



UF *m* G

RELATÓRIO DE CONSULTORIA SOBRE

**CIANOBACTÉRIAS E SUA OCORRÊNCIA  
NO RIO DAS VELHAS**

ATO CONVOCATÓRIO 002/2014  
CONTRATO DE GESTÃO Nº 02/IGAM/2012

Contratada:

Profa. Dra. Alessandra Giani

ICB/UFMG

Colaborador:

Dr. Daniel Albuquerque Pereira

Setembro - 2014

## SUMÁRIO

1. Introdução e histórico .....	3
2. As cianobactérias: conceituação e características .....	5
2.1 Florações .....	5
2.2 Cianotoxinas .....	8
3. As cianobactérias em corpos hídricos ao redor do mundo .....	15
4. A situação atual das cianobactérias no Rio das Velhas .....	19
4.1 Metodologia de análise adotada .....	19
4.2 Apresentação dos resultados .....	21
5. Conclusões: riscos presentes e futuros .....	33
6. Referências bibliográficas .....	

## 1. INTRODUÇÃO E HISTÓRICO

Esta introdução se baseia inteiramente no texto do Ato Convocatório (002/2014), que deu origem a contratação desta consultoria, para estudo das florações de cianobactérias no Rio das Velhas, sendo uma versão resumida dele. Este texto foi copiado aqui, com o objetivo de se dar um histórico dos motivos que levaram à realização deste trabalho.

“O Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas (CBH Rio das Velhas) foi o primeiro comitê a ser criado no Estado pelo Decreto Estadual no 39.692, de 29 de junho de 1998 e sua atuação desse comitê tem sido referência no desenvolvimento de pesquisas, no aprimoramento e na implantação da gestão das águas em Minas Gerais e em outros estados.

As linhas de ação do CBH Rio das Velhas, tem se dado por intermédio dos projetos hidroambientais e pelo apoio aos municípios na solução de problemas de saneamento via a contratação de planos municipais e de projetos de saneamento. Outro significativo resultado da atuação do CBH Rio das Velhas relacionado à gestão das águas está na adoção das Metas 2010 e 2014 como projetos estruturadores do Governo de Minas. As duas metas, propostas pelo Projeto Manuelzão, foram incorporadas ao Plano Diretor da bacia do Rio das Velhas e são atualmente o eixo condutor de um grande esforço da sociedade mineira na recuperação do Rio das Velhas e de seus principais afluentes.

A Associação Executiva de Apoio à Gestão de Bacias Hidrográficas Peixe Vivo (AGB Peixe Vivo), é uma associação civil, pessoa jurídica de direito privado, composta por empresas usuárias de recursos hídricos e organizações da sociedade civil, tendo como objetivo a execução da Política de Recursos Hídricos deliberada pelos Comitês de Bacia Hidrográfica.

A AGB Peixe Vivo foi criada em 15 de setembro de 2006 e equiparada no ano de 2007 à Agência de Bacia Hidrográfica, por solicitação do Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio das Velhas. Composta por Assembleia Geral, Conselho de Administração, Conselho Fiscal e Diretoria Executiva. Além do CBH Rio das Velhas, a AGB Peixe Vivo participou e venceu o processo de seleção para escolha da Entidade Delegatária das

funções de Agência de Águas do Comitê da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco (CBHSF).

O rio das Velhas é o afluente que recebe a maior descarga urbana e industrial de toda a bacia do Rio São Francisco. Esta região, que abrange o quadrilátero ferrífero, recebe os resíduos da região com maior densidade demográfica, que também concentra o maior parque industrial. Com tal densidade na região do Alto Rio das Velhas, as consequências são percebidas no rio. Uma dessas consequências é a contaminação por cianobactérias conhecidas popularmente como algas azuis, que em excesso indicam baixa qualidade das águas.

As principais fontes dessa contaminação e enriquecimento da proliferação das cianobactérias têm sido identificadas como sendo as descargas de esgotos domésticos e industriais dos centros urbanos e das regiões agricultáveis, o que conseqüentemente causa impactos antrópicos nos ecossistemas aquáticos, é o que informa um levantamento publicado recentemente pela Fundação Nacional de Saúde (FNS) e disponibilizado pelo Centro Nacional de Epidemiologia (Cenepi) por meio da coordenação geral de Vigilância Ambiental em Saúde (CGVAM).

Acelerados processos de eutrofização está causando um enriquecimento artificial desses ecossistemas pelo aumento das concentrações de nutrientes na água, principalmente compostos nitrogenados e fosfatados, que resulta em aumento dos processos naturais da produção biológica em rios, lagos e reservatórios.”

Considerando todos os aspectos apresentados, o CBH Rio das Velhas, demandou a contratação de estudo sobre cianobactérias e sua ocorrência no rio das Velhas.

O objetivo desta contratação foi, então, de tentar compreender e explicar o processo de aparecimento de florações de cianobactérias, apontando o conjunto de fatores favoráveis para seu rápido crescimento, fato que torna as águas de mananciais tóxicas para consumo humano e causa impactos no bioma aquático. Este trabalho se propõe elaborar um prognóstico da situação atual, apresentando os possíveis riscos relacionados à proliferação das cianobactérias no rio das Velhas e sugerindo riscos futuros.

## 2- AS CIANOBACTÉRIAS: CONCEITUAÇÃO E CARACTERÍSTICAS

Cianobactérias são organismos procariotos, isto é, não apresentam um núcleo organizado e fazem parte da divisão das bactérias. Possuem a habilidade de realizar fotossíntese, tendo como principais pigmentos a clorofila-a e a ficocianina, pigmento de cor azul pertencente a classe das ficobilinas (Whitton & Potts, 2000). São também conhecidas como algas azuis devido à alta concentração de ficocianina encontrada em várias das espécies de cianobactérias, dando a estes organismos uma coloração azulada. Morfologicamente podem ser unicelulares ou filamentosas, e podem ocorrer em forma solitária ou em colônias. O tamanho das células vegetativas pode variar de 0.4 µm até 40 µm e seu volume em um fator de até  $3 \times 10^5$ . Taxonomicamente, o grupo das cianobactérias está dividido em cinco ordens (tabela 1). A figura 1 representa exemplos dos principais grupos de cianobactérias listados na tabela 1. Uma característica de grande importância das cianobactérias é a capacidade de fixação do nitrogênio. Várias espécies de cianobactérias conseguem utilizar o nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ) em situações onde as fontes de nitrogênio inorgânico estão em falta (Oliver & Ganf 2000). Essa habilidade é exclusiva do grupo das cianobactérias, o que dá a estes organismos uma grande vantagem competitiva em relação aos outros grupos de algas.

### 2.1 – Florações

O termo floração (em inglês “bloom”), de forma geral, é usado na descrição de uma biomassa fitoplanctônica significativamente maior que a média do ambiente estudado (Oliver & Ganf, 2000), e geralmente uma floração é formada apenas por uma ou duas espécies dominantes. A formação de uma floração é resultado da junção de condições ambientais favoráveis e do requerimento nutricional do organismo, sendo que, potencialmente, a maioria dos organismos que compõem o fitoplâncton podem formar florações.

Tabela 1 - Principais características das ordens das cianobactérias

---

 Não Filamentosas

## Ordem Chroococcales

Unicelulares ou agregados não filamentosos de células mantidos por uma matriz gelatinosa  
 Divisão binária em um, dois ou três planos, simétricas ou assimétricas ou por brotamento  
 Raramente formam acinetos

## Ordem Pleurocapsales

Unicelulares ou agregados não filamentosos de células mantidos por uma matriz gelatinosa  
 Reprodução por fissão interna múltipla, produção de células filhas menores que a célula mãe  
 Raramente formam acinetos

## Filamentosas

## Ordem Oscillatoriales

Divisão binária em um plano dando origem a um tricoma  
 Não formam heterocitos  
 Não formam acinetos

## Ordem Nostocales

Divisão binária em um plano dando origem a um tricoma  
 Formam heterocitos  
 Algumas espécies podem formar acinetos

## Ordem Stigonematales

Divisão binária em mais de um plano dando origem tricomas multiseriados  
 Formam heterocitos  
 Algumas espécies podem formar acinetos

---

 Baseado em Whitton & Potts, 2000 (com modificações).

No caso das cianobactérias, os principais formadores de florações são as espécies com capacidade para gerar vesículas de gás. Estas estão distribuídas vários gêneros e variam em tamanho e forma desde pequenos filamentos até grandes colônias globulares. Durante as florações os agregados celulares podem chegar a formar massas de células grandes o suficiente para serem vistas à olho nu.

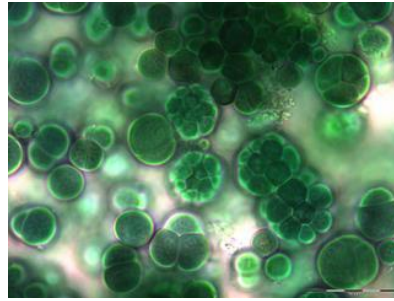
Cianobactérias são organismos comuns em diversos ambientes aquáticos, incluindo lagos, rios e estuários temperados e tropicais. No entanto, características como densidade celular, composição de espécies, distribuição vertical e longevidade diferem de acordo com o local. De forma geral, essas diferenças podem ser explicadas por condições climáticas e meteorológicas, as quais, influenciam o grau de estratificação e mistura

## CHROOCOCCALES



*Microcystis wesenbergii* (<http://cfb.unh.edu/>)

## PLEUROCAPSALES



*Pleurocapsa* sp (<http://www.cyano-biotech.com/>)

## OSCILLATORIALES



*Lyngbya* sp (<http://www.cyano-biotech.com/>)

## NOSTOCALES



*Anabaena* sp (<http://cfb.unh.edu/>)

## STIGONEMATALES



*Fritschiella* sp (<http://cfb.unh.edu/>)

Figura 1. Representantes das principais ordens de cianobactérias, listadas na tabela 1.

como também a disponibilidade de luz e nutrientes do ambiente. Em ambientes temperados a grande variação climática leva à progressão do fitoplâncton de diatomáceas no começo da primavera, seguido por dominância de algas verdes no início do período de estratificação até culminar na dominância de cianobactérias durante o verão. Já em ambientes tropicais as florações de cianobactérias podem ocorrer durante todo o ano, uma vez que entrada de luz solar e temperatura do ar são relativamente constantes. Apesar de serem ambientes com maior constância eventos hidrográficos e meteorológicos ainda podem alterar a composição do fitoplâncton nos ambientes tropicais.

Várias hipóteses foram levantadas na tentativa de explicar o motivo pelo qual as cianobactérias dominam e formam florações em grande parte dos ambientes aquáticos. Inicialmente acreditava-se que as vantagens das cianobactérias sobre os outros grupos de algas estaria relacionado com menor tamanho celular, maiores taxas de crescimento e preferência por temperaturas mais altas. No entanto, diversos estudos mostraram que estas características nas cianobactérias são semelhantes as dos outros grupos de algas, não caracterizando uma vantagem adaptativa (Foy 1980; Reynolds 1989; Robarts & Zohary, 1987). No caso da capacidade de captação de luz, existem características que permitem que as cianobactérias tenham alguma vantagem em determinadas situações. Essa vantagem tem origem nos pigmentos utilizados na captação de luz, as cianobactérias possuem pigmentos exclusivos conhecidos como ficobilinas que permitem que a absorção de luz ocorra em uma maior variedade de comprimentos de onda do que nos outros grupos de algas. Isto permite que as cianobactérias tenham uma vantagem competitiva em situações onde a qualidade da luz é variável com o tempo e onde o espectro de luz que penetra na água é baixo (Oliver & Ganf, 2000).

Apesar de possuírem vantagens adaptativas como melhor aproveitamento do espectro luminoso e capacidade de flutuação, o principal fator relacionado com as florações cianobacterianas é o aumento no aporte de nutrientes de fontes antropogênicas, com urbana, agricultura e industrial (Paerl & Scott, 2010; Paerl et al., 2011). Tradicionalmente o fósforo sempre foi considerado o principal nutriente limitante da produtividade primária e da biomassa de algas em ambientes de água doce (Schindler, 1975). O enriquecimento do ambiente com fósforo pode favorecer o desenvolvimento de



florações de cianobactérias, especialmente dos gêneros capazes de converter o nitrogênio atmosférico em amônia (Fogg 1969; Gallon 1992; Downing et al., 2001). Os ambientes aquáticos enriquecidos podem ter o aparecimento de florações facilitado por alguns fatores como, alto tempo de residência, temperaturas acima de 20°C, estratificação vertical persistente e águas superficiais calmas (Reynolds 1987; Paerl 1988; Robson & Hamilton 2003). Além do fósforo, o enriquecimento dos ambientes com nitrogênio também pode facilitar o aparecimento de florações, especialmente de gêneros sem capacidade de fixar o nitrogênio atmosférico. Várias pesquisas sobre a produtividade de algas em resposta ao enriquecimento de nutrientes em diversos ambientes de diferentes regiões geográficas mostram que um forte estímulo ao crescimento da biomassa de algas ocorre tanto em resposta à adições de fósforo quanto de nitrogênio (Elser et al., 2007; Paerl et al., 2008; Lewis et al., 2011; Spivak et al., 2010; Paerl et al., 2011). Estes resultados mostram que uma redução no aporte tanto de fósforo quanto de nitrogênio é necessária para frear a expansão da eutrofização e das florações de cianobactérias.

Smith (1983) levantou uma hipótese que razões N: P baixas, menores de 29, favoreceriam o crescimento de cianobactérias. Nos lagos por ele estudados esta hipótese foi confirmada. Porém, inúmeros autores depois deles demonstraram que isso não sempre é verdadeiro, pois depende dos níveis de nitrogênio e fósforo no ambiente, assim como das espécies de cianobactérias presentes. Por exemplo, em lagos com teores de nitrogênio e fósforo muito elevados, nenhum destes elementos será limitante, portanto a razão perde seu valor, sendo que o crescimento de cianobactérias pode ser neste caso limitado, por exemplo, por carbono ou luz. Outro ponto importante é que o estudo de Smith se baseava em ambientes com cianobactéria fixadoras de nitrogênio (Nostocales), sendo que as não fixadoras (como *Microcystis*) não seguem este padrão, não sendo limitadas por nitrogênio, mas por fósforo. Por causa destas e outras razões, hoje em dia se prefere usar os valores absolutos de nitrogênio e fósforo como parâmetros para prever a ocorrência de florações (Downing et al., 2001; Giani et al.; 2005), que mostram correlações mais significantes.

## 2.2 - Cianotoxinas

As cianobactérias também são responsáveis pela produção de diferentes tipos de toxinas. As cianotoxinas causam problemas agudos e possivelmente crônicos em humanos e envenenamentos fatais em outros mamíferos, peixes e pássaros (Carmichael, 1992; Hunter, 1995). Nas últimas décadas, a presença e a frequência de florações de cianobactérias em corpos d'água aumentou drasticamente o interesse de diferentes organizações relacionadas ao manejo de recursos hídricos e proteção do meio ambiente (Codd & Beattie, 1991). Casos de envenenamento por cianotoxinas com vítimas fatais em humanos são raros. Até o momento existe apenas um caso confirmado com ocorrência de mortes, onde 60 pacientes de duas clínicas de hemodiálise localizadas em Caruaru morreram após os equipamentos de hemodiálise terem sido lavados com água de açude contaminada com cianobactérias (Pouria et al., 1998). Análises posteriores revelaram a presença da hepatotoxina microcistina-LR na fonte de água e no fluido de diálise como também de concentrações letais da toxina no fígado dos pacientes (Pouria et al., 1998). Casos de envenenamento envolvendo outros mamíferos geralmente estão relacionados a morte de animais domésticos e de pecuária, como cachorros, gado e ovelhas e foram registrados em diversas partes do mundo, como Austrália, Europa e Américas do Norte e Central (Chengappa et al., 1989; Carmicheal 1992; Lukac & Aegeter 1993).

Diversos taxons podem produzir toxinas, sendo que os principais gêneros produtores são: *Microcystis*, *Nodularia*, *Anabaena*, *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis*, *Aphanizomenon* e *Oscillatoria* (Welker & von Döhren, 2006) É importante ressaltar que uma mesma espécie de cianobactéria pode ter cepas que produzem ou não toxinas (Welker et al., 2004) e uma floração pode ser composta por uma mistura de cepas tóxicas e não tóxicas (Briand et al., 2008; Okello et al., 2010; Sabart et al., 2010; Pimentel & Giani, 2013). Além disso, fatores ambientais como luz, pH, temperatura, concentração de nitrogênio, fósforo e ferro podem influenciar a produção de toxinas (Sivonen, 1990; Utkilen & Gjolme, 1995; Wiedner et al., 2003; Repka et al., 2004; Tonk et al., 2005; Tonk et al., 2009; Pereira et al., 2012). Apesar de vários estudos terem sido realizados sobre os efeitos de fatores ambientais na produção de toxinas, os resultados ainda são contraditórios. Dentre os tipos mais comuns de cianotoxinas (tabela 2) estão incluídas as

neurotoxinas, hepatotoxinas e citotoxinas. As duas primeiras possuem ação aguda e letal enquanto a última possui ação menos letal e mais seletiva

As principais neurotoxinas incluem a anatoxina-a, anatoxina-(s), saxitoxina e neosaxitoxina. A anatoxina-a é um alcalóide com estrutura análoga à da cocaína e do neurotransmissor acetilcolina. A toxina atua bloqueando os neuroreceptores da acetilcolina, uma vez que não é degradada como ocorre com o neurotransmissor e causando super-estimulação muscular, levando à fadiga e paralisia. Os sintomas do envenenamento incluem convulsões, fasciculações musculares e perda de coordenação motora e a morte geralmente ocorre devido a insuficiência respiratória, o que pode ocorrer em alguns minutos até algumas horas, dependendo da espécie e da dose de toxina (Carmichael, 1992; Hunter, 1995). O LD<sub>50</sub> intraperitoneal para camundongos é de 200µg kg<sup>-1</sup> com tempo de sobrevivência de 4 a 7 minutos (Carmichael et al., 1977; Carmichael & Gorhan 1978). As formas de detecção incluem bioensaio em camundongos e métodos analíticos como cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Astrachan & Archer 1981) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (Smith & Lewis, 1987).

Tabela 2 - Principais neurotoxinas e hepatotoxinas produzidas por cianobactérias

Toxina	Nº de variantes	Generos produtores	
<b><i>Neurotoxinas</i></b>			
Anatoxina-a	2	<i>Microcystis</i> <i>Phormidium</i> <i>Anabaena</i>	<i>Oscillatoria</i> <i>Aphanizomenon</i> <i>Cylindrospermum</i>
Anatoxina-a (s)	1	<i>Anabaena</i>	
Saxitoxinas	20	<i>Lyngbya</i> <i>Anabaena</i>	<i>Cylindrospermopsis</i> <i>Aphanizomenon</i>
<b><i>Hepatotoxinas</i></b>			
Microcistina	>65	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i>	<i>Oscillatoria</i> <i>Hapalosiphon</i> <i>Radiocystis</i>
Nodularina	6	<i>Nodularia</i>	
Cilindrospermopsina	2	<i>Umezakia</i> <i>Aphanizomenon</i>	<i>Cylindrospermopsis</i>

Baseado em Codd, 2000

A anatoxina-a(s) é um organofosforado que possui sintomas de envenenamento semelhantes ao da anatoxina-a e também levando a morte por insuficiência respiratória, com a inclusão de ataxia, diarreia, hipersalivação e tremores. No entanto, estruturalmente e fisiologicamente é diferente da anatoxina-a, funcionando com um inibidor da acetilcolinesterase de forma semelhante a pesticidas organofosforados (Carmichael, 1992, 1994). O LD<sub>50</sub> intraperitoneal para camundongos é de 20µg kg<sup>-1</sup>, sendo 10 vezes mais letal que a anatoxina-a.

As saxitoxinas e neosaxitoxinas são alcaloides que atuam na transmissão de impulsos nervosos através do bloqueio de canais de sódio nos neurônios. Além das cianobactérias, estas toxinas também são encontradas em dinoflagelados marinhos responsáveis pelo fenômeno da maré vermelha e associados à morte de vários animais marinhos. Os sintomas de envenenamento são respiração irregular, perda de coordenação motora, espasmos e morte por insuficiência respiratória (Keevil, 1991; Carmichael, 1992, 1994; Hunter, 1995). O LD<sub>50</sub> intraperitoneal para camundongos é de 5mg kg<sup>-1</sup>.

As principais hepatotoxinas incluem as microcistinas, nodularinas e as cilindropermopsinas. Estas toxinas são formadas por uma pequena quantidade de aminoácidos, ou seja, são peptídeos. Os sintomas de envenenamento incluem anorexia, diarreia, vômito, fraqueza e branqueamento da membrana mucosa (Carmichael, 1992; Hunter, 1995). A morte ocorre por hemorragia intra-hepática, com necrose e desintegração da estrutura do fígado. As microcistinas são o grupo de toxinas mais estudado e também com maior diversidade de estruturas, tendo mais de 70 variantes conhecidas (Welker & von Döhren, 2006). A estrutura geral da microcistina é: ciclo-(-D-Ala-X-D-MeAsp-Z-Adda-D-Glu-Mdha-), onde X e Z são os aminoácidos variáveis responsáveis pela grande variedade de estruturas encontradas (Welker & von Döhren, 2006). Outra importante característica da microcistina é a presença do aminoácido Adda, esta molécula é encontrada apenas nas microcistinas e nodularinas, sendo o principal responsável pela toxicidade destes compostos. O modo de ação das hepatotoxinas ocorre através da inibição das enzimas fosfatases tipo 1 e 2A (MacKintosh et al., 1990). Estas enzimas são vitais para diversos processos celulares como, por exemplo, crescimento celular e supressão de tumores, o que leva à hipótese de que a presença destas toxinas na água potável possa ser um fator promotor de câncer (Runnegar et al., 1995).

As citotoxinas incluem diversos tipos de toxinas que, diferentemente das neurotoxinas e hepatotoxinas, apresentam um baixo fator de letalidade. O principal grupo de citotoxinas são os lipopolisacarídeos produzidos pelas cianobactérias (LPS), que são parte da parede celular de bactérias gram-negativas, das quais as cianobactérias fazem parte. Estes compostos são responsáveis por causar irritação na pele e nos olhos, náuseas e vômito em pessoas que entraram em contato com água contaminada por cianobactérias.

Não é possível determinar se uma floração ou se determinada cepa de cianobactéria é tóxica apenas por identificação visual. Para resolver este problema existem diversas técnicas de laboratório que podem ser aplicadas na detecção e identificação das cianotoxinas. O bioensaio com camundongos é o método padrão para estabelecer a LD<sub>50</sub>, sintomas e efeitos das cianotoxinas. Este método permite que a toxicidade de uma biomassa de algas seja medida. Geralmente camundongos adultos machos e fêmeas recebem o material a ser detectado através de injeção intraperitoneal. Os animais são observados a cada 15 minutos para análise dos sintomas. O método tem como desvantagem não permitir que toxinas com sintomas parecidos sejam diferenciadas e também não detectar compostos em baixa concentração (Sivonen & Jones, 1999). Além disso, existem questões éticas sobre o uso de animais em testes de laboratório, o que faz com métodos alternativos ao bioensaio com camundongos, quando possível, sejam preferidos.

Outra forma de detecção de cianotoxinas é através da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Através deste método, o material a ser analisado é extraído e purificado antes da análise principal, que consiste na separação das moléculas por sua polaridade e detecção e quantificação por detectores de absorção de luz ultravioleta e fluorescência. A técnica pode ser usada pra diversas toxinas, incluindo microcistinas, cilindrospermopsinas, anatoxinas, neosaxitoxinas e saxitoxinas. A vantagem desta técnica é capacidade de realizar separar e identificar os diferentes tipos de uma mesma toxina, como no caso da grande variedade de microcistinas. No entanto é uma técnica cara e que requer técnicos com treinamento especializado, geralmente está disponível apenas em grandes centros urbanos, não sendo viável em pequenos laboratórios de análise de água. Além disso, para uma correta quantificação é necessário que existam padrões disponíveis para cada uma das toxinas a serem analisadas e apenas as toxinas mais comuns possuem padrões disponíveis no mercado.

Técnicas imunológicas também estão disponíveis para algumas cianotoxinas, como microcistinas, cilindrospermopsina e saxitoxinas. Estas técnicas, conhecidas como ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) consistem na detecção e quantificação das toxinas através de reações com anticorpos. A desvantagem desta técnica é a

incapacidade de identificar as diferentes variantes de uma toxina, por outro lado possui um limite de detecção baixo, o que permite detectar baixas concentrações dos compostos desejados. Além disso, é uma técnica rápida, com custo acessível e que pode ser realizada sem treinamento especializado, sendo indicada para pequenos laboratórios e situações onde não há necessidade de uma análise mais elaborada.

No caso das microcistinas, ainda existem ensaios enzimáticos baseados na inibição da proteína fosfatase 1 e 2A. Esta técnica é muito eficiente, porém tem alto custo e é muito sensível a interferências externas, pois as enzimas usadas nos ensaios podem ser facilmente degradadas.

No que diz respeito a legislação brasileira, o tópico das cianotoxinas é abordado de forma satisfatória. A Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. A portaria em vigor exige que os 24 responsáveis pelo controle da qualidade da água de sistemas de abastecimento supridos por mananciais superficiais monitorem as cianobactérias no ponto de captação de água mensalmente, quando o número de células de cianobactérias não exceder 10.000 células/mL e semanalmente, quando o número de células de cianobactérias exceder este valor. Também exige que, sempre que o número de cianobactérias no ponto de captação exceder 20.000 células/mL, seja realizada a análise semanal das cianotoxinas. Nesse caso, é exigida a análise de microcistinas e saxitoxinas, devido ao seu efeito agudo e potencial carcinogênico (tabela 3). Com relação à concentração de cianotoxinas em água a Organização Mundial da Saúde - OMS adotou como valor máximo permitido 1,0 µg/L de microcistina em água potável, e este valor também foi incluído na Portaria MS 2914/2011, como valor máximo aceitável em água para abastecimento público no Brasil. O valor máximo aceitável para saxitoxina estabelecido pela Portaria do Ministério da Saúde também segue o valor da OMS: 3,0 µg/L. Em relação à cilindrospermopsina, a portaria do Ministério da Saúde recomenda essa análise sempre que for detectada a presença de gêneros potencialmente produtores, observando o valor máximo aceitável de 1,0µg/L. Também existe recomendação para a análise da presença de anatoxina-a(s)

quando for detectada a presença de gêneros potencialmente produtores no monitoramento de cianobactérias, porém sem estabelecimento de um valor máximo aceitável.

Tabela 3 - Limites admissíveis para cianotoxinas

Cianotoxina	Limites Admissíveis	Condição
Microcistina	1,0 µg/L	Análise obrigatória em água para consumo humano
Saxitoxina	3,0 µg/L	
Cilindrospermopsina	1,0 µg/L	Recomendação de análise em água para o consumo humano quando forem encontradas cianobactérias
Anatoxina-a(s)	Sem valor estabelecido	potencialmente produtoras

Portaria 2914/11

Quanto à manutenção da integridade dos ecossistemas aquáticos, a Resolução CONAMA 357/2005, do Ministério do Meio Ambiente dispõe sobre a classificação das águas doces, salobras e salinas do Território Nacional, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, com o objetivo de preservar o equilíbrio dos ambientes e das comunidades aquáticas (tabela 4). Mesmo sendo exigidas as análises do número de células de cianobactérias e clorofila *a* nesta resolução, não há indicação da implementação de pontos de monitoramento sistemático, nem das frequências a serem adotadas para avaliar a clorofila *a*, células de cianobactérias e suas toxinas.



Tabela 4 - Definições dos corpos d'água e padrões para água doce

Classes (uso destinado)
<p>1- Abastecimento após tratamento simplificado, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças consumidas cruas</p> <p>Cianobactérias - 20.000/2 célls.ml-1/mm<sup>3</sup>.L-1</p> <p>Clorofila <i>a</i> - 10 µg/L</p> <p>Fósforo total - 0.020 mg/L (lêntico), 0.025 mg/L (intermediário), 0.1 mg/L (lótico)</p>
<p>2- Abastecimento após tratamento convencional, recreação de contato primário, Irrigação de frutíferas e hortaliças, aquicultura e pesca</p> <p>Cianobactérias - 50.000/5 célls.ml-1/mm<sup>3</sup>.L-1</p> <p>Clorofila <i>a</i> - 30 µg/L</p> <p>Fósforo total - 0.030 mg/L (lêntico), 0.050 mg/L (intermediário), 0.1 mg/L (lótico)</p>
<p>3- Abastecimento após tratamento convencional ou avançado, recreação de contato secundário, dessedentação de animais</p> <p>Cianobactérias - 100.000/10 célls.ml-1/mm<sup>3</sup>.L-1 e 50.000/5 célls.ml-1/mm<sup>3</sup>.L-1 (dessedentação)</p> <p>Clorofila <i>a</i> - 60 µg/L</p> <p>Fósforo total - 0.05 mg/L (lêntico), 0.075 mg/L (intermediário), 0.15 mg/L (lótico)</p>

CONAMA 357/2005

### 3 – AS CIANOBACTÉRIAS EM CORPOS HÍDRICOS AO REDOR DO MUNDO

Atualmente o problema das cianobactérias, suas florações e toxinas produzidas, ocorre em todas as regiões do planeta. As tabelas 5 e 6 demonstram como o problema está distribuído pelo mundo, florações e cianotoxinas podem ser encontradas em diversos países e em todos os continentes do planeta. Problemas relacionados à saúde humana e animal também aparecem em vários locais e em todos os continentes do globo. É possível verificar também que impactos econômicos relacionados à problemas no abastecimento de água, uso recreativo de ambientes aquáticos e uso da água na agricultura e indústria são comuns em todos os locais onde as cianobactérias estão crescendo, aumentando e formando florações.

A tabela 7 apresenta a ocorrência de cianobactérias e cianotoxinas em diversos países da América do Sul. Na maioria dos países onde as cianotoxinas foram registradas, se mensuraram também as cianobactérias. Os países que não estão listados, não necessariamente não apresentam florações, mas é mais provável que não tinham ainda dados publicados na época da preparação da tabela. Com relação ao Brasil, Medeiros et al. (2010) registraram presença de cianotoxinas em praticamente todas as regiões. O estado com maior número de registros nesta época foi São Paulo, mas novamente, não necessariamente por causa de maior ocorrência de florações neste estado, mas sim pelo número maior de estudos nesta região até aquele período.

Segundo Sant'Anna e Azevedo (2000) os principais gêneros de cianobactérias tóxicas no Brasil seriam *Microcystis*, *Dolichospermum* (= *Anabaena*), *Planktothrix*, *Cylindrospermopsis*. Outros gêneros menos comuns em florações no Brasil, e potencialmente tóxicos, seriam *Radiocystis*, *Lyngbya* e *Oscillatoria*. Como discutidos em parágrafos anteriores, os tipos de toxinas produzidas por estes gêneros é diferente, algumas sendo produtoras de hepatotoxinas e outras neurotoxinas (ver tabela 2).

Tabela 5 - Presença de florações e cianotoxinas na África, Ásia e Oceania

	<b>Presença de florações</b>	<b>Presença de cianotoxinas</b>	<b>Incidentes relacionados à saúde humana e animal</b>	<b>Impactos econômicos</b>
África	Etiópia, Quênia, Namíbia, Marrocos, África do Sul, Zimbabwe	Etiópia, Quênia, Namíbia, Marrocos, África do Sul, Zimbabwe	Etiópia, Quênia, África do Sul, Zimbabwe	Etiópia, Marrocos, África do Sul, Zimbabwe
Ásia	Turquia, Israel, Iraque, Iran, Qatar, Kuwait, Arábia Saudita, Índia, Paquistão, Nepal, Bangladesh, Butão, Sri Lanka, Uzbequistão, China, Tailândia, Coreia, Indonésia	Turquia, Israel, Kuwait, Arábia Saudita, Índia, Paquistão, Bangladesh, Sri Lanka, Uzbequistão, China, Tailândia, Coreia, Indonésia	Turquia, Israel, Índia, Sri Lanka, Bangladesh, China, Tailândia, Coreia, Indonésia	Turquia, Israel, Índia, Sri Lanka, Bangladesh, China, Tailândia, Coreia, Indonésia
Oceania	Austrália, Kiribati, Nova Zelândia, Samoa	Austrália, Nova Zelândia	Austrália, Nova Zelândia	Austrália

Fonte: Cyanonet, 2005

Tabela 6 - Presença de florações e cianotoxinas na Europa e Américas do Norte e Sul

	<b>Presença de florações</b>	<b>Presença de cianotoxinas</b>	<b>Incidentes relacionados à saúde humana e animal</b>	<b>Impactos econômicos</b>
Europa	Austria, Bélgica, França,  Dinamarca, Estônia, Finlândia, Alemanha,  Grécia, Hungria, Itália, Islândia, Irlanda, Letônia, Luxemburgo, Holanda, Noruega, Polônia,  Portugal, Romênia, Rússia,  Sérvia, Eslováquia, Suécia,  Eslovênia, Espanha, Suíça, Ucrânia, Inglaterra	Austria, Bélgica, França,  Dinamarca, Estônia, Finlândia, Alemanha,  Grécia, Hungria, Itália, Islândia, Irlanda, Letônia, Luxemburgo, Holanda, Noruega, Polônia, Portugal, Romênia, Rússia, Sérvia, Eslováquia, Suécia, Eslovênia, Espanha, Suíça, Ucrânia, Inglaterra	Bélgica, Dinamarca, Estônia, Finlândia, Alemanha, Itália, Hungria, Irlanda, Holanda, Noruega, Polônia, Portugal, Eslovênia, Espanha, Suíça, Sérvia, Suécia, Inglaterra	Dinamarca, Estônia,  Finlândia, Hungria, Itália, Irlanda,  Letônia, Noruega, Polônia, Portugal, Rússia, Sérvia, Eslovênia, Suécia, Ucrânia, Inglaterra
América do Norte	Canadá, Estados Unidos	Canadá, Estados Unidos	Canadá, Estados Unidos	Canadá, Estados Unidos
América do Sul	Brasil, Argentina, Chile, Colômbia, Uruguai, Venezuela	Brasil, Argentina, Chile,  Uruguai	Brasil, Argentina	Brasil, Argentina, Colômbia, Uruguai, Venezuela

Fonte: Cyanonet, 2005

Tabela 7. Ocorrência de cianobactérias e cianotoxinas em países da América do Sul

Pais	Cianobactéria dominante	Toxinas	Método de análise
Argentina	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	Microcistinas Neurotoxinas não identificadas	Bioensaio (camundongos) HPLC LC-MS ELISA
Brasil	<i>Microcystis</i> <i>Cylindrospermopsis</i> <i>Anabaena</i>	Microcistinas Saxitoxinas Anatoxina-a(s) Cilindrospermopsina	Bioensaio (camundongos) HPLC LC-MS ELISA PCR
Chile	<i>Microcystis</i>	Microcistinas	HPLC ELISA MALDI-TOFMS
Colombia	<i>Microcystis</i> <i>Cylindrospermopsis</i>	Não medidos	—
Uruguai	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i> <i>Nodularia</i>	Microcistinas	ELISA
Venezuela	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i> <i>Cylindrospermopsis</i>	Microcistinas	Bioensaio (camundongos)

Fonte: Medeiros *et al.*, 2010

#### 4. SITUAÇÃO ATUAL DAS CIANOACTÉRIAS NO RIO DAS VELHAS

##### 4.1 Metodologia de análise adotada

O trabalho foi baseado em dados que nos foram fornecidos por integrantes do Projeto Manuelzão e da IGAM (Instituto Mineiro de Gestão de Águas). Estes dados incluíam dados descritivos das estações de coleta, dados físico-químicos (fósforo total, nitrogênio amoniacal, nitrato, nitrito, temperatura, oxigênio, etc.), dados biológicos (clorofila-a, densidade de cianobactérias). A parte mais completa dos dados se refere ao ano de 2013, sobre o qual se baseou a maior parte deste trabalho. Existem também series de dados dos anos anteriores, de 2000 até 2013, e foram utilizadas as séries de 2008 até 2013, para uma análise de evolução temporal. Os dados que antecedem 2008 não sempre estão completos no que se refere às cianobactérias e parâmetros relacionados.

Os dados utilizados para este trabalho se referem àquelas amostras onde foi constatada a presença de cianobactérias. Os dados foram organizados em planilhas, e ordenados de acordo às estações ou aos meses de coleta. Foi dada ênfase aos seguintes parâmetros, que são aqueles conhecidos por causarem crescimento de espécies algais e de cianobactérias: concentração de fósforo, de nitrogênio (nitrato e amônio), temperatura, densidade de cianobactérias (em cels/mL). Os dados de toxinas (microcistina) foram também examinados.

Os dados foram apresentados em séries espaciais (por estação de coleta) ou temporais (por mês). O objetivo desta apresentação gráfica dos dados foi de poder permitir uma visualização da evolução sazonal ou espacial das mudanças ocorridas nas concentrações destes nutrientes e nas cianobactérias. Foram usados Box-plots para apresentação dos dados, que representam os valores das medianas, e dos valores mínimos e máximos, por ponto de coleta ou por mês.

Em seguida, foram testados modelos de regressão linear, que pudessem eventualmente indicar quais os principais parâmetros responsáveis pelo aumento da densidade de cianobactérias no Rio das Velhas. Os modelos foram testados em cada estação de coleta separadamente, e no conjunto de dados totais. Apenas as regressões que foram significativas foram apresentadas neste relatório. Para estas análises, os dados de cianobactérias em cels/mL foram previamente transformados em logaritmo ( $\log_{10}$ ), para permitir a linearização desta relação, tendo em vista a ampla variação nos valores deste parâmetro.

Finalmente, foram analisadas as séries temporais entre os anos de 2008-2013, para se verificar eventuais variações de aumento ou diminuição dentro de alguns parâmetros medidos. Para estas análises, foram utilizadas as médias anuais para cada parâmetro, para aquelas estações de coleta que apresentavam a série completa de dados.

Na tabela 8 estão listadas as estações amostradas, que foram utilizadas neste trabalho, com suas respectivas localização nos municípios e classe de enquadramento,

que foi baseada na qualidade de suas águas. A figura 2 representa a Bacia do Rio das Velhas com a rede de biomonitoramento adotada pelo IGAM. As estações de coleta monitoradas, algumas das quais foram utilizadas neste trabalho, estão aqui representadas (fonte: IGAM).

Tabela 8 – Descrição das estações de coleta utilizadas neste trabalho

ESTAÇÃO	CLASSE DE ENQUADRAMENTO	MUNICÍPIO
BV001	Classe Especial	Ouro Preto (MG)
BV013	Classe 2	Itabirito (MG)
BV037	Classe 2	Rio Acima (MG)
BV063	Classe 2	Nova Lima (MG), Raposos (MG)
BV067	Classe 2	Sabará (MG)
BV080	Classe 3	Sabará (MG)
BV083	Classe 3	Sabará (MG)
BV105	Classe 3	Santa Luzia (MG)
BV137	Classe 3	Lagoa Santa (MG)
BV138	Classe 3	Lagoa Santa (MG)
BV139	Classe 2	Rio Acima (MG)
BV141	Classe 2	Santana de Pirapama (MG)
BV142	Classe 2	Inimutaba (MG), Presidente Juscelino (MG)
BV146	Classe 2	Augusto de Lima (MG), Corinto (MG)
BV148	Classe 2	Várzea da Palma (MG)
BV149	Classe 2	Várzea da Palma (MG)
BV150	Classe 2	Santo Hipólito (MG)
BV151	Classe 2	Lassance (MG)
BV152	Classe 2	Santo Hipólito (MG)
BV153	Classe 3	Santa Luzia (MG)
BV156	Classe 2	Baldim (MG)

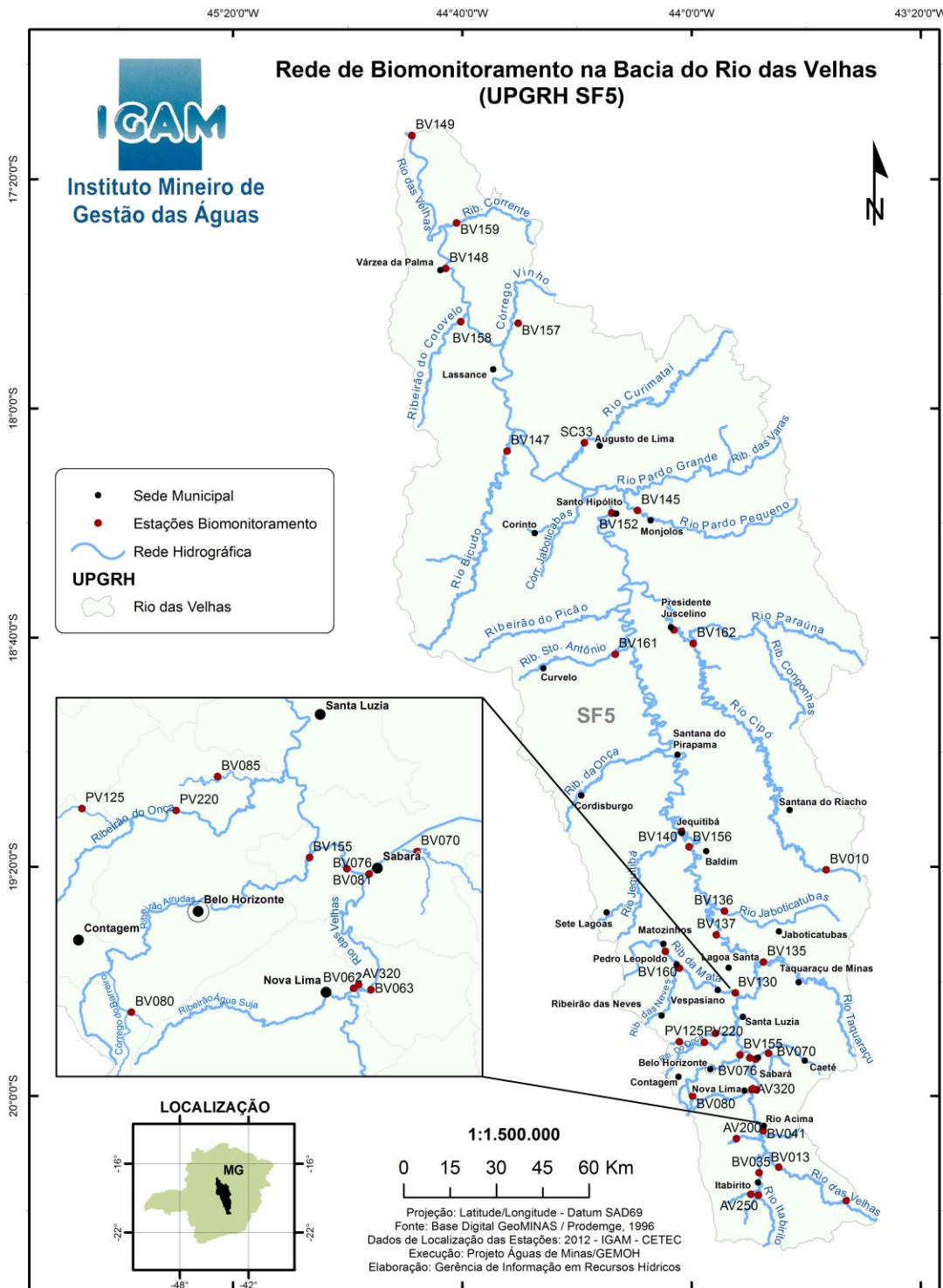


Figura 2- Mapa da bacia do Rio das Velhas com representação da Rede de Biomonitoramento e demarcação das estações de coleta (fonte: IGAM).



## 4.2 Apresentação dos resultados

### Variações espaciais e temporais de cianobactéria e microcistina

As figuras 3 e 4 apresentam a distribuição de cianobactéria no Rio das Velhas no ano de 2013, observando-se sua distribuição temporal (figura 3A) ou espacial (figura 3B). Os dados de cianotoxina (microcistina) estão também representados nas figuras (pontos azuis). As figuras representam também uma linha tracejada vermelha, que indica a densidade celular de 50.000 cels/mL. Este limite mostra o valor máximo de concentração de células de cianobactérias permitido pela DN COPAM/CERH n° 01/2008 para rios de Classe 2, e foi usado também em relatório anterior para apontar a situação crítica do rio com relação ao problema das cianobactérias (ver IGAM, 2013).

Os valores de células por mL de cianobactérias observados na série de dados são bastante elevados, sendo que em diversas ocasiões atingem valores acima de 200.000 cels/mL. Em uma ocasião, no ponto BV142 (Nov2013), os valores superaram 600.000 cels/mL. Estes valores são extremamente elevados, mostrando uma floração densa neste período do ano, alertando para uma situação de maior severidade.

A figura 3A mostra que os meses que apresentaram os maiores valores foram os de fevereiro e março, e depois novamente os de julho a novembro, com pequenos picos em janeiro e maio. Com relação aos pontos de coleta (eles estão ordenados numericamente do maior ao menor), pode-se observar na figura 3B que as cianobactérias começam a aparecer nos pontos BV137 e BV138, desaparecem no ponto BV139, voltam em concentrações bem mais elevadas no ponto BV141 e continuam sempre com valores elevados até o ponto BV152, voltando a diminuir em seguida.

Os valores de microcistina são, ao contrário, bastante baixos e relativamente constantes para o período de 2013, nas estações estudadas. Os valores variaram entre 0,10 a 0,20 µg MC/L, com um único valor acima desta faixa (0,23 µg MC/L, no ponto BV151 em fev2013). Podemos observar também, que os valores mensurados de cianotoxinas (microcistina), nem sempre acompanharam as elevadas densidades de células. No mês de março, por exemplo, foram registradas toxinas num momento com relativamente poucas

células de cianobactérias (fig. 3 A), enquanto que em novembro, no momento da maior densidade de células, os valores não aumentaram como o esperado.

Esta observação aponta para uma possível mudança na toxicidade das células de uma floração, pois nem sempre no momento de maior número de células encontramos a maior toxidez. Este fato já foi observado em outros ambientes, sugerindo que durante uma floração a porcentagem de células tóxicas pode variar, podendo ocorrer situações com muitas células tóxicas numa pequena floração, ou de poucas células tóxicas numa floração intensa. Por outro lado, não podemos esquecer que esta observação pode também apontar ao fato que estes valores de microcistina podem não ter sido mensurados corretamente. É comum subestimar o valor da concentração de toxinas, quando elas se apresentam em concentrações muito elevadas, por não diluir suficientemente a amostra antes da mensuração. Por exemplo, se fossemos usar o valor indicado pela WHO (2003), de um valor médio de 200 fg de MC/cel de cianobactérias, os valores registrados estariam até 300 vezes subestimados no caso do Rio das Velhas (ou mais, dependendo do ponto de coleta). É verdade, porém, que este valor de 200 fg de MC/cel é considerado por alguns autores muito elevado, tendo sido registrados em vários estudos valores correspondentes à aproximadamente 100 fg do conteúdo médio de microcistina por célula. De toda maneira, o fato dos valores de microcistina mensurados terem sido tão baixos, deveria ser principalmente um indicativo da necessidade de se realizarem novamente estas medidas, e não motivo de tranquilidade pela baixa toxidez ou pela ausência na água.

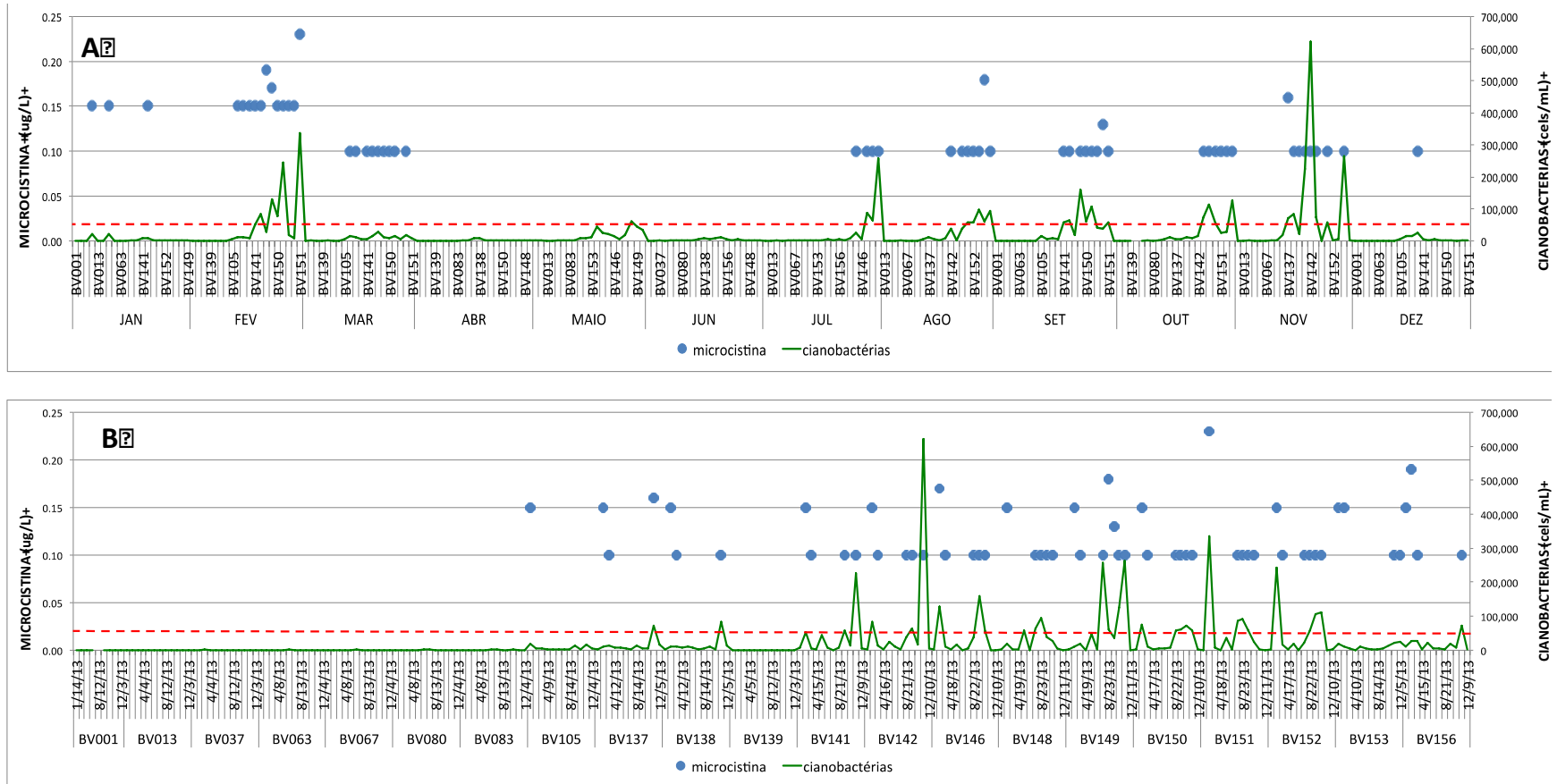


Figura 3. Variação da concentração de microcistina ( $\mu\text{g/L}$ ) (pontos azuis) e de cianobactérias (cels/mL) (linha verde contínua), ao longo dos meses, durante o ano de 2013 (A) e ao longo das estações de coleta do Rio das Velhas (B). A linha vermelha tracejada indica o valor de 50.000 cels/mL (valor máximo permitido pela DN COPAM/CERH n° 01/2008 para rios de Classe 2).

### Variações espaciais e temporais de parâmetros ambientais e cianobactérias

Nas figuras sucessivas, estão representados os dados referentes a fósforo total, amônio (nitrogênio amoniacal), nitrato e cianobactérias. Na figura 4, estes dados estão representados por estação de coleta e na figura 5, seguinte, por mês. Os dados sempre mostram as medianas e os valores mínimos e máximos naquele ponto ou mês.

A comparação destas figuras, que representam as mudanças observadas ao longo dos meses e estações de coleta, com os dados da densidade de cianobactérias, mostra alguns fatos interessantes. Os valores de fósforo total e amônio seguiram o mesmo padrão de distribuição entre os pontos de coleta: o padrão entre estes dois parâmetros é muito similar (fig. 4 A e B), e as estações de coleta que apresentaram os valores mais elevados foram as de BV83 à BV141 (com exceção da estação BV139), e depois novamente as duas estações BV 153 e BV156. Ao contrário, os dados de nitrato mostraram um padrão praticamente inverso (fig. 4 C), com valores mais elevados naqueles pontos de coleta onde fósforo e amônio estavam mais baixos (de BV142 à BV152). É interessante notar que as densidades de células de cianobactérias seguiram este mesmo padrão de distribuição nas estações de coleta apresentado pelas concentrações de nitrato (fig. 4 D e fig. 3B). OBS: ver fig. 2 para localização das estações de coleta.

Se observarmos os mesmo dados, porém representados por mês (figura 5), podemos ver que os maiores valores de fósforo e amônio foram registrados entre junho e novembro para fósforo, e junho e outubro para amônio. Para nitrato, os valores mais altos foram registrados em fevereiro e março, e depois novamente para julho-agosto e outubro. Novamente, os dados de nitrato seguem o padrão observado para as densidades de células cianobactérias (fig. 5D e fig. 3A).

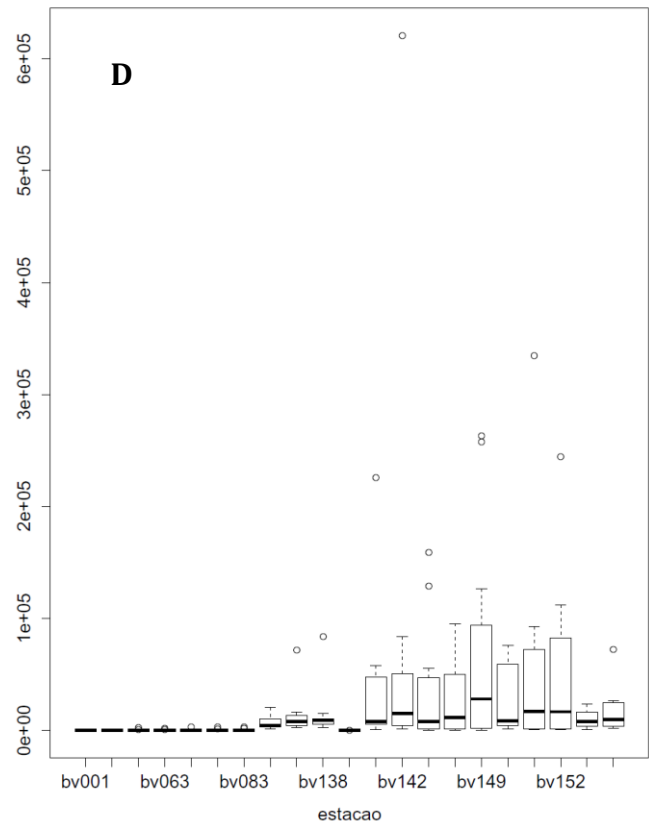
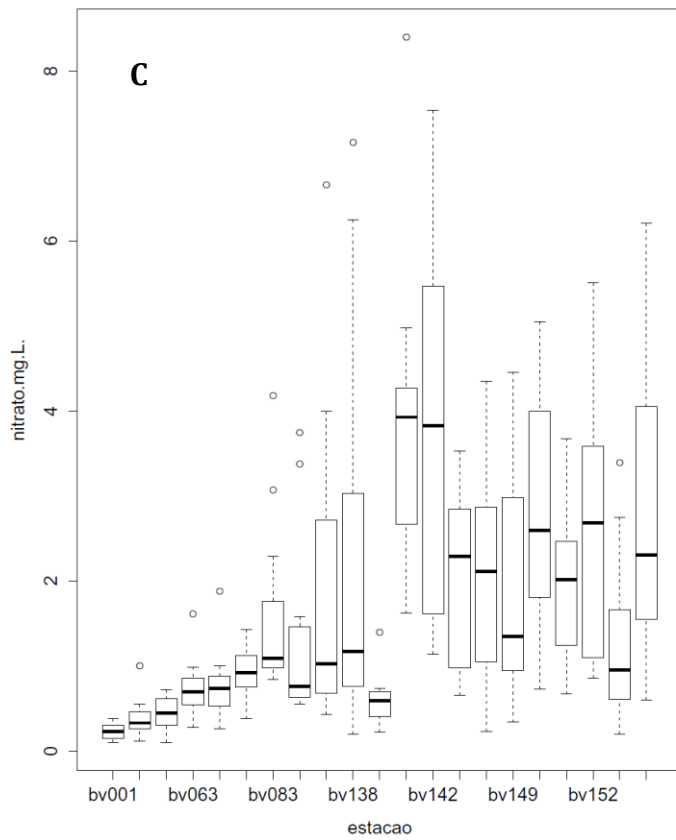
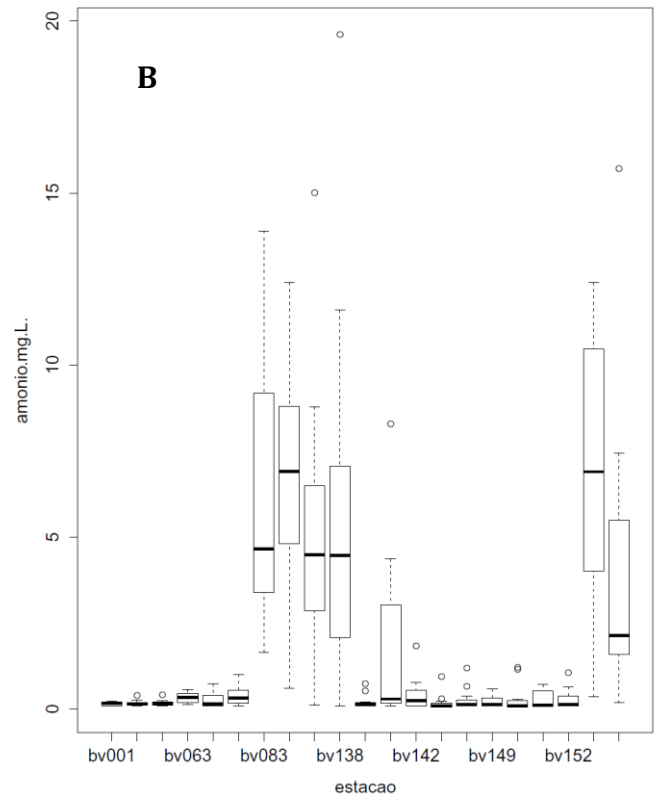
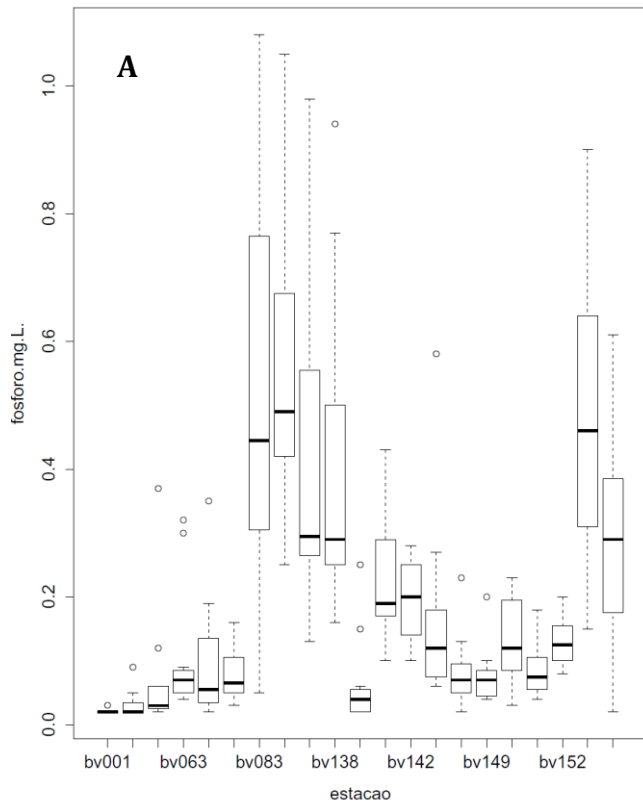


Figura 4. Box-plots da concentração de fósforo (A), amônio (B), nitrato (C) e cianobactérias (D) em diversas estações de coleta ao longo do Rio das Velhas, de janeiro a dezembro de 2013. (mediana, 25-75%, e valores mínimos e máximos)

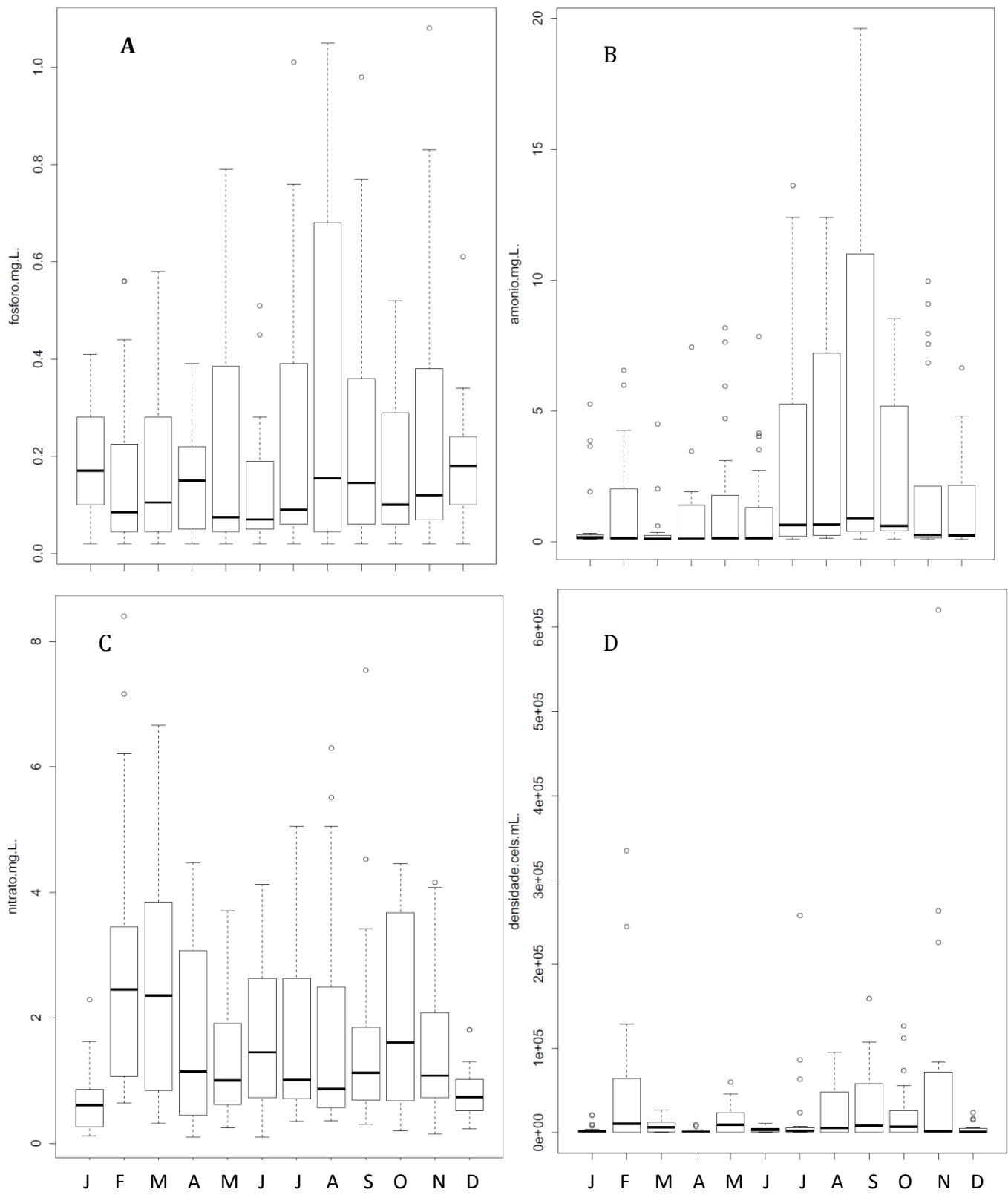


Figura 5- Box-plots da concentração de fósforo (A), amônio (B), nitrato (C) e cianobactérias (D) de janeiro a dezembro de 2011, em diversas estações de coleta ao longo do Rio das Velhas. (mediana, 25-75%, e valores mínimos e máximos).

### Correlações e regressões

Esta falta de correspondência, que pode ser observada nos gráficos anteriores entre os valores de fósforo total e de amônio, e as densidades de cianobactérias, se refletiu na ausência de uma correlação positiva e significativa entre estes parâmetros para a maioria dos pontos de coleta. Para todas as correlações que foram testadas, apenas em dois pontos de coleta o fósforo mostrou uma correlação positiva e significativa com aumento da concentração de células de cianobactérias, sendo elas BV148 e BV149 (fig. 6), localizadas em Várzea da Palma. Em todos os demais pontos, o aumento da concentração de fósforo não teve como consequência o aumento da densidade de células de cianobactérias, a diferença do previsto em geral pela literatura. Com relação ao nitrogênio amoniacal, correlações positivas com cianobactérias foram encontradas apenas nas estações BV149 e BV152 (fig. 7), respectivamente em Várzea da Palma e Santo Hipólito, além da estação BV150 (não representada graficamente).

As estações que melhor representaram a correlação positiva e significativa entre nitrato e densidade de cianobactérias, foram BV142, BV149, BV152, BV156 (fig. 8) (região de Inimutaba, Presidente Juscelino, Várzea da Palma, Santo Hipólito, e Baldim: ver fig. 2), além das estações BV146 e BV150 (não representadas graficamente) (região de Augusto de Lima, Corinto, e Santo Hipólito: ver fig. 2).

Quando utilizamos todos os dados, de todos os meses e estações de coleta, obtivemos correlações positivas e significantes apenas entre o aumento das densidades de cianobactérias e os valores de nitrato e temperatura (fig. 9). As figuras 9A e 9B representam modelos de regressão calculados para o ano de 2013, e que podem ser aplicados no Rio das Velhas, para testar se irão se repetir novamente mais tarde. Para nitrato, as tendências observadas nos gráficos anteriores (figuras 4 e 5) se confirmaram pela relação positiva e significativa desta variável com as densidades de células de cianobactérias (fig. 9A). Além da concentração de nitrato, o aumento de temperatura também mostrou ser importante para explicar o aumento da biomassa das cianobactérias no ano de 2013, pois as maiores densidades em geral coincidiram com os meses mais quentes do ano (fig. 9B).

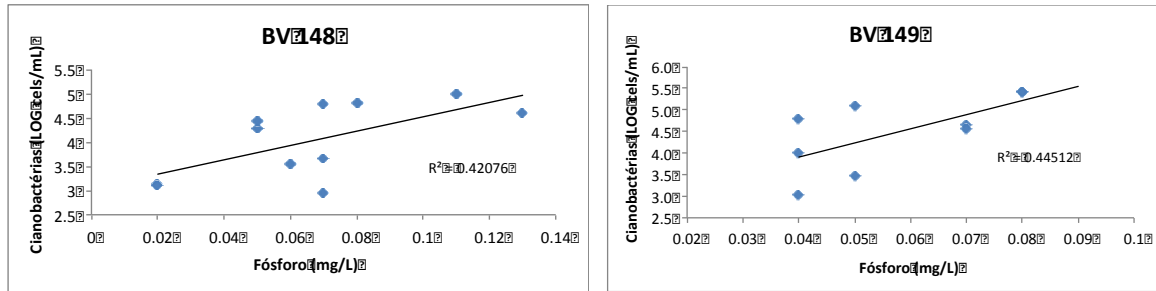


Figura 6 – Retas de regressão da concentração de cianobactérias com fósforo, em duas estações de coleta no Rio das Velhas.

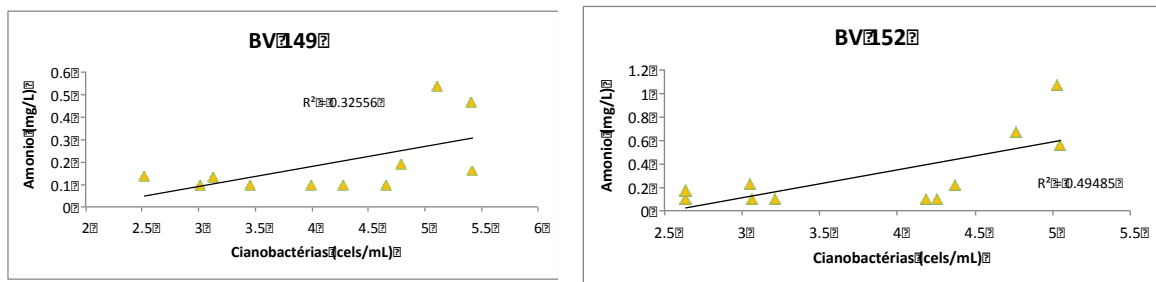


Figura 7 – Retas de regressão da concentração de cianobactérias com amônio, em duas estações de coleta no Rio das Velhas.

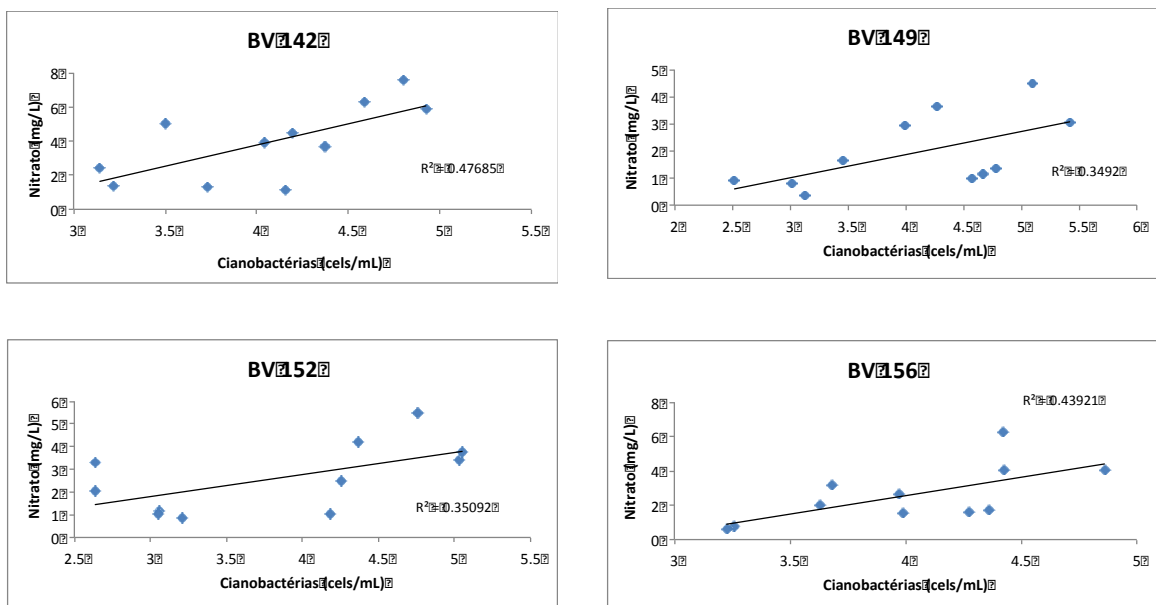


Figura 8 – Retas de regressão da concentração de cianobactérias com nitrato, em quatro estações de coleta no Rio das Velhas.



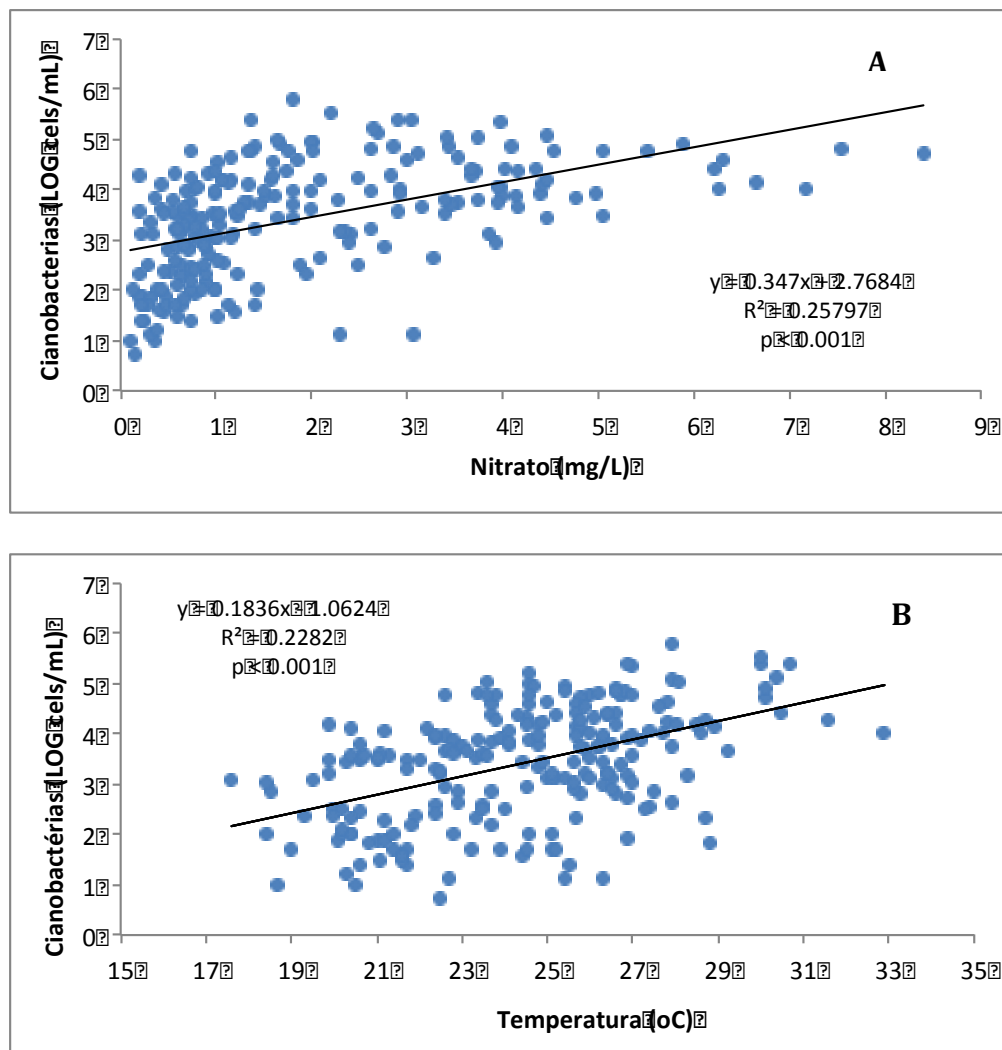


Figura 9 – Regressão linear da concentração de cianobactérias versus a concentração de nitrato (A) e a temperatura (B), no Rio das Velhas.

### Mudanças temporais (séries históricas)

Uma análise das mudanças nas concentrações de nutrientes e de cianobactérias, além dos valores de temperatura, foi feita para dados coletados no período de 2008 a 2013 em algumas estações de coleta (figura 8). Estes valores correspondem as médias anuais.

Os valores das concentrações de fósforo total e amônio (fig. 10) não mostraram aumento significativo nos últimos anos, quando comparados aos valores registrados em 2008. Em algumas estações de coleta (BV153 e BV156), chegamos até a observar uma ligeira diminuição nos valores de 2012 para 2013, embora os valores de fósforo tiveram uma tendência a diminuir, de 2008 até 2011, e voltaram a aumentar nos último anos. As estações BV153 e BV156 se caracterizaram durante todos os anos pelos seus valores mais elevados, tanto de fósforo como de amônio.

Também não se observa nenhum aumento significativo de temperatura (fig. 10), que poderia justificar algum indicio de aquecimento global, pelo menos nos dados analisados. Os valores mais elevados foram registrados na estação BV149 (Várzea da Palma).

Porém, ao contrário do que se observou para estes parâmetros, as concentrações de nitrato mostraram um aumento constante de 2008 à 2013, em todas as estações analisadas (fig. 10). Tem que se observar que na estação BV142, que mostra aqui os maiores valores de nitrato durante os anos, foi onde se registrou o inicio das maiores concentrações de cianobactérias ao longo do Rio das Velhas (fig. 3B e fig. 4D).

As densidades de cianobactérias (fig. 10) também mostraram claramente um aumento nos últimos anos, principalmente a partir de 2010. Este aumento foi principalmente expressivo nas estações BV142 e BV149.

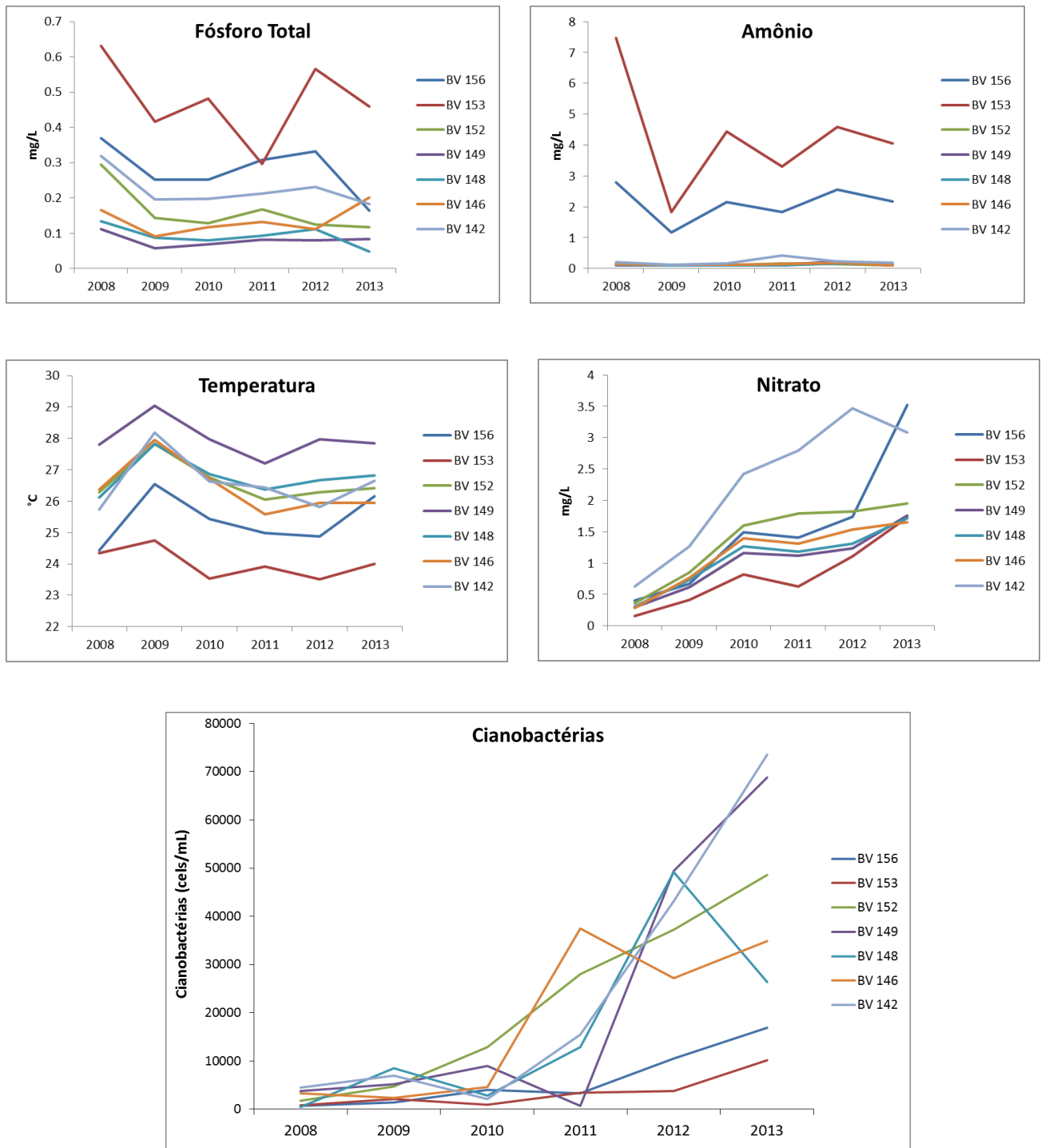


Figura 10 – Evolução da concentração de fósforo total, amônio, nitrato, temperatura e cianobactérias em diversas estações de coleta no Rio das Velhas, no período de 2008 à 2013.

## 5. CONCLUSÕES: RISCOS PRESENTES E FUTUROS

Os dados aqui apresentados mostram que no ano de 2013 a presença de cianobactérias em algumas estações do Rio das Velhas foi significativa, sendo os valores encontrados em algumas ocasiões extremamente elevados (acima de 250.000 cels/mL).

Os valores de fósforo total muito elevados (acima de 0.8 mg/L) registrados no Rio das Velhas neste mesmo ano, não coincidiram com a presença de florações de cianobactérias. O mesmo ocorreu com o padrão observado nas concentrações elevadas de amônio (valores acima de 8 mg/L), que acompanhou os picos de fósforo, mas não de cianobactérias.

As análises estatísticas de regressão simples mostraram que, considerando o banco de dados como um todo, apenas duas variáveis foram significativas para explicar o padrão de crescimento e distribuição das florações no ano de 2013: concentração de nitrato e temperatura.

As séries temporais mostraram esta mesma tendência de aumento das florações acompanhando o aumento do nitrato, ao longo dos anos. Estas duas observações (correlação e série temporal) apontam para o nitrato como possível preditor da evolução das florações no Rio das Velhas.

A temperatura mostrou ser um parâmetro importante para prever o crescimento das florações no espectro anual, por serem as florações mais intensas naqueles meses mais quentes. Porém, em termos de evolução ao longo dos anos, não se observou aumento de temperatura da água no Rio das Velhas. Desta forma, este parâmetro não pode ser utilizado como preditor do aumento das florações ao longo dos anos, mas sim, e apenas, no caso do Rio das Velhas, como preditor dos meses de maior ocorrência de células de cianobactérias, dentro do mesmo ano.

A ausência de correlação entre fósforo total e cianobactérias, geralmente encontrada na literatura (Downing et al 2001, Giani et al, 2005), pode talvez ser explicada pelo fato das estações de coleta nas quais foram encontrados valores muito elevados de fósforo, estarem com concentrações excessivamente elevadas. Downing et al (2001) também

observaram uma diminuição de florações quando os valores de fósforo total se aproximavam de 1 mg/L. Parece que nestas condições de hipertrofia, os organismos aquáticos, incluindo as cianobactérias, tem dificuldade de crescer e sobreviver. Observamos também, que nestas estações de coleta caracterizadas pelo excesso de fósforo, são registrados também valores elevados de coliformes e metais pesados. Contribuem para os valores altos destas variáveis, esgotos industriais, assim como a poluição difusa, provindos de áreas mais urbanizadas (dados de 2013 e Polignano et al 2012).

Pode ser por esta razão, que apenas encontramos uma correlação positiva entre fósforo total e cianobactérias em duas estações de coleta (BV148 e BV149), nas quais as concentrações de fósforo estavam menos elevadas.

A importância do nitrogênio, como causa das florações e da produção de toxinas, também já foi discutida por vários autores (Downing et al., 2001, Giani et al., 2005, Dollman et al., 2013, Beaulieu et al. 2013). O que se observa no Rio das Velhas é que as fontes poluidoras que causam aumentos nos valores de nitrato não são sempre as mesmas responsáveis pelo aumento de fósforo e amônio. Enquanto essas são causadas principalmente por esgotos domésticos e industriais, o aumento do nitrato está em geral ligado também à expansão agrícola, à atividades agropastoris e de extração, que implicam em uso de fertilizantes e em desmatamento. Isso parece que é o que deve estar acontecendo neste trecho do Médio Baixo Rio das Velhas (estações BV141 até BV152), trecho onde se encontraram os maiores valores de nitrato e as maiores concentrações de cianobactérias.

O parâmetro que melhor explicou a evolução das cianobactérias no Rio das Velhas, tanto numa escala anual (2013), como num período mais longo (2008 a 2013) foi, portanto a concentração de nitrato na água.

Programas de redução do input de fósforo e nitrogênio tem que ser retomados ou intensificados para recuperação do Rio das Velhas. O Meta 2014 parece ter sido efetivo com relação ao fósforo durante alguns anos. Porém, provavelmente por causa de um

aumento populacional, as medidas tomadas começaram a ser insuficientes, e o fósforo continua elevado em diversas estações de coleta.

Com relação ao nitrato, possíveis medidas envolvem mais a condição paisagística das margens do rio, como recuperação e arborização das suas margens, que reduziria a poluição difusa.

O uso de fertilizantes deveria ser controlado, talvez através de programa de esclarecimentos aos agricultores.

É também importante mencionar a necessidade de aporte de água em quantidade e qualidade através de afluentes de classe especial e classe 1 para favorecer a capacidade de depuração do rio. Nesta perspectiva, qualquer barramento na calha do rio nesta situação agravaria o quadro apresentado, se tornando, portanto, altamente desaconselhável.

Como pode ser observado pelos dados apresentados, o maior impacto do excesso da carga de nutrientes, se inicia nas estações demarcadas como “BV”, isto é, localizadas após a região metropolitana de Belo Horizonte. Isso claramente indica a carga poluidora significativa da região metropolitana. Embora tenha havido aumento das estações de tratamento de esgotos e investimentos neste sentido, e embora hoje cerca de 70% do esgoto seja tratado, sabe-se que o tratamento secundário não remove as fontes de nitrogênio e fósforo, que são os maiores responsáveis pela situação observada no Rio das Velhas. Isso indica a necessidade de se avançar na direção do tratamento terciário.

Medidas clássicas, mas efetivas, para controle e diminuição da poluição no rio, incluem, portanto:

- maior número de ETEs, e de maior porte
- tratamento terciário de esgotos
- captação de esgotos clandestinos, de uso doméstico e industrial
- multa para indústrias que estiverem jogando esgotos não tratados no rio ou seus efluentes
- controle do uso de fertilizante

É importante também lembrar que a legislação, sob forma de normas, regulamentações e leis, pode ajudar no sentido de se reverter o estado de deterioração das águas dos ambientes lóticos e lênticos, principalmente daqueles localizados em regiões urbanas ou altamente povoadas. Um exemplo, são as restrições que a Comunidade Europeia adotou com relação ao uso de fosfato e outros compostos contendo fósforo em detergentes e sabões domésticos, tendo em vista os problemas comprovados que estes compostos causam nos ambientes aquáticos, como a proliferação excessiva de algas e cianobactérias.

Outro ponto a ser considerado é a necessidade de se realizarem medidas de toxidez das florações, para verificação dos valores encontrados em 2013, talvez por outros laboratórios. É bom lembrar os riscos para a saúde humana, quando o número de células de cianobactérias ultrapassa o limite de 20.000 cels/mL (Portaria 2914/2011 do Ministério da Saúde), e da necessidade de se mensurar a concentração de toxinas nestes casos. Quando os valores de toxinas são baixos, relativos ao número de células, é sempre interessante se testar outra metodologia ou outro laboratório, para confirmação dos resultados.

Sumarizando: não existe nenhuma perspectiva de melhoria das florações sem que o input de nutrientes seja drasticamente reduzido.

Temos que lembrar que as cianobactérias são apenas o resultado de uma situação ambiental que tem sido descuidada, ou não cuidada com intervenções mais rigorosas, nas últimas décadas. O crescimento da população humana, e dos resíduos por ela gerados, não foi acompanhado por um controle correto da entrada destes resíduos no ambiente. A capacidade suporte de um ambiente descreve os limites dentro dos quais aquele ambiente é capaz de reverter uma situação e retornar ao seu estágio inicial. Quando a capacidade suporte é ultrapassada, o sistema perde a capacidade de se auto-recuperar. Quando, então, a capacidade de autodepuração do ambiente se esgotou, e o aparecimento sempre mais frequente e duradouro das florações é um sintoma de uma situação de saturação. A volta desta situação, para condições de melhor qualidade de água, demanda gastos de energia e de recursos consideráveis. Infelizmente, porém, as cianobactérias e suas toxinas

demonstram que não há outra saída se queremos continuar a ter recursos hídricos disponíveis para as diversas atividades humanas, e para preservação de espécies e biomas aquáticos.

Belo Horizonte, 20 de setembro de 2014

A handwritten signature in black ink, reading "Alessandra Giani". The script is cursive and fluid, with the first letter 'A' being particularly large and stylized.

Profa. Dra. Alessandra Giani  
Dept. de Botânica  
ICB - UFMG



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beaulieu, M., Pick, F., and Gregory-Eaves, I. (2013) Nutrients and water temperature are significant predictors of cyanobacterial biomass in a 1147 lakes dataset. *Limnol. Oceanogr.* 58(5): 1736–1746

Briand E, Gugger M, François JC, Bernard C, Humbert JF & Quiblier C (2008) Temporal variations in the dynamics of potentially microcystin-producing strains in a bloom forming *Planktothrix agardhii* (cyanobacterium) population. *Appl Environm Microbiol* 74: 3839–3894.

Carmichael WW (1992) Cyanobacteria secondary metabolites – the cyanotoxins. *J Appl Bacteriol* 72: 445–459.

Chengappa MM, Pace LW, Mclaughlin BG (1989) Blue-green algae (*Anabaena spiroides*) toxicosis in pigs. *J Am Vet Med Ass* 194: 1724-1725.

Codd GA & Beattie KA (1991) Cyanobacteria (blue green alga) and their toxins: awareness and action in the United Kingdom. *PHLS Microbiol Digest Supplement* 8: 82-86.

Dolman, A.M., Rücker, J., Pick, F.R., Fastner, J., Rohrlack, T., Mischke, U., and Wiedner C. (2012) Cyanobacteria and Cyanotoxins: The Influence of Nitrogen versus Phosphorus. *PLoS ONE* 7: e38757. doi:10.1371/journal.pone.0038757

Downing JA, Watson SB, McCauley E (2001) Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 58: 1905–1908.

Elser JJ, Bracken MES, Cleland EE et al (2007) Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecol Lett* 10: 1124–1134.

Fogg GE (1969) The physiology of an algal nuisance. *Proc R Soc London B* 173:175–189.

Foy RH (1980) The influence of surface to volume ratio on the growth of planktonic blue-green algae. *Br Phycol J* 15: 279-289.

- Gallon JR (1992) Tansley review no. 44/reconciling the incompatible: N<sub>2</sub> fixation and O<sub>2</sub>. *New Phytol* 122: 571–609.
- Giani, A.; Bird, D.; Prairie, Y. & Lawrence, J. (2005) Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Can. J. Fish. Aq. Sc.*, V. 62, p. 1-10,
- Hunter PR (1995) Cyanobacterial toxins and their potential risk to drinking water supplies. *Microbiol Europe* 3: 8-10.
- IGAM, 2013. Identificação de municípios com condição crítica para a qualidade de água na bacia do Rio das Velhas. Relatório. Governo de Minas Gerais, 48 pg.
- Lewis WM Jr, Wurtsbaugh WA, Paerl HW (2011) Rationale for control of anthropogenic nitrogen and phosphorus in inland waters. *Environ Sci Technol* 45: 10030–10035.
- Lukac M & Ageter R (1993) Influence of trace metal on growth and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Toxicon* 31: 293-305.
- MacKintosh C, Beattie KA, Klumpp S, Cohen P, Codd GA (1990) Cyanobacterial microcystin LR is a potent and specific inhibitor of protein phosphatases 1 and 2A of both mammals and higher plants. *Fed Eur Biochem Soc Lett* 264: 187-192.
- Medeiros, AO, Rosa, CA, Brandão, LR, Giani, L., Gomes, LNL, Libking, D. (2010) Microbial quality of freshwater ecosystems of South America. In: Ertuð, K & Mirza, I (Org.): *Water Quality: Physical, Chemical and Biological Characteristics*. Nova Science Publ., p. 1-14.
- Oliver RL & Ganf GG (2002) Freshwater blooms. *The Ecology of Cyanobacteria – Their Diversity in Time and Space*. (Whitton BA & Potts M, Eds), pp. 149-194. Kluwer Academic Publishers.
- Okello W, Ostermaier V, Portmann C & Gademann K (2010) Spatial isolation favours the divergence in microcystin net production by *Microcystis* in Ugandan freshwater lakes. *Water Res* 44: 2803–2814.
- Paerl HW (1988) Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. *Limnol Oceanogr* 33: 823–847.

Paerl HW, Joyner JJ, Joyner AR et al (2008) Co-occurrence of dinoflagellate and cyanobacterial harmful algal blooms in southwest Florida coastal waters: a case for dual nutrient (N and P) input controls. *Mar Ecol Progr Ser* 371: 143–153.

Paerl HW & Scott JT (2010) Throwing fuel on the fire: synergistic effects of excessive nitrogen inputs and global warming on harmful algal blooms. *Environ Sci Technol* 44: 7756–7758.

Paerl HW, Xu H, McCarthy MJ et al (2011) Controlling harmful cyanobacterial blooms in a hyper-eutrophic lake (Lake Taihu, China): the need for a dual nutrient (N & P) management strategy. *Water Res* 45: 1973–1983.

Pereira DA, Pimenta AMC & Giani A (2012) Profiles of toxic and non-toxic oligopeptides of *Radiocystis fernandoii* (Cyanobacteria) exposed to three different light intensities. *Microbiol Res* 167: 413–421

Pimentel JSM & Giani A (2013) Estimating toxic cyanobacteria in a Brazilian reservoir by quantitative real-time PCR, based on the microcystin synthetase D gene. *J Appl Phycol* 100: 991–999.

Polignano, MV, Ibrahim, E., Alves, G. Vieira, N. (2012) Meta 2014: Revitalização da Bacia do Rio das Velhas. Diagnóstico preliminar. 60 p.

Pouria S, deAndrade A, Barbosa J, Caavalcanti RL, Barreto VTS, Ward CJ, Prieser W, Poon GK, Poon GK, Neild GH, Codd GA (1998) Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil. *Lancet* 352: 21-26.

Repka S, Koivula M, Harjunpa V, Rouhiainen L, Sivonen K (2004) Effects of phosphate and light on growth of and bioactive peptide production by the cyanobacterium *Anabaena* strain 90 and its anabaenopeptilide mutant. *Appl Environ Microbiol* 70: 4551-4560.

Reynolds CS (1987) Cyanobacterial water blooms. *Adv Bot Res* 13: 67–143.

Reynolds CS (1989) Relationships among the biological properties, distribution and regulation of production by planktonic cyanobacteria. *Toxicity Assessment* 4: 229-255.

- Robarts RD & Zohary T (1987) Temperature effects on photosynthetic capacity, respiration and growth rates of bloom-forming cyanobacteria. *N Z J Mar Freshwater Res* 21: 391-399.
- Robson BJ & Hamilton DP (2003) Summer flow event induces a cyanobacterial bloom in a seasonal Western Australian estuary. *Mar Freshw Res* 54: 139–151.
- Runnegar M, Bemdt M, Kaplowitz (1995) Microcystin uptake and inhibition of protein phosphatase – effects of chemoprotectants and self-inhibition in relation to known hepatic transporters. *Toxicol Appl Pharmacol* 134: 264-272.
- Sabart M, Popel D, Briand E, Combourieu B, Salençon MJ, Humbert JF & Latour D (2010) Spatiotemporal variations in *Microcystis* concentrations and in the proportions of microcystin-producing cells in several *Microcystis aeruginosa* populations. *Appl Environ Microbiol* 76: 4750–4759.
- Sant’Anna, C.L. & Azevedo, M.T. P. (2000) Contribution to the Knowledge of Potentially Toxic Cyanobacteria from Brazil. *Nova Hedwigia*, 71(3-4): 359-385.
- Schindler DW (1975) Whole-lake eutrophication experiments with phosphorus, nitrogen and carbon. *Verh Int Ver Theor Angew Limnol* 19: 3221–3231.
- Sivonen K & Jones GJ (1999) Cyanobacterial toxins. *Toxic cyanobacteria in water*. (Chorus & Bartram J, eds), pp. 41-111. E&FN Spon, London.
- Smith, V.H. (1983) Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science* 221: 669–671
- Spivak AC, Vanni MJ, Mette EM (2010) Moving on up: can results from simple aquatic mesocosm experiments be applied across broad spatial scales? *Freshw Biol* 56: 279–291.
- Tonk L, Visser PM, Christiansen G, Dittmann E, Snelder EOFM, Wiedner C, et al (2005) The microcystin composition of the cyanobacterium *Planktothrix agardhii* changes towards a more toxic variant with increasing light intensity. *Appl Environ Microbiol* 71: 5177-5181.

Tonk L, Welker M, Huisman J, Visser PM (2009) Production of cyanopeptolins, anabaenopeptins and microcystins by the harmful cyanobacteria *Anabaena* 90 and *Microcystis* PCC 7806. *Harmful Algae* 8: 219-224.

Utkilen H, Gjølme N (1995) Iron-stimulated toxin production in *Microcystis aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 61: 797-800.

Welker M, Brunke M, Preussel K, Lippert I & von Döhren H (2004) Diversity and distribution of *Microcystis* (cyanobacteria) oligopeptides chemotypes from natural communities studied by single mass spectrometry. *Microbiology* 150: 1785–1796.

Welker M & von Döhren H (2006) Cyanobacterial peptide: nature's own combinatorial biosynthesis. *FEMS Microbiol Rev* 30: 530–563.

Wiedner C, Visser PM, Fastner J, Metcalf JS, Codd GA, Mur LR (2003) Effects of light on the microcystin content of *Microcystis* strain PCC 7806. *Appl Environ Microbiol* 69: 1475-1481.

Whitton BA & Potts M (2000) Introduction to the cyanobacteria. The ecology of cyanobacteria – Their diversity in time and space. (Whitton BA & Potts M, eds), pp. 1-10. Kluwer academic publishers.

WHO-World Health Organization (2003) The World health report : shaping the future. WHO Library.193 p.