keywords:** phytoplankton; water quality; anthropic impacts; West of Parana;

### 3.1 INTRODUÇÃO

O Rio Toledo, localizado no município de mesmo nome, é um corpo hídrico semiurbano integrante da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco Verdadeiro, o qual contribui para a formação do Lago de Itaipu (NIEWEGLOWSKI, 2006). É um rio extremamente importante para o município pois representa parte do abastecimento de água para a população, entretanto sofre influências diretas das intensas atividades agrícolas e da urbanização, visto que mais de 36 mil pessoas habitam áreas urbanas da sub-bacia (ENVEX, 2016).

Os rios são sistemas aquáticos diretamente influenciados pelos usos múltiplos da bacia hidrográfica a qual está inserida e, com a permanente contribuição de material alóctone (ODUM, 2004; TUNDISI; TUNDISI, 2008) e as interações entre a bacia hidrográfica, sistemas aquáticos e condições climatológicas interferem no funcionamento dos processos biogeoquímicos e biofísicos (FUENTES et al., 2010).

A comunidade fitoplanctônica é constituída de uma assembleia de organismos aquáticos em sua maioria fotossintéticos, vivendo dispersos e suspensos na água (CUNHA; CALIJURI, 2013). São seres com todo o seu ciclo de vida e a fase vegetativa ocorrendo na coluna d'água (ESTEVES, 2011) e são encontrados em todos os ambientes aquáticos, marinhos, estuarinos e continentais e são diretamente afetadas pelas condições limnológicas do meio às condições ambientais do meio, como temperatura, luminosidade, nutrientes, pH e turbulência, influenciando na variação espaço-temporal do fitoplâncton (ÇELEKLI; ÖZTÜRK; KAPI, 2014; REYNOLDS, 2006).

A coleta de informações sobre o fitoplâncton é de fundamental importância para compreensão dos ecossistemas aquáticos continentais pelo fato de serem base da cadeia trófica aquática e responsáveis, juntamente com outros organismos, pela produtividade primária (RODRIGUES et al., 2015). Além disso, algumas características das algas, como seu tamanho reduzido e ciclo de vida curto, possibilitam ser utilizadas como bioindicadoras de qualidade da água, por apresentarem alta sensibilidade e adaptação a

alterações do habitat, principalmente por fatores externos como processos de poluição e contaminação da água (AQUINO et al., 2011; CARAPUNARLA; BAUMGARTNER; RODRIGUES, 2014; ESTEVES, 2011; POOT-DELGADO, 2014; YANG et al., 2016).

Essas relações entre os sistemas bióticos e abióticos nos sistemas aquáticos permitem determinar o estado trófico de um corpo hídrico, sendo importante na gestão e manejo sustentável dos recursos hídricos (ZANINI et al., 2010). A eutrofização está intimamente ligada com a dinâmica do fitoplâncton e a disponibilidade de nutrientes, principalmente os compostos fosfatados de origem artificial, originários de lançamentos de efluentes domésticos e industriais (ESTEVES, 2011). Por isso, o uso de índices de estado trófico é essencial na avaliação da qualidade da água em graus tróficos por meio da elevação da concentração de nutrientes no corpo hídrico (CARLSON, 1977).

A escassez de informações sobre a qualidade da água do Rio Toledo e a ausência de estudos sobre a comunidade fitoplanctônica, ressaltam a relevância deste trabalho para o conhecimento da sociedade científica e civil sobre o estado atual do rio, podendo orientar os gestores públicos e tomadores de decisão em práticas conservacionistas e de preservação. Considerando tais cenários, o objetivo do presente estudo foi realizar um estudo sobre a variação espacial e temporal da comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo, analisando a distribuição das classes de algas pela ocorrência de gêneros, bem como caracterizar as estações amostrais por meio de variáveis limnológicas e, a partir disso, comparar o grau de trofia do rio por dois índices de estado trófico.

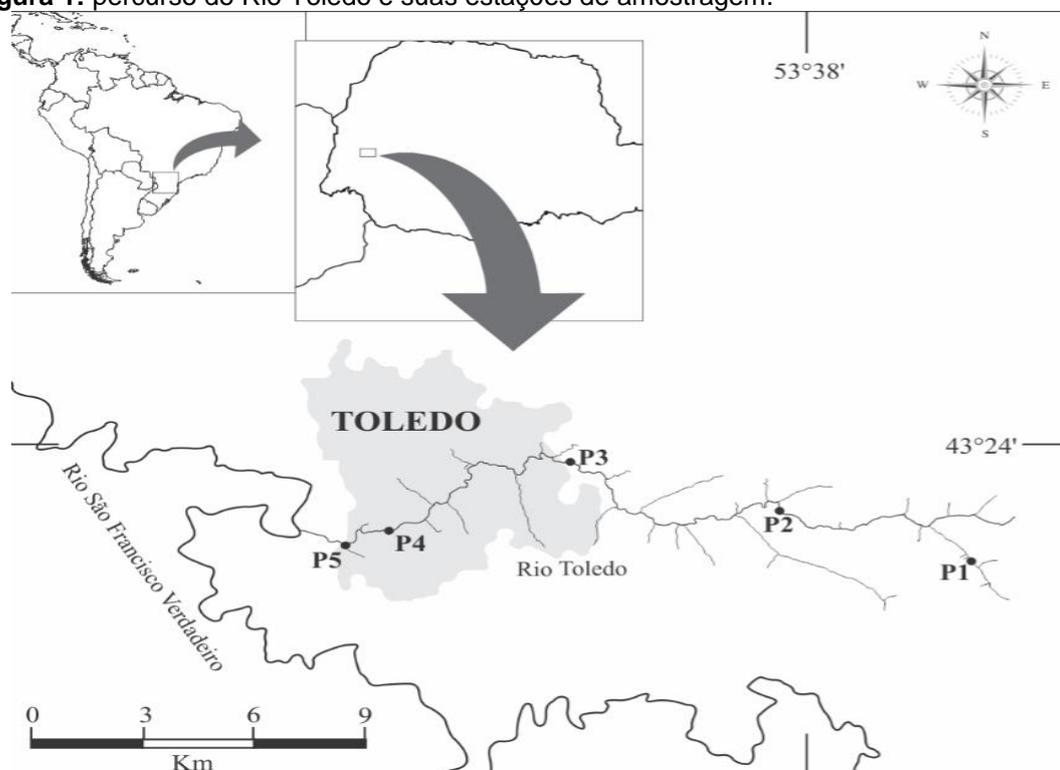
## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Área de estudo

O rio Toledo é o corpo hídrico de maior importância na malha hidrográfica do município, pois é utilizado como fonte de abastecimento de água para o núcleo urbano, possui extensão aproximada de 26,5 km e corre no sentido leste-oeste (WINTER; BRAUN; LIMA, 2005) (Figura 1). A bacia hidrográfica do rio Toledo é componente da Bacia do Paraná III, no Oeste do

Estado do Paraná, com área de 92,0 km<sup>2</sup> com toda sua extensão englobada no território do município. Sua nascente está localizada entre os distritos de São Luiz do Oeste e Linha Gramado, com a maior parte de seu curso localizado na área urbana, desaguando no Rio São Francisco Verdadeiro. A bacia hidrográfica do Rio Toledo é considerada uma sub-bacia, inserida na bacia do Rio São Francisco Verdadeiro que, por sua vez, são integrantes da Bacia Hidrográfica do Paraná III (NIEWEGLOWSKI, 2006). Possui como afluentes as Sangas Perdida, Golondrina, Guarani, Manaus, Pinheirinho, Capellari e Lajes (FUNTEC, 1992; TOLEDO, 2010).

**Figura 1:** percurso do Rio Toledo e suas estações de amostragem.



Na Tabela 1 são descritos os pontos e as características do seu entorno e a Figura 2 mostra a localização do ponto quanto as proximidades e as estações de coleta.

**Tabela 1:** descrição dos pontos de coleta no Rio Toledo.

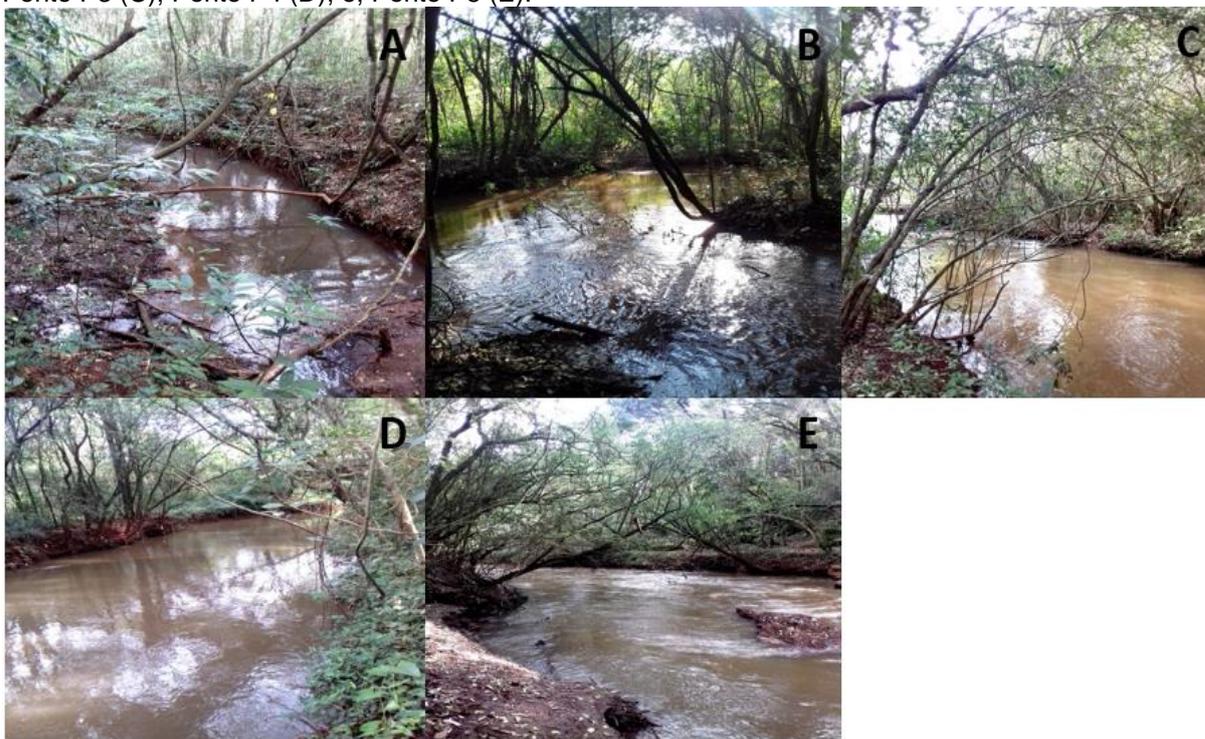
Ponto	Localização Geográfica	Ponto de referência	Descrição
P1	24'45'46" S 53°35'10" O	Distrito de São Luiz do Oeste – Próxima à Nascente (Figura 6A e 6B)	Margens preservadas, com mata ciliar estreita, porém abundante, com pouca interferência antrópica. Profundidade da lâmina d'água de aproximadamente 50 cm.

<b>P2</b>	24°44'50" S; 53°38'21" O	Localidade de Sol Nascente (Figura 6C e 6D)	Margens preservadas, com mata ciliar curta, porém abundante, com baixa interferência antrópica. Profundidade da lâmina d'água de, aproximadamente, 1,20 m.
<b>P3</b>	24°44'38" S; 53°41'12" O	Margem direita da BR-467, antes da Estação de Captação de água da Sanepar	Mata ciliar abundantes e bem preservadas. Alta velocidade da água. Profundidade aproximada de 1 metro. Nas margens, leito composto por sedimento. No meio do rio, o leito é composto por pedras.

**Tabela 2:** (Continuação da Tabela 1): descrição dos pontos de coleta no Rio Toledo.

<b>P4</b>	24°44'48" S; 53°44'26" O	Ponte no Contorno Sul – Jardim Bressan, Perímetro Urbano de Toledo (6G e 6H)	Ponto seriamente impactado por atividades antrópicas. Apresenta odor característico de lançamento de esgoto. Ponto impactado por lançamentos pontuais e difusos de efluentes industriais e domésticos à montante. Margens impactadas pela erosão, com muito lixo e mata ciliar pouco preservada. Moderada velocidade da água e profundidade média de 1,20 metros.
<b>P5</b>	24°45'14" S; 53°46'35" O	Próxima à Pedreira Municipal – Próximo à foz (6I e 6J)	Ponto localizado próximo à foz do Rio Toledo com o Rio São Francisco Verdadeiro. Mata ciliar bem preservada, porém composta por espécies exóticas (Leucenas, bambus e eucaliptos); profundidade considerável (acima de 2 metros).

**Figura 2:** localização dos pontos de amostragem e das estações. Ponto P1 (A); Ponto P2 (B); Ponto P3 (C); Ponto P4 (D), e; Ponto P5 (E).



Fonte: o autor.

Os aspectos ecológicos e ambientais do fitoplâncton foram delimitados em cinco pontos fixos de coleta, em todo o percurso do rio Toledo, desde sua nascente até a foz. As coletas foram realizadas durante o período de um ano, entre julho de 2015 a junho de 2016.

### **3.2.2 Coleta e identificação do fitoplâncton**

Para as avaliações qualitativas do fitoplâncton, as amostras foram coletadas com o auxílio de uma rede de fitoplâncton com 20  $\mu\text{m}$  de abertura de malha. As amostras foram fixadas e preservadas com solução Transeau (6:3:1) (BICUDO; MENEZES, 2006) na proporção 1:1 com a água da amostra, imediatamente após a coleta. Essas soluções fixadas foram armazenadas em local fechado no Laboratório de Limnologia, Ecotoxicologia e Biomanipulação – LEB, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, UNIOESTE, campus de Toledo, para posterior identificação em laboratório.

A identificação dos táxons foi realizada seguindo bibliografia especializada, de acordo com Bourrelly (1968), Bicudo e Menezes (2006), Sant'Anna et al. (2006), Bortolini et al. (2010), Domingues e Torgan (2011, 2012), Aquino, Bueno e Menezes (2014) e Nardelli et al. (2016), identificadas até o nível de gênero em microscópio óptico.

A abordagem qualitativa do fitoplâncton do rio Toledo foi realizada considerando a presença e a ausência de gêneros, antes e depois do trecho urbano do corpo hídrico e, nas estações de inverno, verão, primavera e outono, de forma a identificar a presença de possíveis gêneros bioindicadores de qualidade ambiental.

### **3.2.3 Variáveis abióticas**

As variáveis abióticas analisadas no presente estudo foram as seguintes: pH, turbidez (NTU), condutividade elétrica ( $\mu\text{s cm}^{-1}$ ), demanda bioquímica de oxigênio – DBO ( $\text{mg L}^{-1}$ ), amônia ( $\text{mg L}^{-1}$ ), nitrito ( $\text{mg L}^{-1}$ ), nitrato ( $\text{mg L}^{-1}$ ), fósforo total ( $\text{mg L}^{-1}$ ), Ortofosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e clorofila-a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). As respectivas metodologias e os equipamentos utilizados estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3: metodologias e equipamentos utilizados para determinação das variáveis abióticas do Rio Toledo.

<b>Variável</b>	<b>Equipamento</b>	<b>Metodologia</b>
pH	pHmetro digital Digimed DM-2P	Leitura da amostra no equipamento
Turbidez (NTU)	Turbidímetro Quimis AP2000	Leitura da amostra no equipamento
Condutividade elétrica ( $\mu\text{S cm}^{-1}$ )	Condutivímetro digital Digimed DM-3P	Leitura da amostra no equipamento
Amônia ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	Golterman et al. (1978)
Nitrito ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	Strickland e Parson (1972)
Nitrato ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	Golterman et al. (1978)
P-total ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	Mackereth et al. (1978)
Ortofosfato ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	Mackereth et al. (1978)
Clorofila-a ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Espectrofotômetro HACH DR-2012	Golterman et al. (1978). Extração por Álcool etílico 95% e leitura em 663 nm e 750 nm em espectrofotômetro.
DBO ( $\text{mg L}^{-1}$ )	Vidrarias	APHA (2005)

### 3.2.4 Precipitação pluviométrica

Os dados meteorológicos de precipitação no período de estudo, no município de Toledo, foram obtidos por meio de dados fornecidos pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR).

### 3.2.5 Índices de estado trófico – iet

#### 3.2.5.1 IET de Carlson (1977) modificado por Lamparelli (2004)

A determinação do Índice de Estado Trófico – IET para rios considera os parâmetros clorofila-a e fósforo total dissolvido, por meio das equações 1, 2 e 3, segundo Carlson (1977), modificado por Lamparelli (2004), assim como a classificação em diferentes graus de trofia: ultraoligotrófico, oligotrófico, mesotrófico, eutrófico e Hipereutrófico (Tabela 4).

$$\text{IET (Clorofila)} = 10 \times \left[ 6 - \frac{(-0,70-0,60)(\text{Ln Clorofila})}{\text{Ln } 2} \right] - 20 \quad (1)$$

$$\text{IET (P - Total)} = 10 \times \left[ 6 - \frac{(0,42-0,36)(\text{Ln P-total})}{\text{Ln } 2} \right] - 20 \quad (2)$$

$$\text{IET} = \left[ \frac{\text{IET (P-total)} + \text{IET (Clorofila)}}{2} \right] \quad (3)$$

**Tabela 4:** classificação do índice de estado trófico para ambientes lóticos (rios).

<b>Categoria (Estado Trófico)</b>	<b>Ponderação</b>	<b>P-Total (mg.L<sup>-1</sup>)</b>	<b>Clorofila-a (mg.L<sup>-1</sup>)</b>
<b>Ultraoligotrófico</b>	IET ≤ 47	P ≤ 13	CL ≤ 0,74
<b>Oligotrófico</b>	47 < IET ≤ 52	13 < P ≤ 35	0,74 < CL ≤ 1,31
<b>Mesotrófico</b>	52 < IET ≤ 59	35 < P ≤ 137	1,31 < CL ≤ 2,96
<b>Eutrófico</b>	59 < IET ≤ 63	137 < P ≤ 296	2,96 < CL ≤ 4,70
<b>Supereutrófico</b>	63 < IET ≤ 67	296 < P ≤ 640	4,70 < CL ≤ 7,46
<b>Hipereutrófico</b>	IET > 67	640 < P	7,46 < CL

Fonte: adaptado de Carlson (1977), modificado por Lamparelli (2004), e de CETESB (2014).

### 3.2.5.2 IET de Nygaard (1949)

Para determinação do Índice de Estado Trófico utilizando a comunidade fitoplânctônica do Rio Toledo, foi utilizado o Índice de Nygaard (1949) conforme mostrado a seguir.

- Quociente simples (Qs)

$$Q_s = \frac{n^{\circ} \text{ Chlorococcales}}{n^{\circ} \text{ Desmidiales}} \quad (4)$$

- Quociente Composto (Qc)

$$Q_c = \frac{\text{Chlorococcales} + \text{Centrales} + \text{Euglenales} + \text{Cyanophyceae}}{\text{Desmidiales}} \quad (5)$$

- Quociente de diatomáceas (Qd)

$$Q_d = \frac{\text{Centrales}}{\text{Pennaes}}$$

(6)

### 3.3 RESULTADOS

#### 3.3.1 Precipitação pluviométrica

Os valores de precipitação pluviométrica registrados no município de Toledo durante o período de estudo (Tabela 5) apresentaram as maiores chuvas no mês de dezembro/2015, com 363,6 mm e as menores pluviosidades no mês de agosto/2015 com 51,2 mm registrados. Em relação a pluviosidade observada até três dias anteriores à realização da coleta das amostras no rio Toledo, a maioria dos valores apresentou apenas pancadas de chuva de baixo volume e o maior valor foi em dezembro/2015 no qual choveu 136,4 mm, equivalente a 37,51% do total registrado para o período.

Em relação a precipitação pluviométrica, a estação verão foi a mais chuvosa do período estudado com 795,60 mm acumulados, com o mês de dezembro/2015 registrando a maior pluviosidade mensal com 363,4 mm, bem acima da média histórica mensal para a região Oeste do Paraná no mesmo período, a qual varia entre 170 a 230 mm/mês (SIMEPAR, 2015).

**Tabela 5:** valores de pluviosidade mensal no município de Toledo entre julho/2015 a junho/2016.

Período	Estação do Ano	Média histórica (mm) <sup>2</sup>	Data da Coleta	Pluviometria mensal (mm) <sup>1</sup>	Pluviometria 3 dias* <sup>1</sup>
Jul/15	Inverno	80	31/07/2015	355,6	0
Ago/15		90	28/08/2015	51,2	26,6
Set/15		140	18/09/2015	140,4	0
Out/15	Primavera	200	22/10/2015	143,6	0
Nov/15		150	28/11/2015	288,4	21,2
Dez/15		150	16/12/2015	363,6	39
Jan/16	Verão	188	27/01/2016	229,8	7
Fev/16		188	26/02/2016	192,0	29,2
Mar/16		163	29/03/2016	95,4	0,4
Abr/16	Outono	142	21/04/2016	61,4	0
mai/16		142	08/05/2016	212,4	7
jun/16		122	29/06/2016	66,4	0

\* Precipitação referente ao período de 7 (sete) dias anteriores à realização da coleta das amostras no Rio Toledo.

Fonte: <sup>1</sup>Adaptado do Sistema Meteorológico do Paraná – SIMEPAR (2016). <sup>2</sup>Adaptado de dados das Redes de Monitoramento Climatológico do Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR.

### 3.4 VARIÁVEIS ABIÓTICAS

Os resultados dos valores máximos e mínimos das determinações das variáveis abióticas estão mostrados na Tabela 6.

Os resultados de pH da água do Rio Toledo apresentaram variações significativas ao longo do período amostral, oscilando de um aspecto levemente ácido de 5,58, registrado na estação inverno (Ponto 1) a alcalino de 8,60 no outono, também no Ponto 1.

A condutividade elétrica da água apresentou ampla variação sazonal, oscilando de  $11,253 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  na estação primavera (Ponto 1) a  $166,700 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$  na estação outono (Ponto 5), considerada elevada no presente estudo. Na Tabela 3 é possível constatar que os maiores valores de condutividade são observados nos pontos 4 e 5, justamente os que são diretamente afetados pela interferência do perímetro urbano.

A turbidez apresentou variação ao longo dos pontos amostrais e da sazonalidade. O mínimo registrado foi no P1, na estação inverno, com 5,51 NTU e o máximo no P5, na estação verão, com 67,20 NTU, com os maiores valores de turbidez foram verificados nos pontos P4 e P5.

Em relação aos compostos nitrogenados e fosfatados, todos registraram suas concentrações máximas nos pontos P4 e P5. Para amônia, o maior valor observado foi de  $29,05 \text{ mg L}^{-1}$  em P4, na estação primavera; para nitrito,  $0,171 \text{ mg L}^{-1}$  em P5, no verão; em relação ao nitrato, o máximo registrado foi de  $17,10 \text{ mg L}^{-1}$  em P4, na estação inverno; para fósforo total e ortofosfato, as maiores concentrações foram no P4, na estação outono.

Considerando as concentrações mínimas, os menores valores para os parâmetros pH, condutividade, turbidez e nitrito foram registrados no P1, com pH 5,58 na estação inverno; condutividade de  $8,36 \mu\text{S cm}^{-1}$  no verão; turbidez de 5,51 NTU no inverno e;  $0,0001 \text{ mg L}^{-1}$  de nitrato nas estações primavera e verão. Já para os parâmetros amônia (N-NH<sub>3</sub>), nitrato (N-NO<sub>3</sub>), fósforo total (P-PO<sub>4</sub>) e ortofosfato, tiveram o P2 como ponto com as menores concentrações, com  $0,013 \text{ mg L}^{-1}$  de N-NH<sub>3</sub>, na estação verão;  $0,084 \text{ mg L}^{-1}$  de N-NO<sub>3</sub> no verão e no outono;  $0,007 \text{ mg L}^{-1}$  de P-PO<sub>4</sub> na primavera e no verão e  $0,004 \text{ mg L}^{-1}$  de Orto-P em todas as estações.

As concentrações de DBO teve seus menores resultados nos pontos P1 e P2, sendo a menor concentração encontrada de 0,173 mg L<sup>-1</sup>, no ponto P2 na estação verão. Os valores mais elevados de DBO foram registrados nos pontos P4 e P5, à jusante do trecho urbano do Rio Toledo, com máximo de 24,651 mg L<sup>-1</sup>.

**Tabela 6:** valores máximos, mínimos e médios dos parâmetros físicos e químicos do Rio Toledo, em quatro estações temporais: inverno (julho a setembro/2015), primavera (outubro a dezembro/2015), verão (janeiro a março/2016) e, outono (abril a junho/2016).

Parâmetro	Mínimo	Pto.	Estação ano	Máximo	Pto.	Estação ano
pH	5,58	P1	Inverno	8,60	P1	Outono
Turbidez (NTU)	5,51	P1	Inverno	67,20	P5	Verão
Condutividade (µS/cm)	8,36	P1	Verão	174,80	P4	Outono
Amônia (mg/L)	0,013	P2	Verão	29,05	P4	Primavera
Nitrito (mg/L)	0,001	P1	Primavera/Verão	0,171	P5	Primavera
Nitrato (mg/L)	0,084	P2	Verão/Outono	17,10	P4	Inverno
P-total (mg/L)	0,007	P1	Primavera/Verão	3,565	P4	Outono
Orto-P (mg/L)	0,002	P2	Inverno	3,532	P4	Inverno
DBO (mg/L)	0,000	Várias	Todas	7,099	P3	Inverno

### 3.4.1 Índices de estado trófico

#### 3.4.1.1 IET de Carlson modificado por Lamparelli

Os valores médios de IET de cada ponto considerando a sazonalidade foram calculados e seus resultados são mostrados na Tabela 7. Estes números representaram mínimo grau de trofia entre os pontos e em todas as estações do ano, sendo todos classificados como Ultraoligotrófico, segundo classificação do grau de trofia de Lamparelli (2004).

**Tabela 7:** valores médios do Índice de Estado Trófico – IET, do rio Toledo durante o período amostral em cada ponto de coleta.

Estação	Ponto	IET	Classificação
Inverno	1	39	Ultraoligotrófico
	2	39	Ultraoligotrófico
	3	40	Ultraoligotrófico
	4	43	Ultraoligotrófico
	5	42	Ultraoligotrófico
Primavera	1	37	Ultraoligotrófico
	2	37	Ultraoligotrófico
	3	37	Ultraoligotrófico
	4	42	Ultraoligotrófico
	5	34	Ultraoligotrófico
Verão	1	37	Ultraoligotrófico
	2	39	Ultraoligotrófico

	3	37	Ultraoligotrófico
	4	39	Ultraoligotrófico
	5	36	Ultraoligotrófico
<b>Outono</b>	1	37	Ultraoligotrófico
	2	37	Ultraoligotrófico
	3	45	Ultraoligotrófico
	4	33	Ultraoligotrófico
	5	39	Ultraoligotrófico

### 3.4.1.2 IET de Nygaard (1949)

As Tabelas 8, 9 e 10 mostram os resultados obtidos do cálculo do Índice de Estado Trófico de Nygaard. Três índices de comunidade fitoplanctônica propostos por Nygaard (1949) foram utilizados para caracterizar o grau de trofia do rio Toledo. Os índices de coeficiente simples (média total = 0,95) e de diatomáceas (média total = 0,55) permitiram classificar o rio como oligotrófico, entretanto, no de diatomáceas foram verificados pontos amostrais classificados como eutróficos. O índice de coeficiente composto (média total = 1,40) classificou o grau trófico do rio como mesotrófico. Vale ressaltar que o índice foi realizado considerando os gêneros de algas encontrados no Rio Toledo, não considerando a densidade fitoplanctônica das amostras.

**Tabela 8:** índice simples de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná.

<b>Estação</b>	<b>Ponto</b>	<b>Chlorococcales</b>	<b>Desmidiaceae</b>	<b>Resultado</b>	<b>Classificação</b>
<b>Inverno</b>	1	4	0	0	Oligotrófico
	2	6	0	0	Oligotrófico
	3	8	1	8	Eutrófico
	4	10	0	0	Oligotrófico
	5	6	0	0	Oligotrófico
<b>Primavera</b>	1	6	0	0	Oligotrófico
	2	5	0	0	Oligotrófico
	3	7	0	0	Oligotrófico
	4	7	0	0	Oligotrófico
	5	7	0	0	Oligotrófico
<b>Verão</b>	1	3	0	0	Oligotrófico
	2	4	0	0	Oligotrófico
	3	4	1	4	Eutrófico
	4	7	1	7	Eutrófico
	5	6	0	0	Oligotrófico
<b>Outono</b>	1	5	0	0	Oligotrófico
	2	4	0	0	Oligotrófico

	3	5	0	0	Oligotrófico
	4	8	0	0	Oligotrófico
	5	6	0	0	Oligotrófico
<b>Média</b>	-	<b>5,90</b>	<b>0,15</b>	<b>0,95</b>	<b>Oligotrófico</b>

**Tabela 9:** índice de diatomáceas de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná.

<b>Estação</b>	<b>Ponto</b>	<b>Centrales</b>	<b>Pennales</b>	<b>Resultado</b>	<b>Classificação</b>
<b>Inverno</b>	1	1	1	1	Eutrófico
	2	2	1	2	Eutrófico
	3	2	0	0	Oligotrófico
	4	0	0	0	Oligotrófico
	5	0	0	0	Oligotrófico
<b>Primavera</b>	1	0	0	0	Oligotrófico
	2	0	1	0	Oligotrófico
	3	0	1	0	Oligotrófico
	4	2	2	1	Eutrófico
	5	2	0	0	Oligotrófico
<b>Verão</b>	1	2	1	2	Eutrófico
	2	1	0	1	Eutrófico
	3	0	0	0	Eutrófico
	4	0	0	0	Eutrófico
	5	1	1	1	Oligotrófico
<b>Outono</b>	1	1	1	1	Oligotrófico
	2	0	0	0	Oligotrófico
	3	1	0	0	Oligotrófico
	4	1	0	0	Oligotrófico
	5	2	1	2	Eutrófico
<b>Média</b>	-	<b>0,90</b>	<b>0,50</b>	<b>0,55</b>	<b>Oligotrófico</b>

**Tabela 10:** índice composto de Nygaard (1949) aplicado à comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016, em todos os pontos amostrais do Rio Toledo, Toledo, Paraná.

<b>Estação</b>	<b>Pto</b>	<b>Chlorococ</b>	<b>Centrales</b>	<b>Eugleno</b>	<b>Cyano</b>	<b>Desmid</b>	<b>Result</b>	<b>Clas</b>
<b>Inverno</b>	1	4	1	0	0	0	0	Oligotrófico
	2	6	2	0	0	0	0	Oligotrófico
	3	8	2	0	0	1	10	Hipereutrófico
	4	10	0	0	4	0	0	Oligotrófico
	5	6	0	0	3	0	0	Oligotrófico
<b>Primavera</b>	1	6	0	0	1	0	0	Oligotrófico
	2	5	0	0	0	0	0	Oligotrófico
	3	7	0	1	1	0	0	Oligotrófico
	4	7	2	2	4	0	0	Oligotrófico
	5	7	2	2	2	0	0	Oligotrófico
<b>Verão</b>	1	3	2	0	0	0	0	Oligotrófico
	2	4	1	1	1	0	0	Oligotrófico

	3	4	0	0	2	1	6	Hipereutrífico
	4	7	0	2	3	1	12	Hipereutrífico
	5	6	1	1	2	0	0	Oligotrófico
<b>Outono</b>	1	5	1	0	0	0	0	Oligotrófico
	2	4	0	0	0	0	0	Oligotrófico
	3	5	1	0	0	0	0	Oligotrófico
	4	8	1	0	3	0	0	Oligotrófico
	5	6	2	0	1	0	0	Oligotrófico
<b>Média</b>	-	<b>5,90</b>	<b>0,90</b>	<b>0,45</b>	<b>1,35</b>	<b>0,15</b>	<b>1,40</b>	<b>Mesotrófico</b>

### 3.4.2 Distribuição da comunidade fitoplanctônica

A comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo (Tabela 11) está representada por 41 táxons, em 10 ordens e 20 famílias, distribuídos nas classes Bacillariophyceae (10 gêneros), Cyanophyceae (6 gêneros), Euglenophyceae (3 gêneros) e Zygnemaphyceae (4 gêneros) e Chlorophyceae (18 gêneros). A classe Chlorophyceae foi a mais representativa, totalizando 44% da distribuição fitoplanctônica do Rio Toledo, seguida das Bacillariophyceae e Cyanophyceae, com 24% e 15%, respectivamente e, das Cyanophyceae, Bacillariophyceae e Euglenophyceae, com 15%, 10% e 7%, conforme a Figura 3.

Os representantes da classe Chlorophyceae foram demonstrados entre as ordens Chlorococcales e Chlamydomonadales. Chlorococcales foi a ordem com o maior número de táxons encontrados dentre todos os táxons identificados, divididos em 6 famílias e 15 gêneros no qual, exceto a ordem Chlamydomonadales representada por 2 famílias e 3 gêneros (*Pandorina* sp., *Chlamydomonas* sp. e, *Pyrobotrys* sp.), todos os demais gêneros são da ordem Chlorococcales.

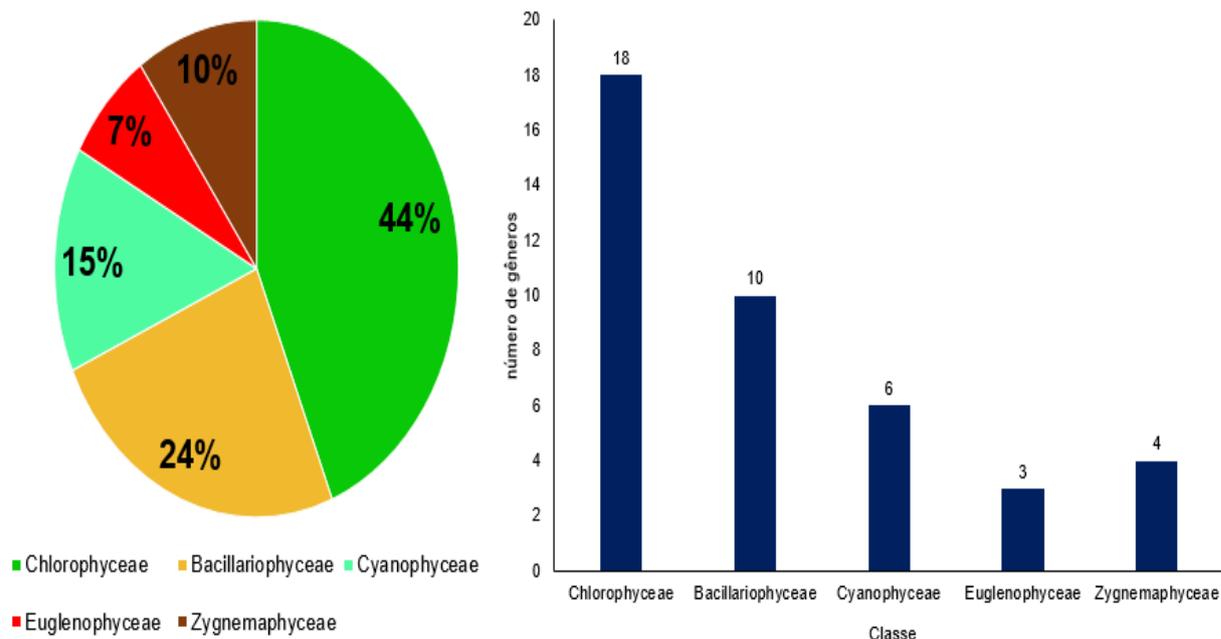
A classe Bacillariophyceae foi retratada por meio das ordens Centrales, com 1 família e 4 gêneros (*Aulacoseira* sp., *Cyclotella* sp., *Melosira* sp. e, *Thalassiosira* sp.) e Pennales, com 2 famílias e 6 gêneros (*Eunotia* sp., *Fragilaria* sp., *Navicula* sp., *Nitzschia* sp., *Pinnularia* sp., e *Ulnaria* sp.)

Os táxons pertencentes à classe Cyanophyceae estavam representados entre as ordens Synechococcales, Chroococcales e Oscillatoriales. Synechococcales apresentou o maior número de táxons, registrando a presença de 2 famílias com 3 gêneros (*Aphanocapsa* sp., *Coelomonon* sp. e,

*Pseudanabaena* sp.). A ordem Chroococcales esteve caracterizada por 2 famílias e 2 gêneros (*Aphanotece* sp. e, *Chroococcus* sp.). Por fim, a ordem Oscillatoriales foi constituída de apenas 1 família e 1 gênero (*Planktotrix* sp.).

Os táxons pertencentes à classe Zygnemaphyceae foram retratados pelas ordens Desmídiales e Zygnematales. As desmídias estiveram presentes em 1 família e 3 gêneros (*Closterium* sp., *Staurastrum* sp., e *Staurodesmus* sp.), sendo a ordem das zignemafíceas mais presente no estudo. Zygnematales foi representada por apenas 1 família e 1 gênero (*Roya* sp.).

A classe Euglenophyceae esteve presente por meio de apenas 1 ordem (Euglenales) e 2 famílias. Os gêneros pertencentes as euglenofíceas são *Euglena* sp., *Phacus* sp. e *Trachelomonas* sp.



**Figura 3:** Distribuição de classes de fitoplâncton do rio Toledo entre julho de 2015 a julho de 2016 em todas as estações amostrais

**Tabela 11:** Táxons do fitoplâncton encontrados no rio Toledo, Paraná, Brasil, no período de julho/2015 a julho/2016.

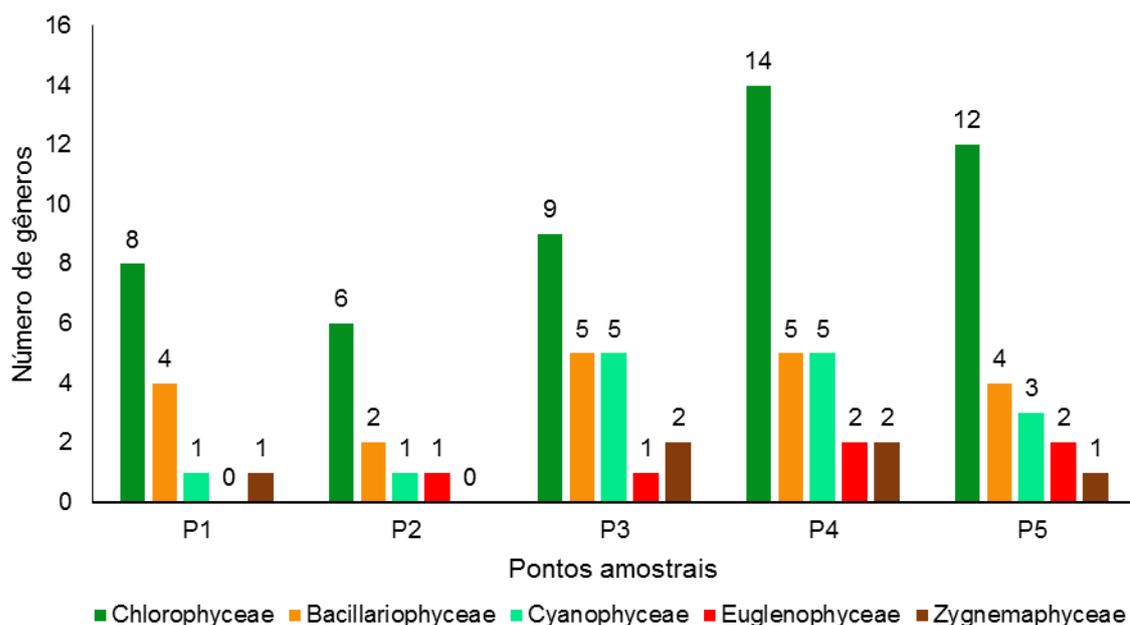
Táxon	Táxon
<b>CHLOROPHYCEAE</b>	<b>BACILLARIOPHYCEAE</b>
<i>Ankistrodesmus</i> Corda, 1838	<i>Aulacoseira</i> Thwaites, 1848
<i>Chlamydomonas</i> Ehrenberg, 1833	<i>Cyclotella</i> (Kützing) Brébisson, 1838
<i>Chlorella</i> Beijerinck 1890	<i>Eunotia</i> Ehrenberg, 1837
<i>Coelastrum</i> Nägeli, 1849	<i>Fragilaria</i> Lyngbye, 1819
<i>Desmodesmus</i> (Chodat) T.Friedl & E.Hegewald, 1999	<i>Melosira</i> C.Agardh, 1824
<i>Kirchneriella</i> Schmidle, 1893	<i>Navicula</i> Bory, 1822
<i>Monoraphidium</i> Komárková-Legnerová, 1969	<i>Nitzschia</i> Hassall, 1845
<i>Oocystis</i> Nägeli ex A.Braun, 1855	<i>Pinnularia</i> Ehrenberg, 1843

<b>Pandorina</b> Bory De, 1824	<i>Thalassiosira</i> Cleve, 1873
<b>Pediastrum</b> Meyen, 1829	<i>Ulnaria</i> (Kutzing) Compère, 2001
<b>Planktosphaeria</b> G.M.Smith, 1918	CYANOPHYCEAE
<b>Pyrobotrys</b> Arnoldi, 1916	<i>Aphanocapsa</i> C.Nägeli, 1849
<b>Scenedesmus</b> Meyen 1829	<i>Aphanothece</i> C.Nägeli, 1849
<b>Schroederia</b> Lemmermann, 1898	<i>Coelomoron</i> H.F.Buell, 1938
<b>Sphaerocystis</b> Chodat, 1897	<i>Chroococcus</i> Nägeli, 1849
<b>Stauridium</b> Corda, 1839	<i>Planktothrix</i> K.Anagnostidis & J.Komárek, 1988
<b>Tetrastrum</b> Chodat, 1895	<i>Pseudanabaena</i> Lauterborn, 1915
<b>Westella</b> Wildeman, 1897	<i>Aphanocapsa</i> C.Nägeli, 1849
<b>EUGLENOPHYCEAE</b>	<i>Aphanothece</i> C.Nägeli, 1849
<b>Euglena</b> Ehrenberg, 1831	<i>Coelomoron</i> H.F.Buell, 1938
<b>Phacus</b> Dujardin, 1841	EUGLENOPHYCEAE
<b>Trachelomonas</b> Ehrenberg, 1835	<i>Euglena</i> Ehrenberg, 1831
<b>ZYGNEMAPHYCEAE</b>	<i>Phacus</i> Dujardin, 1841
<b>Closterium</b> Nitzsch ex Ralfs, 1848	<i>Trachelomonas</i> Ehrenberg, 1835
<b>Roya</b> West e GSWest, 1896	
<b>Staurastrum</b> Meyen ex Ralfs, 1848	
<b>Staurodesmus</b> Teiling, 1948	

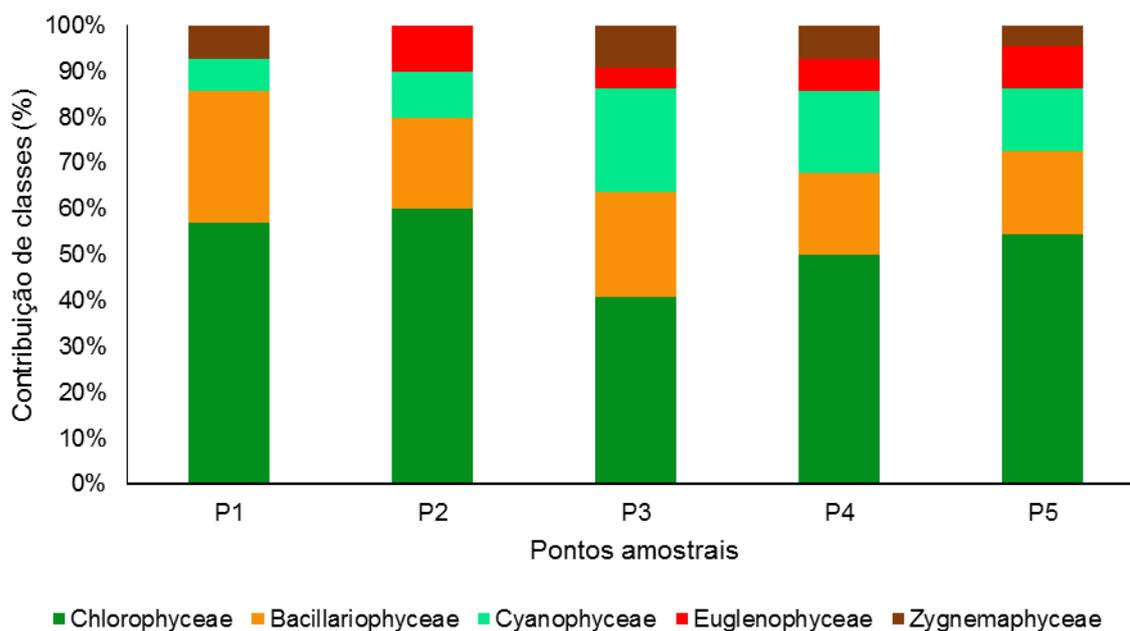
A distribuição espacial de classes de fitoplâncton no Rio Toledo durante o período amostral está representada na Figura 4. A estação amostral P4 foi a mais representativa em termos de composição de gêneros de algas, com 28 gêneros de todas as classes e, a estação P1 foi a menos representativa, com 14 gêneros, sem a presença de integrantes da classe Euglenophyceae em P1 e P2. Em todas as estações amostrais a classe Chlorophyceae foi a mais representativa, variando entre 6 (P2) a 14 gêneros (P4), seguida da classe Bacillariophyceae com variação pequena entre 2 (P2) a 5 gêneros (P3 e P4) e de Cyanophyceae de 1 (P1 e P2) a 5 gêneros (P3 e P4). As demais classes (Euglenophyceae e Zygnemaphyceae) foram pouco representativas, com 1 a 2 gêneros cada.

A contribuição relativa de classes de algas nas estações amostrais no Rio Toledo, apresentada na Figura 5 mostra que, assim como na distribuição espacial, a classe Chlorophyceae foi a mais representativa em todos os pontos, com máximo de 60% dos gêneros de algas encontrados no P2, seguido de Bacillariophyceae (29% no P1), Cyanophyceae (23% no P3). As classes Euglenophyceae e Zygnemaphyceae foram pouco representativas espacialmente, com o maior número de táxons encontrados no P4, com 2 gêneros cada.

**Figura 4:** número de gêneros encontrados por classe de algas considerando todas as estações amostrais no Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016.



**Figura 5:** composição taxonômica do fitoplâncton do Rio Toledo em cada estação amostral entre julho de 2015 a junho de 2016.

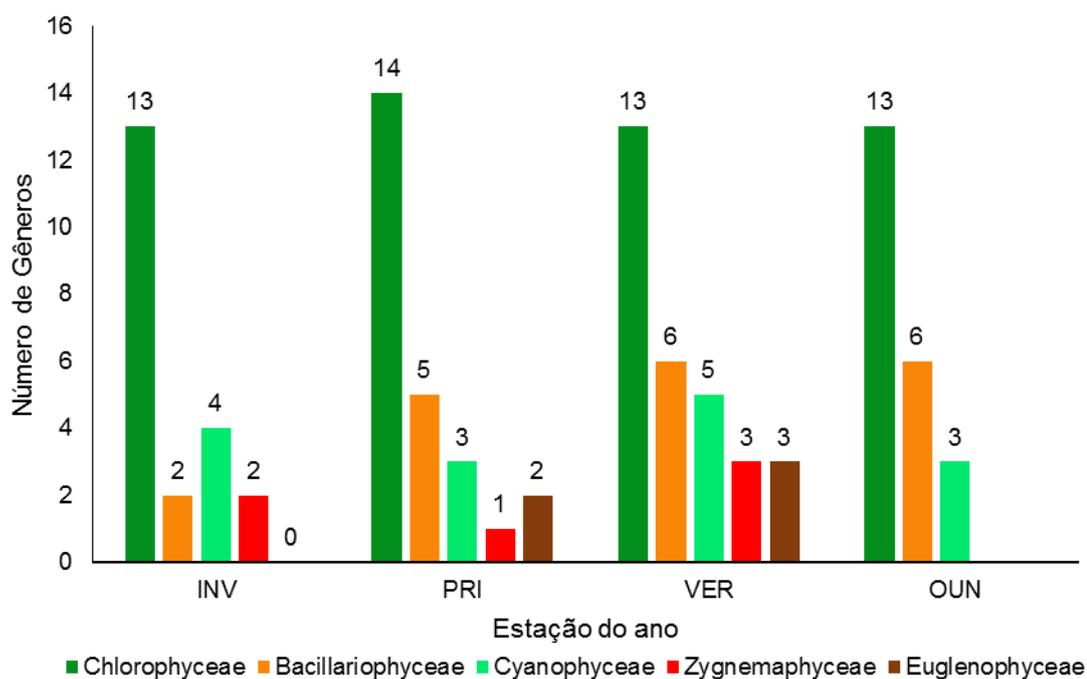


Com relação à variação sazonal da comunidade fitoplanctônica (Figura 6), a composição do fitoplâncton demonstrou uma ligeira variação ao longo das estações do ano. A estação verão foi a mais representativa em número de gêneros, com 30 táxons de todas as classes encontradas e o inverno foi a menos representativa com 21 gêneros. Em todas as estações observou-se a predominância de táxons da classe Chlorophyceae, sendo a primavera a mais

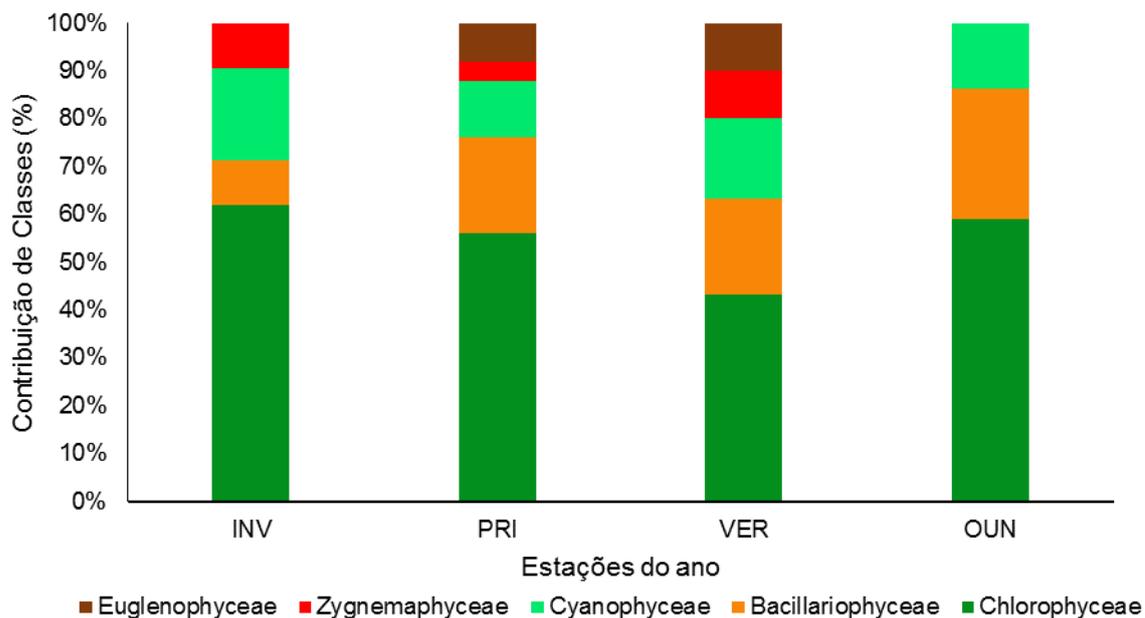
representativa com 14 gêneros. A classe Bacillariophyceae apresentou crescimento no número de gêneros ao longo das estações do ano, variando entre 2 (inverno) a 6 gêneros (verão e outono). O período mais quente do ano (verão) favoreceu a ocorrência de mais táxons de Cyanophyceae, com 5 gêneros e a estação menos representativa foi a primavera, com apenas 3 gêneros encontrados. As classes Zygnemaphyceae e Euglenophyceae foram pouco representativas, com ocorrências sazonais onde, enquanto a primeira classe só não ocorreu no outono, a segunda teve ocorrência somente nos períodos quentes (verão e inverno) e ambas com no máximo três gêneros.

A contribuição relativa de classes de algas nas estações do ano no Rio Toledo (Figura 7) apresentou predominância da classe Chlorophyceae, com representatividade acima de 50% na maioria das estações do ano, exceto no verão no qual a distribuição entre as classes estava mais homogênea. As diatomáceas (Bacillariophyceae) representaram entre 9% (inverno) a 27% (verão e outono) da distribuição total, sendo a segunda classe em número de táxons, exceto no inverno onde as Cyanophyceae (12%) foram a segunda classe mais representativa. Esta, nas demais estações, foi a terceira mais representativa, variando entre 14% a 16%. As classes Zygnemaphyceae e Euglenophyceae tiveram baixa representatividade, alcançando no máximo 10% na estação verão.

**Figura 6:** variação temporal (estações do ano) do número de gêneros encontrados por classe de algas no Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016. INV: inverno; PRI: primavera; VER: verão, e; OUN: outono;



**Figura 7:** variação temporal percentual (estações do ano) da composição taxonômica do fitoplâncton do Rio Toledo entre julho de 2015 a junho de 2016. INV: inverno; PRI: primavera; VER: verão, e; OUN: outono;



### 3.5 DISCUSSÃO

A dinâmica da comunidade fitoplanctônica em ambientes lóticos é consequência da relação entre atributos bióticos e abióticos, que estão relacionados dentre outros fatores com as condições climáticas da região, da

hidrologia do rio, dos usos múltiplos de sua bacia hidrográfica e do comportamento biológico das espécies (SOUSA et al., 2015).

A oscilação das características limnológicas na área de estudo acarretou em mudanças na ecologia do fitoplâncton, principalmente em escala espacial, sendo observado crescimento do número de gêneros de algas ao longo do curso do rio. Os maiores números de táxons de algas no Rio Toledo foram observados nos pontos urbanos (P4 e P5), caracterizados por terem significativa disponibilidade de nutrientes, principalmente compostos de nitrogênio e fósforo, devido à contribuição de lançamentos de efluentes de origem doméstica e industrial existente à jusante desses pontos. Segundo Baleta e Bolaños (2016), a comunidade fitoplanctônica é altamente sensível às mudanças em seu habitat e, estas alterações refletem diretamente na sua distribuição e ocorrência em termos de tolerância, abundância, diversidade e dominância no ecossistema aquático.

Considerando a sazonalidade da distribuição fitoplanctônica, as estações primavera e verão foram as que apresentaram o maior número de táxons de algas, período caracterizado por chuvas abundantes, tanto mensais quanto nos dias anteriores à coleta. Este fenômeno é incomum nesta época pois é característico de períodos secos, com baixa vazão do rio. No período chuvoso ocorrem diversas alterações no rio, como a elevação da turbidez e da turbulência e a redução da disponibilidade de nutrientes pelo aumento na capacidade de autodepuração (ESTEVES, 2011; NARDELLI et al., 2016). Entretanto, as contribuições pontuais alóctones de efluentes domésticos e industriais ricos em nutrientes, localizados à jusante dos pontos de coleta, podem ter disponibilizado os nutrientes para a coluna d'água e favorecendo a grande diversidade qualitativa de gêneros do fitoplâncton.

Todos esses fatores relacionados à qualidade da água e a dinâmica do fitoplâncton podem estar ligados com a influência da bacia hidrográfica sobre o rio Toledo, em que a grande maioria dos valores máximos dos parâmetros físicos e químicos foram registrados em pontos com grande interferência de atividades antrópicas, como a urbanização e a industrialização, caso de P4 e P5. A qualidade da água dos recursos hídricos está diretamente relacionada com os usos múltiplos da sua bacia hidrográfica, sendo reflexo do uso e

ocupação do solo do entorno e, da infraestrutura dos centros urbanos (LINDNER; GOMIG; KOBIYAMA, 2007; POLIGNANO et al., 2012).

A classe Chlorophyceae foi a mais representativa no Rio Toledo em relação as demais classes de algas, com 44% dos gêneros encontrados. Grande parte dos gêneros e espécies de algas verdes são cosmopolitas, encontradas em diferentes condições climáticas e limnológicas, nos diferentes tipos de ambientes aquáticos continentais e, em distintos graus de trofia (BICUDO; MENEZES, 2006; MENDES; COSTA, 2016), por isso é quase sempre dominante no número de táxons (TUCCI et al., 2006). Entretanto, devido às suas características de tamanho reduzido e rápido crescimento fazem com que as clorofíceas sejam consideradas oportunistas, favorecendo sua presença nas diferentes estações do ano (RIEDIGER et al., 2015).

Diante das características cosmopolitas das algas verdes em diferentes ambientes aquáticos, outros autores também verificaram a representatividade da classe em diferentes regiões do Brasil, como Fuentes et al., (2010) no Rio das Contas (BA), Nogueira et al., (2005) e Train, Oliveira e Quevedo (2000) em planícies de inundação do Rio Paraná (PR) e, Silva, Costa e Guedes (2011) no Lago Azul (AL).

Alguns gêneros de diatomáceas encontradas no Rio Toledo podem ser consideradas bioindicadoras de poluição ambiental, considerando sua tolerância aos distúrbios ambientais. Espécies do gênero *Nitzschia*, encontradas em P4 e P5, principalmente *N. palea*, apresentam maior tolerância a alterações provenientes de altas cargas orgânicas, ricas em nutrientes e com baixos níveis de oxigênio dissolvido (SALOMONI et al., 2006; VAN DAM; MERTENS; SINKELDAM, 1994). Alguns autores associam *N. palea* e *Navicula cryptotenella* a ambientes eutrofizados (GUIMARÃES; GARCIA, 2016; SCHNECK; TORGAN; SCHWARZBOLD, 2007).

As cianofíceas são um grupo de organismos encontrados nos mais distintos ambientes aquáticos, porém, em águas doces ocasionam prejuízos à saúde humana e animal (CORDEIRO-ARAÚJO et al., 2010), limitando seus usos (BARBOSA; PESSOA; SILVA, 2012). Os gêneros de cianobactérias *Pseudanabaena*, *Aphanocapsa* e *Planktothrix* ocorrem geralmente em ambientes aquáticos com alta concentração de nutrientes, elevada turbidez e

baixa penetração de luz (TUNDISI; TUNDISI, 2008), características de ambientes poluídos e, com potencial tóxico (CARVALHO et al., 2013; GÓIS; OLIVEIRA, 2014). Estas condições foram verificadas nos pontos P4 e P5, em todas as estações do ano, favorecendo a ocorrência destes gêneros.

Os gêneros pertencentes a classe Euglenophyceae encontrados no presente estudo (*Euglena sp.*, *Phacus sp.* e *Trachelomonas sp.*) possivelmente são bioindicadores de poluição ambiental, visto que suas presenças se deram em pontos com alta carga orgânica (DBO), principalmente no trecho urbano do Rio Toledo (P4 e P5). Este resultado corrobora com a investigação de Pereira e Azeiteiro (2003) em Portugal, os quais encontraram estes mesmos gêneros em condições de presença de matéria orgânica proveniente de fezes e urina.

O nível de estado trófico do Rio Toledo está muito distante de uma possível ocorrência da eutrofização, mesmo nos pontos P4 e P5, nos quais ocorreram elevadas concentrações de nutrientes. Segundo Cunha, Falco e Calijuri (2008), os ambientes lóticos apresentam características específicas que os diferem dos lênticos, como a presença de turbulência, o baixo tempo de retenção hidráulica e o carreamento contínuo da comunidade fitoplanctônica à jusante, por isso tornando anormal um possível evento de eutrofização no Rio Toledo.

Os resultados de IET do rio Toledo como ultraoligotrófico corroboram com outras investigações realizadas em ambientes lóticos. Andrietti et al. (2016) em avaliação do IET no Rio Caiabi, no Mato Grosso, encontraram valores entre 10 a 29 em cinco pontos e nas estações seca e chuvosa, índices inferiores aos encontrados no presente estudo. Semelhantes ao encontrado no estudo em questão, Maia, Carvalho e Carvalho (2015) obtiveram IET variando entre 27 a 44 em um corpo hídrico no Estado de São Paulo.

Dos três índices propostos por Nygaard (1949) dois deles (simples e de diatomáceas) classificaram o Rio Toledo como oligotrófico e o índice composto como mesotrófico. Entretanto, em alguns pontos foram classificados como eutróficos e hipereutróficos que, não apresentaram características limnológicas para tal classificação e não considerando a densidade do fitoplâncton, indicando um resultado não condizente com a realidade do corpo hídrico, corroborando com a observação feita por Fox (2000). Mesmo em reservatórios,

ambientes para os quais o índice foi desenvolvido, o seu uso não foi eficiente como observado por Oliveira (2010) sendo testados diferentes índices para determinação do grau trófico do Reservatório de Cachoeira Dourada (GO/MG), e o Índice de Nygaard foi o único que não foi eficaz na determinação do grau trófico por também não considerar a densidade do fitoplâncton.

### 3.6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A variação espacial da comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo foi diretamente influenciada pelas condições físicas e químicas da água, por meio das interferências externas da bacia hidrográfica a qual está inserida, principalmente nos pontos amostrais à jusante da cidade, devido à intensa ocupação urbana e as atividades industriais do entorno. Temporalmente, as estações do ano não foram fatores influenciantes na composição do fitoplâncton as classes Chlorophyceae, Bacillariophyceae e Cyanophyceae, entretanto, as condições mais propícias para a comunidade fitoplanctônica foram na primavera e no verão. Os gêneros das classes Zygnemaphyceae e Euglenophyceae ocorreram esporadicamente e, as euglenofíceas só ocorreram nas estações quentes (primavera e verão).

A comunidade fitoplanctônica esteve representada por uma grande diversidade de gêneros, principalmente nos pontos P4 e P5 à jusante do perímetro urbano de Toledo, onde foram registrados os maiores números de táxons, com representantes de todas as classes encontradas. Nos pontos P1, P2 e P3, anteriores à cidade, não houveram alterações significativas em relação a composição do fitoplâncton. A comunidade fitoplanctônica esteve representada em sua maioria pelas clorofíceas, seguidas das diatomáceas e cianofíceas presentes em todos os pontos e estações do ano e com ocorrência esporádica de representantes das classes das euglenofíceas e das zignemafíceas.

O Índice de Estado Trófico – IET de Lamparelli classificou o Rio Toledo como oligotrófico e os IET de Nygaard classificaram de oligotrófico a mesotrófico, entretanto, este último não foi eficiente pois desconsiderou a densidade fitoplanctônica de cada amostra, sendo isto fundamental para confirmar o grau trófico do rio. Portanto, para a determinação do IET com uso

do fitoplâncton, estudos quantitativos devem ser realizados de forma a considerar a densidade fitoplanctônica, para evitar resultados falsos-positivos. Diante disso, não foi possível afirmar o real estado trófico do Rio Toledo, devido ao fato de serem utilizados dois modelos de IET com metodologias completamente diferentes entre si, sendo o de Lamparelli utilizando parâmetros químicos e biológicos indiretos (P-total e clorofila-a) e o de Nygaard utilizando a comunidade fitoplanctônica, sendo necessário outros estudos para comprovação do estado trófico do rio Toledo.

Diante dos resultados apresentados, se faz necessário o aprofundamento dos estudos sobre o Rio Toledo com maior periodicidade, pela sua importância na gestão dos recursos hídricos do município, considerando o monitoramento contínuo da qualidade da água por meio de variáveis físicas, químicas e biológicas, neste caso os aspectos qualitativos e quantitativos do fitoplâncton e suas interações com as influências da bacia hidrográfica, utilizando assim as algas como ferramentas bioindicadoras da qualidade da água para ações de conservação e preservação do Rio Toledo.

### 3.7 REFERÊNCIAS

- ANDRIETTI, G. et al. Índices de qualidade da água e de estado trófico do rio Caiabi, MT. **Ambiente e Agua**, v. 11, n. 1, p. 445–458, 26 jan. 2016.
- AQUINO, C. A. N.; BUENO, N. C.; MENEZES, V. C. Chlorococcales sensu latu (Chlorophyceae) de um ecossistema lótico subtropical, estado do Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 41, n. 3, p. 431–451, 2014.
- AQUINO, E. P. et al. Fitoplâncton de uma lagoa de estabilização no Nordeste do Brasil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 15, n. 1, p. 71–77, 2011.
- BALETA, F. N.; BOLAÑOS, J. M. Phytoplankton identification and water quality monitoring along the fish-cage belt at Magat dam reservoir, Philippines. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 4, n. 3, p. 254–260, 2016.
- BARBOSA, B. C. A.; PESSOA, K. DE A. R.; SILVA, G. M. **Identificação de cianobactérias no rio Cocó – Fortaleza (CE) no trecho próximo ao lixão do Jangurussu** (CONNEPI, Ed.) Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação. 7. **Anais...** Palmas-TO: 2012

BICUDO, C. E. D. M.; MENEZES, M. **Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil - chave para identificação e descrições**. 2. ed. São Carlos: RiMa, 2006.

BORTOLINI, J. C. et al. Chlorococcales planctônicas do Rio São João, Parque Nacional do Iguaçu, Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 37, n. 2, p. 315–330, 2010.

BOURRELLY, P. Tome II: Les algues jaunes et brunes Crysophycées, Pheophycées, Xanthophycées et Diatomées. In: **Les algues d'eau douce: initiation à la Systématique**. Paris: Place Saint-André-des-arts, 1968. p. 437.

CARAPUNARLA, L.; BAUMGARTNER, D.; RODRIGUES, L. Community structure of periphytic algae in a floodplain lake: a long-term study. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 2, p. 147, 2014.

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

CARVALHO, M. D. C. et al. **Manual de Cianobactérias Planctônicas: Legislação, Orientações para o Monitoramento e Aspectos Ambientais**. São Paulo: CETESB, 2013. v. 2

ÇELEKLI, A.; ÖZTÜRK, B.; KAPI, M. Relationship between phytoplankton composition and environmental variables in an artificial pond. **Algal Research**, v. 5, p. 37–41, 2014.

CETESB. **Relatório de Qualidade das Águas Interiores no Estado de São Paulo: 2013**. Disponível em: <<http://www.cetesb.sp.gov.br/userfiles/file/agua/aguas-superficiais/relatorio-aguas-superficiais-2013-parte1.pdf>>. Acesso em: 23 jun. 2015.

CORDEIRO-ARAÚJO, M. K. et al. Cianobactérias planctônicas de reservatórios do Oeste Paulista: Condições naturais versus controladas. **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v. 5, n. 3, p. 74–88, 2010.

CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C. Sistemas aquáticos e terrestres. In: CUNHA, D. G. F.; CALIJURI, M. C. (Eds.). **Engenharia Ambiental: conceitos, tecnologia e gestão**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 168–177.

CUNHA, D. G. F.; FALCO, P. B.; CALIJURI, M. C. Densidade fitoplanctônica e estado trófico dos rios Canha e Pariquera- Açu, bacia hidrográfica do rio Ribeira de Iguape, SP, Brasil. **Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 3, n. 2, 2008.

DOMINGUES, C. D.; TORGAN, L. C. Fitoplâncton (exceto Chlorophyceae) de um lago artificial urbano no Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, n. 3, p. 463–480, 2011.

DOMINGUES, C. D.; TORGAN, L. C. Chlorophyta de um lago artificial hipereutrófico no sul do Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, v. 67, n. 1, p. 75–91, 2012.

ESTEVEES, F.A. **Fundamentos da Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2011.

FOX, R. **Laboratory and field exercises for Limnology**. Greenwood: Lander University, 2000.

FUENTES, E. V. et al. Variação espacial e temporal do fitoplâncton do Rio de Contas, Bahia Brasil. **Rev. Bras. Eng. Pesca**, v. 5, n. 2, p. 13–25, 2010.

FUNTEC. **Recuperação ambiental da bacia hidrográfica do rio Toledo**. Toledo: Grafo-Set, 1992.

GÓIS, J. S.; OLIVEIRA, F. H. P. C. Variação sazonal das cianobactérias como parâmetro para análise da água do reservatório Mororó, no município de Pedra/PE. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 7, n. 357, p. 1015–1023, 2014.

GUIMARÃES, P. S.; GARCIA, M. Importância do habitat e do forófito para a composição da comunidade de diatomáceas perifíticas. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 71, n. 1, p. 99–112, 2016.

LAMPARELLI, M. **Graus de trofia em corpos d'água do Estado de São Paulo: Avaliação dos métodos de monitoramento**. 2004. 235 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências, Unversidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

LINDNER, E. A.; GOMIG, K.; KOBIYAMA, M. **Sensoriamento remoto aplicado à caracterização morfométrica e classificação do uso do solo na bacia rio do Peixe/SC**Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. **Anais...**2007Disponível em: <<http://bibdigital.sid.inpe.br/rep-/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.15.18.13.46>>

MAIA, A. A. D.; CARVALHO, S. L.; CARVALHO, F. T. Comparação de dois índices de determinação do grau de trofia nas águas do Baixo Rio São José dos Dourados, São Paulo, Brasil. **Engenharia Sanitaria e Ambiental**, v. 20, n. 4, p. 613–622, 2015.

MENDES, N. G. DE S.; COSTA, A. G. Comunidades de microalgas e variáveis limnológicas abióticas no rio Santa Maria do Doce ( Santa Teresa , ES ). **Natureza on line**, v. 14, n. 1, p. 32–37, 2016.

NARDELLI, M. S. et al. Structure and dynamics of the planktonic diatom community in the Iguassu River, Paraná State, Brazil. **Braz J Biol**, v. 76, n. 2, p. 374–386, 2016.

NIWEGLOWSKI, A. M. A. **Indicadores de qualidade da água na bacia hidrográfica do Rio Toledo-PR**. [s.l.] 2006. 218 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

NOGUEIRA, N. M. C. et al. Composition and temporal changes of phytoplankton community in Lake Quebra-Pote , MA , Brazil. **Acta Limnol. Bras.**, v. 17, n. 4, p. 419–431, 2005.

NYGAARD, G. Hydrological studies in some ponds and lakes Part 2: The quotient hypothesis and some new or little known phytoplankton organisms. Kgl. Danske-Vidensk, Stesk. **Biol. Skrifter**, v. 7, n. 1, p. 1–293, 1949.

ODUM, E. P. **Fundamentos de Ecologia**. São Paulo: Fundação Calouste Gulbenkian, 2004.

OLIVEIRA, M. T. DE. **O fitoplâncton como instrumento de biomonitoramento da qualidade da água do Reservatório de Cachoeira Dourada - Rio Paranaíba - GO/MG**. 2010. 149 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2010.

POLIGNANO, M. V. et al. **Revitalização da bacia do rio das Velhas**. Disponível em:

<[http://www.manuelzao.ufmg.br/assets/files/Biblioteca\\_Virtual/DIAGNOSTICO\\_PRELIMINAR\\_POLUICAO\\_DIFUSA\\_META2014.pdf](http://www.manuelzao.ufmg.br/assets/files/Biblioteca_Virtual/DIAGNOSTICO_PRELIMINAR_POLUICAO_DIFUSA_META2014.pdf)>. Acesso em: 12 maio. 2015.

POOT-DELGADO, C. A. Microalgas como bioindicadoras de la calidad del agua: una revisión. In: BOTELLO, J. R. VON O.; BENÍTEZ, J. A.; GOLD-BOUCHOT, G. (Eds.). **Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias**. Mérida: UAC, UNAM-ICMYL, CINVESTAV, 2014. p. 99–116.

REYNOLDS, C. **Ecology of Phytoplankton**. New York: Cambridge University Press, 2006.

RIEDIGER, W. et al. Spatial and temporal variation of phytoplankton in subtropical stabilization ponds. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 27, n. 4, p. 441–453, 2015.

RODRIGUES, E. H. C. et al. Variação Temporal Do Fitoplâncton Em Um Rio Tropical Pré-Amazônico (Rio Pindaré, Maranhão, Brasil). **Ciência e Natura**, v. 37, n. 2, p. 241–251, 2015.

SALOMONI, S. E. et al. Epilithic diatoms as indicators of water quality in the Gravataí river, Rio Grande do Sul, Brazil. **Hydrobiologia**, v. 559, n. 1, p. 233–246, 2006.

SCHNECK, F.; TORGAN, L. C.; SCHWARZBOLD, A. Epilithic diatom community in a high altitude stream impacted by fish farming in southern Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 19, n. 3, p. 341–355, 2007.

SILVA, K. P. B.; COSTA, M. M. S.; GUEDES, É. A. C. Variação temporal do fitoplâncton de um lago pertencente à Área de Proteção Permanente no estado de Alagoas, nordeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, n. 4, p. 890–898, 2011.

SOUSA, E. B. et al. Dinâmica Sazonal do Fitoplâncton do Parque Estadual do Charapucu (Afuá, Arquipélago do Marajó, Pará, Brasil). **Biota Amazônia**, v. 5, n. 4, p. 34–41, 2015.

TOLEDO, M. DE. **Malha hidrográfica do município de Toledo**. Disponível em: <<http://www.toledo.pr.gov.br/portal/meio-ambiente/malha-hidrografica>>. Acesso em: 4 maio. 2015.

TRAIN, S.; OLIVEIRA, M. D. DE; QUEVEDO, M. T. Dinâmica sazonal da comunidade fitoplanctônica de um canal lateral (Canal Cortado) do Alto Rio Paraná PR, Brasil). **Acta Scientiarum**, v. 22, n. 2, p. 389–395, 2000.

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

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008.

VAN DAM, H.; MERTENS, A.; SINKELDAM, J. A coded checklist and ecological indicator values of freshwater diatoms from The Netherlands. **Netherlands Journal of Aquatic Ecology**, v. 28, n. 1, p. 117–133, 1994.

WINTER, R.; BRAUN, M. B. S.; LIMA, J. F. **Notas sobre o impacto da produção de suínos na bacia do rio toledo - paraná 1**. Disponível em: <[e-revista.unioeste.br/index.php/gepec/article/download/308/224](http://revista.unioeste.br/index.php/gepec/article/download/308/224)>. Acesso em: 14 abr. 2015.

YANG, B. et al. The tempo-spatial variations of phytoplankton diversities and their correlation with trophic state levels in a large eutrophic Chinese lake. **Ecological Indicators**, v. 66, p. 153–162, 2016.

ZANINI, H. L. H. T. et al. Caracterização da água da microbacia do Córrego Rico avaliada pelo índice de qualidade de água e de estado trófico. **Engenharia Agrícola**, v. 30, n. 4, p. 732–741, 2010.

## 4 ARTIGO 2: AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO E DA VARIAÇÃO DO pH DE CULTIVOS MISTOS E ISOLADOS DE UM BANCO DE MICROALGAS

### RESUMO

Este trabalho avaliou o crescimento e a variação do pH de cepas unialgais e mistas de um banco de microalgas. As cepas de microalgas foram obtidas da Coleção LEB de Microalgas da UNIOESTE, campus Toledo-PR. Foram utilizadas quatro cepas, sendo duas mistas (com dois ou mais gêneros) e duas isoladas de *Chlorella sp*, divididas em quatro tratamentos, todos contendo meio sintético BM. O crescimento das cepas foi acompanhado por curvas de crescimento durante 18 dias, por meio de contagem a cada dois dias, por meio das taxas de crescimento, duplicação celular, tempo de geração, a mensuração do pH e o comportamento das espécies de ortofosfato no cultivo. Todos os tratamentos obtiveram crescimentos expressivos ao longo dos dias, crescendo entre 50 a 98 vezes a sua densidade inicial. A cepa unialgal T4 apresentou a maior densidade celular máxima – DCM de  $4960 \times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$  e a menor DCM foi registrada pelo cultivo misto T2 com  $513 \times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$ . O número de gêneros presentes no cultivo e o inóculo influenciaram no crescimento dos cultivos em que cultivos mistos com baixos inóculos apresentaram menor crescimento do que os unialgais com altos inóculos. As velocidades de crescimento específico indicaram intensas variações entre os intervalos de dias e as taxas de duplicação celular e o tempo de geração as acompanharam na tendência de variação da taxa de crescimento, flutuando amplamente ao longo do experimento. Todas as cepas apresentaram elevação do pH ao longo dos dias de experimento, partindo de uma condição levemente ácida no início para alcalina nos dias subsequentes. Apenas no início do experimento, com pH ácido a fração dominante de ortofosfato foi  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e com pH alcalino passou a ser  $\text{HPO}_4^-$ . Assim, os cultivos isolados apresentaram maior crescimento do que os cultivos mistos, com influência direta do inóculo da cepa e do número de gêneros presentes e o pH acima de 8,0 foi a melhor condição para que a forma de ortofosfato absorvível pelas algas estivesse disponível, apresentando maior crescimento.

**Palavras-chave:** algas; ambiente de crescimento; alcalino.

### ABSTRACT

This work evaluated the growth and pH variation of unialgal and mixed strains of a microalgae bank. The microalgae strains were obtained from the LEB Collection of Microalgae from UNIOESTE, Toledo-PR campus. Four strains were used, two mixed (with two or more genera) and two isolates of *Chlorella sp*, divided into four treatments, all containing BM synthetic medium. The growth of the strains was followed by growth curves for 18 days, by counting every two days, through growth rates, cell duplication, generation time, pH measurement and the behavior of the orthophosphate species in the culture. All the treatments obtained expressive growths over the days, growing between 50 and 98 times their initial density. The unialgal T4 strain had the highest maximum cell density - DCM of  $4960 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$  and the lowest DCM was recorded by mixed T2 cultivation with  $513 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ . The number of genera present in the culture and the inoculum influenced the growth of the cultures in which mixed cultures with low inocula presented lower growth than the unialgais with high

inocula. Specific growth rates indicated intense variations between day intervals and cell doubling rates and generation time accompanied them in the trend of variation of the growth rate, fluctuating widely throughout the experiment. All strains showed elevation of pH over the days of experiment, starting from a mildly acidic condition from baseline to alkaline on subsequent days. Only at the beginning of the experiment, with acid pH, the dominant fraction of orthophosphate was  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  and at alkaline pH it became  $\text{HPO}_4^-$ . Thus, isolated cultures presented higher growth than mixed cultures, with direct influence of the inoculum of the strain and the number of genera present and pH above 8.0 was the best condition for the form of orthophosphate absorbed by algae to be available showing higher growth.

**Keywords:** algae; growth environment; alkaline.

#### 4.1 INTRODUÇÃO

As microalgas são constituídas de uma grande diversidade de seres microscópicos, em sua maioria fotossintéticos e de hábitos planctônicos, unicelulares, podendo estar presentes no ambiente de forma isolada, em colônias ou como segmento linear de células. Entretanto, ocorre pouca ou nenhuma diferenciação entre as funções celulares, sendo cada célula responsável por todas as funções vitais. São organismos aquáticos cosmopolitas, habitando ambientes marinhos e continentais e são altamente sensíveis às condições ambientais do meio, como temperatura, radiação, disponibilidade de nutrientes, pH e oxigenação do cultivo (ANDRADE; COLOZZI FILHO, 2014; DERNER et al., 2006; LOURENÇO, 2006; SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012).

O interesse recente e crescente no desenvolvimento de estudos relacionados com as microalgas se deve às vastas possibilidades de sua aplicação. As microalgas possuem fundamental importância ambiental por serem base da cadeia alimentar aquática, sendo essenciais ao equilíbrio do ecossistema e por serem altamente sensíveis à distúrbios ambientais provocados por atividades antrópicas (CHELLAPPA; LIMA; CÂMARA, 2007). Além disso, apresentam potencialidades significativas de aplicação econômica na alimentação humana e animal, potencial terapêutico, no tratamento de efluentes, na produção de bioenergia e em ensaios ecotoxicológicos (ABDEL-RAOUF; AL-HOMAIDAN; IBRAHEEM, 2012; BRENNAN; OWENDE, 2010; GONZÁLEZ; CAÑIZARES; BAENA, 1997; HU, 2004; OLIVEIRA; BASTOS; NEVES, 2011; PRIYADARSHANI; RATH, 2012).

As microalgas podem ser cultivadas em condições autotróficas, com a obtenção de carbono por meio da fotossíntese, na conversão da energia luminosa em energia química, fornecendo gás carbônico para a respiração das algas. Os heterotróficos necessitam de compostos orgânicos sintetizados por outros organismos como energia e fonte de carbono (PEREZ-GARCIA et al., 2011) e, os mixotróficos utilizando as duas fontes.

Quanto ao número de gêneros dos cultivos, os mesmos podem ser classificados em monoalgais, os quais são os mais comumente utilizados para as diversas aplicações ambientais e econômicas, pois possibilita e facilita o controle e o entendimento do processo de crescimento e de biomassa e; os mistos, com a presença de dois ou mais gêneros de microalgas, com aplicação mais restrita do que os cultivos unialgais (LOURENÇO, 2006; SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001). Embora seu uso seja mais limitado, os cultivos mistos também podem ser aplicados principalmente no tratamento de efluentes (CHINNASAMY et al., 2010).

Para obter êxito no cultivo de microalgas, é necessário que o ambiente de cultivo proporcione condições para que o maior número possível de exigências da alga seja satisfeito, disponibilizando os nutrientes necessários ao crescimento e aos seus processos metabólicos (BAUMGARTNER et al., 2013). Por isso, é fundamental entender os efeitos bióticos e abióticos que podem influenciar no crescimento, como: temperatura; luminosidade; aeração; pH; disponibilidade de nutrientes; tipo de biorreator; concentração inicial de biomassa, e densidade populacional da cultura (ANDRADE; COLOZZI FILHO, 2014).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho é avaliar o crescimento de cepas unialgais e mistas de um banco de microalgas e a variação do pH no meio de cultivo, de forma a compreender as fases de crescimento dos cultivos, os fatores bióticos e abióticos que podem influenciar o desenvolvimento das cepas e, a dinâmica do pH na disponibilidade de nutrientes limitantes ao crescimento das microalgas.

## 4.2 METODOLOGIA

As cepas de microalgas foram obtidas da Coleção LEB de Microalgas do Rio Toledo, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, *campus* Toledo. Foram utilizadas quatro cepas, sendo duas mistas (com dois gêneros) e duas isoladas de *Chlorella sp*, divididas em quatro tratamentos, conforme Tabela 1.

Tabela 12: descrição dos tratamentos utilizados.

Tratamento	Cepa	Estado do cultivo	Gêneros presentes
T1	LEB 004	Misto	<i>Chlamydomonas sp.</i> e Chlorophyceae 1.
T2	LEB 033	Misto	<i>Nitzschia sp.</i> e <i>Scenedesmus sp.</i>
T3	LEB 018	Isolado	<i>Chlorella sp.</i>
T4	LEB 020	Isolado	<i>Chlorella sp.</i>

As curvas de crescimento dos dois gêneros isolados foram realizadas em triplicata, em erlenmeyers de 50 mL, com duração de 18 dias. Foi utilizado o volume de 10 mL de meio de cultura (Tabela 5) em todos os recipientes em proporção 1:1:8 (alga:meio:água). Como meio de cultura, foi utilizado o meio sintético BM com a seguinte formulação: KNO<sub>3</sub>: 1,25 g L<sup>-1</sup>; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: 1,25 g L<sup>-1</sup>; MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 1,00 g L<sup>-1</sup>; CaCl<sub>2</sub>: 0,084 g L<sup>-1</sup>; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 0,114 g L<sup>-1</sup>; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,05 g L<sup>-1</sup>; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,088 g L<sup>-1</sup>; MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O: 0,014 g L<sup>-1</sup>; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O: 0,016 g L<sup>-1</sup>; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: 0,005 g L<sup>-1</sup>; Fe-EDTA: 0,5 g L<sup>-1</sup>.

O estudo foi realizado em estruturas contendo duas bancadas, dotadas de sistemas de iluminação artificiais, sem fotoperíodo, por meio de lâmpadas fluorescentes de 20 W e temperatura controlada entre 25 e 30°C, com média de 27°C.

O crescimento da referida microalga, por meio da sua densidade celular, foi acompanhada por contagem direta em câmara de Neubauer (SIPAÚBA-TAVARES; ROCHA, 2001) a cada dois dias.

A cinética de crescimento microalgal foi acompanhada pelas equações 1, 2 e 3, descritas por Lourenço (2006):

- Taxa de crescimento ( $\mu$ ), Taxa de duplicações por dia (k) e Tempo de geração (G<sub>2</sub>)

$$\mu \text{ (dia}^{-1}\text{)} = \frac{\ln\left(\frac{N_t}{N_0}\right)}{(t-t_0)}$$

(1)

$$k \text{ (dia}^{-1}\text{)} = \frac{\log_2\left(\frac{N_t}{N_0}\right)}{(t-t_0)}$$

(2)

$$G_2 \text{ (h)} = \frac{0,6931}{r}$$

(3)

Na qual:

$\mu$  = taxa de crescimento (dia<sup>-1</sup>); N = densidade celular (x10<sup>5</sup> cel mL<sup>-1</sup>) tempo t (dia); N<sub>0</sub> = densidade celular inicial (x10<sup>5</sup> cel mL<sup>-1</sup>) no tempo t<sub>0</sub> (dia), e; as duplicações diárias t = tempo (dias); t<sub>0</sub> = tempo inicial (dias); k = Taxa de duplicação celular (dia<sup>-1</sup>);  $\mu$  = taxa de crescimento (dia<sup>-1</sup>).

Paralelamente à contagem da densidade celular, mediu-se o pH dos cultivos utilizando pHmetro marca Digimed® modelo XXX. O comportamento das espécies de ortofosfato no cultivo foi obtido por meio das equações 4, 5 e 6 de equilíbrio químico de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> e HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>.

$$H_2PO_4^- (\%) = \frac{K_1 [H_3O^+]}{[H_3O^+]^3 + K_1 [H_3O^+]^2 + K_2.K_1 [H_3O^+] + K_1.K_2.K_3} \times 100 \quad (4)$$

$$HPO_4^{2-} (\%) = 100 - H_2PO_4^- \quad (5)$$

Nas quais:

H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> (%): percentual da fração H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub><sup>-</sup> no cultivo;

HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (%): percentual da fração de ortofosfato HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> no cultivo;

[H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>] = concentração do cátion hidrônio no meio de cultivo, obtido pela equação 6:

$[H_3O^+] = 10^{-pH}$  (6), pH do cultivo de cada medição (2 dias);

$K_1$  = primeira constante de dissociação ( $7,5 \times 10^{-3}$ );

$K_2$  = segunda constante de dissociação ( $6,2 \times 10^{-8}$ );

$K_3$  = terceira constante de dissociação ( $3,6 \times 10^{-13}$ );

## 4.3 RESULTADOS

### 4.3.1 Curva de crescimento

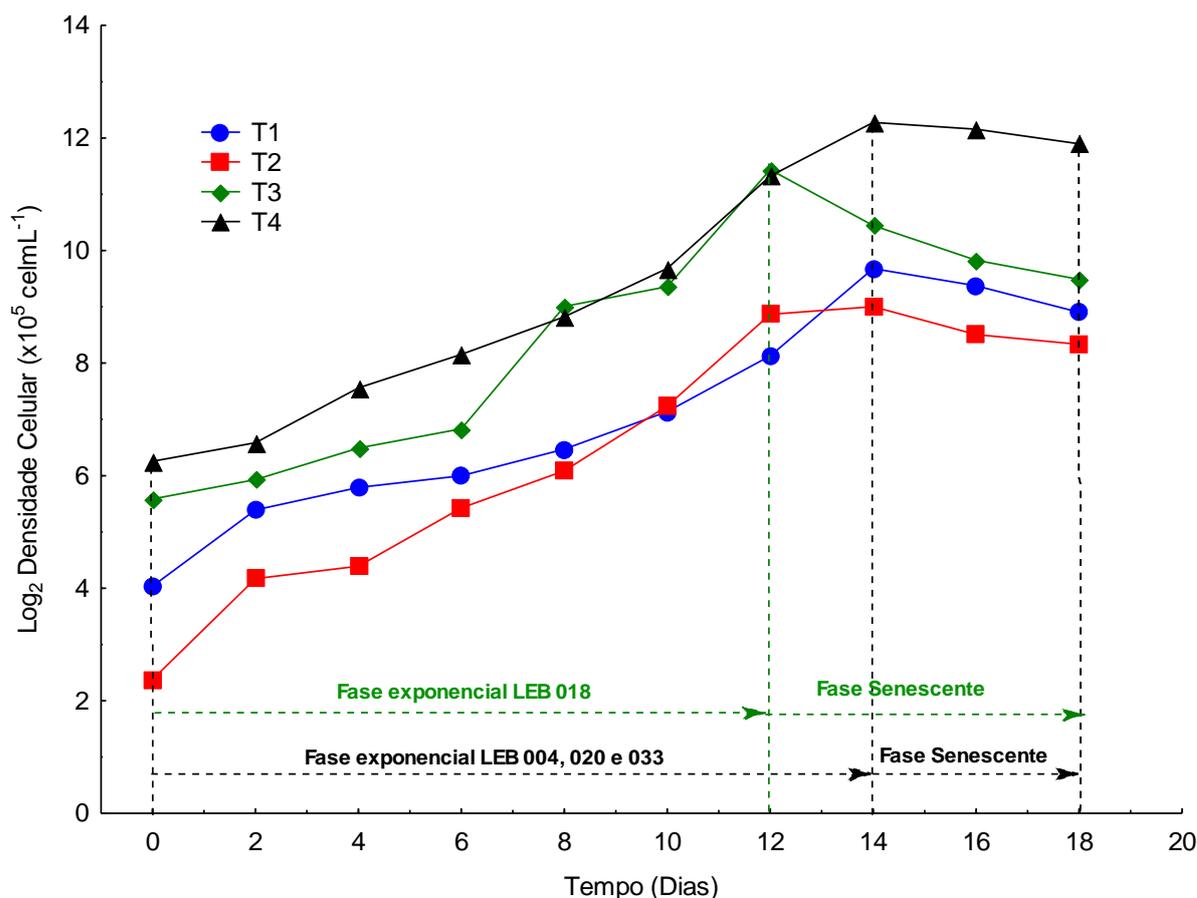
As curvas logarítmicas de crescimento das cepas mistas (LEB 004 e 033) e das cepas isoladas (LEB 018 e 020) estão representadas na Figura 8.

Com relação à duração das fases de crescimento dos tratamentos, somente o T3 apresentou fase exponencial mais curta de 12 dias, entrando em fase senescente a partir daí até o final do experimento, totalizando 6 dias. Os demais tratamentos tiveram 14 dias de fase exponencial e 4 dias senescentes. Em todos os tratamentos não houve a ocorrência da fase de adaptação ao crescimento (lag).

Os tratamentos referentes aos cultivos mistos (T1 e T2) apresentaram grandes amplitudes de crescimento entre si ao longo do experimento em que, enquanto o T1 constituído somente por gêneros de algas verdes, cresceram 50 vezes a sua densidade inicial – DI de  $16,4 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup>, finalizando a fase exponencial com  $820 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup> e o T2 composto de dois gêneros de classes distintas (*Nitzschia* - Bacillariophyceae e *Scenedesmus* – Chlorophyceae) cresceu quase o dobro de T1 (98 vezes), com densidade inicial de  $5,20 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup> e densidade final - DF de  $513 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup>. Por outro lado, os cultivos unialgais demonstraram crescimento similar entre si sendo que T3 cresceu 57 vezes, representando DI de  $48 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup> e DF de  $2770 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup> e, T4 teve crescimento de aproximadamente 65 vezes a sua DI de  $76,40 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup>, finalizando com DF de  $4960 \times 10^5$  cel mL<sup>-1</sup>, sendo esta a maior densidade celular registrada.

O inóculo de cada tratamento também influenciou as densidades celulares máximas – DCM observadas no experimento. No tratamento T1, o qual foi o menor inóculo dentre os tratamentos, a menor densidade celular possibilitou que o cultivo crescesse quase 100 vezes a densidade inicial no

término da fase exponencial, entretanto, a DCM foi a menor dentre os cultivos, por se tratar de uma cepa mista. Enquanto isso, o T4 registrou a maior DCM ao final da fase exponencial de crescimento, visto que o inóculo adicionado foi maior do que nos demais tratamentos e isto, associado ao fato de se tratar de uma cepa de um único gênero e as condições favoráveis de evolução do meio de cultivo podem ter favorecido para que tal acontecimento tenha ocorrido.



**Figura 8:** densidades celulares de crescimento dos diferentes tratamentos durante 18 dias. Resultados apresentados em logaritmo de 2 do valor da densidade celular.

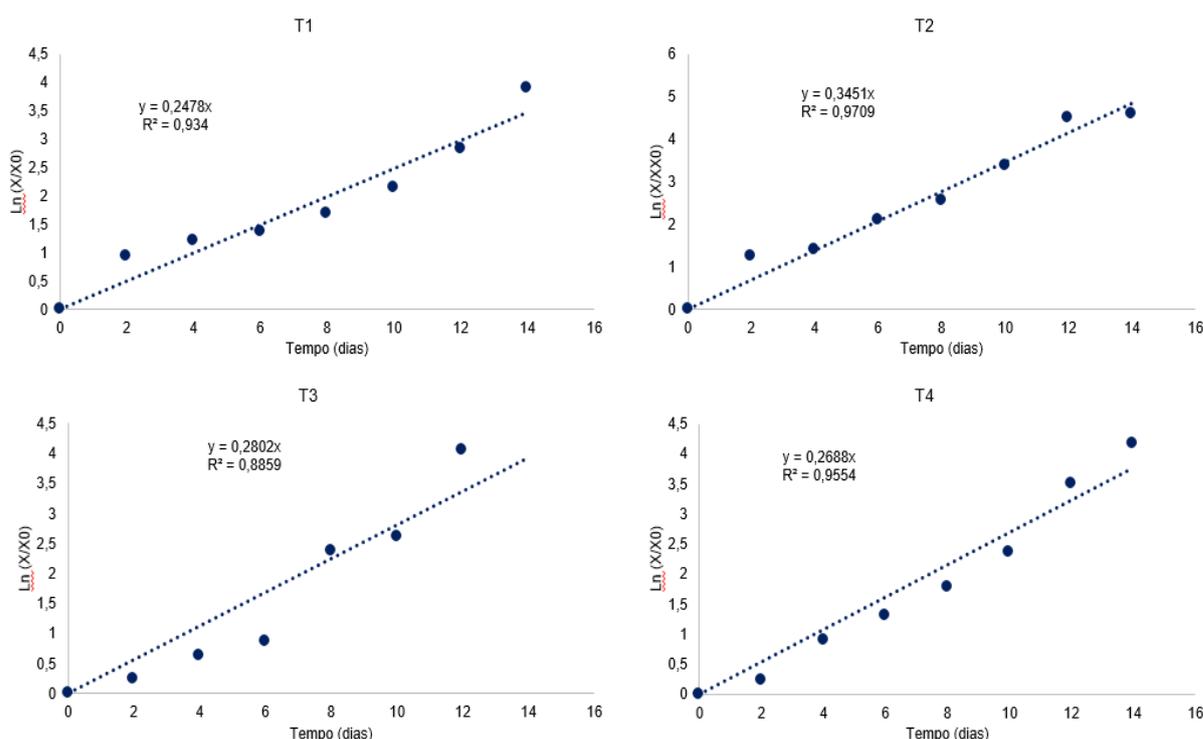
Os resultados das velocidades de crescimento específico mostrados na Tabela 13 indicam intensas variações entre os intervalos de dias. As velocidades de crescimento dos quatro tratamentos durante a fase exponencial oscilaram entre 0,24 dia<sup>-1</sup> em T1 a 0,34 dia<sup>-1</sup> em T2. OS tratamentos T3 e T4 apresentaram velocidades de crescimento muito próximas entre si, com 0,28 dia<sup>-1</sup> e 0,27 dia<sup>-1</sup>, respectivamente.

A taxa de duplicação celular e o tempo de geração acompanham a tendência de variação da taxa de crescimento, fluando amplamente ao longo

do experimento. Os resultados obtidos indicam que na fase exponencial somente T2 realizou mais de uma duplicação por dia entre os dias 6 a 8 e 10 a 12 com tempo de duplicação de 55 e 58 minutos, respectivamente.

**Tabela 13:** taxas de crescimento específico ( $\mu$ ; dia<sup>-1</sup>), de duplicação celular ( $k$ ; dia<sup>-1</sup>) e, tempo de duplicação ( $G_2$ ; hora) dos diferentes tratamentos em função do tempo de cultivo. OBS:  $G_2$  negativos não foram considerados. FCE: fase de crescimento exponencial; FSE = fase de senescência.

Tempo (dias)	T1			T2			T3			T4		
	$\mu$	$k$	$G_2$									
0-2	0,47	0,68	1,47	0,12	0,18	5,66	0,11	0,16	6,07	0,62	0,90	1,12
2-4	0,14	0,20	5,03	0,19	0,28	3,61	0,34	0,49	2,05	0,08	0,11	8,99
4-6	0,07	0,10	9,53	0,12	0,17	5,86	0,21	0,30	3,36	0,36	0,52	1,93
6-8	0,16	0,24	4,25	0,75	1,09	0,92	0,23	0,33	2,99	0,23	0,33	3,02
8-10	0,23	0,33	2,99	0,12	0,18	5,69	0,30	0,43	2,33	0,40	0,58	1,74
10-12	0,34	0,49	2,02	0,72	1,04	0,96	0,57	0,82	1,22	0,56	0,81	1,23
12-14	0,54	0,78	1,29	----	----	----	0,33	0,48	2,10	0,05	0,07	14,54
FCE	0,25	0,40	2,48	0,28	0,73	1,37	0,27	0,43	2,33	0,34	0,47	2,11
FSE	0,08	0,12	8,52	0,17	0,24	4,18	0,04	0,06	15,51	0,03	0,04	22,98



**Figura 9:** velocidades de crescimento específico dos diferentes tratamentos em função dos dias de crescimento.

### 4.3.2 pH

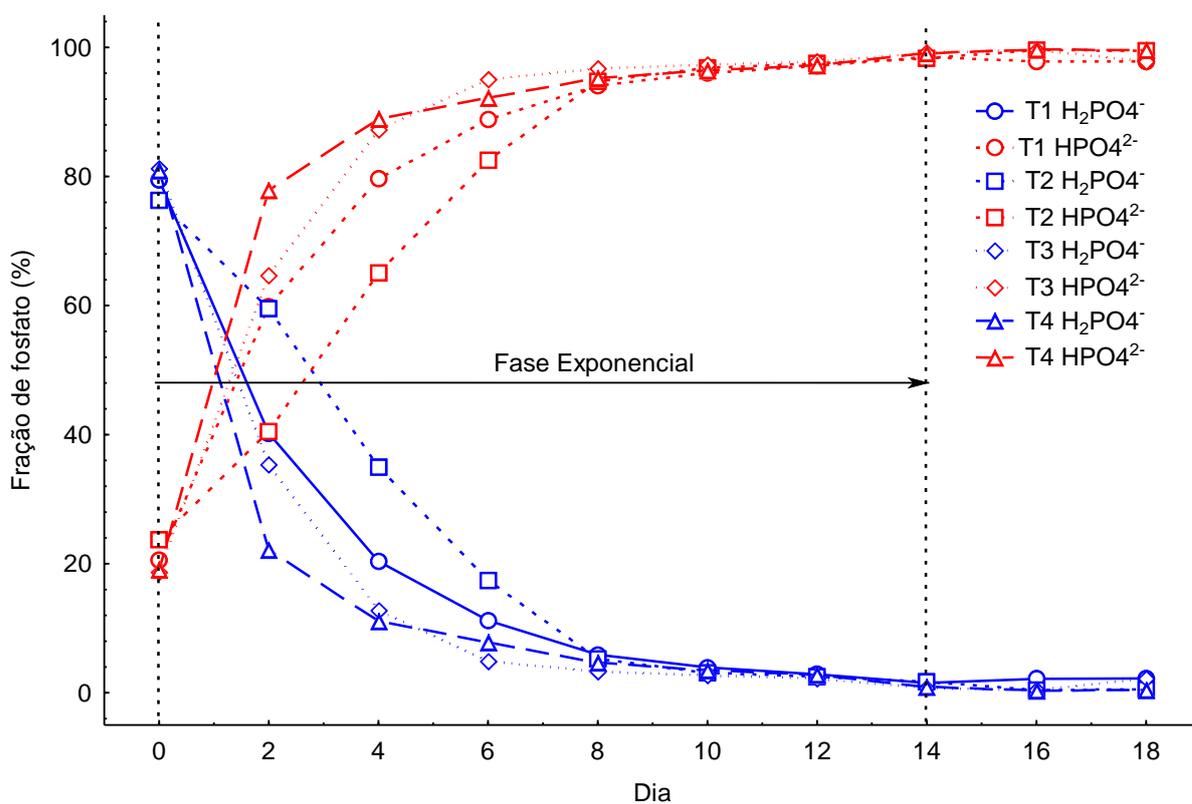
Com relação ao pH dos cultivos (Tabela 14), todas as cepas apresentaram crescimento ao longo dos dias de experimento, partindo de uma condição levemente ácida entre 6,57 a 6,70 no início para alcalina nos dias subsequentes. Exceto o pH inicial, toda a fase de crescimento exponencial

ocorreu em pH alcalino, variando entre 7,04 a 9,62, com as DCM verificadas entre 8,80 a 9,32.

O percentual de fração de ortofosfato presente no meio de cultivo mostrada na Figura 10 indica que apenas no início do experimento a fração dominante de ortofosfato foi  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  quando o pH do meio de cultivo esteve levemente ácido, entre 76% a 82%. Nos dias subsequentes, com a elevação do pH para alcalino, a forma predominante de ortofosfato passou a ser  $\text{HPO}_4^-$  com percentuais que chegaram a 99% no ápice da fase exponencial de crescimento. Com a diminuição do ortofosfato no dia 14, houve decréscimo na densidade celular nos dias seguintes até o final do experimento.

**Tabela 14:** valores médios de pH e seus respectivos desvios padrão dos diferentes tratamentos, ao longo dos dias de experimento.

Dia	T1	T2	T3	T4
0	6,62±0,00	6,70±0,00	6,57±0,00	6,58±0,00
2	7,38±0,10	7,04±0,01	7,47±0,24	7,75±0,07
4	7,80±0,03	7,48±0,12	8,04±0,22	8,11±0,06
6	8,11±0,09	7,88±0,01	8,49±0,35	8,28±0,09
8	8,41±0,07	8,47±0,18	8,67±0,04	8,51±0,13
10	8,60±0,05	8,70±0,16	8,77±0,01	8,64±0,10
12	8,74±0,14	8,80±0,15	8,85±0,06	8,75±0,15
14	9,02±0,10	8,96±0,12	9,32±0,27	9,23±0,48
16	8,86±0,05	9,62±0,59	9,62±0,28	9,70±0,18
18	8,85±0,03	9,50±0,48	8,86±0,07	9,55±0,12



**Figura 10:** dinâmica das frações de ortofosfato nos meios de cultivo das cepas analisadas em função dos dias de experimento.

## 4.4 DISCUSSÃO

### 4.4.1 Curva de crescimento

Fatores ambientais como o pH, temperatura, intensidade luminosa e nutrientes não só afetam a fotossíntese e as taxas de crescimento celular, mas também interferem na composição celular e nas atividades metabólicas das células microalgais (JUNEJA; CEBALLOS; MURTHY, 2013).

As curvas de crescimento permitem identificar fases de desenvolvimento das microalgas, independentemente de sua duração (LOURENÇO, 2006), ocorrendo em cinco fases: adaptação, crescimento exponencial, fase de crescimento decrescente, fase estacionária e fase senescente (MOAZAMI et al., 2012). A não ocorrência da fase de adaptação no presente estudo pode ser atribuída ao fato de que os inóculos dos cultivos estavam em fase exponencial de crescimento, fato também observado por Li et al. (2011). Um inóculo alto, ou

seja, de densidade celular acima de  $10^6$  cel mL<sup>-1</sup> inibe consideravelmente o crescimento da alga (LU et al., 2012).

O crescimento celular de microalgas está diretamente atrelado à disponibilidade de nutrientes no meio de cultivo, dentre eles o nitrogênio e o fósforo. De acordo com Anand e Arumugan (2015), o fornecimento de uma fonte nitrogenada ao ambiente de cultura aumenta significativamente o crescimento celular até certo ponto no qual ocorre o esgotamento do nitrogênio, afetando o crescimento da alga. O nitrogênio é o elemento mineral mais abundante nas algas, representa 55% da composição nutricional da biomassa algal e é constituinte fundamental de aminoácidos, proteínas estruturais e funcionais das células (BECKER, 1994; COSTA et al., 2014). O fósforo (P) é extremamente importante ao desenvolvimento de um cultivo de microalgas, de forma a atuar diretamente nos processos metabólicos e transferência de energia e, tamanha é a sua significância no cultivo que é considerado um nutriente limitante pois sua limitação está atrelada ao decréscimo do crescimento celular (BAUMGARTNER et al., 2013; COSTA et al., 2014; GROBBELAAR, 2004).

As interações competitivas entre os gêneros presentes nas cepas mistas podem ter influenciado as menores densidades celulares das cepas mistas quando comparadas com as cepas isoladas. Segundo Lourenço (2006), ocorre uma tendência natural de perda de controle dos cultivos mistos ao longo do tempo de manutenção nesse estado, intensificando as interações competitivas por recursos até o momento em que um gênero se sobressai sobre os demais. Por isso, o mesmo autor recomenda a manutenção das cepas isoladas separadamente e misturar apenas no início do cultivo misto.

As taxas de duplicação seguem tendência de acompanhamento da variação da taxa de crescimento específico (BAUMGARTNER et al., 2013). Em estudos com diferentes espécies de *Scenedesmus*, Durvasula e colaboradores (2015) obtiveram maiores taxas de duplicação celular de  $0,54 \text{ dia}^{-1}$  para meio TAP e  $0,23 \text{ dia}^{-1}$  para meio BG-11. Tang e colaboradores (2011) verificaram taxas de duplicação de  $0,50 \text{ dia}^{-1}$  e  $0,60 \text{ dia}^{-1}$  sem a adição de CO<sub>2</sub> e, com a adição de 10% de CO<sub>2</sub>, as taxas de divisão diária ficaram em  $0,9 \text{ dia}^{-1}$ .

#### 4.4.2 pH

A crescente e intensa atividade biológica das algas ao longo dos dias de experimento podem ter elevado o pH do cultivo. O consumo de carbono inorgânico utilizado no consumo para o crescimento da cultura de algas no processo fotossintético, faz elevar o pH no meio de cultivo, fazendo com que ocorra equilíbrio entre as formas de carbonato e hidrogenocarbonato no sistema tampão (LOPES, 2007; PAWLOWSKI et al., 2014). (COHEN, 1999; GOLDMAN, 1999).

A partir do segundo dia de experimento, ocorreu elevação do pH do cultivo e isto pode ter influenciado a disponibilidade de fósforo no meio de cultivo, favorecendo o crescimento exponencial. O pH interfere diretamente na fração de ortofosfato disponível, pois a absorção de fósforo pelas algas ocorre nas formas de ortofosfato inorgânico ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  e  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) incorporadas a compostos orgânicos, variando sua fração de acordo com as mudanças de pH do cultivo sendo que em pH ácidos ( $\text{pH} < 7,0$ ) a espécie dominante de ortofosfato é  $\text{H}_2\text{PO}_4$  e em condições alcalinas de pH ( $> 7,0$ ) torna-se  $\text{HPO}_4^{2-}$  a qual é a forma de ortofosfato utilizada pelas algas (BECKER, 1994; DAVIS; MASTEN, 2016; GERARDI, 2015). Segundo Zabochnicka-Swiatek e Malinska (2013), e quando o pH está acima de 9,0, prevalecem os íons  $\text{PO}_4^{3-}$ .

A elevação dos valores de pH no presente estudo foi semelhante a encontrada por Tripathi, Singh e Thakur (2015) que avaliaram o efeito do pH no crescimento de *Scenedesmus sp.* e observaram que o melhor desenvolvimento microalgal se deu em pH alcalino ( $\text{pH} = 8$ ). Chiranjeevi e Mohan (2016) obtiveram em pH alcalino de 8,5 os melhores resultados de produção de biomassa de microalgas.

#### 4.5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As maiores densidades celulares máximas foram observadas nos tratamentos de cepas unialgais, ou seja, com a presença de um único gênero. Os tratamentos com cultivos mistos apresentaram menores DCM provavelmente pela atividade competitiva entre os gêneros presentes na cepa.

O inóculo de cada cepa influenciou consideravelmente na densidade celular dos cultivos. Desta forma, antes de iniciar um cultivo, a densidade do inóculo deve ser calculada para que a fase exponencial se prolongue pelo maior tempo possível.

É necessário que as cepas mistas sejam submetidas ao isolamento, para que os cultivos unialgais sejam mantidos separadamente e, caso tenha o interesse de estudar dois ou mais gêneros juntos, preparar a mistura somente no momento de iniciar o cultivo misto.

O pH, além de controlar a atividade das microalgas também atuou na dinâmica do fósforo, um nutriente limitante e fundamental ao seu crescimento. As maiores DCM dos tratamentos foram observadas em pH alcalino (acima de 8,0). Por isso, as microalgas devem ser cultivadas em pH alcalino, devendo ser controlado desde o início em condições adequadas de meio de cultivo para que iniciem seu crescimento em fase exponencial.

#### 4.6 REFERÊNCIAS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.

ANAND, J.; ARUMUGAM, M. Bioresource Technology Enhanced lipid accumulation and biomass yield of *Scenedesmus quadricauda* under nitrogen starved condition. **Bioresource Technology**, v. 188, p. 190–194, 2015.

ANDRADE, D. S.; COLOZZI FILHO, A. **Microalgas de águas continentais: Potencialidades e desafios do cultivo**. Londrina: IAPAR, 2014.

BAUMGARTNER, T. R. S. et al. Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo. **R. Bras. Bioci.**, v. 11, n. 2, p. 250–255, 2013.

BECKER, E. W. **Microalgae: biotechnology and microbiology**. 1. ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.

CHELLAPPA, N. T.; LIMA, A. K. A. DE; CÂMARA, F. R. DE A. Riqueza de Microalgas em Viveiros de Cultivo Orgânico de Camarão em Tibau do Sul, Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 120–122, 2007.

CHINNASAMY, S. et al. Biomass and bioenergy production potential of microalgae consortium in open and closed bioreactors using untreated carpet industry effluent as growth medium. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 17, p. 6751–6760, 2010.

CHIRANJEEVI, P.; MOHAN, S. V. Critical parametric influence on microalgae cultivation towards maximizing biomass growth with simultaneous lipid productivity. **Renewable Energy**, v. 98, p. 64–71, 2016.

COHEN, Z. **Chemical form microalgae**. London: Taylor & Francis, 1999.

COSTA, A. et al. Ambiente de crescimento de microalgas. In: ANDRADE, D. S.; COLOZZI FILHO, A. (Eds.). **Microalgas de águas continentais: Potencialidades e Desafios do Cultivo**. Londrina: IAPAR, 2014. p. 144–174.

DAVIS, M. L.; MASTEN, S. J. **Princípios da Engenharia Ambiental**. 3. ed. Porto Alegre: AMGH, 2016.

DERNER, R. B. et al. Microalgas , produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1959–1967, 2006.

DURVASULA, R. et al. Culture, growth, pigments and lipid content of *Scenedesmus* species, an extremophile microalga from Soda Dam, New Mexico in wastewater. **Algal Research**, v. 10, p. 128–133, 2015.

GERARDI, M. H. **The Biology and Troubleshooting of Facultative Lagoons**. 1. ed. New Jersey: Wiley, 2015.

GOLDMAN, J. C. Inorganic carbon availability and the growth of large marine diatoms. **Marine Ecology Progress Series**, v. 180, p. 81–91, 1999.

GONZÁLEZ, L. E.; CAÑIZARES, R. O.; BAENA, S. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulagris* and *Scenedesmus dimorphus*. **Bioresource Technology**, v. 60, p. 259–262, 1997.

GROBBELAAR, J. U. Algal Nutrition: Mineral Nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. 1. ed. Oxford: Blackwell Science, 2004. p. 97–115.

HU, Q. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products – Major Industrial Species *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, 2004. p. 264–272.

JUNEJA, A.; CEBALLOS, R. M.; MURTHY, G. S. Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production: A Review. **Energies**, v. 6, p. 4607–4638, 2013.

LI, Y. et al. Characterization of a microalga *Chlorella sp.* well adapted to highly concentrated municipal wastewater for nutrient removal and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 8, p. 5138–5144, 2011.

LOPES, E. J. **Sequestro de dióxido de carbono em fotobiorreatores**. [s.l.]

Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas. 2007., 2007.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

LU, S. et al. Metabolic profiling reveals growth related FAME productivity and quality of *Chlorella sorokiniana* with different inoculum sizes. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 7, p. 1651–1662, 2012.

MOAZAMI, N. et al. Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p. 449–453, 2012.

OLIVEIRA, M. M.; BASTOS, J. C.; NEVES, M. H. C. B. Toxinas de cianobactérias e microalgas marinhas: um desafio para a ecotoxicologia aquática. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 4, n. 1, p. 57–80, 2011.

PAWLOWSKI, A. et al. Event-based predictive control of pH in tubular photobioreactors. **Computers & Chemical Engineering**, v. 65, n. JUNE, p. 28–39, jun. 2014.

PEREZ-GARCIA, O. et al. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, n. 1, p. 11–36, 2011.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of microalgae – A review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, n. 4, p. 89–100, 2012.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C.; COLLA, L. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 4, p. 48–60, 2012.

SIPAÚBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. São Carlos: RiMa, 2001.

TANG, D. et al. Bioresource Technology CO<sub>2</sub> biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO<sub>2</sub> levels. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3071–3076, 2011.

TRIPATHI, R.; SINGH, J.; THAKUR, I. S. Characterization of microalga *Scenedesmus* sp. ISTGA1 for potential CO<sub>2</sub> sequestration and biodiesel production. **Renewable Energy**, v. 74, p. 774–781, 2015.

ZABOCHNICKA-ŚWIĄTEK, M.; MALIŃSKA, K. Removal of nitrogen and phosphorous compounds by zeolites and algae. In: PAWLOWSKI, A.; DUDZINSKA, M. R.; PAWLOWSKI, L. (Eds.). **Environmental Engineering IV**. London: CRC Press, 2013. p. 123–128.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS GERAIS**

A comunidade fitoplanctônica foi representada por 41 gêneros, divididos em 5 classes, 10 ordens e 20 famílias, representada em sua maioria pelas clorofíceas, seguidas das diatomáceas e cianofíceas presentes em todos os pontos e estações do ano e, com ocorrência esporádica de representantes das classes das euglenofíceas e das zignemafíceas.

A inserção de nutrientes no rio Toledo foi mais significativa e considerável nos pontos após o trecho urbano, entre os pontos P4 e P5, do que o aporte nas áreas agrícolas à montante da área urbana de Toledo. Essas condições favoreceram a presença de uma diversidade de gêneros do fitoplâncton, devido a condições favoráveis de nutrientes, pH e condutividade, tanto em escala espacial quanto temporal.

Não foi possível afirmar o real estado trófico do Rio Toledo, devido ao fato de serem utilizados dois modelos de IET com metodologias completamente diferentes entre si, sendo o de Lamparelli utilizando parâmetros químicos e biológicos indiretos (P-total e clorofila-a) e o de Nygaard utilizando a comunidade fitoplanctônica.

As cepas unialgais de clorofíceas apresentaram melhor crescimento do que as mistas, sendo estas últimas provavelmente influenciadas por interações competitivas entre os gêneros presentes na cepa. Parâmetros abióticos e bióticos influenciaram crescimento das cepas, como a densidade do inóculo algal e o pH, que determinou a faixa de crescimento máximo e da total disponibilidade do nutriente limitante fósforo no meio de cultivo, favorecendo o desenvolvimento do cultivo.

## **6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS**

Diante dos resultados apresentados, recomenda-se com este estudo:

- 1) Realização de estudos sobre bacia hidrográfica do Rio Toledo como unidade de gestão dos recursos hídricos, considerando a importância do

rio para o município e, visto que há carência de trabalhos sobre tal corpo hídrico;

- 2) Caracterização qualitativa e quantitativa da comunidade fitoplanctônica do Rio Toledo, utilizando as microalgas como ferramentas indicadoras de qualidade da água, para informações;
- 3) Aplicação de mais um modelo de estado trófico para comprovação do grau de trofia do Rio Toledo;
- 4) Manutenção de cepas isoladas no banco de microalgas do Rio Toledo para melhor conservação e preservação das cepas para usos futuros;

## 7 REFERÊNCIAS GERAIS

ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMAIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 19, n. 3, p. 257–275, 2012.

ANDRADE, D. S.; COLOZZI FILHO, A. **Microalgas de águas continentais: Potencialidades e desafios do cultivo**. Londrina: IAPAR, 2014.

BACCI, D. D. L. C.; PATACA, E. M. Educação para a água. **Estudos Avançados**, v. 22, n. 63, p. 211–226, 2008.

BALETA, F. N.; BOLAÑOS, J. M. Phytoplankton identification and water quality monitoring along the fish-cage belt at Magat dam reservoir , Philippines. **International Journal of Fisheries and Aquatic Studies**, v. 4, n. 3, p. 254–260, 2016.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557–577, fev. 2010.

CASÉ, M. et al. Plankton community as an indicator of water quality in tropical shrimp culture ponds. **Marine Pollution Bulletin**, v. 56, n. 7, p. 1343–1352, 2008.

CHANKAEW, W. et al. Possibility of freshwater red algae as bioindicator for water quality of streams in Nakhon Si Thammarat province ,. **Journal of Agricultural Technology**, v. 11, n. 6, p. 1349–1358, 2015.

CHELLAPPA, N. T.; LIMA, A. K. A. DE; CÂMARA, F. R. DE A. Riqueza de Microalgas em Viveiros de Cultivo Orgânico de Camarão em Tibau do Sul , Rio Grande do Norte. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 120–122, 2007.

COSTA, A. et al. Ambiente de crescimento de microalgas. In: ANDRADE, D. S.; COLOZZI FILHO, A. (Eds.). **Microalgas de águas continentais: Potencialidades e Desafios do Cultivo**. Londrina: IAPAR, 2014. p. 144–174.

DERNER, R. B. et al. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, p. 1959–1967, 2006.

GONZÁLEZ, L. E.; CAÑIZARES, R. O.; BAENA, S. Efficiency of ammonia and phosphorus removal from a Colombian agroindustrial wastewater by the microalgae *Chlorella vulagris* and *Scenedesmus dimorphus*. **Bioresource Technology**, v. 60, p. 259–262, 1997.

HU, Q. Industrial Production of Microalgal Cell-mass and Secondary Products – Major Industrial Species *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*. In: RICHMOND, A. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, 2004. p. 264–272.

LINDNER, E. A.; GOMIG, K.; KOBAYAMA, M. **Sensoriamento remoto aplicado à caracterização morfométrica e classificação do uso do solo na bacia rio do Peixe/SC** Anais XIII Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto. **Anais...**2007 Disponível em: <<http://bibdigital.sid.inpe.br/rep-/dpi.inpe.br/sbsr@80/2006/11.15.18.13.46>>

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006.

NIWEGLOWSKI, A. M. A. **Indicadores de qualidade da água na bacia hidrográfica do Rio Toledo-PR**. [s.l.] 2006. 218 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

OLIVEIRA, M. M.; BASTOS, J. C.; NEVES, M. H. C. B. Toxinas de cianobactérias e microalgas marinhas: um desafio para a ecotoxicologia aquática. **Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego**, v. 4, n. 1, p. 57–80, 2011.

POLIGNANO, M. V. et al. **Revitalização da bacia do rio das Velhas**. Disponível em: <[http://www.manuelzao.ufmg.br/assets/files/Biblioteca\\_Virtual/DIAGNOSTICO\\_PRELIMINAR\\_POLUICAO\\_DIFUSA\\_META2014.pdf](http://www.manuelzao.ufmg.br/assets/files/Biblioteca_Virtual/DIAGNOSTICO_PRELIMINAR_POLUICAO_DIFUSA_META2014.pdf)>. Acesso em: 12 maio. 2015.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae – A review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, n. 4, p. 89–100, 2012.

QUEIROZ, J. F.; SILVA, M. S. G. M.; STRIXINO, S. T. **Organismos Bentônicos biomonitoramento de qualidade de água Organismos Bentônicos : Biomonitoramento de Qualidade de Águas**. 1. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C.; COLLA, L. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 4, p. 48–60, 2012.

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia**. São Paulo: Oficina de Textos, 2008.

XIN, L. et al. Effects of different nitrogen and phosphorus concentrations on the

growth, nutrient uptake, and lipid accumulation of a freshwater microalga  
*Scenedesmus sp.* **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5494–5500,  
2010.

