



SETAC – Brazil

Toxicidade de Extratos de Florações de Cianobactérias de Reservatórios do Rio Tietê, SP, aos Dafnídeos *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Crustacea)

R. A. TAKENAKA,¹ M. J. DELLAMANO-OLIVEIRA² & O. ROCHA^{2*}

¹Departamento de Hidráulica e Saneamento, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, Brasil

²Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, Brasil

(Received February 8, 2007; Accepted April 30, 2007)

RESUMO

Em ambientes eutróficos, as florações de cianobactérias freqüentemente representam riscos à saúde humana e à biota aquática, pelo fato de produzirem metabólitos secundários (cianotoxinas) que podem ser liberados na água durante a lise das células. Assim, neste trabalho analisou-se a toxicidade aguda e crônica do extrato bruto de florações de cianobactérias ocorridas nos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, Médio rio Tietê, SP, aos cladóceros *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (espécie exótica) e *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902 (espécie nativa). As amostras das florações de cianobactérias foram coletadas em março de 2006 e liofilizadas para preparo dos extratos brutos e para análise de microcistinas (ELISA). *Microcystis aeruginosa* Kützing e *Pseudanabaena mucicola* (Huber-Pestalozzi & Naumann) Bourrelly foram as espécies com maior destaque no reservatório de Barra Bonita, enquanto *M. aeruginosa* se destacou no de Promissão. Concentrações relativamente altas de microcistinas totais foram detectadas nos extratos brutos de florações dos reservatórios (801,12 e 1420,70 µg L⁻¹ para Barra Bonita e 238,78 e 932,32 µg L⁻¹ para Promissão). Todos os extratos brutos testados causaram toxicidade aguda aos dafnídeos, sendo que *C. dubia* foi mais sensível do que *C. silvestrii*. As concentrações mais elevadas dos extratos (80 e 160 mg L⁻¹ para Barra Bonita e 100 mg L⁻¹ para Promissão) afetaram adversamente a sobrevivência e a reprodução dos dafnídeos, enquanto baixas concentrações não tiveram efeito tóxico e aparentemente estimularam maior reprodução. Os resultados evidenciaram efeitos adversos à biota aquática e possíveis riscos à saúde humana, sendo necessária a implantação de medidas para reverter o processo de eutrofização.

Palavras-chave: cladóceros, extratos brutos, florações de cianobactérias, microcistinas, reservatórios, rio Tietê, toxicidade crônica.

ABSTRACT

Toxicity of the extracts of cyanobacteria blooms from Tietê River reservoirs, SP, to the daphnids *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii* (Cladocera, Crustacea)

In eutrophic environments cyanobacterial blooms frequently represent risks to human health and natural biota, due to their production of toxins that are released in the water by cells lysis. The acute and chronic toxicity of crude extracts from cyanobacterial blooms occurring in Barra Bonita and Promissão reservoirs Middle Tietê River, SP, were evaluated by performing ecotoxicological tests using two daphnids species, *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 (exotic species) and *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902 (native species). Cyanobacterial bloom samples were collected in March 2006, and lyophilized in order to prepare crude extracts and to analyze the microcystin content (ELISA essay). *Microcystis aeruginosa* Kützing and *Pseudanabaena mucicola* (Huber-Pestalozzi & Naumann) Bourrelly were abundant in the blooms from Barra Bonita Reservoir, whereas *M. aeruginosa* was dominant in the material from Promissão Reservoir. High concentrations of total microcystins were detected in crude bloom material extracts from reservoirs (801.12 and 1,420.70 µg L⁻¹ for Barra Bonita Reservoir and 238.78 and 932.32 µg L⁻¹ for Promissão Reservoir). The crude bloom extracts caused acute toxicity

*Corresponding author: Odete Rocha, e-mail: doro@power.ufscar.br.

to daphnids and *C. dubia* was usually more sensitive than *C. silvestrii*. Higher concentrations of crude extracts (80 and 160 mg L⁻¹ for Barra Bonita Reservoir and 100 mg L⁻¹ for Promissão Reservoir) affected adversely the survival and the reproduction of daphnids, while lower concentrations appeared to stimulate reproduction. The results evidenced the risks to the natural biota and possibly to the human health, pointing to the urgent necessity to prevent eutrophication.

Key words: cladocerans, crude extracts, cyanobacterial blooms, microcystins, reservoirs, Tietê River, chronic toxicity.

INTRODUÇÃO

A eutrofização atualmente é um fenômeno mundial, que tem levado à degradação dos ecossistemas aquáticos, prejudicando os usos múltiplos da água (Bartram *et al.*, 1999). O crescente processo de eutrofização é o resultado de atividades humanas. As descargas de esgotos domésticos e industriais, principalmente originárias de centros urbanos e das regiões agriculturáveis, têm como consequência uma série de efeitos que produz mudanças na qualidade da água, tais como: aumento do custo de tratamento da água, redução da concentração de oxigênio dissolvido, perda das qualidades cênicas, morte extensiva de peixes e aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias (Azevedo & Vasconcelos, 2006).

As florações de cianobactérias implicam riscos à saúde humana e à biota aquática, uma vez que diversas espécies de cianobactérias que formam as florações produzem toxinas (hepatotoxinas e neurotoxinas). Embora as consequências das florações possam ocorrer durante todo o período do seu desenvolvimento, é na fase final, quando ocorre o colapso, que essas são mais drásticas, devido ao processo de decomposição e à liberação massiva de cianotoxinas (Vasconcelos & Araújo, 1994).

As florações de cianobactérias influenciam todas as comunidades, particularmente a zooplancônica, nos ecossistemas onde ocorrem, interferindo na transferência de energia aos níveis tróficos superiores (Rocha *et al.*, 1997; Tundisi *et al.*, 2002). Há evidência de que cianobactérias exercem efeitos deletérios sobre o zooplâncton, entretanto, esses efeitos são muito variáveis entre gêneros e espécies, e mesmo entre clones de espécies zooplancônicas. Uma das principais questões ainda a ser resolvida é se os efeitos inibitórios observados se devem ao suposto baixo valor nutricional de cianobactérias, às cianotoxinas conhecidas ou a outros compostos não identificados (Sivonen & Jones, 1999).

A maioria dos estudos sobre as interações entre cianobactérias e zooplâncton tem focado os efeitos de linhagens tóxicas de cianobactérias isoladas e cultivadas em condições de laboratório e fornecidas como alimento (Rohrlack *et al.*, 1999; Thostrup & Christoffersen, 1999; Ferrão-Filho *et al.*, 2000; Ferrão-Filho *et al.*, 2002a; Ferrão-Filho & Azevedo, 2003). Há, ainda, alguns estudos relacionados aos efeitos de microcistinas purificadas (Chen *et al.*, 2005), bem como de extratos brutos de florações naturais de cianobactérias sobre espécies zooplancônicas (Minillo *et al.*, 2000; Sotero-Santos

et al., 2006; Okumura *et al.*, 2007). Uma diferença principal no delineamento dos estudos está relacionada ao fato de os organismos serem ou não expostos às cianotoxinas dissolvidas na água ou alimentados com cianobactérias tóxicas.

No presente trabalho, analisou-se a toxicidade aguda e crônica de extratos brutos de florações naturais de cianobactérias oriundas de reservatórios do Médio rio Tietê, SP, a cladóceros, a fim de investigar o efeito de tais florações sobre o zooplâncton, simulando particularmente o que aconteceria no final das florações, quando grande quantidade de toxinas seria liberada na água por lise celular.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta

As amostras de florações naturais de cianobactérias foram coletadas com rede de fitoplâncton (20 µm) em 03/03 e 14/03 de 2006 no reservatório de Barra Bonita e em 08/03 e 17/03 de 2006 no reservatório de Promissão, ambos localizados no rio Tietê, São Paulo, Brasil. As amostras foram congeladas, liofilizadas e armazenadas a -20°C.

Preparo do extrato bruto de cianobactérias

O material liofilizado relativo às florações naturais foi pesado e uma quantidade preestabelecida foi ressuspensa em água destilada. A suspensão foi submetida a um ciclo de congelamento e descongelamento em temperatura ambiente por 3 vezes, para provocar o rompimento das células e liberação das toxinas. Após esse processo, a suspensão foi centrifugada a 3500 rpm por 10 min e o sobrenadante foi utilizado na preparação, por diluição em água reconstituída, das diferentes concentrações do extrato a serem testadas (CETESB, 1993).

Cultivo dos cladóceros

Os dafinídeos *Ceriodaphnia dubia* Richard, 1894 e *Ceriodahnia silvestrii* Daday, 1902 (Crustacea, Cladocera) são oriundos de cultivos mantidos no Laboratório de Ecotoxicologia do Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva da Universidade Federal de São Carlos (DEBE/UFSCar). Esses organismos foram cultivados, seguindo normas padronizadas (ABNT, 2005), em béqueres de 2 L com água reconstituída (dureza total de 40-48 mg CaCO₃ L⁻¹ e pH de 7,0-7,6), alimentados com suspensão da alga clorofícea *Pseudokirchneriella subcapitata* (anteriormente conhecida como *Selenastrum capricornutum*) na concentração de 1 × 10⁵ cel/mL e com uma

mistura de leveduras e ração de peixe fermentada (proporção de 1:1), e mantidos em incubadora a 25°C e fotoperíodo de 16h claro/8h escuro. *C. dubia* é oriunda de regiões temperadas (o inóculo foi obtido junto à CETESB) e *C. silvestrii* é uma espécie nativa, comum nas águas doces brasileiras e com ocorrência nos reservatórios estudados.

Testes de toxicidade aguda

Para ambas as espécies, cinco neonatas (< 24h) foram colocadas em tubos de ensaio contendo 10 mL de extrato bruto de cianobactérias, em quatro réplicas por tratamento. As concentrações testadas, preparadas com água reconstituída, foram: 0 (controle), 50, 100, 200, 400 e 800 mg L⁻¹, tanto para Barra Bonita como para Promissão. Durante o período de exposição (48h), os organismos foram mantidos em incubadora a 25°C, sem iluminação e sem alimentação. As variáveis pH (potenciômetro Quimis, modelo Q400A), condutividade elétrica (condutivímetro Digimed, modelo DM3) e dureza (titulometria com EDTA) foram monitoradas no início e ao final dos testes. Após 48h, o número de organismos imóveis ou mortos foi registrado. Os resultados foram expressos em CE50 – concentração efetiva média que causa efeito agudo a 50% dos organismos no tempo de exposição (ABNT, 2004).

Testes de toxicidade crônica

Para cada espécie, neonatas (< 24h) foram colocadas individualmente em tubos de ensaio contendo 15 mL do extrato bruto em concentrações subletais (determinadas com base nos testes de toxicidade aguda), preparadas com água reconstituída. Foram utilizadas 10 réplicas para cada tratamento, incluindo o controle. Durante o período de exposição (8 dias), os organismos foram mantidos em incubadora a 25°C, sem iluminação, e alimentados diariamente, como no cultivo. As suspensões de extrato bruto foram renovadas a cada dois dias, quando também eram registrados os indivíduos mortos e o número de neonatas vivas produzidas. Condutividade elétrica (condutivímetro Digimed, modelo DM3), pH (potenciômetro Quimis, modelo Q400A), dureza (titulometria com EDTA) e concentração de oxigênio dissolvido (oxímetro Cole Palmer, modelo DO100) foram monitorados. Os resultados foram expressos em porcentagem para a sobrevivência e número médio de neonatas produzidas para a reprodução (ABNT, 2005).

Análises estatísticas

Os dados obtidos nos testes de toxicidade aguda foram sumarizados e analisados utilizando-se o método estatístico Trimmed Spearman-Kärber (Hamilton *et al.*, 1977) para calcular os valores da CE50. Nos testes de toxicidade crônica foi utilizado o programa computacional TOXSTAT 3.3 (Gulley *et al.*, 1991). Os dados de sobrevivência foram analisados pelo teste de Fisher, enquanto os dados de reprodução foram primeiro testados quanto à normalidade e à homogeneidade (testes de χ^2 e Hartley, respectivamente) e, então, submetidos ao método paramétrico Dunnett, uma vez que seguiram distribuição normal.

Análise de microcistinas

As concentrações de microcistinas dos extratos brutos foram determinadas por meio do imunoensaio ELISA, com o kit de placas da Beacon Analytical Systems Inc., e expressas na forma de equivalentes de microcistinas totais, em $\mu\text{g L}^{-1}$.

Análise qualitativa da comunidade fitoplanctônica

Para determinar as principais espécies de cianobactérias presentes na comunidade fitoplanctônica, amostras foram coletadas em diferentes profundidades em um ponto na região central dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, utilizando-se rede de plâncton de 20 μm de abertura de malha, com auxílio de bomba de sucção, e fixadas com solução de formol 4%. A identificação dos táxons foi feita a partir da análise populacional, sempre que possível, ao menor nível taxonômico, utilizando-se um microscópio binocular da marca Carl Zeiss, modelo Axioscop, com resolução máxima de 2.560 vezes e consultando-se literatura especializada.

RESULTADOS

Todos os extratos brutos de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, rio Tietê, SP, continham microcistinas e causaram efeito tóxico agudo aos cladóceros *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii*. As concentrações de microcistinas dos extratos brutos de cianobactérias dos reservatórios foram relativamente altas (Tabela 1), sendo que as mais elevadas foram obtidas para o material das florações de Barra Bonita. Nos dias amostrados, *Microcystis aeruginosa* e *Pseudanabaena mucicola* se destacaram no reservatório de Barra Bonita, enquanto *M. aeruginosa* se sobressaiu no reservatório de Promissão, no período estudado.

Os extratos brutos de cianobactérias de Barra Bonita de 03/03/06 apresentaram maiores concentrações de microcistinas e foram mais tóxicos para ambas as espécies do que os de 14/03/06. Os extratos brutos de Barra Bonita de 14/03/06 foram mais tóxicos para *C. dubia* do que para *C. silvestrii*. Os valores de CE50 (48h) foram condizentes com aqueles reportados em outros trabalhos (Tabela 2). O extrato bruto da floração de cianobactérias da represa de Promissão amostrada em 08/03/06 foi mais tóxico para as duas espécies de cladóceros do que aquele da coleta de 17/03/06 (Tabela 2), embora esse último tenha apresentado maior concentração de microcistinas por unidade de peso do material do que o primeiro.

Em relação às variáveis monitoradas, de modo geral, o pH foi menor na suspensão de maior concentração e menor em todas as suspensões ao final do que no início dos testes. Não se observaram variações na condutividade elétrica entre as suspensões de diferentes concentrações de extrato no início do experimento, contudo, a condutividade aumentou ligeiramente ao final do teste. A dureza, medida apenas no final dos testes, sofreu pequenas alterações entre as concentrações dos extratos (Tabela 3).

Tabela 1 – Concentração média de microcistinas totais de extratos brutos de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, Médio rio Tietê, SP.

Reservatório	Data	Concentração média de microcistinas em $\mu\text{g L}^{-1}$ (desvio-padrão)
Barra Bonita	03/03/2006	1420,70 (319,41)
	14/03/2006	801,12 (171,56)
Promissão	08/03/2006	238,78 (66,33)
	17/03/2006	932,32 (512,99)

Tabela 2 – Valores de CE50 (48h), expressos em mg L^{-1} , para os dafinídeos *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii* (Crustacea, Cladocera) expostos a extratos brutos de florações de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, Médio rio Tietê, SP.

Local	Data	<i>C. dubia</i>	<i>C. silvestrii</i>	Referência
Barra Bonita	Nov/2002	-	107,17 (86,4-133,0)* 100,39 (82,2-122,6)	Sotero-Santos <i>et al.</i> (2006)
	03/03/2006	125,08 (108,2-144,6)	129,99 (105,9-150,0)	Presente estudo
	14/03/2006	243,39 (213,1-278,9)	495,58 (386,4-547,8)	Presente estudo
Promissão	08/03/2006	164,88 (145,3-187,4)	195,33 (162,1-236,0)	Presente estudo
	17/03/2006	323,72 (283,7-369,7)	351,6 (288,9-430,0)	Presente estudo

*Valores entre parênteses correspondem ao intervalo de confiança 95%.

Nos testes de toxicidade crônica, a sobrevivência dos cladóceros *C. dubia* e *C. silvestrii* foi significativamente afetada pelo extrato bruto de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão (Tabelas 4 e 5), nas maiores concentrações testadas, ocasionando mortalidade de 40 a 100% e de 50 a 100%, respectivamente. Por conseqüência, tais concentrações também exerceram efeito negativo sobre a reprodução dos dafinídeos. Não foi observado efeito dose-reposta na reprodução dos organismos. Outro fenômeno observado é que, nas menores concentrações testadas, a reprodução foi estimulada, sendo, muitas vezes, significativamente superior àquela registrada no controle (Tabelas 4 e 5). De modo geral, a reprodução de *C. dubia* foi maior do que a de *C. silvestrii*.

Em relação às variáveis monitoradas, de modo geral, o pH das suspensões diminuiu do início para o final dos testes. A condutividade elétrica não variou entre as diferentes concentrações, tendo, porém, aumentado ao final dos testes, em especial, nas maiores. A dureza também não variou entre as concentrações nem do início para o final dos testes. A

concentração de oxigênio dissolvido diminuiu no final dos testes, da menor para a maior concentração (Tabela 6).

DISCUSSÃO

A ocorrência de florações de cianobactérias é uma característica recorrente em reservatórios do rio Tietê, SP, em especial no de Barra Bonita, que se encontra bastante eutrofizado (Calijuri *et al.*, 2002; Matsumura-Tundisi *et al.*, 2006; Rocha *et al.*, 2006). A presença de florações tóxicas nesse reservatório tem sido demonstrada por meio de bioensaios com camundongos e cladóceros (Sotero-Santos *et al.*, 2006; Okumura *et al.*, 2007), confirmando os resultados encontrados no presente trabalho.

No Brasil, os gêneros mais comuns de cianobactérias formadoras de florações são *Microcystis*, *Aphanizomenon*, *Anabaena*, *Cylindrospermopsis* e *Planktothrix* (Sant'anna & Azevedo, 2000). No presente trabalho, em ambos os reservatórios, se destacaram as espécies do gênero *Microcystis*, conhecidas produtoras das microcistinas hepatotóxicas (Yoo *et al.*, 1995; Sivonen, 1996).

Tabela 3 – Valores médios de pH, condutividade e dureza, monitorados nos testes de toxicidade aguda com cladóceros expostos a extratos brutos de florações de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Promissão, Médio rio Tietê, SP.

Material	Concentração (mg L ⁻¹)	pH		Condutividade (µS cm ⁻¹)		Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)
		Inicial	Final	Inicial	Final	Final
Barra Bonita 03/03/06	0 (controle)	7,4 (0,13)*	7,8 (0,05)	171 (7,7)	173 (10,5)	45 (2,6)
	50	7,5 (0,11)	7,2 (0,14)	174 (3,4)	181 (2,5)	46 (2,8)
	100	7,4 (0,08)	7,1 (0,12)	173 (6,8)	183 (7,9)	46 (0,0)
	200	7,3 (0,05)	6,8 (0,06)	172 (3,4)	185 (4,4)	46 (2,8)
	400	7,2 (0,05)	6,6 (0,07)	168 (3,0)	188 (6,5)	44 (2,8)
	800	6,8 (0,09)	6,0 (0,33)	164 (5,2)	183 (8,3)	45 (1,4)
Barra Bonita 14/03/06.	0 (controle)	7,4 (0,12)	7,7 (0,05)	168 (8,2)	178 (17,8)	48 (3,4)
	50	7,5 (0,06)	7,3 (0,06)	168 (5,9)	174 (1,6)	45 (1,4)
	100	7,4 (0,04)	7,2 (0,08)	170 (2,3)	176 (6,1)	46 (2,8)
	200	7,3 (0)	7,0 (0,12)	165 (7,0)	173 (3,3)	55 (9,9)
	400	7,1 (0,05)	6,7 (0,13)	163 (6,7)	171 (1,8)	45 (1,4)
	800	6,8 (0,03)	6,3 (0,29)	157 (7,8)	161 (3,9)	42 (2,8)
Promissão 08/03/06	0 (controle)	7,4 (0,05)	7,7 (0,04)	164 (7,5)	181 (4,9)	48 (3,4)
	50	7,5 (0,13)	7,1 (0,07)	179 (11,0)	176 (8,5)	45 (2,6)
	100	7,3 (0,10)	7,0 (0,08)	174 (5,3)	179 (9,5)	43 (2,3)
	200	7,5 (0,06)	6,8 (0,10)	172 (5,3)	180 (11,5)	45 (1,9)
	400	7,3 (0,13)	6,6 (0,20)	167 (7,8)	181 (13,5)	44 (1,9)
	800	7,1 (0,14)	6,0 (0,22)	177 (37,7)	199 (37,9)	43 (1,9)
Promissão 17/03/06	0 (controle)	7,4 (0,09)	7,7 (0,05)	161 (0,7)	201 (36,8)	50 (7,2)
	50	7,5 (0,07)	7,2 (0,09)	171 (7,5)	169 (18,5)	46 (2,0)
	100	7,5 (0,06)	7,0 (0,09)	168 (6,4)	181 (8,1)	46 (2,8)
	200	7,4 (0,06)	6,9 (0,08)	166 (9,3)	181 (11,4)	47 (2,3)
	400	7,3 (0,06)	6,7 (0,11)	168 (12,9)	179 (11,5)	46 (3,5)
	800	7,0 (0,04)	6,1 (0,18)	173 (24,1)	195 (17,1)	46 (5,3)

*Valores entre parênteses correspondem ao desvio-padrão.

Nos testes de toxicidade aguda não foi observada relação direta entre a concentração de microcistinas e a toxicidade dos extratos brutos de cianobactérias dos reservatórios aos cladóceros, ou seja, extratos com concentrações relativamente altas de microcistinas resultaram em menor toxicidade (maiores valores de CE50) do que aqueles com menores concentrações da toxina. Tal fato também foi observado em outros estudos (Jungmann & Benndorf, 1994; Okumura *et al.*, 2007).

As variações nas concentrações de microcistinas e na toxicidade aos daфинídeos registradas no presente trabalho, entre datas próximas e ao longo da mesma floração, são explicáveis uma vez que, dentro de uma mesma floração, pode haver linhagens produtoras e não produtoras de toxinas (Yoo *et al.*,

1995). Essas variações podem ser temporais, desde intervalos curtos de tempo até diferenças sazonais e anuais, e também espaciais (Codd *et al.*, 1989; Azevedo & Vasconcelos, 2006). Além disso, as cianobactérias podem produzir várias toxinas simultaneamente, sendo que mais de uma variante de microcistina tem sido caracterizada em certas linhagens (Sivonen, 1996). Ainda, a produção de toxinas pode ser influenciada por diversos fatores, tais como: fase de crescimento, intensidade luminosa, pH (Song *et al.*, 1998), temperatura, concentração de nutrientes, especialmente nitrogênio e fósforo (Jacoby *et al.*, 2000; Gupta *et al.*, 2001), micronutrientes (Lyck *et al.*, 1996), variação genética (Bittencourt-Oliveira *et al.*, 2001) e pressão de herbivoria (Agrawal *et al.*, 2005).

Tabela 4 – Percentagem de sobrevivência e número médio de neonatas vivas produzidas pelos dafinídeos *Ceriodaphnia dubia* e *C. silvestrii* (Crustacea, Cladocera) durante os testes de toxicidade crônica (8 dias) com extratos brutos de cianobactérias do reservatório de Barra Bonita, Médio rio Tietê, SP.

Data	Concentração de extrato bruto de cianobactérias (mg L ⁻¹)	Sobrevivência (%) após 8 dias		Nº médio de neonatas vivas produzidas (± desvio-padrão)	
		<i>C. dubia</i>	<i>C. silvestrii</i>	<i>C. dubia</i>	<i>C. silvestrii</i>
03/03/06	0 (controle)	100	90	19,9 ± 2,0	14,2 ± 5,0
	5	90	90	24,2 ± 11,8	18,6 ± 8,6
	10	100	70	27,5 ± 7,2	16,7 ± 12,2
	20	100	100	25,1 ± 3,5	31,2 ± 3,9
	40	90	90	17,2 ± 7,7	17,9 ± 7,4
	80	30†	30†	3,1 ± 4,5*	0,1 ± 0,3*
14/03/06	0 (controle)	100	100	17,5 ± 3,5	16,0 ± 7,5
	10	70	–	20,0 ± 14,1	–
	20	100	90	31,6 ± 3,0	17,4 ± 10,7
	40	100	100	28,9 ± 3,5	22,0 ± 10,1
	80	80	90	21,7 ± 10,2	27,9 ± 4,0
	160	10†	60†	0,3 ± 0,7*	0*
	320	–	0†	–	0*

† = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p = 0,05), segundo o teste de Fisher.

* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p < 0,05), segundo o teste de Dunnett.

– = não realizado.

Tabela 5 – Percentagem de sobrevivência e número médio de neonatas vivas produzidas pelos dafinídeos *Ceriodaphnia dubia* e *Ceriodaphnia silvestrii* (Crustacea, Cladocera) durante os testes de toxicidade crônica (8 dias) com extratos brutos de cianobactérias do reservatório de Promissão, Médio rio Tietê, SP.

Data	Concentração de extrato bruto de cianobactérias (mg L ⁻¹)	Sobrevivência (%) após 8 dias		Nº médio de neonatas vivas produzidas (± desvio-padrão)	
		<i>C. dubia</i>	<i>C. silvestrii</i>	<i>C. dubia</i>	<i>C. silvestrii</i>
08/03/06	0 (controle)	100	80	18,0 ± 2,7	11,3 ± 6,4
	6,25	90	20†	28,2 ± 3,2	2,5 ± 5,3*
	12,5	100	60	26,6 ± 8,9	8,0 ± 6,0
	25	100	40	26,2 ± 5,5	6,2 ± 5,8
	50	90	80	22,0 ± 7,4	6,7 ± 3,6
	100	0†	10†	1,0 ± 3,2*	0 ± 0*
17/03/06	0 (controle)	100	100	24,0 ± 4,0	21,0 ± 10,0
	12,5	100	90	33,5 ± 7,3	22,1 ± 9,0
	25	100	100	36,8 ± 3,3	26,5 ± 9,6
	50	100	100	35,8 ± 5,0	28,5 ± 12,3
	100	50†	40†	12,8 ± 11,9*	4,5 ± 6,3*
	200	0†	0†	0*	0*

† = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p = 0,05), segundo o teste de Fisher.

* = diferença estatisticamente significativa em relação ao controle (p < 0,05), segundo o teste de Dunnett.

Tabela 6 – Valores de pH, condutividade, dureza e concentração de oxigênio dissolvido, monitorados durante os testes de toxicidade crônica com cladóceros expostos a extratos brutos de florações de cianobactérias dos reservatórios Barra Bonita e Promissão, Médio rio Tietê, SP.

Material	Concentração (mg L ⁻¹)	pH		Condutividade (μS cm ⁻¹)		Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)		Oxigênio dissolvido (mg L ⁻¹)	
		Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
Barra Bonita 03/03/06	0 (controle)	7,5	7,8	168	167	44	46	6,7	6,3
	5	7,6	7,2	174	172	44	46	6,7	6,0
	10	7,7	7,2	171	174	46	48	6,8	5,9
	20	7,7	7,1	168	171	46	46	6,9	5,8
	40	7,7	7,0	169	175	46	46	6,9	5,5
	80	7,6	7,0	172	186	46	46	6,7	4,8
Barra Bonita 14/03/06	0 (controle)	7,4	8,2	174	178	42	44	6,3	6,8
	10	7,6	7,3	171	187	44	46	–	6,4
	20	7,7	7,2	174	181	44	46	6,4	6,2
	40	7,6	7,1	170	181	44	44	6,3	6,1
	80	7,6	7,1	172	183	44	42	6,5	5,9
	160	7,4	6,8	172	190	44	44	6,5	4,2
	320	7,3	6,7	184	175	44	48	–	2,0
Promissão 08/03/06	0 (controle)	7,3	7,8	171	178	42	48	–	–
	6,25	7,5	7,3	166	185	48	48	–	–
	12,5	7,5	7,2	171	183	48	48	–	–
	25	7,5	7,1	162	185	48	48	–	–
	50	7,5	7,1	165	182	48	48	–	–
	100	7,5	6,9	168	196	48	48	–	–
Promissão 17/03/06	0 (controle)	7,3	7,7	168	172	42	46	–	6,8
	12,5	7,6	7,2	160	173	48	46	–	7,0
	25	7,7	7,1	162	178	46	46	–	6,2
	50	7,7	7,1	167	181	46	46	–	6,0
	100	7,6	7,0	166	187	46	46	–	5,5
	200	7,6	6,9	169	205	46	48	–	–

– = não medido.

Em geral, *C. dubia* foi mais sensível do que *C. silvestrii* nos testes de toxicidade aguda. Segundo Ferrão-Filho *et al.* (2000), as diferenças na sensibilidade entre cladóceros parecem estar mais relacionadas à história de vida do que à origem geográfica.

Diversos estudos comprovam o efeito tóxico de microcistinas sobre os organismos zooplancônicos (DeMott *et al.*, 1991; Rohrlack *et al.*, 1999; Thostrup & Christoffersen, 1999; Chen *et al.*, 2005). Outros estudos ressaltam ainda a presença de outros compostos como responsáveis pela toxicidade (Nizan *et al.*, 1986; Jungmann, 1992; Jakobi *et al.*, 1996; Agrawal *et al.*, 2001; Agrawal *et al.*, 2005).

Okumura *et al.* (2007) atribuíram ao efeito combinado de diferentes tóxicos (cianotoxinas, metais e hidrocarbonetos aromáticos policíclicos – PAHs) a maior toxicidade dos extratos brutos de cianobactérias dos reservatórios de Barra Bonita e Ibitinga, Médio rio Tietê, SP, quando comparados a uma linhagem tóxica de *Microcystis aeruginosa* em testes com dafnídeos (*C. silvestrii*, *C. dubia* e *D. similis*), apesar da maior quantidade de microcistina presente nesta última. De fato, estudos recentes têm demonstrado a ocorrência de compostos tóxicos na água e no sedimento de reservatórios do rio Tietê (Fracácio *et al.*, 2003; Rodgher *et al.*, 2003; Silvério *et al.*, 2005).

Entretanto, outros compostos bioativos, que não as microcistinas, podem ser produzidos pelas cianobactérias. Best *et al.* (2002) observaram que lipopolissacarídeos (LPS) de cianobactérias podem atuar nos efeitos tóxicos de microcistinas em *Danio rerio*, reduzindo a atividade de enzimas de desintoxicação. Trabeau *et al.* (2004) atribuíram efeitos adversos em *Daphnia* a polissacarídeos da cápsula de *Microcystis*. No presente trabalho, os compostos acima citados não foram determinados, contudo, pode-se supor que a presença dos mesmos poderia aumentar a toxicidade dos extratos brutos aos dafinídeos, explicando a maior toxicidade de extratos com concentrações relativamente baixas de microcistinas.

Okumura *et al.* (2007), realizando testes de toxicidade crônica com extrato bruto de cianobactérias do reservatório de Barra Bonita, e Chen *et al.* (2005), analisando a toxicidade crônica de microcistina-LR purificada, observaram redução significativa da sobrevivência de dafinídeos nas maiores concentrações testadas, o que também foi observado no presente trabalho.

Chen *et al.* (2005) observaram mudanças ultra-estruturais em indivíduos de *Daphnia magna* expostos a elevadas concentrações de microcistina purificada, indicando que o canal alimentar poderia ser o órgão-alvo afetado. Assim, os organismos poderiam ser levados à deficiência nutricional. Ainda, diante do efeito tóxico das microcistinas, os organismos expostos a altas concentrações de extrato bruto de cianobactérias alocariam energia para desintoxicação, comprometendo também a reprodução.

Okumura *et al.* (2007) observaram efeito dose-resposta na reprodução de dafinídeos, o que não foi observado no presente estudo, no qual a reprodução dos dafinídeos foi estimulada nas menores concentrações dos extratos brutos, sendo, muitas vezes, superior à do controle. Chen *et al.* (2005) observaram que baixas concentrações de microcistina não tiveram efeitos deletérios sobre *Daphnia*, mas sim efeitos estimuladores, sendo a reprodução significativamente superior à do controle. No presente trabalho, os extratos podem ter fornecido uma quantidade adicional de compostos orgânicos, como carboidratos, proteínas e lipídios, aumentando, assim, o valor nutritivo do meio. Esse efeito seria especialmente importante nas menores concentrações testadas, enquanto nas maiores concentrações é provável que o efeito tóxico das microcistinas tenha predominado sobre o valor nutricional.

As cianobactérias são grandes produtoras de polissacarídeos extracelulares (Lombardi & Vieira, 1998), que podem ser consumidos por cladóceros (Nogueira *et al.*, 2005). Choueri *et al.* (2007) obtiveram melhores desempenhos de crescimento e reprodução para indivíduos de *Ceriodaphnia cornuta* alimentados com exopolissacarídeos de *Anabaena spiroides* do que para aqueles alimentados com séston do reservatório de Barra Bonita, mostrando que tais compostos constituem potencial fonte de alimento.

Além disso, pode ter havido proliferação de bactérias e de outros microrganismos nas suspensões dos extratos, uma vez que foi observado processo de decomposição (odor, redução do pH e da concentração de oxigênio dissolvido), fornecendo mais alimento aos dafinídeos. De acordo com Lampert (1987), algas, bactérias e protozoários, além de detritos, são os itens alimentares de dafinídeos.

Segundo Kilham *et al.* (1997), a qualidade de alimento é tão importante quanto sua quantidade sobre a fecundidade, o crescimento e a sobrevivência dos organismos. Portanto, nas menores concentrações dos extratos, disponibilidade e variedade de alimentos proporcionaram aos dafinídeos melhor desempenho reprodutivo do que no controle, enquanto nas maiores concentrações os efeitos deletérios das microcistinas e de outros compostos prevaleceram sobre a sobrevivência e, em consequência, sobre a reprodução dos organismos.

Os efeitos observados dos extratos brutos de cianobactérias sobre os dafinídeos revelaram que diversos fatores interferem na toxicidade. Outras variáveis modificam a toxicidade, fazendo com que amostras com menor concentração de toxinas possam ser mais tóxicas do que outras com maior concentração, ou vice-versa.

Os resultados mostram que, no caso de um colapso da floração de cianobactérias em ambiente natural, há efeitos adversos à comunidade zooplancônica, além de comprometimento dos usos múltiplos (pesca, recreação, irrigação, turismo, abastecimento), uma vez que há estudos que comprovam a bioacumulação de cianotoxinas por zooplâncton (Thostrup & Christoffersen, 1999; Ferrão-Filho *et al.*, 2002b; Chen *et al.*, 2005), por moluscos (Vasconcelos, 1995) e por peixes (Soares *et al.*, 2004), portanto, esses animais podem ser vetores potenciais na transferência de cianotoxinas para níveis tróficos superiores na cadeia alimentar. A redução da eutrofização e a conseqüente diminuição na ocorrência das florações de cianobactérias nos reservatórios tropicais é uma ação prioritária para a manutenção da qualidade da água visando à proteção à saúde humana e à preservação da diversidade da biota natural.

Agradecimentos — Renata Akemi Takenaka agradece ao CNPq – Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento pela bolsa concedida. Os autores agradecem à Dra. Emília Kiyomi Kuroda e ao Dr. Luiz Di Bernardo, do Departamento de Hidráulica e Saneamento, da Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, pelo auxílio nas análises de microcistinas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2004, *NBR 12713*: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade aguda – Método de ensaio com *Daphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 21p.
- ABNT – Associação Brasileira de Normas Técnicas, 2005, *NBR 13373*: Ecotoxicologia aquática – Toxicidade crônica – Método de ensaio com *Ceriodaphnia* spp (Cladocera, Crustacea). Rio de Janeiro, 15p.

- AGRAWAL, M. K., BAGCHI, D. & SUVENDRA, N. B., 2001, Acute inhibition of protease and suppression of growth in zooplankton *Moina macrocopa*, by *Microcystis* blooms collected in Central India. *Hydrobiologia*, 464: 37-44.
- AGRAWAL, M. K., ZITT, A., BAGCHI, D., WECKESSER, J., SUVENDRA, N. B. & VON ELERT, E., 2005, Characterization of proteases in guts of *Daphnia magna* and their inhibition by *Microcystis aeruginosa* PCC 7806. *Environ. Toxicol.*, 20: 314-322.
- AZEVEDO, S. M. F. O. & VASCONCELOS, V. M., 2006, Toxinas de cianobactérias: causas e conseqüências para a saúde pública, pp. 433-452. In: P. A. Zagatto & Eduardo Bertoletti (orgs.), *Ecotoxicologia aquática – princípios e aplicações*. RiMa, São Carlos, 478p.
- BARTRAM, J., CARMICHAEL, W. W., CHORUS, I., JONES, G. & SKULBERG, O. M., 1999, Introduction, pp. 1-13. In: I. Chorus & J. Bartram (eds.), *Toxic cyanobacteria in water – a guide to their public health consequences, monitoring and management*. E & FN Spon, London, 416p.
- BEST, J. H., PFLUGMACHER, S., WIEGAND, C., EDDY, F. B., METCALF, J. S. & CODD, G. A., 2002, Effects of enteric bacterial and cyanobacterial lipopolysaccharides, and of microcystin-LR on glutathione S-transferase activities in zebra fish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.*, 60: 223-231.
- BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. C., OLIVEIRA, M. C. & YUNES, J. S., 2001, Cianobactérias tóxicas: o uso de marcadores moleculares para avaliar a diversidade genética. *Biotechnology Ciência & Desenvolvimento*, 23: 44-47.
- CALIJURI, M. C., DOS-SANTOS, A. C. A. & JATI, S., 2002, Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, SP – Brazil). *J. Plankton Res.*, 4: 617-634.
- CETESB – Companhia de Tecnologia e Saneamento Ambiental, 1993, *Norma Técnica L5.025. Água – teste para avaliação de toxicidade aguda de cianobactérias (algas azuis)*. São Paulo.
- CHEN, W., SONG, L., OU, D. & GAN, N., 2005, Chronic toxicity and responses of several important enzymes in *Daphnia magna* on exposure to sublethal microcystin-LR. *Environ. Toxicol.*, 20: 323-330.
- CHOUERI, R. B., MELÃO, M. G. G., LOMBARDI, A. T. & VIEIRA, A. A. H., 2007, Effects of cyanobacterium exopolysaccharides on life-history of *Ceriodaphnia cornuta* SARS. *J. Plankton Res.*, 29(4):339-345.
- CODD, G. A., BELL, S. G. & BROOKS, W. P., 1989, Cyanobacterial toxins in waters. *Water Sci. Technol.*, 21: 1-13.
- DEMOTT, W. R., ZHANG, Q. T. X. & CARMICHAEL, W. W., 1991, Effects of toxic cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, 36: 1346-1357.
- FERRÃO-FILHO, A. S. & AZEVEDO, S. M. F. O., 2003, Effects of unicellular and colonial forms of *Microcystis aeruginosa* from laboratory culture and natural populations on tropical cladocerans. *Aquat. Ecol.*, 37: 23-35.
- FERRÃO-FILHO, A. S., AZEVEDO, S. M. F. O. & DEMOTT, W. R., 2000, Effects of toxic and non-toxic cyanobacteria on the life history of tropical and temperate cladocerans. *Freshwat. Biol.*, 45: 1-19.
- FERRÃO-FILHO, A. S., DOMINGOS, P. & AZEVEDO, S. M. F. O., 2002a, Influences of a *Microcystis aeruginosa* Kützing bloom on zooplankton populations in Jacarepaguá Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil). *Limnologia*, 32: 295-308.
- FERRÃO-FILHO, A. S., KOZLOWSKY-SUZUKI, B. & AZEVEDO, S. M. F. O., 2002b, Accumulation of microcystins by a tropical zooplankton community. *Aquat. Toxicol.*, 59: 201-208.
- FRACÁCIO, R., VERANI, N. F., ESPÍNDOLA, E. L. G., ROCHA, O., RIGOLIN-SÁ, O. & ANDRADE, C. A., 2003, Alterations on growth and gill morphology of *Danio rerio* (Pisces, Ciprinidae) exposed to the toxic sediments. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 46: 685-695.
- GULLEY, D. D., BOETTER, A. M. & BERGMAN, H. L., 1991, *TOXSTAT 3.3*. Computer Program.
- GUPTA, N., BHASKAR, A. S. B., DANGI, R. S., PRASAD, G. B. K. S. & LAKSHMANA RAO, P. V., 2001, Toxin production in batch cultures of freshwater cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 67: 339-346.
- HAMILTON, M. A., RUSSO, R. C. & THURFTON, R. B., 1977, Trimmed Spearman-Kärber methods for estimating median lethal concentration in toxicity bioassay. *Environ. Sci. Technol.*, 11: 714-719.
- JACOBY, J. M., COLLIER, D. C., WELCH, E. B., HARDY, F. J. & CRAYTON, M., 2000, Environmental factors associated with a toxic bloom of *Microcystis aeruginosa*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 57: 231-240.
- JAKOBI, C., RINEHART, K. L., NEUBER, R., MES, K. & WECKESSER, J., 1996, Cyanopeptolin SS, a disulphated depsipeptide from a water bloom: structural elucidation and biological activities. *Phycologia*, 35: 111-116.
- JUNGMANN, D. & BENNDORF, J., 1994, Toxicity to *Daphnia* of a compound extracted from laboratory and natural *Microcystis* spp., and the role of microcystins. *Freshwat. Biol.*, 32: 13-20.
- JUNGMANN, D., 1992, Toxic compounds isolated from *Microcystis* PCC7806 that are more active against *Daphnia* than two microcystins. *Limnol. Oceanogr.*, 37(8): 1777-1783.
- KILHAM, S. S., KEEGER, D. A., GOULDE, C. E. & LYNN, S. G., 1997, Effects of algal quality on fecundity and population growth rates of *Daphnia*. *Freshwat. Biol.*, 38: 639-647.
- LAMPERT, W., 1987, Feeding and nutrition in *Daphnia*. In: R. H. Petters & R. De Bernardi (eds.), *Daphnia. Mem. Ist. Ital. Idrobiol.*, 45: 143-195.
- LOMBARDI, A. T. & VIEIRA, A. A. H., 1998, Copper and lead complexation by high molecular weight compounds produced by *Synura* sp. (Chrysophyceae). *Phycologia*, 37: 34-39.
- LYCK, S., GJØLME, N. & UTKILEN, H., 1996, Iron starvation increases toxicity of *Microcystis aeruginosa* CYA 228/1 (Chroococcales, Cyanophyceae). *Phycologia*, 35: 120-124.
- MATSUMURA-TUNDISI, T., LUZIA, A. P. & TUNDISI, J. G., 2006, Estado trófico dos reservatórios em cascata do Médio e Baixo Tietê (SP) e manejo para o controle da eutrofização, pp. 141-160. In: J. G. Tundisi, T. Matsumura-Tundisi & C. S. Galli (eds.), *Eutrofização na América do Sul: causas, conseqüências e tecnologias para gerenciamento e controle*. EUTROSUL – Rede Sul-Americana de eutrofização (IIE, IIEGA), 532p.
- MINILLO, A., FERREIRA, A. H. F., YOGUI, G. T. & YUNES, J. S., 2000, Concentrações de microcistinas e toxicidade nas formas coloniais de *Microcystis aeruginosa* de florações no estuário da Lagoa dos Patos, RS, pp. 521-536. In: E. L. G. Espíndola, C. M. R. Botta-Paschoal, O. Rocha, M. B. C. Bohrer, & A. L. Oliveira-Neto (eds.), *Ecotoxicologia – perspectivas para o século XXI*. RiMa, São Carlos, 575p.
- NIZAN, S., DIMENTMAN, C. & SHILO, M., 1986, Acute toxic effects of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* on *Daphnia magna*. *Limnol. Oceanogr.*, 31: 497-502.
- NOGUEIRA, P. F. M., MELÃO, M. G. G., LOMBARDI, A. T. & VIEIRA, A. A. H., 2005, The effects of *Anabaena spiroides* (Cyanophyceae) exopolysaccharide on copper toxicity to *Simocephalus serrulatus* (Cladocera, Daphniidae). *Freshwat. Biol.*, 50: 1560-1567.
- OKUMURA, D. T., SOTERO-SANTOS, R. B., TAKENAKA, R. A. & ROCHA, O., 2007, Evaluation of cyanobacteria toxicity in tropical reservoirs using crude extracts bioassay with cladocerans. *Ecotoxicology*, 16: 263-270.
- ROCHA, O., MATSUMURA-TUNDISI, T. & SAMPAIO, E. V., 1997, Phytoplankton and zooplankton community structure and production as related to trophic state in some Brazilian lakes and reservoirs. *Verh. Int. Verein. Limnol.*, Stuttgart, 26: 599-604.

- ROCHA, O., SOTERO-SANTOS, R. B., MINILLO, A., ESPÍNDOLA, E. L. G. & YUNES, J. S., 2006, Cianotoxicidade em águas doces tropicais: o impacto da eutrofização, pp. 337-352. In: J. G. Tundisi, T. Matsumura-Tundisi & C. S. Galli (eds.), *Eutrofização na América do Sul: causas, conseqüências e tecnologias para gerenciamento e controle*, EUTROSUL – Rede Sul-Americana de eutrofização (IIE, IIEGA), 532p.
- RODGHER, S., ESPÍNDOLA, E. L. G., ROCHA, O., FRACÁCIO, R., PEREIRA, R. H. G. & RODRIGUES, M. H. S., 2003, Ecotoxicological analysis of the water and sediment from Middle and Low Tietê River cascade reservoirs (State of São Paulo). *Acta Limnol. Bras.*, 15: 81-93.
- ROHRLACK, T., DITTMANN, E., HENNING, M., BÖRNER, T. & KOHL, J. G., 1999, Role of microcystins in poisoning and food ingestion inhibition of *Daphnia galeata* caused by the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 737-739.
- SANT'ANNA, C. L. & AZEVEDO, M. T. P., 2000, Contribution to the knowledge of potentially toxic cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia*, 71: 369-385.
- SILVÉRIO, P. F., FONSECA, A. L., BOTTA-PASCHOAL, C. M. R. & MOZETO, A. A., 2005, Release, bioavailability and toxicity of metals in lacustrine sediments: A case study of reservoirs and lakes in Southeast Brazil. *Aquatic Ecosystem Health & Management*, 8: 313-122.
- SIVONEN, K. 1996. Cyanobacterial toxins and toxin production. *Phycologia*, 35: 12-24.
- SIVONEN, K. & JONES, G., 1999, Cyanobacterial toxins, pp. 41-111. In: I. Chorus & J. Bartram (eds.), *Toxic cyanobacteria in water – a guide to their public health consequences*. E & FN Spon, London, 416p.
- SOARES, R. M., MAGALHÃES, V. F. & AZEVEDO, S. M. F. O., 2004, Accumulation and depuration of microcystins (cyanobacteria hepatotoxins) in *Tilapia rendalli* (Cichlidae) under laboratory conditions. *Aquat. Toxicol.*, 70: 1-10.
- SONG, L., SANO, T., LI, R., WATANABE, M. M., LIU, Y. & KAYA, K., 1998, Microcystin production of *Microcystis viridis* (cyanobacteria) under different cultures conditions. *Phycol. Res.*, 46: 19-23.
- SOTERO-SANTOS, R. B., SOUZA E SILVA, C. R., VERANI, N. F., NONAKA, K. O. & ROCHA, O., 2006, Toxicity of a cyanobacteria bloom in Barra Bonita Reservoir (Middle Tietê River, São Paulo, Brazil). *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 64: 163-170.
- THOSTRUP, L. & CHRISTOFFERSEN, K., 1999, Accumulation of microcystin in *Daphnia magna* feeding on toxic *Microcystis*. *Arch. Hydrobiol.*, 145: 447-467.
- TRABEAU, M., BRUHN-KEUP, R., MCDERMOTT, C., KEOMANY, M., MILLSAPS, A., EMERY, A. & STASIO JR, B., 2004, Midsummer decline of a *Daphnia* population attributed in part to cyanobacterial capsule production. *J. Plankton Res.*, 26: 942-961.
- TUNDISI, T. M., TUNDISI, J. G. & ROCHA, O., 2002, Zooplankton diversity in eutrophic systems and its relation to the occurrence of cyanophycean blooms. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, Stuttgart, 26: 671-674.
- VASCONCELOS, V. M. & ARAÚJO, F. O., 1994, *Cianobactérias: um risco para o ambiente e para a saúde humana*. Ministério da Saúde, Portugal.
- VASCONCELOS, V. M., 1995, Uptake and depuration of the heptapeptide toxin microcystin-LR in *Mytilus galloprovincialis*. *Aquat. Toxicol.*, 32: 227-237.
- YOO, R. S., CARMICHAEL, W. W., HOEHN, R. C. & HRUDEY, S. E., 1995, *Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide*. AWWA, Research Foundation and American Water Works Association, 229p.