



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS**

**HORTÊNCIA DE SOUSA BARROSO**

**ESTRUTURA DAS ASSEMBLEIAS DE BACTERIOPLÂNCTON,  
ARQUEOPLÂNCTON E FITOPLÂNCTON EM ESTUÁRIOS SOB ESTRESSES  
ANTROPOGÊNICOS (NE – BRASIL)**

**FORTALEZA  
2014**

**HORTÊNCIA DE SOUSA BARROSO**

**ESTRUTURA DAS ASSEMBLEIAS DE BACTERIOPLÂNCTON,  
ARQUEOPLÂNCTON E FITOPLÂNCTON EM ESTUÁRIOS SOB ESTRESSES  
ANTROPOGÊNICOS (NE – BRASIL)**

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências Marinhas Tropicais.

Área de concentração:  
Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos

Orientadora: Dra. Vânia Maria Maciel Melo.

**FORTALEZA  
2014**

Ao meu pai João Barroso Filho (sempre em meu coração)  
e a minha mãe Maria da Penha de Sousa Barroso (a melhor do mundo!)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Instituto de Ciências do Mar (Labomar), ao Laboratório de Ecologia Microbiana e Biotecnologia (Lembiotech/Departamento de Biologia), ao Laboratório de Química Ambiental (Departamento de Química Analítica e Físico-Química) e ao Laboratório de Plâncton (Labomar) pelo espaço físico e infra-estrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento desta pesquisa (Proc. 558188/2009-5) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado através do Projeto Ciências do Mar (Proc. 0532/2009).

A minha orientadora Dra. Vânia Maria Maciel Melo pela grande contribuição dada à minha formação acadêmica/profissional. Agradeço primeiramente por ter aceitado me orientar e por ter permitido que eu conhecesse e também me apaixonasse por uma linha pesquisa nova para mim. Obrigada pelas muitas horas de dedicação ao longo destes quatro anos de doutorado e por todas as vezes que me fez pensar (“e pensar...e pensar”) me fazendo perguntas que eu não sabia responder. Também não posso deixar de agradecer por todas os momentos em que foi bem mais que uma orientadora. Muito obrigada mesmo profa.!

As minhas queridas alunas de iniciação científica e agora colegas de trabalho Bárbara Cibelle Soares Farias e Vanessa Moreira Câmara Fernandes pela enorme contribuição dada para execução deste trabalho e também para minha formação enquanto orientadora.

Ao professor Carlos Augusto França Schettini pela participação no desenho amostral deste trabalho, pelas suas valiosas contribuições para o entendimento dos processos estuarinos e pela participação na banca de avaliação desta tese.

A professora Helena Becker pela orientação quanto as análises físico-químicas da água.

A professora Maria Odete Parente Moreira pela contribuição na minha formação, pela amizade e pela participação na banca de avaliação desta tese.

Ao professor Jorge Iván Sánchez Botero pelas boas conversas, pela contribuição nos meus conhecimentos ecológicos e pela participação na banca de avaliação desta tese.

As amigas e colegas de turma de doutorado Geórgia Barguil Colares e Tallita Cruz Lopes Tavares pelo companheirismo na labuta diária ao longo deste últimos quatro anos.

A todos os amigos de laboratório por tornarem o trabalho menos árduo e a vida bem mais alegre: Walderly Melgaço (“Walsinha”), Samanta Pinheiro (“Sam”), Leonardo Normando (“Leo”), Natália Falcão (“Nati”), Luis Henrique Ribeiro, Júlio Ximenes, Lyanderson Aquino, Luina Benevides (“Lu”), Samuel Araújo, Lara Gomes, Laís Machado, Tatiana Bomfim, Elisângela Alencar, Kizeane Fajardo, Gustavo Amaral, Camila Tauane e Melissa Sanders.

Aos meus amigos doutores fonte de inspiração Denise Hissa, Vanessa Nogueira, Alysson Lira e Lidianne Leal.

Ao amigo Chagas Jr. por me escutar, por falar, por ser um amigo de quase todas as horas.

A minha família por ser o meu alicerce. Ao meu pai João Barroso Filho que sempre estará em meu coração e a minha mãe Maria da Penha de Sousa Barroso, a pessoa mais importante da minha vida. A minha irmã Juliana de Sousa Barroso e ao meu cunhado Jocleison Praciano.

A Deus por escrever sempre certo por linhas tortas. Obrigada Senhor...

## RESUMO

Este estudo avaliou a influência das concentrações de nutrientes e salinidade sobre a estrutura do bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton em quatro estuários de baixo influxo (Ceará, Cocó, Pacoti e Pirangi) do Ceará, Nordeste do Brasil. As amostragens ocorreram nos períodos seco (Nov/10) e chuvoso (Maio/11) na camada superficial da coluna d'água. A riqueza e composição das assembleias de procariotos foram acessadas pela técnica de eletroforese em gel de gradiente desnaturante. A riqueza, composição e densidade do fitoplâncton foram analisadas pelo método tradicional de Utermöhl. De acordo com o índice de estado trófico baseado nas concentrações de clorofila *a* e fósforo total os estuários foram classificados como eutróficos ou hipereutróficos. No período seco os valores de salinidade foram maiores em todos os estuários devido ao decréscimo nas descargas fluviais e aumento da intrusão marinha e taxas de evaporação. No período chuvoso os estuários foram caracterizados pela maior descarga fluvial e de sólidos inorgânicos em suspensão. A riqueza de bactérias foi sempre maior que a de arqueas em todos os estuários independente da condição ambiental. Nas análises de redundância mostrou-se que a composição de bactérias aderidas às partículas foram significativamente ( $p < 0,05$ ) influenciadas pelas concentrações de nitrogênio e fósforo, enquanto as arqueias aderidas foram reguladas por estes nutrientes e também pelos valores de pH. Na RDA para as bactérias livres mostrou-se que esta teve a variação na sua composição significativamente influenciada ( $p < 0,05$ ) pelas razões NT:PT, enquanto as arqueias livres não foram explicadas por qualquer dos fatores ambientais medidos. As maiores densidades fitoplanctônicas ocorreram no Ceará ( $2,4 \times 10^7$  organismos.L<sup>-1</sup>) e Cocó ( $5,3 \times 10^7$  organismos.L<sup>-1</sup>) no período seco tendo predominado nestas amostras, respectivamente, o fitoflagelado nanoplanctônico *Cryptomonas/Rodhomonas* 1 e a cianobactéria *Synechocystis* cf. *aquatilis*. Nos estuários Pacoti e Pirangi onde ocorreu a condição de hipersalinidade no período seco as densidades fitoplanctônicas foram baixas ( $1,0 \times 10^5$  organismos.L<sup>-1</sup> e  $1,3 \times 10^5$  organismos.L<sup>-1</sup>, respectivamente), com a predominância de uma diatomácea penada (comprimento= 11-15  $\mu$ m) e das diatomáceas marinhas *Cylindrotheca closterium* e *Thalassionema nitzschioides*. Nos quatro estuários no período chuvoso ocorreu a predominância de espécies fitoplanctônicas dulcícolas e em sua maioria típicas de ambientes eutrofizados (e.g *Planktothrix isothrix* e *Trachelomonas* cf.

*volvocina* var. *volvolcina*). Na CCA para o fitoplâncton observou-se que esta assembleia foi principalmente influenciada pelas concentrações de nitrogênio, sílica e salinidade. Em conjunto os resultados deste estudo mostraram a influência das concentrações de nutrientes em selecionar populações de bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton em estuários de baixo influxo, mostrando a importância do controle da poluição antropogênica nos mesmos. Quanto aos níveis de salinidade, as assembleias de procariotos parecem ser mais resistentes a mudanças sazonais nesta variável que o fitoplâncton.

**Palavras-Chave:** Eutrofização, salinidade, bacterioplâncton, arqueoplâncton, fitoplâncton, estuários de baixo influxo

## ABSTRACT

This study evaluated the influence of nutrients and salinity on the structure of bacterioplankton, archaeoplankton and phytoplankton in four low-inflow estuaries from Ceará, northeastern Brazil (Ceará, Cocó, Pacoti e Pirangi). Sampling occurred during the dry (Nov/10) and rainy (May/11) periods in the surface layer of the water column. The richness and composition of the prokaryotes assemblages were assessed by denaturing gradient gel electrophoresis of 16S rRNA gene. Composition, species richness and density of the phytoplankton assemblage were analyzed by the traditional Utermöhl method. The estuaries were classified as eutrophic or hypereutrophic, according to the trophic state index modified for tropical environments, which take into account the contributions of total phosphorus and chlorophyll *a*. In the dry season, the salinity values were higher in all estuaries due to the decrease of freshwater inflow, increase of saltwater intrusion and higher evaporation rates. In the rainy season estuaries were characterized by increased river and inorganic suspended solids discharge. Regardless of environmental condition, the richness of bacteria was higher than that of archaea. Redundancy analysis (RDA) showed that the variation in the composition of particle-attached bacteria was significantly ( $p < 0.05$ ) influenced by phosphorous and nitrogen concentrations, while the particle-attached archaea was driven by these nutrients and also by pH. The RDA for free-living bacteria showed that this assemblage was significantly ( $p < 0.05$ ) influenced by TN:TP, while the variation in the composition of free-living archaea was not explained by any of the measured environmental variables. The highest phytoplankton densities occurred in Ceará ( $2.4 \times 10^7$  organisms.L<sup>-1</sup>) and Cocó ( $5.3 \times 10^7$  organisms.L<sup>-1</sup>) in the dry period. For these samples, the predominant taxa were the nanoplanktonic phytoflagellate *Cryptomonas/Rodhomonas* 1 and the cyanobacteria *Synechocystis* cf. *aquatilis*, respectively. In the dry period the Pacoti and Pirangi estuaries, where the hypersalinity condition occurred, the phytoplankton densities were low ( $1.0 \times 10^5$  organisms.L<sup>-1</sup> and  $1.3 \times 10^5$  organisms.L<sup>-1</sup>, respectively), with the predominance of a small unidentified diatom (length = 11-15  $\mu$ m) and the marine diatoms *Cylindrotheca closterium* and *Thalassionema nitzschioides* in both samples. The four estuaries in the rainy

season presented the predominance of freshwater phytoplankton species, which were mostly typical of eutrophic environments (e.g. *Planktothrix isothrix* and *Trachelomonas* cf. *volvocina* var. *volvocina*). The phytoplankton assemblage was mainly influenced by the concentrations of nitrogen, silica and salinity, according to the CCA. Taken together, our findings indicated the influence of nutrients to select populations of bacterioplankton, archaeoplankton and phytoplankton, showing the importance of pollution control in low-inflow estuaries. Regarding the salinity levels, prokaryotic assemblages seem more resistant to seasonal changes in this variable than the phytoplankton.

Keywords: Eutrophication, salinity, bacterioplankton, archaeoplankton, phytoplankton and low inflow estuaries

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Tipos de estuário com base no balanço de água. Estuários de baixo influxo possuem um plugue de sal. .... 20
- Figura 2 – Esquema da Alça microbiana ..... 36
- Figura 3 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de precipitação registrados nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011)..... 17
- Figura 4 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de umidade relativa do ar registrados nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011) ..... 18
- Figura 5 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de evaporação nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011). .... 19
- Figura 6 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e taxas de velocidade dos ventos nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo. .... 19
- Figura 7 - Localização dos estuários estudados Ceará, Coco, Pacoti e Pirangi em relação a capital Fortaleza, Ceará e imagens do perfil de cada estação de coleta em relação a foz do rio.... 24
- Figura 8 – Diagrama de ordenação obtida por análise de componentes principais realizada a partir de dados das variáveis abióticas dos estuários CE, CO, PAC e PIR nos períodos seco (S) e chuvoso (C). Ver abreviações na Tabela 5. .... 17
- Figura 9 - Esquema da técnica de DGGE para as amostras de água analisadas neste estudo.30
- Figura 10 - Riqueza de Bactérias aderidas (BA) e livres (BL) e Arqueas aderidas (AA) e livres (AL) nos estuários dos Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). .... 34
- Figura 11 - Análise de agrupamento para as assembleias de Bactérias Aderidas (BA) (A) e Livres (BL) (B), evidenciado os grupos formados. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), marcador (M)..... 35

Figura 12 - Análise de agrupamento para as assembleias de Arqueas Aderidas (BA) (A) e Livres (BL) (B), evidenciado os grupos formados. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), marcador (M).....	36
Figura 13 - Análise de Redundância para a assembleia de Bactérias Aderidas (BA). CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). *Variável com efeito condicional significativa ( $p < 0.05$ ). .....	38
Figura 14 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para as bactérias aderidas. Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição de PT (A) e SSF (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), PT (Fósforo Total), SST (Sólidos suspensos totais). .....	38
Figura 15 - Análise de Redundância para a assembleia de Bactérias Livres (BL). CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). *Variável com efeito condicional significativa ( $p < 0.05$ ). .....	40
Figura 16 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para Bactérias Livres. Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição das razões NT:PT (A) e SSV (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C).....	40
Figura 17 - Análise de Redundância para a assembleia de Arqueas Aderidas (AA). CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). *Variável com efeito condicional significativa ( $p < 0.05$ ). .....	42
Figura 18 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para Arqueas Aderidas (AA). Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição do NT (A) e pH (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C).....	43
Figura 19 - Densidade total e biomassa (estimada por concentração de clorofila <i>a</i> ) fitoplanctônica nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). .....	16
Figura 20 - Abundância relativa (%) das Divisões fitoplanctônicas nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). .....	18
Figura 21 - Riqueza fitoplanctônica e razões NT:PT nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). As setas em vermelho indicam os locais onde a limitação de nitrogênio foi mais severa (razões $\leq 3,2:1$ ) e os valores de riqueza fitoplanctônica foram menores (riqueza $\leq 20$ ) .....	19

Figura 22 - Diversidade fitoplanctônica e valores de salinidade nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C) de estudo. As setas em vermelho indicam os locais onde os valores de salinidade foram maiores ( $\geq 1,9$ ) e a diversidade estimada foi menor ( $\leq 2.1$ )..... 20

Figura 23 - Análise de agrupamento baseada na matriz de similaridade Bray Curtis para os dados de densidade total das espécies descritoras encontradas nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). ..... 21

Figura 24 - Análise de Correspondência Canônica mostrando a variabilidade espacial e temporal da estrutura da assembleia de fitoplâncton nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). NT (Nitrogênio total), Si (Silício Solúvel Reativo) e Sal. (Salinidade)..... 25

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Áreas das bacias de drenagem inferiores dos rios, volumes dos estuários, vazões (descargas fluviais de água no período chuvoso e seco, respectivamente) para os estuários, razões entre as áreas das bacias de drenagem inferiores dos rios e os respectivos volumes estuarinos, médias de precipitação anual, áreas ocupadas por fazendas de camarão e número de habitantes. .... 17
- Tabela 2 - Cargas de nutrientes ( $t \text{ ano}^{-1}$ ) (Nitrogênio (N) e Fósforo (P)) emitidas por fontes naturais para as bacias inferiores dos rios. Entre parênteses a contribuição percentual para a carga total por fontes naturais. .... 17
- Tabela 3 - Cargas de nutrientes ( $t \text{ ano}^{-1}$ ) (Nitrogênio (N) e Fósforo (P)) emitidas por fontes antrópicas para as bacias inferiores dos rios Ceará, Cocó, Pacoti e Pirangi, Ceará, Brasil. Entre parênteses a contribuição percentual para a carga total por fontes antrópicas. .... 16
- Tabela 4 - Médias históricas (1966-2009) e dos anos de 2010 e 2011 de precipitação, evaporação, umidade relativa do ar, temperatura do ar e velocidade do vento em Fortaleza, Ceará. .... 17
- Tabela 5 - Valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis ambientais para os quatro estuários de estudo nos períodos seco e chuvoso. .... 16
- Tabela 6 – Análises de componentes principais para os dados limnológicos dos estuários CE, CO, PAC e PIR. Os eixos 1 e 2 explicaram respectivamente 35,5% e 23,8% da variabilidade total do conjunto de dados. Os valores em destaque representam os maiores valores de correlação ( $R > 0.6$ ) entre cada variável ambiental e os eixos 1 e 2. Ver abreviações na Tabela 5. .... 18
- Tabela 7 - Número de táxons total e exclusivos pertencentes às diferentes Divisões fitoplantônicas dos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). ONI: Organismos não identificados. .... 16
- Tabela 8 - Composição específica dos táxons dominantes, abundantes e pouco abundantes considerando-se a abundância relativa mais alta registrada em um dos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). D: Densidade ( $\times 10^3 \text{ org L}^{-1}$ ); AR: Abundância relativa (%); CRYP: Cryptophyta; BAC: Bacillariophyta; CHL: Chlorophyta; CYA: Cyanophyta; EUG: Euglenophyta ..... 16
- Tabela 9 - Lista dos 65 táxons descritores encontrados nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos Seco (S) e Chuvoso (C). Classificação ecológica: D - Dulcícola; S/E - Salobro e/ou Estuarino (águas Oligohalinas/Mesohalinas); M – Marinho (águas euhalinas e polihalinas); Eu – ambientes eutróficos ..... 16

Tabela 10 - Resultado da Análise de Correspondência Canônica prévia em que o efeito marginal de todas as variáveis foi testado. \*Teste de Monte Carlos (499 permutações, nível de significância  $p < 0,05$ )..... 23

Tabela 11 - Resultado da Análise de Correspondência Canônica em que só as variáveis com efeito marginal significativo foram retidas. .... 25

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	16
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
• Tipos de Estuários.....	18
• Assembleias microbianas planctônicas.....	21
• Estresses que alteram a estrutura das assembleias microbianas em estuários.....	23
• Efeitos do aumento da salinidade.....	24
Estuários positivos.....	24
Estuários negativos (inversos) e de baixo influxo.....	27
• Efeitos da Eutrofização.....	31
• Caracterização das áreas de estudo.....	39
Características gerais.....	39
Aspectos climáticos.....	16
OBJETIVO GERAL.....	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	21
HIPÓTESE:.....	21
Parte 1:.....	22
Regime Hidrológico e Características Ambientais dos estuários1.1 METODOLOGIA.....	22
1.1.1 Coleta de amostras.....	23
1.1.2 Análise da água estuarina.....	26
1.1.3 Cálculo do Índice de Estado Trófico (IET).....	28
1.1.4 Análise de dados.....	28
1.2 RESULTADOS.....	29
1.3 DISCUSSÃO.....	19

• Regime hidrológico .....	19
• Características ambientais .....	20
1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	25
Parte 2: .....	27
Estudo das assembleias de Bacterioplâncton e Arqueoplâncton em estuários de baixo influxo sob estresses antropogênicos .....	27
2.1 METODOLOGIA .....	27
2.1.1 Extração de DNA total das amostras de água e amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) .....	27
2.2.1 Acesso a estrutura das assembleias procarióticas dos estuários por Eletroforese e Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE) .....	28
2.1.3 Análise de dados .....	31
2.2 RESULTADOS .....	33
2.2.1 Riqueza .....	33
2.2.2 Análise de similaridade .....	34
2.2.3 Análise de redundância (RDA) e escalonamento multidimensional (MDS) .....	36
2.3 DISCUSSÃO .....	44
2.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	48
Parte 3: .....	50
Estudo da assembleia de Fitoplâncton em estuários de baixo influxo sob estresses antropogênicos	50
3.1 METODOLOGIA .....	50
3.1.1 Amostragem e preservação das amostras .....	50
3.1.2 Análises quali-quantitativas .....	51
3.1.2 Análise de Dados .....	52
• Abundância relativa .....	52
• Riqueza total .....	52

• Índices de diversidade .....	52
• Análise de similaridade .....	53
• Correlações de Spearman .....	53
• Análise de Correspondência Canônica (ACC).....	54
3.2 RESULTADOS.....	56
3.2.2 Estrutura da assembleia fitoplanctônica .....	56
• Densidade Fitoplanctônica total e Biomassa Fitoplanctônica total.....	16
• Composição Fitoplanctônica e Abundância Relativa (%) .....	18
• Riqueza Fitoplanctônica .....	18
• Diversidade Fitoplanctônica .....	19
• Análise de similaridade .....	20
• Análise de Correspondência Canônica (ACC).....	22
3.3 DISCUSSÃO .....	26
3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
4. CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO .....	31
REFERÊNCIAS .....	32

## INTRODUÇÃO

A zona costeira e em especial os estuários estão sendo submetidos a vários impactos antrópicos, incluindo o recebimento de altas descargas de nitrogênio e fósforo, além de outros poluentes da agricultura, aquicultura e efluentes domésticos e industriais (LACERDA et al., 2008; PAERL, 2006). Estuários de baixo influxo localizados em regiões sob o clima árido, semi-árido e mediterrâneo são também susceptíveis a hipersalinização de suas águas e solo (LARGIER, 2010). Em estuários do Estado do Ceará (Nordeste do Brasil), onde o clima é predominantemente semi-árido, a hipersalinização é sazonal e pode ocorrer durante período de forte déficit hidrológico. Por causa do maior tempo de residência da água, os estuários de baixo influxo são mais susceptíveis a hipersalinização, mas também a problemas de qualidade de água (LARGIER et al., 1997; VALLE-LEVISON, 2010).

A comunidade pelágica estuarina inclui as assembleias de bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton, as quais desempenham papéis chaves nas teias tróficas pelágicas e nos ciclos biogeoquímicos (COTNER; BIDDANDA, 2002; FENCHEL, 2008; GYPENS et al., 2014; KARL, 2014), sendo de extrema importância para o fluxo da matéria orgânica do ambiente terrestre para o oceano (DAFNER; WANGERSKY, 2002; MUKHERJEE; RAY, 2012; PAVÉS et al., 2014; RAYMOND e BAUER, 2000).

A maioria dos estudos em ambientes marinhos e estuarinos focaliza o fitoplâncton (e.g. BURFORD et al., 2012; COSTA; HUSZAR; OVALLE, 2009), enquanto a dinâmica do bacterioplâncton e arqueoplâncton em ambientes estuarinos e marinhos tropicais (e.g. GREGORACCI et al., 2012; SILVEIRA et al., 2013; VIEIRA et al. 2007) e subtropicais (e.g. HEWSON; FUHRMAN, 2004; LIU et al., 2011; ZHANG et al., 2007; ZHANG et al., 2009) é ainda pouco conhecida, quando comparada a ambientes localizados em zonas temperadas (e.g. BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002; CRUMP et al., 1999; CRUMP; BAROSS, 2000; FORTUNATO; CRUMP, 2011). Destaque-se que particularmente com relação ao bacterioplâncton, apenas dois estudos foram feitos em estuários localizados no Nordeste do Brasil (RODRIGUES et al., 2013; SOUSA et al., 2006).

Sabendo que os processos de hipersalinização e eutrofização tendem a ser intensificados em zonas estuarinas ao redor do mundo devido, respectivamente, as mudanças no

nível do mar (XINFENG; JIAQUAN, 2010) e as crescentes descargas de nitrogênio e fósforo em ecossistemas costeiros (SMITH et al., 1999), compreender as respostas das assembleias microbianas em estuários de baixo influxo submetidos a estes processos é de extrema relevância.

Dentro deste contexto, neste trabalho estudaram-se quatro estuários do Ceará, Nordeste do Brasil, nos períodos seco (déficit hidrológico) e chuvoso. Dentre os estuários estudados estão o Cocó e o Ceará, dois estuários urbanos caracterizados pela intensa eutrofização, e o Pacoti e Pirangi, estuários menos urbanizados e caracterizados pela hipersalinização sazonal. Diversas variáveis ambientais foram medidas no intuito de testar a hipótese de que as variações na estrutura das assembleias microbianas nestes quatro estuários estão sendo influenciadas por diferenças nos níveis de salinidade e concentrações de nutrientes.

Para tanto, este trabalho foi dividido em três partes. A primeira parte trata da caracterização ambiental de cada um dos estuários quanto aos seus regimes hidrológicos e demais variáveis físico-químicas. A segunda parte é dedicada ao estudo das assembleias de bacterioplâncton e arqueoplâncton e suas variações em função das variáveis ambientais medidas. A terceira parte versa sobre a estrutura da assembleia de fitoplâncton nos quatro estuários e sua variação em função das variáveis ambientais.

No final do trabalho são destacadas as principais contribuições do estudo.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- **Tipos de Estuários**

Estuários são ecossistemas de transição entre o continente e o oceano, caracterizados pela mistura da água doce com a água marinha. Estão entre os ambientes mais produtivos do planeta e possuem um papel de extrema relevância na manutenção da diversidade aquática, sendo áreas vitais de alimentação e desenvolvimento de muitas espécies dulcícolas e marinhas. Além disso, são ecossistemas onde ocorrem muitos processos biogeoquímicos importantes, destacando-se dentre estes a retenção, a ciclagem e o transporte de nutrientes e matéria orgânica (BAUER; BIANCHI, 2011; MCKEE; EYRE; HOSSAIN, 2000; MIDDELBURG; HERMAN, 2007; VAN DER ZEE; ROEVROS; CHOU, 2007; YAO et al., 2014). Os estuários também possuem grande importância socioeconômica, suportando muitas das maiores cidades e portos (VALLE-LEVINSON, 2010).

Recentemente, a ocorrência da condição de hipersalinidade em estuários foi enfatizada por POTTER et al. (2010), os quais revisaram a definição clássica de PRITCHARD (1967), modificada por DAY (1980)<sup>1</sup>. Segundo Potter et al. (2010): “Um estuário é um corpo d’água costeiro parcialmente fechado que está permanentemente ou periodicamente aberto para o mar, e que recebe, pelo menos, periodicamente água da descarga de um rio (s), e assim, enquanto a sua salinidade é tipicamente menor do que a da água do mar natural e varia temporalmente e ao longo de seu comprimento, pode se tornar hipersalino em regiões em que a perda de água por evaporação é alta e as entradas de água doce e das marés são insignificantes”.

A condição de hipersalinidade (salinidade maior que a do oceano) ocorre, portanto, em estuários onde as perdas de água doce devido à evaporação excedem as entradas de água doce pela precipitação e descarga fluvial. Estuários que apresentam esta condição são encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais e podem ser classificados em dois tipos: estuários negativos (inversos) e de baixo influxo (VALLE-LEVINSON, 2010).

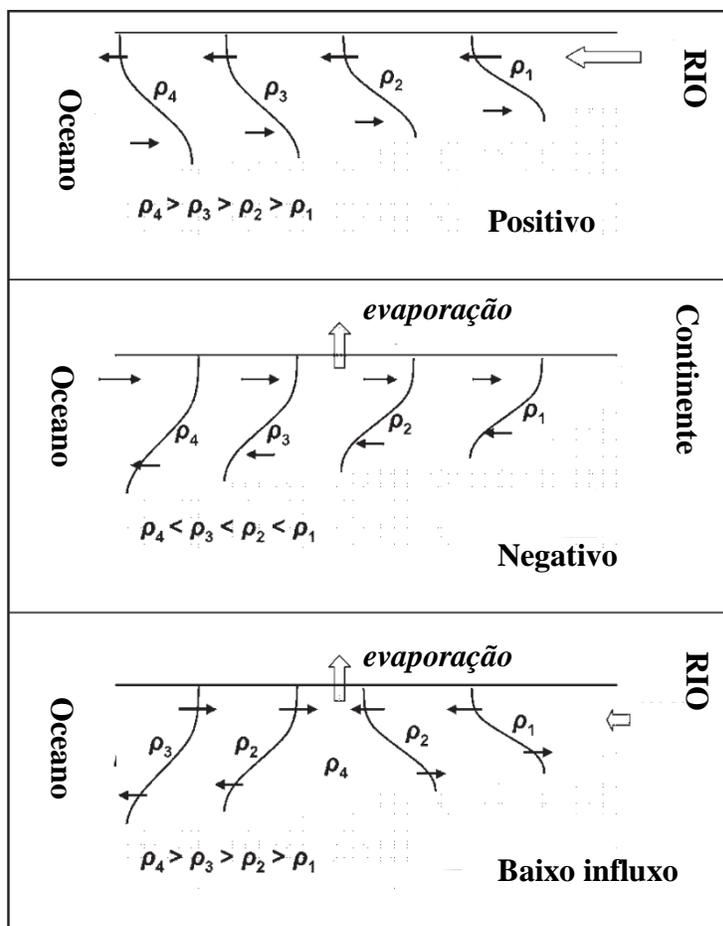
---

<sup>1</sup> Segundo a definição de estuário de Pritchard (1967) modificada por Day (1980) um estuário é um corpo de água costeiro semifechado, que possui permanentemente ou periodicamente uma ligação livre com o mar aberto e no interior do qual, a água do mar é mensuralmente diluída pela água doce proveniente da drenagem terrestre.

Por outro lado, os estuários positivos são aqueles de regiões temperadas, clássicos, nos quais as entradas de água doce pela descarga fluvial, chuva e derretimento de gelo excedem as perdas de água doce pela evaporação e congelamento. Nestes estuários a salinidade não excede a encontrada no oceano, havendo um decréscimo da mesma em direção ao continente devido à diluição da água do mar pelas entradas de água doce (PRITCHARD, 1967; VALLE-LEVINSON, 2010) (Figura 1).

Em estuários negativos o aporte de água doce pela descarga fluvial é escasso ou inexistente e a variação longitudinal da salinidade é inversa à encontrada nos estuários positivos, ou seja, aumenta em direção ao continente (Figura 1). Estuários de baixo influxo diferenciam-se dos negativos por possuírem uma pequena influência da descarga fluvial (da ordem de poucos  $\text{m}^3/\text{s}$ ). Neste tipo de estuário, durante o período seco ou estação quente, pode-se observar devido à alta evaporação uma zona de salinidade máxima dentro do estuário (Figura 1). Assim, pelo menos durante o período de déficit hidrológico (evaporação > precipitação), os estuários de baixo influxo podem como os estuários negativos, apresentar a condição de hipersalinidade em alguma de suas porções (VALLE-LEVINSON, 2010) (Figura 1).

Figura 1 - Tipos de estuário com base no balanço de água. Estuários de baixo influxo possuem um plugue de sal.



Fonte: Valle-Levinson (2010).

- **Assembleias microbianas planctônicas**

Os micro-organismos aquáticos incluem os vírus e uma grande variedade de micro-organismos unicelulares (e.g. arqueas, bactérias, fungos e protistas autotróficos e mixotróficos), que possuem geralmente entre 0,02 e 200  $\mu\text{m}$  (SHERR; SHERR, 2008). Em ecossistemas aquáticos três assembleias microbianas são particularmente importantes: o fitoplâncton, o bacterioplâncton e o arqueoplâncton.

O fitoplâncton, principal responsável pela produtividade primária em estuários, é uma assembleia diversa de micro-organismos fotossintetizantes (e.g. cianobactérias, diatomáceas, clorofíceas e dinoflagelados), que variam em tamanho celular, morfologia, motilidade, fisiologia e potencial tóxico (PAERL; JUSTIC, 2013).

O bacterioplâncton é formado por bactérias planctônicas heterotróficas, fotoautotróficas e quimioautotróficas. As bactérias heterotróficas são os micro-organismos mais abundantes em ecossistemas aquáticos e desempenham papéis fundamentais na assimilação de carbono orgânico dissolvido e na sua transferência para os níveis tróficos superiores, assim como na solubilização de detritos orgânicos particulados (ATLAS; BARTHA, 1998; FENCHEL et al., 2008; NAGATA, 2008).

Por décadas a maioria dos estudos foi focada apenas no bacterioplâncton, uma vez que se pensava que as arqueas eram restritas a ambientes extremos. Todavia, avanços nas técnicas de biologia molecular permitiram identificar que parte dos procariotos vivendo nas colunas d'água oxigenadas de ambientes marinhos, costeiros e de água doce consistem de arqueas planctônicas não extremófilas que compõem o arqueoplâncton (CRUMP e BARROS, 2000; DeLONG, 1992; HOLLIBAUGH et al., 2011; SMITH et al., 2014). Desta forma, como o fitoplâncton e o bacterioplâncton, o arqueoplâncton pode desempenhar papéis fundamentais nos ciclos biogeoquímicos em ecossistemas aquáticos, em especial do carbono e do nitrogênio (ATLAS; BARTHA, 1998; FALKOWSKI, 1994; KIRCHMAN, 2008; SMITH et al., 2014).

Na maioria dos ecossistemas aquáticos o bacterioplâncton e o arqueoplâncton podem ser separados em duas frações: micro-organismos que vivem livres na coluna d'água e aqueles que vivem aderidos as partículas em suspensão. Sabendo que os estuários e os rios normalmente contêm altas concentrações de partículas em suspensão, os procariotos aderidos às partículas

tendem a ser maiores e mais metabolicamente ativos que os de vida livre (GROSSART et al., 2007; LYONS e DOBBS, 2012). Filogeneticamente os procariotos presentes nestas duas frações podem diferir em um mesmo local (ACINAS; ANTÓN; RODRÍGUEZ-VALERA, 1999; BIDDLE; FLETCHER, 1995; CRESPO et al., 2013; CRUMP; ARMBRUST; BAROSS, 1999), sendo que os possíveis mecanismos que determinam estas diferenças parecem depender da disponibilidade de matéria orgânica lábil nas partículas em suspensão (HOLLIBAUGH; WONG; MURRELL, 2000). De acordo com Hollibaugh, Wong e Murrell (2000) quando as partículas são predominantemente minerais há maior interconversão entre a fração livre e aderida. Quando as partículas são essencialmente orgânicas, a composição de espécies tende a diferir entre as duas frações.

- **Estresses que alteram a estrutura das assembleias microbianas em estuários**

Reconhecidamente, dois tipos de estresses ameaçam os estuários: o incremento nas concentrações de nutrientes e matéria orgânica (DE JONGE; ELLIOTT; ORIVE, 2002; RABALAIS, 2009) e o aparecimento da condição de hipersalinidade em decorrência do déficit de água doce (LARGIER, 2010). O incremento nas concentrações de nutrientes pode levar a consequências altamente indesejáveis como a depleção de oxigênio, a morte de peixes e a ocorrência de florações de micro-organismos tóxicos (FLEMER; CHAMP, 2006). Por sua vez, o aparecimento da condição de hipersalinidade em uma determinada porção do estuário pode além de modificar o padrão de circulação estuarina, alterar a distribuição espacial dos organismos ao longo do mesmo (FLEMER; CHAMP, 2006). Isto pode ocorrer seja por efeitos diretos como o estresse osmótico (OREN, 2001) ou por mudanças físico-químicas na coluna d'água (CHEN; LI; PAN, 2004; HEDGES; KEIL, 1999; LARGIER, HOLLIBAUGH; SMITH, 1997).

Dentre os membros da comunidade biológica passíveis de serem alterados por esses estresses ambientais destacam-se as assembleias de bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton. Estes podem ser utilizados como excelentes indicadores das condições ambientais devido aos seus ciclos de vida curtos, e também, porque participam ativamente de diversos ciclos biogeoquímicos em ambientes marinhos e estuarinos (ARNDT et al., 2011; BERNHARD; BOLLMANN, 2010; FALKOWSKI, 1994; KIRCHMAN, 2008; SHERR; SHERR, 2008; SMITH et al., 2014). Além disso, mudanças nos atributos qualitativos e quantitativos destas assembleias podem influenciar mudanças funcionais no ambiente, incluindo alterações no fluxo de matéria, balanço de oxigênio, alterações na cadeia trófica e perda da diversidade de macro-organismos (ENGEL et al., 2014; EGGERS et al., 2014; MASÓ; GARCÉS, 2006; NOGALES et al., 2011; WETZ et al., 2011).

- **Efeitos do aumento da salinidade**

*Estuários positivos*

A salinidade é considerada um modulador da distribuição horizontal e vertical da microbiota pelágica em estuários (e.g. BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002; FORTUNATO; CRUMP, 2011; LANCELOT; MUYLAERT, 2011). A maioria do conhecimento sobre os efeitos da salinidade sobre a microbiota estuarina é derivada, no entanto, de estudos realizados em estuários positivos.

Reconhecidamente, o que se vem demonstrando é que não é uma tarefa fácil avaliar o papel isolado da salinidade (estresse osmótico) sobre a composição e o funcionamento das assembleias de bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton em estuários. Devido à natureza dinâmica deste ambiente, vários outros fatores que influenciam a dinâmica destas assembleias e que variam inclusive sazonalmente ao longo do gradiente de salinidade estuarino devem ser levados em consideração.

Dentre estes fatores citam-se as condições hidrológicas (e.g. condições de mistura e o tempo de residência da água e das partículas), a temperatura, as concentrações de oxigênio, nutrientes, matéria orgânica, sólidos suspensos e a disponibilidade de luz no caso do fitoplâncton (BERNHARD et al., 2005; BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002; COTTRELL; KIRCHMAN, 2000; CRUMP et al., 2004; HENRIQUES et al., 2006; KAN et al., 2006; LANCELOT; MUYLAERT, 2011; REVILLA et al., 2000; STEPANAUSKAS et al., 2003). Além disso, variações ao longo do gradiente estuarino nos atributos quali-quantitativos do zooplâncton/protozooplâncton e virioplâncton, os quais atuam como controladores do crescimento populacional destas assembleias, também devem ser consideradas (BORDALO; VIERIA, 2005; CUEVAS et al., 2004; KAN et al., 2006; KHALIFA; SABAE, 2012; LANCELOT; MUYLAERT, 2011; PARVEEN et al., 2011; STRAYER et al., 2008).

Neste sentido, cita-se o trabalho de Barrera-Alba et al. (2009) que estudando as assembleias de bacterioplâncton e fitoplâncton ao longo de um gradiente de salinidade no sistema estuarino Iguape-Cananéia (São Paulo/Brasil) observaram que enquanto a produção primária fitoplanctônica foi negativamente correlacionada com a salinidade, a produção

bacteriana foi positivamente. Isto ocorreu porque nas porções mais internas e de menor salinidade do estuário o fitoplâncton foi limitado pela disponibilidade de luz devido ao aporte fluvial de material em suspensão, enquanto o bacterioplâncton foi estimulado pela maior quantidade de nutrientes inorgânicos e matéria orgânica. Dentro deste contexto, Lionard et al. (2005) demonstram em experimentos de laboratório que a disponibilidade de luz, ao lado da salinidade, é um fator que contribui para a mudança na composição do fitoplâncton ao longo do gradiente fluvio-estuarino.

Outros estudos mostram, no entanto, que as densidades/biomassa e taxas de produção fitoplanctônica e bacteriana diminuem com o aumento da salinidade, acompanhando o declínio nas concentrações de nutrientes inorgânicos e matéria orgânica (ALMEIDA; CUNHA; ALCÂNTRA; 2002; ORTEGA-RETUERTA et al., 2013; ZHOU et al., 2009).

Quanto ao padrão biogeográfico para composição bacteriana (Filo Proteobacteria) ao longo do gradiente de salinidade em estuários positivos vem se observando que, geralmente, as abundâncias relativas de Alpha-Proteobacteria aumentam com a salinidade, enquanto a de Beta-Proteobacteria diminui (e.g. BOUVIER e DEL GIORGIO, 2002; COTTRELL e KIRCHMAN, 2003; KIRCHMAN et al., 2005; HENRIQUES et al., 2006; HERLEMANN et al., 2011; ORTEGA-RETUERTA et al., 2013). O filo Actinobacteria também tem sido relatado como o mais abundante nas porções fluviais (KIRCHMAN et al., 2005), enquanto Gamma-Proteobacteria domina nas porções salobro-marinhas (HENRIQUES et al., 2006).

Salienta-se que este padrão de variação ao longo do gradiente de salinidade estuarino nem sempre é linear (BORDALO; VIERIA, 2005), pois podem ocorrer picos no crescimento de determinados grupos bacterianos em áreas particulares dentro do estuário. Estas áreas são, por exemplo, a zona de turbidez máxima onde o tempo de residência das partículas é maior, ou outras onde se observa também picos nas concentrações de nutrientes e matéria orgânica. Bouvier e Del Giorgio (2002) observaram maior abundância relativa do grupo Cytophaga-Flavobacterium na zona de turbidez máxima e picos esporádicos de Gamma-Proteobacteria ao longo do gradiente estuarino, provavelmente, relacionados a particularidades locais.

Dentro deste contexto, para o bacterioplâncton, Henriques et al. (2006) mostraram que no estuário Ria de Aveiro (Portugal) apenas 26% da variação espacial e temporal na composição de bacterioplâncton foi explicada pelas variações na salinidade e temperatura

(HENRIQUES et al., 2006). Isso ocorreu porque embora certos grupos (e.g. Beta-Proteobacteria) tenham a sua distribuição restringida dentro do estuário por causa do aumento da salinidade, outros (e.g. Bacteroidetes) frequentemente não variam de forma sistemática com a salinidade (HENRIQUES et al., 2006).

Quanto ao fitoplânctônica, nas zonas de menores salinidades os grupos mais abundantes costumam ser as diatomáceas, cianobactérias e clorofíceas, enquanto que nas zonas de salinidades intermediárias e salinas propriamente ditas costumam ser as diatomáceas, além de dinoflagelados e outros flagelados (LACERDA et al., 2004; LEÃO LEÃO et al., 2008; LANCELOT; MUYLAERT, 2011). As diatomáceas são também associadas a áreas de maior turbulência e turbidez, enquanto os organismos flagelados e cianobactérias a águas mais calmas (BARBOSA; CHÍCARO, 2011; LANCELOT; MUYLAERT, 2011).

Tanto para o fitoplâncton como para o bacterioplâncton estudos vem mostrando que a diversidade não varia linearmente com o gradiente de salinidade fluvio-estuarino. Como a composição do bacterioplâncton e fitoplâncton nas porções intermediárias do estuário é formada por uma mistura de táxons fluviais, marinhos e também estuarinos, a diversidade tende a ser maior nestas áreas (e.g. HEWSON; FUHRMAN, 2004; MUYLAERT; SABBE; VYVERMAN, 2009). Todavia, é importante dizer que apenas poucos táxons apresentam picos de densidade populacional nestas áreas, já que a maioria deles é alóctone. Pelo menos para o fitoplâncton, é bem consolidado que a composição no estuário é então formada por poucas espécies que ocorrem ao longo de todo o gradiente de salinidade do estuário, sendo a maioria realmente adaptada a altas, médias ou baixas salinidades (LANCELOT; MUYLAERT, 2011).

Por sua vez, para o arqueoplâncton são ainda poucos os trabalhos em estuários que incluem esta assembleia. Todavia, o que tem se observado é que, pelo menos em estuários positivos, a sua contribuição para a abundância total de procariotos planctônicos é pequena, sendo estimada em torno de 3% (BOUVIER e DEL GIORGIO, 2002). O alto dinamismo da coluna d'água nos estuários, aliado a um relativo baixo tempo de residência da água parecem ser as razões que impossibilitam o estabelecimento de populações de arqueias tipicamente estuarinas (CRUMP; BAROSS, 2000). Assim, devido às baixas taxas de crescimento das arqueias, a diversidade deste grupo em estuários (coluna d'água) é essencialmente formada por espécies

alóctones, derivadas do aporte fluvial e marinho, além daquelas que são ressuspensas do sedimento (CRUMP; BAROSS, 2000; BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002).

Neste sentido, é importante dizer que o estabelecimento de populações de bacterioplâncton e fitoplâncton tipicamente estuarinas também depende de espécies com taxas específicas de crescimento líquido (isto é, balanço entre as suas taxas de crescimento e as perdas por lise, predação e/ou sedimentação) superiores ao tempo de residência da água, o qual é em muitos estuários influenciado pela descarga fluvial (CRUMP et al., 2004; BARBOSA e CHÍCARO, 2011; LANCELOT; MUYLAERT, 2011). Por exemplo, para o fitoplâncton o desenvolvimento de florações ocorre geralmente em condições de baixa descarga fluvial e, conseqüente, maior tempo de residência da água (ARNDT, VANDERBORGHT; REGNIER, 2007; CLOERN et al., 1983; HOWARTH et al., 2000). Para o bacterioplâncton, Crump, Armbrust e Baross (1999) observaram que a presença de bactérias aderidas encontradas exclusivamente na porção estuarina do Rio Columbia (USA) foi possível porque o tempo de residência das partículas (2 a 4 semanas) foi maior que o tempo de residência da água (1 a 2 dias), possibilitando tempo suficiente para o desenvolvimento de uma assembleia estuarina diferente das áreas fluvial e marinha adjacentes.

Desta forma, em estuários positivos o grande estresse causado pela hidrodinâmica estuarina, aliado a mudanças nas condições de turbidez e de outras variáveis físico-químicas e biológicas podem ser tão ou mais importantes que o nível de salinidade *per se* para explicar as variações nos atributos quali-quantitativos das assembleias microbianas planctônicas ao longo do gradiente estuarino (e.g. BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002; CRUMP; ARMBRUST; BARROS, 1999; CRUMP et al., 2004; HENRIQUES et al., 2006; ORTEGA-RETUERTA et al., 2013; REVILLA et al.; 2000).

### **Estuários negativos (inversos) e de baixo influxo**

Embora a condição de hipersalinidade seja uma realidade em inúmeros estuários são ainda poucos os estudos a documentarem os efeitos do aumento da salinidade sobre as teias tróficas microbianas nestes ambientes. Segundo Largier, Hollibaugh e Smith (1997) os estuários de baixo influxo podem ser os tipos de estuários mais comuns e também os mais negligenciados.

Como exemplo de casos documentados para estuários negativos citam-se o estuário St. Lucia e o estuário Kariega, ambos localizados na África do Sul e o estuário do Rio Saloum, localizado no Senegal (Oeste da África). No estuário St. Lucia as condições moderadas de hipersalinidade (sal. 70-90) registradas entre os anos de 1969 e 1971 levaram a diversas mudanças nas relações tróficas dentro do estuário, nomeando-se dentre estas: uma floração de dinoflagelados; a dominância de larvas de Chironomidae<sup>2</sup> e copépodes harpacticóides em amostras bentopelágicas; uma explosão populacional de aranhas aéreas; e a perda da maioria do plâncton presente, com a dominância de poucas espécies halofílicas (GRINDLEY; HEYDORN, 1970<sup>3</sup>; GRINDLEY, 1982<sup>4</sup>; GRINDLEY, 1981<sup>5</sup> *apud* CARRASCO; PERISSINOTTO, 2012).

Outro estudo mais recente realizado ainda no estuário St. Lucia registrou mudanças ocorridas na comunidade biológica durante um ciclo anual (Maio/2010 a Jun/2011) no qual a salinidade variou de 43,5 a mais de 200 (CARRASCO; PERISSINOTTO, 2012). Na comunidade biológica planctônica investigaram-se o zooplâncton e o fitoplâncton (incluindo *Cyanobacteria*). O incremento da salinidade conduziu a uma diminuição na abundância, biomassa e riqueza do zooplâncton, sendo este grupo ausente durante a fase de intensa hipersalinização (sal. >130). A alta biomassa fitoplanctônica mesmo durante a fase de hipersalinização (CARRASCO; PERISSINOTTO, 2012) esteve relacionada a florações da cianobactéria *Cyanothece* (MUIR; PERISSINOTTO, 2011). Carrasco e Perissinotto (2012) concluíram, de forma geral, que no estuário St. Lucia a intensificação do processo de hipersalinização vem alterando as comunidades biológicas ao longo do tempo, e que a biota residente neste local é formada por espécies capazes de resistir às mudanças de salinidade através de adaptações fisiológicas ou mesmo formando esporos de resistência.

---

<sup>2</sup> Família de mosquitos da ordem Díptera que colonizam todos os ambientes aquáticos como rios, riachos, lagos, fitotelmas de plantas, poças de água temporárias, estações de tratamento de esgoto entre outras.

<sup>3</sup> Grindley JR, Heydorn AEF (1970) Red water and associated phenomena in St. Lucia. S Afr J Sci 66(7): 210–213.

<sup>4</sup> Grindley JR (1982) The role of zooplankton in the St. Lucia estuary system. In: Taylor RH, ed. St. Lucia Research Review Natal Parks Board, Pietermaritz-burg. 256 p.

<sup>5</sup> Grindley JR (1981) Estuarine plankton. In: Day JH, ed. Estuarine Ecology. Estuarine ecology with particular reference to southern Africa. Cape Town: AA Balkema. pp 117–146.

O estudo no estuário Kariéga foi realizado por MATCHER et al. (2011) e envolveu a avaliação da diversidade microbiana ao longo de um gradiente de salinidade que variou de 35 (baixo estuário) a 42 (alto estuário). Observa-se, portanto, que o nível de hipersalinidade observado foi leve, mas mesmo assim com reflexos na composição e diversidade bacteriana. É interessante notar que enquanto em estuários positivos a maior abundância relativa da Classe Alpha-Proteobacteria é registrada no baixo estuário, onde a salinidade é maior, no estuário negativo Kariéga houve uma inversão neste padrão. Ou seja, devido à maior salinidade na parte superior do estuário Kariéga, Alpha-Proteobacteria foi mais bem representada nesta área. Houve a ascensão dos grupos Gamma-Proteobacteria e Bacteroidetes e a diminuição da diversidade total de bactérias com o aumento da salinidade. Estes autores registraram também maiores valores de clorofila *a* no alto estuário, sendo a composição fitoplanctônica nesta área diferente da registrada no baixo estuário. Este último resultado sugere que a composição do fitoplâncton eucarioto na área de maior salinidade não foi formada por remanescentes marinhos, e sim, por espécies únicas adaptadas a esta condição de hipersalinidade incipiente. As mais baixas concentrações de clorofila *a* no baixo estuário se deve ao baixas concentrações de nutrientes devido ao baixo influxo fluvial. As clorófitas dominaram no estuário superior, apesar das mais altas salinidades, enquanto as diatomáceas foram prevalentes na foz do estuário.

BETTAREL et al. (2011) estudaram a teia trófica microbiana ao longo de um gradiente descontínuo de salinidade em sistemas localizados no Senegal (Oeste da África). Dentro do gradiente de salinidade foram incluídos dois estuários: o estuário positivo do Rio Senegal (sal. 10, 20 e 30) e estuário do Rio Saloum (sal. 40, 60, 80, 100 e 120) que se tornou negativo desde a década de 1960. Interessantemente, as densidades de fitoplâncton e heterotróficos nanoflagelados decresceram até a salinidade de 50, mas aumentaram em seguida até a salinidade de 120, sugerindo que como no caso do estudo de MATCHER et al. (2011), o aumento da salinidade levou ao surgimento de espécies altamente adaptadas a esta nova condição de hipersalinidade. Com o gradiente crescente de salinidade a densidade de vírus aumentou acompanhando as densidades de procariotos que, por sua vez, foram menos ativos. A composição de procariotos foi dominada por bactérias, em especial pelas Classes Alpha-Proteobacteria na salinidade 30 e Gamma-Proteobacteria na salinidade 80. As arqueias representaram menos de 10% da densidade total nestes níveis de salinidade.

Estes resultados mostram que o aumento na salinidade nos estuários tornando-os hipersalinos devem ser melhor estudados, já que alterações na teia trófica microbiana incluindo uma mudança na composição, densidade e diversidade de espécies pode ocorrer. Reforçando esta necessidade é importante dizer que estudos realizados em outros ambientes hipersalinos (e.g. salinas, CASAMAYOR et al., 2002; PEDRÓS-ALIÓ et al., 2000; GASOL et al., 2004; ELLOUMI et al., 2009; lagoas costeiras hipersalinas, CLEMENTINO et al., 2008; e lagos hipersalinos, WU et al., 2006) coincidem ao mostrar que ao longo do gradiente crescente de salinidade observa-se um decréscimo na diversidade filogenética e metabólica das assembleias microbianas planctônicas, sugerindo assim uma simplificação da teia trófica microbiana. Além disso, os macro-organismos tendem a desaparecer, havendo por outro lado, um aumento na densidade de micro-organismos, especialmente na densidade de procariotos e de raros eucariotos adaptados a condições extremas de salinidade (PEDRÓS-ALIÓ et al., 2000).

- ***Efeitos da Eutrofização***

Segundo a definição operacional de NIXON (1995) a eutrofização é um processo de aumento na quantidade de matéria orgânica em um ecossistema. A matéria orgânica ocorre tanto na forma particulada como na forma dissolvida, sendo definida como autóctone quando é gerada dentro sistema e alóctone quando se origina fora do sistema. A maioria da matéria orgânica autóctone em ecossistemas aquáticos é produzida por produtores primários (fitoplâncton, macroalgas e macrófitas) e pela regeneração bentônica (PINCKNEY et al., 2001). Vários fatores podem aumentar os teores de matéria orgânica nos ecossistemas, sendo o mais comum o incremento na biomassa de produtores primários devido ao aumento nas concentrações de nutrientes, em especial o nitrogênio (N) e fósforo (P). Estes nutrientes são advindos da agricultura, aquicultura, efluentes domésticos e industriais (PAERL et al., 2002; PAERL et al., 2006; LACERDA et al., 2008).

O principal elemento químico da matéria orgânica é o carbono (C) e, portanto, as taxas de eutrofização são expressas em unidades de C (grama) por área ( $m^2$ ) por unidade de tempo (ano). De acordo com o suprimento de matéria orgânica, os ecossistemas aquáticos costeiro-marinhos podem então ser classificados em oligotróficos ( $<100 \text{ g C m}^{-2}\text{y}^{-1}$ ), mesotróficos ( $100\text{-}300 \text{ g C m}^{-2}\text{y}^{-1}$ ), eutrófico ( $301\text{-}500 \text{ g C m}^{-2}\text{y}^{-1}$ ) e hipereutrófico ( $>500 \text{ g C m}^{-2}\text{y}^{-1}$ ) (NIXON, 1995).

De forma geral, os potenciais efeitos causados pelo aumento excessivo nas concentrações de nitrogênio e fósforo em lagos, reservatórios, rios, estuários e oceanos coincidem (Quadro 1, SMITH; SCHINDLER, 2009). No entanto, devido à natureza mais dinâmica dos estuários as mudanças na teia trófica microbiana pelágica em função do maior suprimento de nutrientes irão depender de fatores hidrológicos como o influxo fluvial e a entrada da maré, da turbulência da água, da disponibilidade de luz, da morfologia e do volume estuarino, além de fenômenos estocásticos como secas e furacões (PAERL et al., 2006; BRICKER et al., 2008; SHARP et al., 2009).

Quadro 1 - Efeitos potenciais de eutrofização cultural, causadas por entradas excessivas de fósforo e nitrogênio em lagos, reservatórios, rios e oceano.

<b>Efeitos da eutrofização</b>	
•	Aumento da biomassa de fitoplâncton e macrófitas
•	Aumento da biomassa dos consumidores
•	Mudança na composição do fitoplâncton (incluindo cianobactérias) com o aparecimento de florações de espécies tóxicas ou potencialmente nocivas
•	Aumento de florações de zooplâncton gelatinoso (ambientes marinhos)
•	Aumento na biomassa de algas bentônicas e epibentônicas
•	Mudança na composição de macrófitas
•	Perdas de recifes de corais
•	Aumento na incidência de morte de peixes
•	Redução na diversidade biológica
•	Decréscimo na transparência da água
•	Problemas na qualidade da água potável como mau gosto e cheiro
•	Depleção de oxigênio
•	Decréscimo no valor estético dos corpos d'água

Fonte: Smith e Schindler (2009).

Reconhecidamente, os efeitos da eutrofização sobre as teias tróficas microbianas pelágicas são centradas no fitoplâncton eucarioto e procarioto (Filo Cyanobacteria, Domínio Bacteria) (SMITH, 2006). Isso porque a ocorrência de florações de algas e cianobactérias nocivas é um dos maiores riscos associados à eutrofização (ANDERSON; GLIBERT; BURKHOLDER, 2002; HEISLER et al., 2008).

Outro grande risco é o desenvolvimento da condição de hipoxia ( $\leq 2 \text{ mg l}^{-1}$  de oxigênio dissolvido) ou anoxia (nenhum oxigênio detectado), devido a decomposição (respiração) desta grande quantidade de matéria orgânica pelos procariotos heterotróficos (CAPRIULO et al., 2002; CHAI et al., 2006; TEIRA et al., 2009). O aumento no suprimento de nutrientes estimula, portanto, a produção primária fitoplantônica e também a produção e a respiração dos procariotos heterotróficos.

O acoplamento entre estas duas produções ocorre tanto porque os procariotos heterotróficos atuam decompondo a matéria orgânica particulada detritívora derivada da morte do fitoplâncton (CAPRIULO et al., 2002; TADA et al., 2012), como porque os procariotos heterotróficos preferencialmente assimilam o carbono orgânico dissolvido (COD) exsudado ou liberado pelo fitoplâncton (COD autóctone) através da lise celular, o qual é de melhor qualidade

(menos refratário)<sup>6</sup> que aquele de origem alóctone (CAPRIULO et al., 2002; KRITZBERG et al., 2005; DANERI et al., 2012).

Salienta-se, no entanto, que naqueles estuários em que a maior parte do carbono (e nutrientes inorgânicos, N e P) é de origem alóctone, isto é, derivada do aporte fluvial ou outras fontes externas, é comum que as produções fitoplanctônica e bacteriana sejam fracamente acopladas ou mesmo desacopladas (FINDLAY et al., 1991; SCHULTZ; WHITE; DUCKLOW, 2003; BARBOSA; CHÍCHARO, 2011).

Continuando falando sobre os efeitos do aumento nas concentrações de nutrientes sobre as teias tróficas microbianas, diz-se que o zooplâncton e o protozooplâncton, predadores do fitoplâncton e dos procariotos heterotróficos, respectivamente, são pelo efeito da cascata trófica também estimulados (CAPRIULO et al., 2002; VERITY; BORKMAN, 2010).

O zooplâncton e o protozooplâncton possuem um papel chave como reguladores das assembleias de fitoplâncton e bacterioplâncton, seja através do controle populacional (FONTES; ABREU, 2012) ou pela remineralização de nutrientes na camada pelágica superficial (FENCHEL, 2008). A remineralização de nutrientes também ocorre pela lise celular de todos estes membros desta teia trófica microbiana pelos vírus (FENCHEL, 2008; RIEMANN; HOLMFELDT; TITELMAN, 2009; COLOMBET; SIME-NGANDO, 2012), que naturalmente, aumentam em abundância juntamente com os seus hospedeiros (SCHAPIRA et al., 2010; DANOVARO et al., 2011).

Outra consequência relevante do aumento nas concentrações de N e P tanto em estuários, como em outros ecossistemas aquáticos, é a alteração nas razões molares de Si: N: P (PAERL, 1997; CUGIER et al., 2005), que se distanciam daquelas razões ótimas para o crescimento fitoplanctônico que é 16Si: 16N: 1P (REDFIELD, 1958; HARRISON et al., 1977). Mudanças nestas razões indicam a limitação de algum destes nutrientes<sup>7</sup>, pelo menos para o crescimento de alguns grupos de fitoplâncton, o que é demonstrado pela alteração na composição de espécies (TURNER et al., 2003; FEKI et al., 2013). Por exemplo, a limitação de sílica leva a

---

<sup>6</sup> Considera-se moléculas refratárias aquelas mais complexas e de maior peso molecular, cuja decomposição é lenta (Carson e Ducklow, 1995).

<sup>7</sup> (1) Limitação de nitrogênio: N:P < 16 e N:Si < 1; (2) Limitação de fósforo: N:P > 16 e Si:P > 16; (3) Limitação de sílica: N:Si > 1 e Si:P < 16

uma troca de espécies fitoplanctônicas silicosas por outras não silicosas (BILLEN; GARNIER, 2007; HOWARTH et al., 2011).

Assim, um dos graves problemas associados à escassez relativa da sílica devido ao excesso de nitrogênio e fósforo é o aparecimento de HABs (*Harmful algal blooms* = florações de algas nocivas) (ANDERSON; GLIBERT; BURKHOLDER, 2002; GLIBERT et al., 2010) que incluem algumas espécies de dinoflagelados (MYAT et al., 2012) e outros flagelados (WU et al. 2013), diatomáceas menos silicosas (SCHNETZER et al., 2007), além de cianobactérias (MILLER et al., 2010; PAERL; OTTEN, 2013), as quais são também incluídas dentro desta denominação por questões práticas (PETTERSSON; POZDNYAKOV, 2013).

Como os procariotos heterotróficos também utilizam, além do carbono, formas orgânicas e inorgânicas de N e P (DANOVARO, 1998; BARBOSA; CHICARO, 2011; KIRCHMAN, 1994) aumento nas concentrações destes nutrientes e as variações nas razões N:P também tem o potencial para alterar os seus atributos qualitativos e quantitativos.

Por exemplo, Hitchcock et al. (2010) avaliaram a resposta das assembleias de bacterioplâncton e fitoplâncton a várias adições de carbono orgânico dissolvido (COD) na forma de glucose, com e sem nutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo), em amostras das porções superior a média do estuário Hunter (Austrália), encontrando de forma geral, que as bactérias foram estimuladas pela adição de COD, como mostrado pelo aumento na sua abundância e pelo consumo de oxigênio. A adição de somente nutrientes inorgânicos não estimulou o crescimento do bacterioplâncton heterotrófico, todavia quando colocados em combinação com o COD estimularam ainda mais as bactérias, quando comparado aos tratamentos em que só COD foi adicionado. Interessantemente, a adição de COD sozinho conduziu a uma diminuição na biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*) em relação ao controle, provavelmente devido à competição por nutrientes inorgânicos com o bacterioplâncton, que não estava limitado pelo COD.

Um exemplo de estudo que avaliou de forma mais direta a influência do processo de eutrofização sobre a dinâmica do bacterioplâncton foi o de ZHOU et al. (2011). Os autores estudaram um gradiente de trofia contínuo que foi desde o estuário eutrófico do Rio Pearl até as águas oligotróficas costeiras (Mar da China). As densidades de bacterioplâncton foram significativamente maiores no estuário eutrófico que nas áreas costeiro-oceânicas oligotróficas.

Todavia, as razões entre a biomassa do bacterioplâncton e a de produtores primários (fitoplâncton) diminuiu ao longo do gradiente de trofia crescente, ou seja, do oceano para o estuário, mostrando que a importância relativa destas duas assembleias varia dependendo do estado trófico do ambiente.

De fato, vem se observando que embora com o incremento no estado trófico os procariotos heterotróficos tendam a aumentar em número, a sua importância relativa é ainda menor que a dos produtores primários, que crescem mais rapidamente que os procariotos heterotróficos devido à disponibilidade alta de nutrientes (N e P) (COTNER; BIDDANDA, 2002). Em contrapartida, em ambientes oligotróficos, onde a disponibilidade de nutrientes é pequena, os procariotos que possuem pequenas razões superfície/volume são mais eficientes que o fitoplâncton eucarioto na assimilação de nutrientes, passando a serem eles (os procariotos heterotróficos) a base da teia trófica microbiana (COTNER; BIDDANDA, 2002). Esta ampliação da visão clássica de que os procariotos não são apenas decompositores de matéria orgânica particulada, mas que também atuam como um elo na teia trófica microbiana é o que se conhece como alça microbiana (Figura 2) (AZAM et al., 1983; FENCHEL, 2008).



Bacteroidetes/Chlorobi em E1 e E7 para Gamma-Proteobacteria, Beta-Proteobacteria e Actinobacteria em E34. A salinidade foi correlacionada negativamente com a densidade de *Vibrio* (Gamma-proteobacteria), mas não com a densidade bacteriana total, que foi correlacionada positivamente com as concentrações de ortofosfato e amônia. A correlação negativa entre a densidade bacteriana e a clorofila *a* indicaram que o fitoplâncton e bacterioplâncton podem estar competindo entre si. As razões N:P altas (> 26:1), aliado a avaliação funcional em que um alto número de sequencias relacionadas ao metabolismo do fósforo foi encontrado nas três estações, sugere que estas duas assembleias podem estar competindo pelo fósforo, e que este é o elemento chave para explicar a composição microbiana na Baía de Guanabara.

Embora venha sendo mostrado que a abundância relativa das arqueias na camada superficial dos estuários é pequena quando comparada a de bactérias (CRUMP; BAROSS, 2000; BOUVIER; DEL GIORGIO, 2002), uma hipótese ainda a ser investigada é se o aumento na intensificação do processo de eutrofização poderia aumentar a abundância relativa do arqueoplâncton nestes ambientes. Sabendo que um dos papéis reconhecidos das arqueias no ciclo biogeoquímico do nitrogênio é a oxidação da amônia (SMITH et al., 2014) uma pergunta seria: se o nitrogênio amoniacal predominar sobre as outras formas inorgânicas oxidadas de N (Nitrito e Nitrito) o crescimento de arqueias seria estimulado?

Neste sentido, KIRCHMAN et al. (2007) realizaram um estudo no mar de Chukchi e na Bacia do Canadá do Ártico ocidental e observaram que enquanto a abundância relativa de Crenarchaeota aumentou com as concentrações de amônio a de bactérias não aumentou. Além disso, mostraram que Crenarchaeota foram tão ativas quanto as bactérias na assimilação de polímeros extracelulares das diatomáceas, indicando claramente que as arqueias heterotróficas também podem ter a sua dinâmica relacionada à dos produtores primários, tal como as bactérias heterotróficas.

HERFORT et al. (2007) estudaram a variação das arqueias em função das variáveis ambientais no mar do Norte e também observaram que a abundância de Crenarchaeota foi positivamente correlacionada com as concentrações de amônio, nitrito, nitrito e fósforo indicando a importância de todos estes nutrientes para este grupo.

Quanto à diversidade biológica, diz-se de maneira geral que dentre os efeitos danosos da eutrofização está também o seu decréscimo (HOWARTH, 2008). Todavia, para os procariotos os resultados são controversos, já que em ambientes marinho-costeiros quando as fontes de nutrientes foram efluentes domésticos e industriais houve um aumento na diversidade, enquanto quando a fonte foi a aquicultura houve uma diminuição (ver revisão de NOGALES et al., 2011). Assim sendo, o tipo de poluição é algo que deve ser levado em consideração.

- **Caracterização das áreas de estudo**

### **Características gerais**

A linha de costa do Estado do Ceará estende-se por 573 km, limitando-se a oeste com o estado do Piauí e a leste com o Rio Grande do Norte. No litoral cearense é possível se identificar 17 grandes unidades de planície fluviomarinhas: **Litoral Leste** (Barra Grande, Rio Jaguaribe, Rio Pirangi, Rio Choró e Rio Mal-Cozinhado); **Litoral da Região Metropolitana de Fortaleza** (Rio Pacoti, Rio Cocó, Rio Ceará e Rio São Gonçalo); e **Litoral Oeste** (Rio Curu, Lagamar do Sal, Rio Mundaú, Rio Aracatiaçú, Complexo Estuarino dos Rios Acaraú/Zumbi, Rio Coreaú, Barra dos remédios, Complexo Estuarino dos Rios Ubatuba/Timonha) (IBAMA, 2005).

Os estuários cearenses são na sua maioria, estuários rasos, que apresentam descarga fluvial variável de acordo com o período sazonal do ano. As margens direitas são geralmente mais protegidas, enquanto as margens esquerdas das desembocaduras sofrem intensos processos de abrasão marinha, com migração das desembocaduras em direção oeste (IBAMA, 2005).

No presente estudo foram analisados quatro estuários do litoral cearense, sendo três localizados na região Metropolitana de Fortaleza (Pacoti, Ceará e Cocó) e um na costa leste do Estado do Ceará (Pirangi). No quadro 2 são apresentadas algumas características geoecológicas (localização, principais feições paisagísticas, afluentes litorâneos, atrativos paisagísticos, formas de uso e ocupação do solo, principais impactos ambientais) dos estuários estudados.

Na tabela 1 estão apresentados mais alguns parâmetros descritores das Bacias de drenagem inferiores dos rios: área, volume do estuário, vazão (descarga fluvial de água) para o estuário, razões entre as áreas das bacias de drenagem inferiores dos rios e os seus respectivos volumes estuarinos, precipitação média anual, área ocupada por fazendas de camarão e população humana (LACERDA, 2006; LACERDA et al., 2008; MOLISANI; CRUZ; MAIA, 2006). Nas Tabelas 2 e 3 são mostradas, respectivamente, as estimativas das cargas de nutrientes (Nitrogênio e Fósforo) emitidas por fontes naturais e antrópicas para as bacias inferiores dos rios.

Todos os quatro estuários possuem menores vazões fluviais no período seco, sendo a maioria dos rios do Estado do Ceará regulados por barragens (MOLISANI; CRUZ e MAIA, 2006). Embora as bacias inferiores dos rios Cocó e Ceará sejam as mais urbanizadas e

industrializadas do Estado do Ceará, em todos os estuários estudados as cargas antrópicas de nitrogênio e fósforo excedem as entradas por fontes naturais (LACERDA et al. 2008). Neste sentido, as condições eutróficas ou hipereutróficas já foram previamente registradas nas porções superiores (a montante) dos quatro estuários estudados (MOREIRA, 2005). As áreas de manguezal são ainda abundantes no Ceará e Pacoti e limitadas no Cocó. No Pirangi as áreas de manguezal foram quase completamente desmatadas e ocupadas por fazendas de camarão.

Quadro 2 - Características geoecológicas (localização, principais feições paisagísticas, afluentes litorâneos, atrativos paisagísticos, formas de uso e ocupação do solo e principais impactos ambientais dos estuários estudados.

Município	Distância de Fortaleza/CE	Estuário (Rios)	Principais feições paisagísticas	Afluentes litorâneos	Atrativos paisagísticos	Formas de uso e ocupação do Solo	Principais impactos ambientais
Caucaia e Fortaleza	-	Ceará	Manguezais Salinas	Rio Maranguapinho	Praia Manguezal	Pesca Turismo Residências Salinas	Desmatamento Aterro Poluição Caça e pesca Artificialização Avanço
Fortaleza	-	Cocó	Manguezais Salinas	Rio Coaçu	Praia Manguezal	Pesca Turismo Residências Salinas	Desmatamento Aterro Poluição Caça e pesca Artificialização Avanço
Aquiraz e Fortaleza	-	Pacoti			Praia Manguezal	Pesca Turismo Residências Salinas	Desmatamento Aterro Poluição Caça e pesca Artificialização Avanço
Beberibe e Fortim	118 Km	Pirangi		Córrego Campestre Córrego Barrinha	Manguezais Apicuns Coqueirais Carnaubai	Salinas ativas Pesca artesanal Terminal de pesca	Carcinogênico Erosão Salinização Desmatamento

Fonte: Ibama (2005)

Tabela 1 - Áreas das bacias de drenagem inferiores dos rios, volumes dos estuários, vazões (descargas fluviais de água no período chuvoso e seco, respectivamente) para os estuários, razões entre as áreas das bacias de drenagem inferiores dos rios e os respectivos volumes estuarinos, médias de precipitação anual, áreas ocupadas por fazendas de camarão e número de habitantes.

	Área (Km <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	Volume estuarino (10 <sup>6</sup> m <sup>3</sup> ) <sup>a</sup>	Vazão fluvial Q (m <sup>3</sup> .s <sup>-1</sup> ) <sup>b</sup>	Razão área/volume estuarino <sup>a</sup>	Precipitação média anual (mm) <sup>a</sup>	Área po
Rio Ceará	1.640,0	0,4	5,0 / 1,0	4.000	1.311,0	
Rio Cocó	420,0	0,4	6,0 / < 3,0	1.217	1.378,0	
Rio Pacoti	700,0	0,5	19,0 / 1,0	1.470	1.428,0	
Rio Pirangi	1.617,0	0,46	15,0/<1,0	3.575	914,0	

Bacia	Denundação física e química de solos		Deposição atmosférica		Carga total por fontes naturais	
	N	P	N	P	N	P
Ceará	107,0 (82)	113,0 (98)	24,2 (18)	1,9 (2)	131,0	115,0
Cocó	27,2 (82)	26,6 (98)	5,8 (18)	0,5 (2)	33,0	27,0
Pacoti	43,5 (81)	25,3 (97)	10,0 (19)	0,8 (3)	53,5	26,1
Pirangi	95,4 (87)	25,6 (96)	14,7 (13)	1,20 (4)	110	26,8

Tabela 2 - Cargas de nutrientes (t ano<sup>-1</sup>) (Nitrogênio (N) e Fósforo (P)) emitidas por fontes naturais para as bacias inferiores dos rios. Entre parênteses a contribuição percentual para a carga total por fontes naturais.

Fonte: Lacerda et al. (2008).

Tabela 3 - Cargas de nutrientes ( $t \text{ ano}^{-1}$ ) (Nitrogênio (N) e Fósforo (P)) emitidas por fontes antrópicas para as bacias inferiores dos rios Ceará, Cocó, Pacoti e Pirangi, Ceará, Brasil. Entre parênteses a contribuição percentual para a carga total por fontes antrópicas.

	Águas servidas	Resíduos sólidos	"Runoff" urbano	Agricultura	Pecuária	Carcinicultura	Total
Ceará							
N	328 (40)	37,3 (4,6)	11,1 (1,4)	71 (8,7)	368 (45)	0,0	815
P	92 (23)	0,0	1,67 (0,4)	25 (6,4)	274 (70)	0,0	393
Cocó							
N	2.116 (82)	232 (8,9)	79,3 (3,1)	4,1 (0,1)	157 (6,1)	0,0	2.588
P	592 (80)	0,0	12,0 (1,6)	1,9 (0,2)	132 (18)	0,0	738
Pacoti							
N	305 (27,8)	13,6 (1,2)	4,4 (0,4)	84 (7,6)	690 (63)	0,0	1.097
P	85 (12,1)	0,0	0,65 (0,1)	27 (3,8)	584(83,7)	0,0	697
Pirangi							
N	76,5 (13,1)	3,9 (0,6)	1,0 (0,2)	159 (27,1)	320(54,7)	25 (4,2)	585
P	21,4 (4,0)	-	0,15 (0,01)	251 (47,2)	257(48,3)	2,1 (0,4)	532

Fonte: Lacerda et al. (2008)

### **Aspectos climáticos**

O Estado do Ceará está sob o clima tropical semi-árido com precipitação pluviométrica anual variando de 700 mm na região conhecida como depressão sertaneja a mais de 1500 mm nas áreas costeiras. As taxas de evaporação são maiores no segundo semestre, sendo o total anual acumulado acima de 1500 mm (COGERH 2010). As chuvas ocorrem no primeiro semestre do ano e se concentram, significativamente, na quadra chuvosa, que corresponde aos meses de fevereiro a maio. Os valores de precipitação nos meses de agosto a novembro são praticamente nulos (período seco). Definem-se, portanto, dois períodos: “chuvoso” que corresponde ao primeiro semestre do ano; e “seco” que é referente ao segundo semestre, que têm menores índices de precipitação durante o trimestre que vai de setembro a novembro. O período de novembro a janeiro é também chamado de pré-estação chuvosa.

A Zona de Convergência Intertropical (ZCIT) é a principal responsável pelas chuvas no primeiro semestre do ano. Todavia, a sazonalidade climática bem definida e a qualidade do período chuvoso na região, dependem de condições atmosféricas e oceânicas locais e globais, que modulam a intensidade, a fase e o movimento da ZCIT. Dentre os fenômenos que atuam contribuindo ou não para a formação de nuvens e, conseqüentemente, de chuvas sobre o Estado do Ceará citam-se El Niño, La Niña, Temperatura do Atlântico Tropical, Ventos Alísios de Nordeste e de Sudeste. Na zona costeira se destacam ainda sistemas secundários como as linhas de instabilidade e as brisas marinhas, como responsáveis pelas precipitações sobre a região. Quando ocorre o deslocamento da ZCIT para o hemisfério Norte, as chuvas sobre o setor Norte do Nordeste brasileiro cessam totalmente, tendo início o chamado período de estiagem (IBAMA, 2005).

O município de Fortaleza foi tomado como referência para os dados meteorológicos. Consideraram-se as médias mensais históricas (1966-2011) da Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará, localizada no Campus Universitário do Pici (3°45'S e 38°33' W) a 19,0 m acima do nível do mar.

As coletas para o presente estudo ocorreram no período seco de 2010, no mês de novembro, e no período chuvoso de 2011, no mês de maio. Na tabela 4 são apresentadas as médias históricas (1966-2009) e dos anos de 2010 e 2011 de precipitação, evaporação, umidade

relativa do ar, temperatura do ar e velocidade do vento. Destaca-se que o ano de 2010 foi um ano mais seco onde os valores de precipitação e evaporação foram menores e maiores, respectivamente, que as médias históricas para a região de estudo. Por sua vez, no ano de 2011 estas taxas (precipitação e evaporação) superaram as médias históricas.

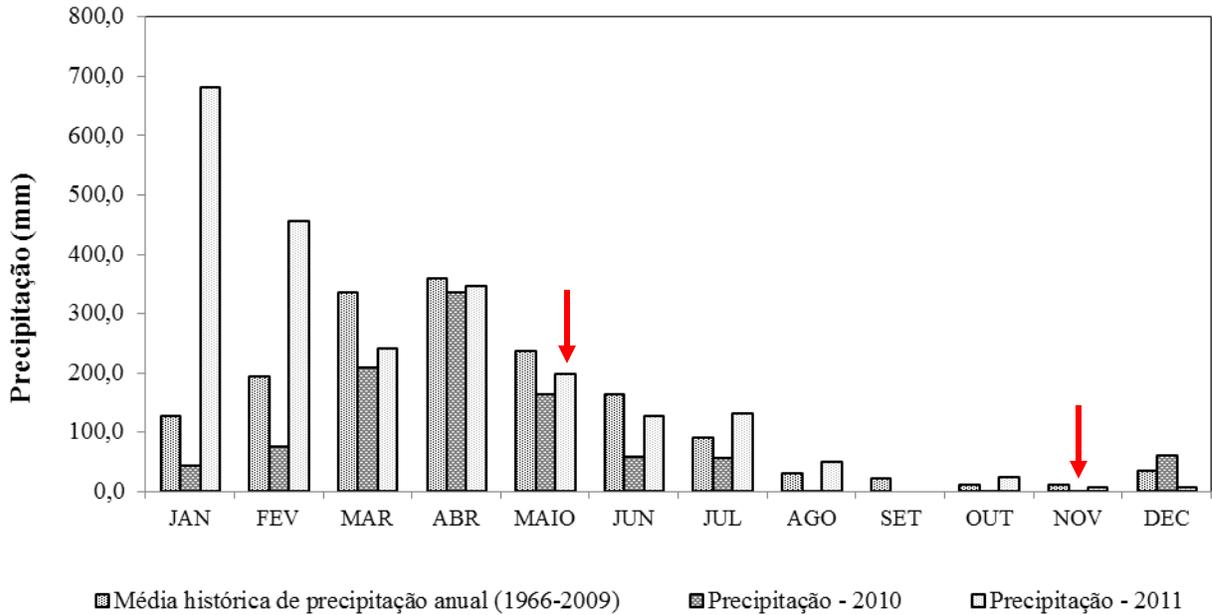
Tabela 4 - Médias históricas (1966-2009) e dos anos de 2010 e 2011 de precipitação, evaporação, umidade relativa do ar, temperatura do ar e velocidade do vento em Fortaleza, Ceará.

	Média histórica (1966-2009)	2010	2011
Precipitação anual total (mm)	1624,7	1014,2	2273,9
Evaporação anual total (mm)	1476,6	1638,0	1575,4
Médias anuais de umidade relativa do ar (%)	77,8	72,4	76,3
Médias anuais de velocidade do vento (m/s)	3,8	3,4	3,2
Temperatura média do ar (°C)	26,8	27,8	26,8

Fonte: Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará.

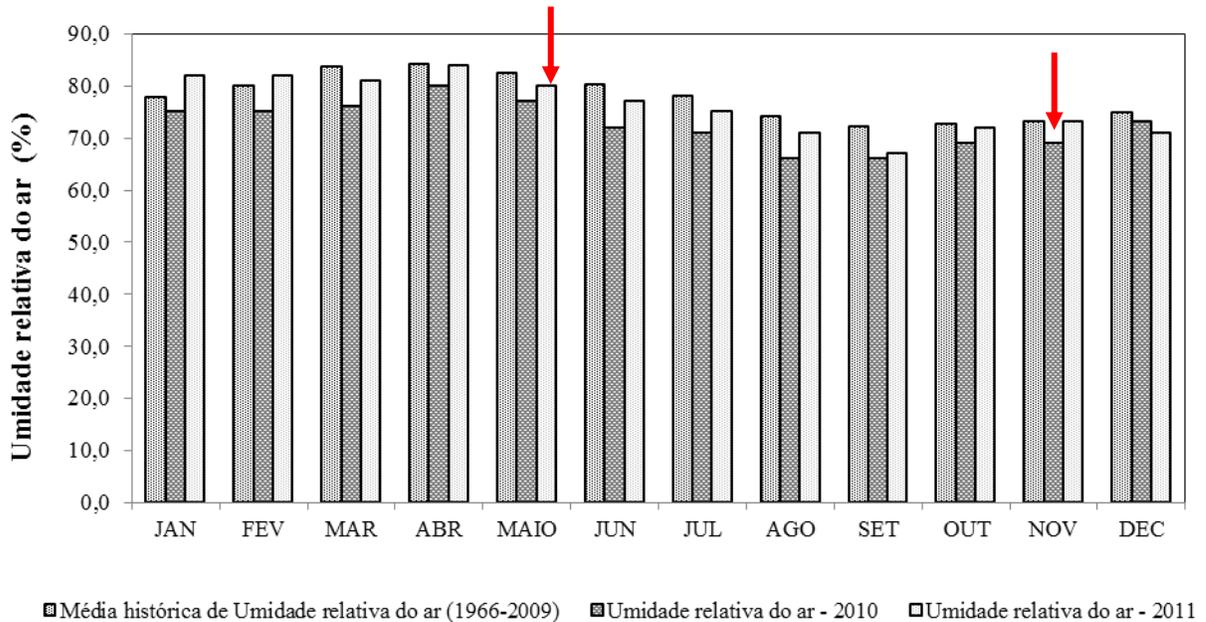
Na figuras 3 e 4 evidenciam-se os maiores valores de precipitação e umidade relativa do ar no primeiro semestre do ano, respectivamente. Na figuras 5 e 6 se observam as maiores taxas de evaporação e velocidade do vento no segundo semestre do ano, respectivamente.

Figura 3 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de precipitação registrados nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011).



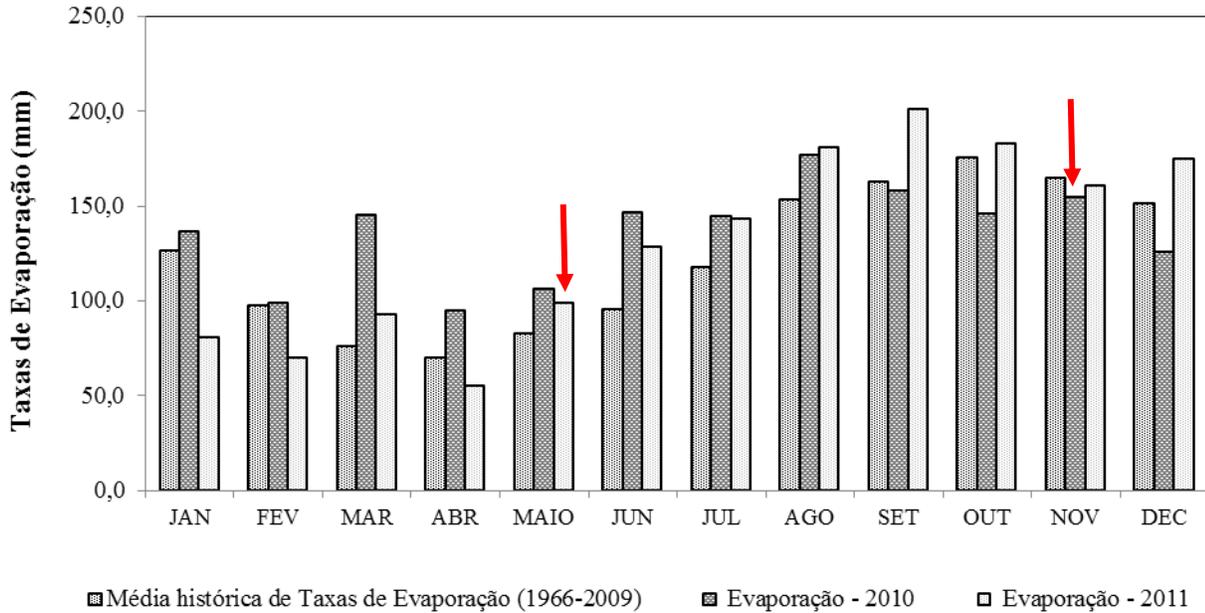
Fonte: Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará

Figura 4 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de umidade relativa do ar registrados nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011)



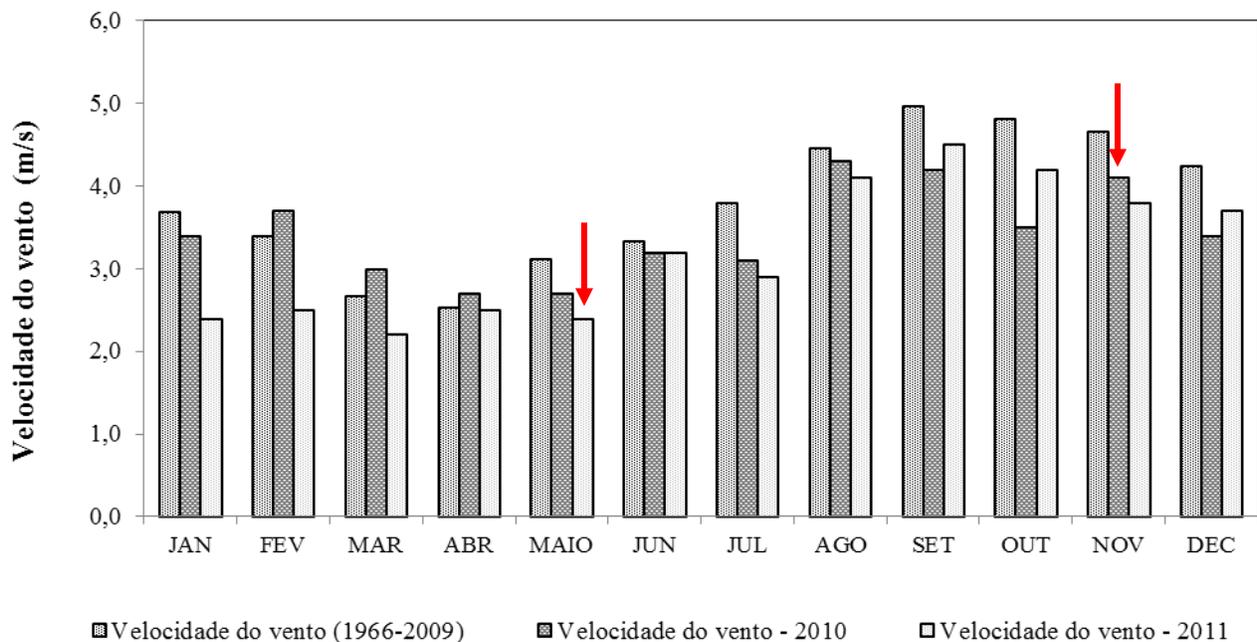
Fonte: Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará

Figura 5 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e os valores de evaporação nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo (nov/2010 e maio/2011).



Fonte: Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará

Figura 6 - Comparação entre as médias históricas (1966-2009) e taxas de velocidade dos ventos nos anos de 2010 e 2011 em Fortaleza, Ceará. Setas em vermelho indicam os meses de coleta deste estudo.



Fonte: Estação Meteorológica do Departamento de Economia Agrícola da Universidade Federal do Ceará

## **OBJETIVO GERAL**

- Este estudo teve por objetivo compreender a variação na estrutura das assembleias de bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton em função das concentrações de nutrientes e salinidade em quatro estuários tropicais de baixo influxo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Analisar as características físico-químicas de amostras de água coletadas nos períodos seco e chuvoso nos estuários dos Rios Ceará, Cocó, Pacoti e Pirangi (Ceará, Nordeste do Brasil);
- Analisar a estrutura das assembleias do bacterioplâncton e arqueoplâncton nas frações livres e aderidas às partículas através da técnica de Eletroforese em Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE);
- Quantificar e identificar no menor nível taxonômico possível os táxons de fitoplâncton;
- Identificar os fatores ambientais que influenciaram a variação na composição e riqueza do bacterioplâncton e arqueoplâncton entre os quatro estuários;
- Identificar os fatores ambientais que influenciaram a variação na densidade, riqueza e composição do fitoplâncton entre os quatro estuários.

## **HIPÓTESE:**

- A variação na estrutura das assembleias do bacterioplâncton, arqueoplâncton e fitoplâncton em estuários tropicais de baixo influxo são influenciadas por diferenças nos níveis de salinidade e concentrações de nutrientes.

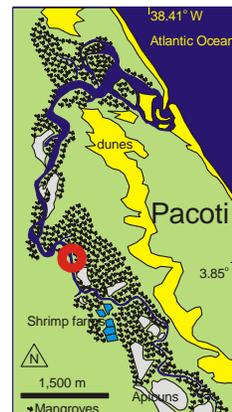
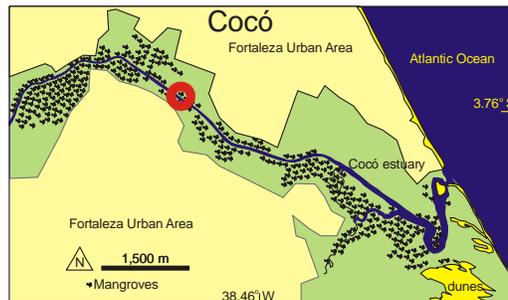
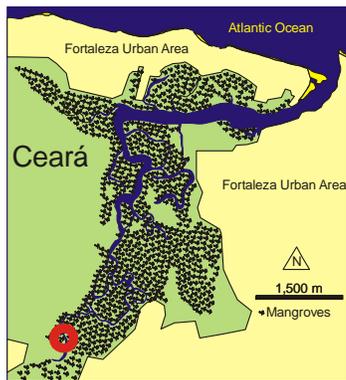
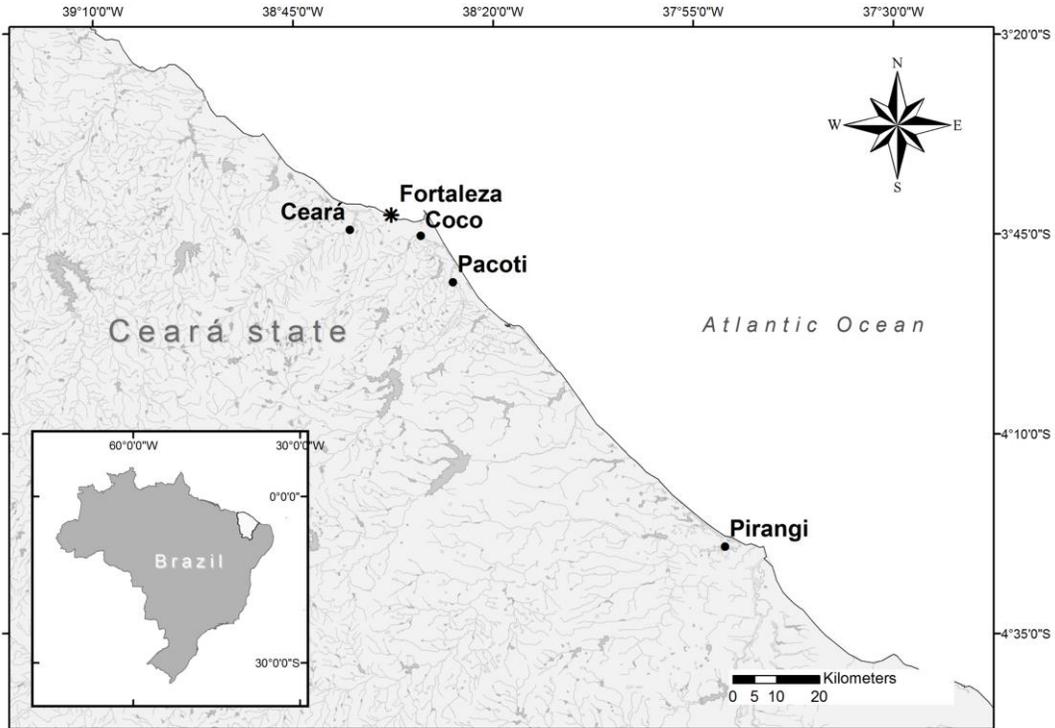
**Parte 1:****Regime Hidrológico e Características Ambientais dos estuários**

## 1.1 METODOLOGIA

### 1.1.1 Coleta de amostras

As amostras foram coletadas nos estuários dos Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), nos períodos seco (Nov/2010) e chuvoso (Maio/2011), durante a maré alta de sizígia. As estações de coleta localizaram-se no limite superior da excursão de maré de cada estuário (indicado pelos círculos vermelhos na Figura 7). As distâncias da foz dos estuários foram 10 km ( $03^{\circ}44'28,3''$ ,  $038^{\circ}37'51,9''$ ), 7,2 km ( $03^{\circ}45'15''$ S,  $038^{\circ}28'58,4''$ W), 6,6 km ( $03^{\circ}51'02,8''$ S,  $038^{\circ}24'58,5''$ W) e 9,9 km ( $4^{\circ}24'5.82''$ S,  $37^{\circ}50'59.84''$ W) para o CE, CO, PAC e PIR, respectivamente. A excursão de maré é a escala de comprimento do deslocamento de um volume de água durante a fase de enchente ou vazante de maré. Os comprimentos das excursões de maré foram calculados para cada estuário com base nos dados registrados em uma campanha prévia, onde um Perfilador de Correntes Acústico Doppler (ADCP, *Acoustic Doppler Current Profiler*) ficou ancorado nas proximidades da foz dos respectivos estuários durante um ciclo de maré semi-diurna completo (13 horas) na maré de sizígia. Esse cuidado quanto à escolha dos pontos de amostragem visou garantir que a água amostrada caracterizasse plenamente as condições estuarinas, em vez das águas recém-misturadas com as águas costeiras.

Figura 7 - Localização dos estuários estudados Ceará, Coco, Pacoti e Pirangi em relação a capital Fortaleza, Ceará e imagens do perfil de cada estação de coleta em relação a foz do rio.





### 1.1.2 Análise da água estuarina

As amostras de água foram coletadas na superfície (profundidade 50 cm) em triplicata usando uma garrafa de Van Dorn. As variáveis temperatura (T), salinidade (medida em escala prática de salinidade), pH, oxigênio dissolvido (OD) e saturação do oxigênio (%) foram medidas *in situ* com uma sonda multi-paramétrica (Hanna HI 9828). A transparência da água foi estimada com um disco de Secchi.

Alíquotas de 1 litro das amostras de água coletadas foram filtradas em filtros de fibra de vidro de porosidade 0,7  $\mu\text{m}$  (47 mm de diâmetro, tipo GF - 3, Macherey- Nagel, Düren, Alemanha) e utilizadas para as análises de nitrito ( $\text{N-NO}_2^-$ ), nitrato ( $\text{N-NO}_3^-$ ) e fósforo solúvel reativo (PSR), seguindo os procedimentos sugeridos por Aminot e Chassepied (1983) e descritos em Baumgarten et al. (1996). Para a análise de N-Amoniacal ( $\text{N-NH}_3 + \text{N-NH}_4^+$ ) seguiu-se os procedimentos sugeridos por Strickland e Parsons (1972) e descritos em Baumgarten et al. (1996). Após a filtração, os filtros foram mantidos congelados a  $-20^\circ\text{C}$  para subsequente determinação espectrofotométrica da clorofila *a* (corrigido para feopigmentos) pela extração com acetona 90% (método 10200H; APHA, 1999). Para a medição de silício solúvel reativo (Si) alíquotas de 300 mL de amostras de água foram filtradas em membranas de acetado de celulose de porosidade 0,45  $\mu\text{m}$  (47 mm de diâmetro, HATF, Millipore, Billerica, MA, EUA) e analisadas de acordo com a os procedimentos sugeridos por Aminot e Chassepied (1983) descritos em Baumgarten et al. (1996).

Sólidos suspensos totais (SST), sólidos suspensos fixos (SSF) e Sólidos Suspensos voláteis (SSV) foram determinados por gravimetria utilizando filtros de fibra de vidro (pré-calcinados) de 1,2  $\mu\text{m}$  de porosidade (47 mm de diâmetro, tipo APFC, Millipore, Billerica, MA, EUA) (APHA, 1999; métodos 2540D para SST e 2540E para SSF e SSV). SST são os sólidos retidos no filtro de fibra de vidro e incluem SSF e SSV. SSF corresponde ao resíduo de sólidos suspensos remanescentes após a combustão a  $480^\circ\text{C}$ , sendo esta medida uma estimativa do material inorgânico (mineral) suspenso. O peso perdido durante a combustão é referido como SSV, o que corresponde a uma estimativa do material orgânico em suspensão.

Parte das amostras de água não filtrada foi utilizada para as análises de nitrogênio total (NT) e Fósforo Total (PT), as quais seguiram os procedimentos sugeridos por Valderrama (1981) e descritos em UNESCO (1983).



### 1.1.3 Cálculo do Índice de Estado Trófico (IET)

O Índice de Estado Trófico foi composto pelo Índice de Estado Trófico para o fósforo - IET (PT) e o Índice de Estado Trófico para a clorofila *a* – IET (Clorof. *a*), introduzido por Carlson (1977) e modificado por Toledo et al. (1983) para ambientes tropicais. Suas respectivas equações são:

$$\text{IET (PT)} = 10 \times (6 - (\ln(80,32/\text{PT})/\ln 2))$$

$$\text{IET (Clorof. } a) = 10 \times (6 - ((2,04 - 0,695 \times \ln(\text{Clorof. } a))/\ln 2))$$

Onde:

A concentração de PT é a concentração de fósforo total medida na superfície da água em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; Clorof. *a* é a concentração de clorofila *a* medida na superfície da água em  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ; e  $\ln$  é o logaritmo natural.

Os limites para as diferentes classes tróficas são: Ultraoligotrófico ( $\text{IET} \leq 24$ ), oligotrófico ( $24 < \text{IET} \leq 44$ ), mesotrófico ( $44 < \text{IET} \leq 54$ ), eutrófico ( $54 < \text{IET} \leq 74$ ) e hipereutrófico ( $\text{IET} > 74$ ) (Toledo, 1990). O IET apresentado nos resultados corresponde ao IET médio, o qual correspondeu a média aritmética do IET (PT) e IET (Clorof. *a*).

### 1.1.4 Análise de dados

Com o objetivo de discriminar o padrão geral das variáveis ambientais entre as oito amostras [4 estuários x 2 estações (seca e chuvosa)] foi feita uma Análise de Componentes Principais (ACP) utilizando as médias transformadas ( $\log(x+1)$ ). Este tipo de transformação é comumente utilizada para dados ambientais no intuito de diminuir a heterogeneidade das variâncias dos dados (McCUNE; GRACE, 2002). Baseando-se na matriz de correlação de Spearman para os dados ambientais medidos as variáveis incluídas na ACP foram: temperatura, pH, salinidade, Oxigênio dissolvido, SST, Clorofila *a*, Nitrato, NT, PT, Silício e as razões

TN:TP. As variáveis Secchi, SSF, PSR, N-amoniaco e Saturação do oxigênio não foram incluídas devido as suas fortes correlações com a Silício, SST, PT, NT e oxigênio dissolvido, respectivamente. Também VSS e Nitrito não foram incluídas devido as suas fortes correlações com a Clorofila *a*. Para estas análises utilizou-se o programa PAST 2.12 (HAMMER et al., 2001)

## 1.2 RESULTADOS

A Tabela 5 resume as variáveis ambientais analisadas nos quatro estuários estudados. Considerando a estimativa da zona eufótica como sendo 2,7 vezes a profundidade do disco de Secchi (COLE, 1983) pode-se observar que no CO e PAC tanto no período seco (S) como no chuvoso (C) a zona eufótica compreendeu toda a coluna d'água. CO e PAC também foram os estuários mais rasos (< 2,0 m). No CE(S), CE(C), e PIR(C) a zona eufótica (< 1,2 m) correspondeu a menos da metade da profundidade total destes estuários, enquanto no PIR(S) a estimativa da zona eufótica esteve próxima ao valor da profundidade total.

Destaca-se que, excetuando-se o CO, em todos os estuários as maiores concentrações de SST foram encontradas no período chuvoso. Excetuando-se o CE, as maiores concentrações de Si também foram encontradas no período chuvoso. O SSF por sua vez foi uma variável que seguiu o mesmo padrão de variação sazonal em todos os estuários. Isto é, em cada estuário a maior concentração de SSF foi registrada no período chuvoso (Tabela 5). O CO foi o estuário com menores valores de TSS em ambos os períodos de estudo. Observa-se ainda um comportamento distinto do CE(S) e CO(S) das demais amostras. Nestas duas amostras mais 45% do TSS esteve sob a forma de material orgânico particulado, isto é, sob a forma de VSS. Nas demais amostras mais de 60% do TSS estiveram sob a forma de material inorgânico (= FSS).

Outra variável que seguiu o mesmo padrão sazonal em todos os estuários foi a salinidade, tendo sido os maiores valores encontrados no período seco: PIR(S) = 47; PAC(S) = 40; CE (S) = 25,6 e CO(S) = 1,9. No período chuvoso todos os estuários apresentaram salinidade < 1,5.

Para as concentrações de clorofila *a* e nutrientes (Nitrito, Nitrato, N-amoniaco, NT, PSR e PT) no CE e CO os maiores valores foram registrados no período seco. Para o PAC e PIR

o padrão sazonal foi distinto do encontrado no CE e CO, isto é, os maiores valores de clorofila *a* e nutrientes (exceto PT no PIR) corresponderam ao período chuvoso. As razões NT:PT em todos os estuários foram baixas e variaram de 1,9:1 a 9,5:1. As menores razões foram encontradas no CE(S) e PAC(S) e a maior no PIR(C) (Tabela 5).

As concentrações de oxigênio também foram baixas na maioria dos estuários, tendo sido inclusive encontrada a condição de anoxia no CO(C). Com exceção do CE(C) e do PIR(C) todas as demais amostras apresentaram níveis de oxigênio capazes de causar estresse na biota ( $<5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os valores de pH variam de neutro a levemente básicos, tendo sido os menores valores encontrados no CE e os maiores no PIR. Os valores de temperatura da água foram altos e variaram de  $26,2^{\circ}\text{C}$  no CE(C) a  $29^{\circ}\text{C}$  no PIR(C) (Tabela 5).

De acordo com o cálculo do índice de estado trófico médio os estuários variaram de eutróficos a hipereutróficos. O CE(S) e CO(S) foram classificados como hipereutróficos, enquanto as demais amostras foram classificadas como eutróficas. Salienta-se que as concentrações de nutrientes e clorofila *a* no CE(S) e CO(S) foram as maiores dentro do conjunto amostral (Tabela 5).

Tabela 5 - Valores médios  $\pm$  desvio padrão das variáveis ambientais para os quatro estuários de estudo nos períodos seco e chuvoso.

	CE(S)	CE(C)	CO(S)	CO(C)	PAC(S)	PAC(C)
Z <sub>Max</sub> (m)	2,4	3,0	1,5	2	0,95	0,8
Secchi (m)	0,4	0,25	0,7	0,7	0,95	0,25
T (°C)	28,3	26,2	28,6	27,3	28,7	29,2
pH	7,0	7,1	7,2	7,2	7,8	7,2
Salinidade	25,6	0,1	1,9	0,23	40	1,5
OD (mg L <sup>-1</sup> )	0,6	5,4	3,3	0,0	4,3	2,5
SO (%)	8,8	66,3	43,3	0,0	69,7	32,8
SST (mg L <sup>-1</sup> )	54,1 $\pm$ 2,2	70,9 $\pm$ 3,5	13,8 $\pm$ 1,8	7,7 $\pm$ 0,8	27,1 $\pm$ 1,7	53,7 $\pm$ 3,3
SSF (mg L <sup>-1</sup> )	28,2 $\pm$ 2,7	62,9 $\pm$ 3,5	3,6 $\pm$ 0,4	4,8 $\pm$ 0,4	20,2 $\pm$ 1,4	43,7 $\pm$ 2,9
SSV (mg L <sup>-1</sup> )	25,9 $\pm$ 1,4	8,0 $\pm$ 6,3	10,2 $\pm$ 1,9	2,9 $\pm$ 0,4	6,9 $\pm$ 0,3	10,0 $\pm$ 1,9
Clorof. <i>a</i> ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	156,4 $\pm$ 9,1	5,4 $\pm$ 0,2	80,8 $\pm$ 1,7	3,4 $\pm$ 0,3	4,7 $\pm$ 0,1	10,6 $\pm$ 1,2
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	4,2 $\pm$ 0,2	2,5 $\pm$ 0,0	19,8 $\pm$ 0,5	$\leq$ 0,02	$\leq$ 0,02	1,7 $\pm$ 0,1
N-NO <sub>3</sub> ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	0,0 $\pm$ 0,0	21,2 $\pm$ 1,5	2,6 $\pm$ 0,1	$\leq$ 0,12	$\leq$ 0,12	14,0 $\pm$ 0,2
N-NH <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	209,3 $\pm$ 6,0	15,4 $\pm$ 0,4	284,7 $\pm$ 15,4	114,1 $\pm$ 13,0	$\leq$ 0,29	18,4 $\pm$ 0,4
NT ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	229,7 $\pm$ 6,6	69,0 $\pm$ 4,4	342,9 $\pm$ 9,7	164,6 $\pm$ 26,0	21,4 $\pm$ 3,5	57,1 $\pm$ 1,3
PSR ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	42,0 $\pm$ 3,0	2,6 $\pm$ 0,1	16,9 $\pm$ 0,7	12,3 $\pm$ 0,4	$\leq$ 0,01	4,4 $\pm$ 0,1
FT ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	120,7 $\pm$ 9,2	16,0 $\pm$ 0,3	52,1 $\pm$ 4,4	35,4 $\pm$ 0,8	11,5 $\pm$ 0,7	17,7 $\pm$ 0,4
Si ( $\mu$ mol L <sup>-1</sup> )	247,4 $\pm$ 1,2	149,4 $\pm$ 23,8	76,7 $\pm$ 1,0	172,7 $\pm$ 11,1	37,9 $\pm$ 0,7	203,8 $\pm$ 10,4
NT:PT	1,9:1 $\pm$ 0,4	4,3:1 $\pm$ 0,3	6,6:1 $\pm$ 0,7	4,7:1 $\pm$ 0,8	1,9:1 $\pm$ 0,4	3,2:1 $\pm$ 0,1
IET médio	98	67	89	70	64	71
Estado trófico	Hipereut.	Eutrófico	Hipereut.	Eutrófico	Eutrófico	Eutrófico

Z<sub>Max</sub> (Profundidade máxima), T (temperatura), DO (Oxigênio dissolvido), OS (Saturação do oxigênio), Sólidos suspensos totais (SST), Sólidos suspensos fixos (SSF), Sólidos Suspensos voláteis (SSV), Clorof. *a* (Clorofila *a*), N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Nitrato), N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (N-Amônia), TN (Nitrogênio total), PSR (Fósforo Solúvel Reativo), PT (Fósforo total), Si (Silício solúvel reativo), NT:PT (Razões molares Nitrogênio total:Fósforo total), IET médio (Índice de Estado Trófico médio correspondeu a média aritmética do IET (PT) e IET (Clorof. *a*), Hipereut. (Hipereutrofico). CE – Ceará, CO – Cocó, PAC – Pacoti, PIR –Pirangi; (S)– Período seco; (C) – Período chuvoso

Os dados ambientais foram submetidos à análise de componentes principais (ACP) revelando os principais fatores responsáveis por explicar 59,3% da variabilidade total do conjunto de dados (Figura 8). O eixo 1 (35,5%) esteve mais negativamente correlacionado com o pH e com o oxigênio dissolvido (OD), e positivamente relacionado à clorofila *a* e aos nutrientes (TN, TP e Silício) (Tabela 6). Este primeiro eixo pode ser interpretado como um fator relacionado ao processo de eutrofização.

Analisando a distribuição das amostras no plano fatorial definido pelos eixos 1 e 2, pode-se observar que o CE(S) e CO(S) foram as amostras mais influenciadas pela intensa eutrofização. Isto porque estas amostras foram as mais relacionadas com as altas concentrações de nutrientes e clorofila *a* e com os valores baixos de oxigênio (Figura 8). Em ambas as amostras mais de 80% do NT foi composto por N-amoniaco e mais 30% do PT esteve sob a forma de PSR (Tabela 5). O CO(C) também foi relacionado as altas concentrações de NT e PT, todavia diferiu do CE(S) e CO(S) devido ao seu menor valor de clorofila *a*, que foi de apenas 3,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$  contra 156,4  $\mu\text{g.L}^{-1}$  e 80,8  $\mu\text{g.L}^{-1}$  no CE(S) e CO(S), respectivamente (Tabela 5).

Com o eixo 2 (23,8%) estiveram negativamente correlacionadas as concentrações de SST, nitrato, silício, DO e razões TN:TP (Tabela 6). A variável mais positivamente correlacionada com o eixo 2 foi a salinidade. Claramente o eixo 2 pode ser interpretado como um fator relacionado a um padrão de sazonalidade encontrado nos estuários. Isto foi corroborado pelo posicionamento de todas as amostras do período seco, as quais se distinguiram pelos maiores valores de salinidade, no lado positivo do eixo 2. Também o posicionamento das amostras do período chuvoso no lado negativo do eixo 2, onde a influência de variáveis relacionados ao aporte fluvial (TSS e silício) foi maior, corroboram a sazonalidade representada pelo eixo 2.

Ainda analisando a distribuição das amostras no plano fatorial definido pelos eixos 1 e 2 (Figura 8), pode-se observar que o PAC(S) e PIR(S) foram as amostras mais influenciadas pelos maiores valores de salinidades (40 e 47, respectivamente), enquanto PAC(R) e CE(R) pelos maiores valores de nitrato (14,0 e 21,2  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , respectivamente) (Tabela 5). PIR(R) se distingue do conjunto amostral pelos maiores valores de pH (8,4) e OD (6,6  $\text{mg L}^{-1}$ ) e pela maior razão TN:TP (9,5:1).

Figura 8 – Diagrama de ordenação obtida por análise de componentes principais realizada a partir de dados das variáveis abióticas dos estuários CE, CO, PAC e PIR nos períodos seco (S) e chuvoso (C). Ver abreviações na Tabela 5.

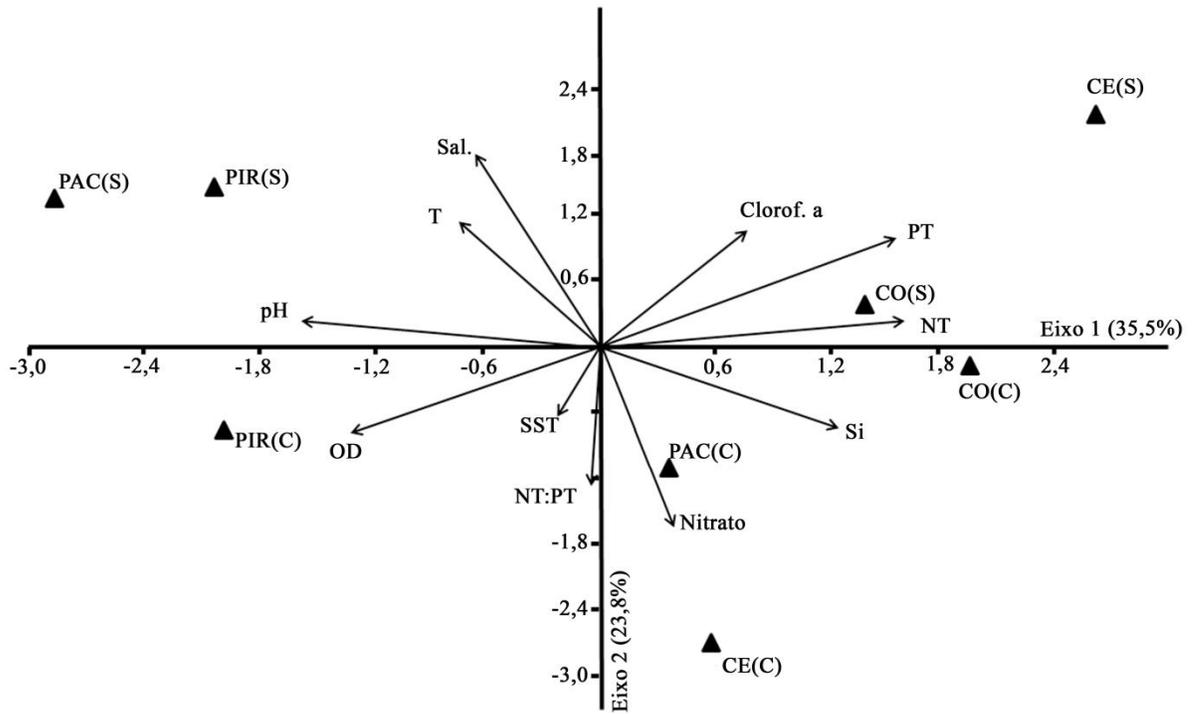


Tabela 6 – Análises de componentes principais para os dados limnológicos dos estuários CE, CO, PAC e PIR. Os eixos 1 e 2 explicaram respectivamente 35,5% e 23,8% da variabilidade total do conjunto de dados. Os valores em destaque representam os maiores valores de correlação ( $R > 0.6$ ) entre cada variável ambiental e os eixos 1 e 2. Ver abreviações na Tabela 5.

	Eixo 1 (35,5%)	Eixo 2 (23,8%)
Temperatura	-0,430	0,542
pH	-0,880	0,098
Salinidade	-0,369	0,836
OD	-0,735	-0,357
SST	-0,130	-0,279
Clorofila <i>a</i>	0,420	0,483
Nitrato	0,219	-0,750
NT	0,888	0,120
PT	0,873	0,450
Silício	0,688	-0,327
TN:TP	-0,028	-0,538

### 1.3 DISCUSSÃO

- **Regime hidrológico**

A salinidade é um indicador robusto do regime hidrológico dos estuários uma vez que é uma propriedade conservativa. O seu valor indica a proporção da contribuição relativa de água marinha e doce. As condições hiposalinas do estuário indicam um balanço de água positiva, onde a perda de água por evaporação é inferior ao escoamento do rio, e as condições hipersalinas indicam que a perda de água para a evaporação é maior do que o escoamento do rio, sendo o déficit de água do estuário suprido pela entrada de água do mar (LARGIER, 2010).

No período seco os maiores valores de salinidade em todos os estuários refletiram a maior influência marinha nos mesmos, enquanto no período chuvoso as baixas salinidades (sal < 1,5) mostraram a predominância de água doce em todos os sistemas. Tomando como referência a salinidade do litoral cearense, da ordem de 37 no período seco, PIR e PAC foram hipersalinos, enquanto CE e CO foram mesohalino e hiposalino, respectivamente.

Como todos os quatro estuários compartilharam um regime hidrológico comum de precipitação e evapotranspiração as causas dos diferentes valores de salinidade entre eles no período de déficit hidrológico (período seco) dependem da gestão de água da bacia hidrográfica, da morfologia estuarina e do uso da areia de seus bancos. Chuwen et al. (2009) estudando vários estuários do sudoeste da Austrália, observaram que a salinidade variou de forma diferente em cada um durante o período seco. Estes autores relacionaram essa variabilidade com o tamanho e profundidade de seus canais estuarinos, que regulam a quantidade de intrusão da água do mar e a contribuição da descarga fluvial. Largier et al. (1997) também relataram uma situação onde dois estuários mostraram regimes de salinidade contrastantes, mesmo em latitudes e clima similares, devido às diferenças na oferta de água doce através do escoamento superficial, bem como devido à morfologia do canal estuarino.

Em termos de morfologia, o PIR apresenta uma condição muito diferente entre os quatro estuários estudados, haja vista que as áreas de mangue foram em grande parte substituídas por fazendas de camarão. Os viveiros de camarão aumentam a superfície livre e conseqüentemente a perda de água por evaporação (OLIVEIRA; MATTOS, 2007; FERREIRA et al., 2008), o que explica em parte, o maior nível de hipersalinidade registrado neste estuário.

Embora a morfologia possa de fato desempenhar um papel relevante, é provável que o fluxo de entrada de água doce para dentro dos estuários esteja mais relacionado com a gestão da água na bacia de drenagem. A descarga de água doce varia muito para os quatro sistemas estudados. O fornecimento de água doce derivado da vazão fluvial que atinge cada estuário foi alterado significativamente pelo número e localização de barragens ao longo dos rios (MOLISANI et al., 2006). Há várias barragens para o armazenamento de água nas bacias de drenagem do PIR e do PAC as quais são permanentemente fechadas e somente ocorre o fluxo de água doce para a jusante das barragens quando o volume de água ultrapassa o nível dos vertedouros. Molisani et al. (2006) sugerem que os fluxos de água doce para estes dois estuários durante o período de seca são abaixo de  $1 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$ , embora possam ser até mesmo nulos.

O estuário do CO é o menos afetado por barragens, com uma descarga fluvial mínima de cerca de  $3,0 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  no período seco, de acordo com Molisani et al. (2006 e 2007). Além disso, 40% do esgoto de Fortaleza (capital do Estado) fluem para o estuário CO, o significa que a baixa salinidade não só indica um excedente de água doce, mas também cargas mais elevadas de águas residuárias. Lacerda et al. (2008) estimaram que mais de 80% das cargas antropogênicas de nitrogênio e fósforo para o CO advém de águas residuárias (LACERDA et al., 2008).

A entrada de água doce no período seco para o sistema CE é da ordem de  $1,0 \text{ m}^3\text{s}^{-1}$  ou superior, uma vez que apresenta uma grande bacia de drenagem a jusante das principais barragens (MOLISANI et al., 2006). Também em uma escala menor que o CO, o CE recebe a contribuição de efluentes. Assim o escoamento superficial da bacia de drenagem a jusante de suas principais barragens e a entrada de efluentes podem ser fatores que explicam a condição mesohalina do CE no período seco.

- **Características ambientais**

Os altos valores de temperatura da água nos estuários estudados ( $>26 \text{ }^\circ\text{C}$ ), com pouca variação entre os períodos seco e chuvoso, são condições comumente encontradas em sistemas aquáticos localizados na região semi-árida brasileira, sujeita a altas taxas de insolação durante todo o ano (e.g. ESCHRIQUE et al. 2008; NILIN et al., 2007; MOLISANI et al., 2010). Os

valores de pH variando de neutro a alcalino encontrados, também são reportados para ambientes estuarinos da costa nordeste brasileira (e.g. ESCHRIQUE et al., 2008; ESCHRIQUE, 2011; NILIN et al., 2007). De maneira geral, os valores estiveram dentro do esperado para estuários em condições naturais onde os valores de pH variam de 7,0 a 7,5 nas regiões dominadas por água doce e de 8,0 a 8,6 nas áreas mais salinas devido ao sistema tampão natural da água do mar.

O alto valor de pH (8,4) encontrado no PIR no período chuvoso, onde as águas fluviais foram dominantes, deve ter sido associado ao processo de fotossíntese. Isso pode ser sugerido tanto pelo maior valor de clorofila *a* no PIR(C), depois de CE(S) e CO(S), como pelo seu alto valor de oxigênio ( $6,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Sabendo que durante o processo de fotossíntese é produzido oxigênio e consumido dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) e que o  $\text{CO}_2$  se transforma em ácido carbônico quando dissolvido, a sua remoção da água resulta no aumento do pH (ANDREWS et al., 2004). Embora no CE(S) e CO(S) os altos valores de clorofila *a* também indiquem uma intensa taxa fotossintética, os baixos valores de oxigênio nestas amostras indicam uma alta taxa de decomposição da matéria orgânica, o que por sua vez produz  $\text{CO}_2$  e conseqüentemente ácido carbônico, justificando assim os valores de pH menores (ANDREWS et al., 2004).

Segundo outros estudos realizados em estuários localizados próximos a região de estudo (e.g. ESCHRIQUE, 2011; SOARES et al., 2011) e em outros estuários da costa nordeste do Brasil (e.g. BASTOS et al., 2010; SANTIAGO et al., 2010) os maiores valores de TSS e silício são de fato encontrados no período chuvoso coincidindo com o maior aporte fluvial. O TSS estuarino é formado por FSS o qual inclui argilas minerais e sais insolúveis, e por VSS o qual é composto, principalmente, por uma matriz de matéria orgânica complexa, micro-organismos planctônicos vivos e por detritos orgânicos incluindo micro-organismos mortos (SIMON, 2002; SUZUMURA et al., 2004). O VSS dentro de estuários pode ser de origem alóctone quando derivado do rio ou zona costeira adjacente, ou autóctone quando é produzido dentro do próprio estuário devido à atividade de produtores primários (principalmente, o fitoplâncton) (SIMON, 2002).

Sabendo disto, o padrão de sazonalidade diferente do CO, onde as maiores concentrações de TSS foram registradas no período seco e não no período chuvoso como nos demais estuários, pode ser justificada pela alta produção autóctone de matéria orgânica, tal como evidenciado pelas altas concentrações de clorofila *a*. Os altos valores de clorofila *a* (biomassas

fitoplanctônicas) no CE(S) e CO(S) também justificam as maiores contribuições relativas de VSS ( $\geq 50\%$ ) para a composição de TSS nestas duas amostras. Destaca-se que em todos os estuários a maior contribuição relativa ( $> 60\%$ ) de FSS para a composição de TSS no período chuvoso evidenciou que o material particulado originado do influxo fluvial e do escoamento da bacia de drenagem neste período foi predominante inorgânico.

Levando em consideração que dos estuários estudados, o entorno da estação localizada no estuário CE é a que possui as suas margens mais urbanizadas, os altos valores de silício mesmo no período seco neste estuário devem ser associados à intensa erosão do solo. O silício é um excelente marcador não só de aportes terrestres/fluviais, mas também de ações antrópicas, como a ocupação indevida do solo com sua consequente erosão.

Quanto aos níveis de oxigênio todos os estuários apresentaram níveis de subsaturação, embora apenas o CE(S) e CO(C) tenham sido classificados como hipoxico ( $< 2,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e anoxico (sem oxigênio), respectivamente. Os melhores níveis de oxigênio da água ( $>5,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ) encontrados no CE(C) e PIR(C) podem ter indicado boas condições de mistura da coluna d'água e os baixos valores nas demais amostras a maior retenção hídrica. Figueiredo et al. (2006) estudando águas estuarinas de Itamaracá (PE) associaram os maiores valores de OD a turbulência da coluna d'água devido às correntes de marés, a agitação gerada pelos ventos e a descarga fluvial.

Ainda com relação aos níveis de oxigênio é importante destacar que levando em consideração tanto o período seco como o chuvoso, o PIR (OD  $> 4,0 \text{ mg.L}^{-1}$ ) sobressaiu-se com os níveis de oxigênio mais adequados para os organismos estuarinos, enquanto o CO foi o mais comprometido. Embora a concentração de OD no CE(S) tenha sido menor que a do CO(S), no CE houve a recuperação nos níveis de oxigênio no período chuvoso devido provavelmente ao aumento significativo na descarga fluvial.

De acordo com o índice de estado trófico que leva em consideração as concentrações de PT e clorofila *a* o CE(S) e CO(S) foram classificados como hipereutróficos e as demais amostras como eutróficas. Moreira (2005) indicou como eutróficos (porção superior do estuário), segundo as concentrações de clorofila *a*, outros estuários da costa Leste (Malcozinhado, Pirangi e Jaguaribe) e Oeste (Curu, Aracatimirim e Mundaú) do Ceará. Condições eutróficas, segundo as concentrações médias de clorofila *a*, também são reportadas para outros sistemas da costa

Nordeste Brasileira, como para o estuário do Rio Goiana (PE) (9,9 a 13,5  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (FEITOSA et al., 1999); Praia de Carne de Vaca-Goiana (PE) (0,75 a 18,94  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (CAMPELO et al., 1999); Bacia do Pina (PE) (3,30 a 54,40  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (SANTIAGO et al., 2010) e estuário do Rio Jaguaribe (CE) (1,8 a 37,6  $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) (SAMARA, 2011). Logo, é comum que pelo menos para as áreas mais a montante de estuários localizados próximos à região de estudo haja boa produtividade primária.

Por sua vez, as concentrações de PSR e N-amoniaco encontradas nas amostras CE(S), CO(S) e CO(C) foram pelos menos cinco vezes maiores que aquelas encontradas por Eschrique (2011) no estuário do Rio Jaguaribe (PSR = 0,08-2,24  $\mu\text{M}$ ; N-amoniaco = 0,85-21,09  $\mu\text{M}$ ), um sistema próximo aos estuários estudados, com um nível de urbanização similar ao PIR (LACERDA et al., 2008). Nas demais amostras as concentrações destes mesmos nutrientes foram similares ou mesmo estiveram abaixo das encontradas no Jaguaribe (ESCHRIQUE, 2011). Especialmente no CE(S), CO(S) e CO(C) a predominância de N-amoniaco sob as demais formas inorgânicas oxigenadas de nitrogênio (nitrito e nitrato) deveram-se provavelmente aos baixos níveis de oxigênio da coluna d'água e as altas taxas de decomposição da matéria orgânica.

Associam-se as concentrações de PSR e N-amoniaco no CO e CE a intensa urbanização dos mesmos e, conseqüentemente, as altas descargas de efluentes domésticos que os mesmos recebem. No CO as altas concentrações encontradas tanto no período seco como no chuvoso, indicaram que a intensa eutrofização é uma condição perene neste ambiente. De fato, em um trabalho em que medições foram realizadas mensalmente (julho/01 a junho/02) em uma estação próxima a área de coleta do CO no presente estudo, as concentrações de PSR (17,2  $\mu\text{M} \pm 5,6$ ) e N-amoniaco (269,46  $\mu\text{M} \pm 134$ ) foram também altas e similares as registradas neste estudo (PESSOA, 2002). As concentrações de PSR no CO foram próximas ao maior valor encontrado para a Bacia do Pina (PE) (PSR = 16,4  $\mu\text{M}$ ), um sistema altamente eutrófico da costa Nordeste Brasileira (SANTIAGO et al., 2010).

Por sua vez, as altas concentrações de nutrientes nitrogenados e fosforados no CE apenas no período seco foram provavelmente relacionadas ao alto tempo de residência da água o que levou ao processo de acumulação dos mesmos. No período chuvoso, devido a alta descarga fluvial estes nutrientes foram consideravelmente diluídos no CE.

Enquanto o PSR é derivado principalmente de descargas diretas de efluentes domésticos e as suas concentrações tendem a ser diluídas dentro dos estuários pelas altas

descargas fluviais, o nitrato apresenta comportamento inverso com as suas maiores concentrações associadas ao escoamento superficial que aumenta durante o período chuvoso (ANDREWS et al., 2004). Isso justifica as maiores concentrações de nitrato no CE(R) e PAC(R). Salienta-se que com exceção destas duas amostras, nas demais as concentrações de nitrato foram baixas ou mesmo abaixo do limite de detecção, haja vista os baixos níveis de oxigênio, como já comentado.

As razões NT:PT nos estuários foram inferiores a razão 16N :1P proposta por Redfield (1958), sugerindo uma limitação de nitrogênio para a produtividade primária. Em geral, tem-se observado que os ecossistemas costeiros são limitados pelo nitrogênio (HOWARTH; MARINO, 2006), embora outros estudos tenham mostrado que o fósforo pode também ser um nutriente limitante nesses ecossistemas (MONTES et al., 2002; GREGORACCI et al., 2012). Considerando-se que todos os quatro estuários estudados são rasos, com profundidades máximas variando 0,8-3,2 m, as baixas razões de NT:PT pode ser atribuída em parte também aos baixos níveis de oxigênio na coluna de água e, possivelmente, no sedimento. A baixa concentração de oxigênio aumenta a desnitrificação (BARON et al., 2013), bem como a liberação de fósforo do sedimento anóxico, que se torna disponível na água (MALONE et al., 1996). Além disso, em todos os estuários as descargas externas de fósforo devem estar contribuindo para estas baixas razões.

## 1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os quatro estuários estudados foram classificados como eutróficos em ambos os períodos, sendo o CE e CO que hipereutróficos no período seco. Para as variáveis medidas apenas a salinidade e os sólidos suspensos fixos (SSF) apresentaram o mesmo padrão de variabilidade sazonal em todos os estuários. Isto é, em todos os estuários, os maiores valores de salinidade e SSF foram encontrados no período seco e chuvoso, respectivamente. Logo, a influência marinha foi maior no período seco, destacando-se o PAC e PIR com os maiores níveis de salinidade (hipersalinidade). A maior salinidade nesses estuários foi associada principalmente ao intenso barramento dos mesmos e ao uso e ocupação de suas margens. No CO a manutenção de uma vazão mínima durante todo o ano e as descargas de efluentes domésticos parecem ser o que previne a hipersalinização. No CE a hipersalinização também é provavelmente prevenida pelas descargas de efluentes domésticos, mas também pelo escoamento superficial de sua grande bacia de drenagem a jusante das principais barragens. O SSF foi um marcador da influência fluvial para dentro dos estuários e indicou que o material particulado originado do influxo fluvial e do escoamento da bacia de drenagem no período chuvoso foi predominantemente inorgânico.

Dos estuários estudados o CO é o mais impactado, haja vista as altas concentrações de N e P e os baixos níveis oxigênio encontrados em ambos os períodos de estudo. Embora todos os estuários tenham apresentado baixas razões N:P sugerindo uma possível limitação de nitrogênio, as altas concentrações de ambos os nutrientes sugerem que tanto as descargas de nitrogênio como de fósforo devem ser diminuídas no intuito de controlar a eutrofização, garantir a preservação da biodiversidade, assim como a manutenção dos serviços ecológicos providos por estes ambientes.



## **Parte 2:**

# **Estudo das assembleias de Bacterioplâncton e Arqueoplâncton em estuários de baixo influxo sob estresses antropogênicos**

## **2.1 METODOLOGIA**

### **2.1.1 Extração de DNA total das amostras de água e amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

As amostras destinadas a extração de DNA total foram coletadas em triplicata nos estuários dos Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR) nos períodos seco (nov/2010) e chuvoso (Maio/2011), concomitante as coletas das amostras para as análises físico-químicas da água (Parte 1). As amostragens ocorreram com o auxílio de garrafa de Van Dorn na profundidade de 0,5 m. A localização das estações de coleta foram previamente descritas na Parte 1. Alíquotas de 320 mL de água foram filtradas em membrana Durapore de porosidade de 5,0  $\mu\text{m}$  (47 mm de diâmetro, SVLP, Millipore, Irlanda) para coletar a fração planctônica aderida a partículas ( $>5,0 \mu\text{m}$ ). Na sequência as alíquotas de água que passaram por este primeiro filtro foram refiltradas em membranas Durapore de porosidade de 0,22  $\mu\text{m}$  (47 mm de diâmetro, GVWP, Millipore, Irlanda), com o intuito de coletar a fração planctônica de vida livre ( $<5 \mu\text{m}$  e  $>0,22 \mu\text{m}$ ). Assim, no presente estudo, as bactérias (BA) e arqueas (AA) ligadas a partículas foram definidas operacionalmente como as retidas nas membranas de 5,0  $\mu\text{m}$ , enquanto as bactérias (BL) e arqueas de vida livre (AL) foram menores que 5,0  $\mu\text{m}$  que ficaram retidas nas membranas de 0,22  $\mu\text{m}$ . As membranas foram armazenadas a -20 °C até o momento da extração de DNA total.

O DNA total foi extraído a partir de cada uma das membranas utilizando o kit comercial PowerWater® DNA Isolation Kit Sample (MoBio, USA, Califórnia, Carlsbad, lote #: PW10A21) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA extraído foi quantificado em

NanoDrop espectrofotômetro ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, DE, EUA) e armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até à sua utilização.

O gene do RNAr 16S foi amplificado utilizando os pares de iniciadores 338F - GC (5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') e 518R (5' - ATTACGGCGGCTGCTGG - 3') para as bactérias (MUYZER et al., 1993) e 1000F-GC (5'-CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCCGCCGCCCCCGCCAACCGTCGACAGTCAGGYAACGAGCGAG- 3') e 1400R (5'- CGGCGAATTCGTGCAAGGAGCAGGGAC - 3') para arqueas (KUDO et al., 1997). Para as bactérias, as reações de PCR foram realizadas para um volume final de 30  $\mu\text{L}$  contendo: tampão de reação 1X (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA),  $\text{MgCl}_2$  3 mM, 0,2 mM de cada desoxinucleotídeo trifosfato, 0,5  $\mu\text{M}$  de cada iniciador, 1 U de Taq DNA polimerase (Invitrogen) e 10 ng de DNA utilizado como molde para amplificação (DNA obtido no procedimento de extração). O programa de PCR incluiu uma desnaturação inicial a  $95^{\circ}\text{C}$  durante 5 min, e 30 ciclos de: 1 minuto a  $94^{\circ}\text{C}$  (desnaturação), 1 min a  $55^{\circ}\text{C}$  (anelamento) e 2 min a  $72^{\circ}\text{C}$  (extensão). Um passo final de extensão a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 5 min foi incluído. No final, os produtos das reações foram estabilizados em  $4^{\circ}\text{C}$  e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Para as arqueas, a solução de PCR (50  $\mu\text{L}$ ) continha tampão 1X (Promega, Madison, WI, EUA),  $\text{MgCl}_2$  1,8 mM, 0,12 mM de cada trifosfato de desoxinucleótido, 15 nmol de cada iniciador, 1 U de Taq DNA polimerase Go (Promega) e 15-30 ng de DNA utilizado como molde para amplificação. O programa de PCR incluiu uma desnaturação inicial a  $94^{\circ}\text{C}$  durante 1,5 min e 35 ciclos de: 30 segundos a  $94^{\circ}\text{C}$  (desnaturação), 30 segundos a  $55^{\circ}\text{C}$  (anelamento) e de 1,5 min a  $72^{\circ}\text{C}$  (extensão). Um passo final de extensão a  $72^{\circ}\text{C}$  durante 3 min foi incluído. Os produtos das reações foram estabilizados em  $4^{\circ}\text{C}$  e armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

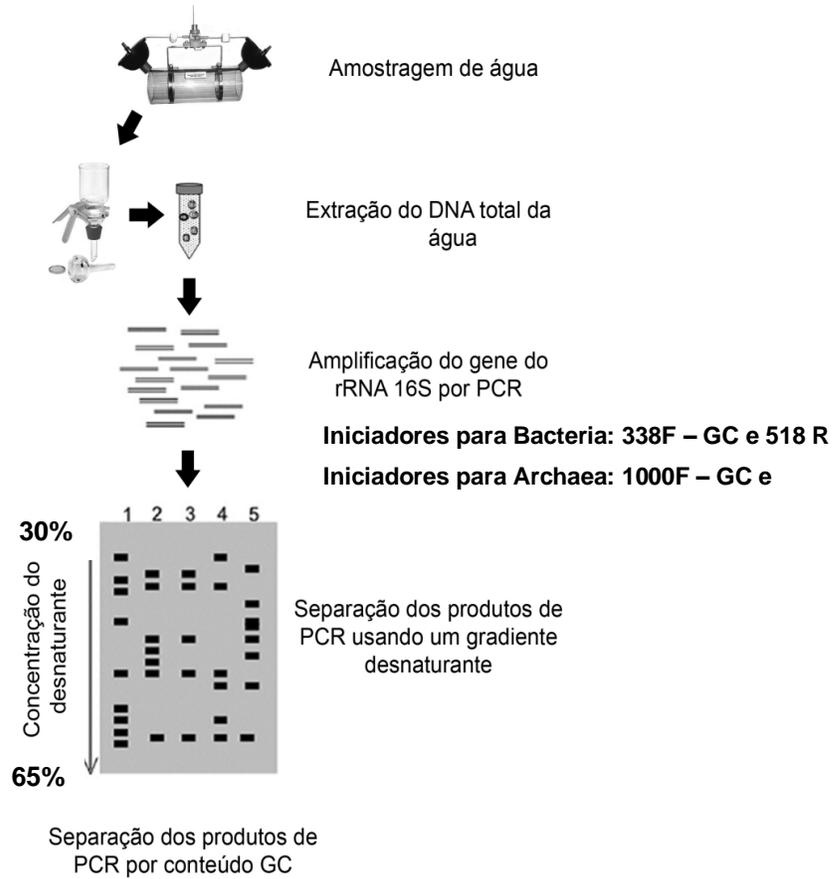
### **2.2.1 Acesso a estrutura das assembleias procarióticas dos estuários por Eletroforese e Gel de Gradiente Desnaturante (DGGE)**

A técnica de DGGE consiste em uma corrida eletroforética que separa os fragmentos do 16S rDNA amplificados por PCR quando os mesmos são submetidos a um gradiente crescente de agentes desnaturantes (uréia e formamida). Um dos iniciadores utilizados nas PCR

apresenta uma região rica em G+C (grampo G-C) de maneira a impedir a total desnaturação da dupla fita do DNA durante a DGGE. As variações na composição de nucleotídeos dos diferentes fragmentos de DNA de uma amostra determinam seu comportamento de migração no gel, fazendo com que fragmentos de mesmo tamanho, mas com diferentes concentrações de C+G (citosina e guanina) migrem para posições diferentes, gerando assim um perfil genotípico dos organismos estudados (NAKATSU, 2007). Na figura 9 apresenta-se um esquema indicando os passos para análise das assembleias microbianas (bacterioplâncton e arqueoplâncton) utilizando a técnica de DGGE neste estudo.

Neste estudo, os géis de poliacrilamida 8% (peso/volume) foram preparados com gradientes desnaturantes de 30 a 65% (onde 100% de solução desnaturante= 7M uréia e 40% formamida deionizada (v/v)) (ØVREÅS et al., 1997). Foram colocados em cada poço do gel 12µL de uma solução preparada previamente com 2µL do tampão de amostra (glicerol 30%, TE pH 8,0, azul de bromofenol 0,25%) e 10 µL do produto de PCR. Além disso, foram aplicados 5µL de um marcador molecular (DNA de 1Kb (Invitrogen) nos poços localizados nas extremidades dos géis para possibilitar a normalização das bandas na etapa de análise dos dados. A eletroforese foi então realizada a 60 °C e a 200V constantes por 4h, em um sistema DCode (BIO-RAD Laboratories, Hercules, CA, USA), utilizando a solução tampão TAE 1 X (40 mM Tris, 20 mM acetato de sódio e 1 mM EDTA, pH 8). Após a eletroforese, o gel foi imerso em solução de SYBR-Green I (Molecular Probes) na concentração de 1:10.000 (v/v) por 1h para o processo de coloração. Por fim, a imagem do gel foi capturada em um transiluminador com sistema de fotodocumentação ultravioleta (UVP) - (Vilber Lourmat).

Figura 9 - Esquema da técnica de DGGE para as amostras de água analisadas neste estudo.



Fonte: adaptado de Nakatsu (2007).

### 2.1.3 Análise de dados

Para análise dos géis de DGGE, a plataforma GelCompar II do programa BioNumerics (Applied Maths, Bélgica) foi utilizada para normalização e conversão das imagens em matrizes binárias de presença/ausência de bandas. As matrizes de presença e ausência de bandas foram utilizadas para as análises estatísticas. Cada banda correspondeu a uma única população e foi denominada como uma Unidade Taxonômica Operacional (UTOs) ou ribotipo.

A similaridade das amostras quanto a composição de OTUs foi submetida a análises de agrupamentos, sendo uma para cada assembleia (BA, BL, AA, AL). As análises de agrupamento basearam-se nas matrizes de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento foi o UPGMA (CLARKE; WARWICK, 2001; CLARKE; GORLEY, 2006; Mc CUNE; GRACE, 2002). A significância dos grupos formados foi testada utilizando a análise de similaridade de perfil (SIMPROF) com 499 permutações e nível de significância de  $p < 0,05$  (CLARKE; GORLEY, 2006).

Para acessar a relação existente entre a variação espacial e temporal das assembleias de Bacteria (BA e BL) e Archaea (AA e AL) e as variáveis ambientais utilizou-se a Análise de Redundância (RDA). A RDA foi escolhida porque os tamanhos dos gradientes estimados por Análise de correspondência retificada (DCA) prévia foi menor que 3,0, o que mostrou que a distribuição das OTUs das quatro assembleias em relação aos variáveis ambientais foi linear (ANDREOTE; AZEVEDO; ARAÚJO, 2009). Para a RDA os dados abióticos foram previamente transformados ( $\log(x + 1)$ ) no intuito de diminuir a heterogeneidade das variâncias dos dados (Mc CUNE; GRACE, 2002).

Primeiramente fizeram-se RDAs prévias em que os efeitos marginais ( $\lambda_1$ ) e condicionais ( $\lambda_A$ ) das dezoito variáveis ambientais (Disco de Secchi, temperatura, pH, salinidade, OD, SO, SST, SSV, SSF, Clorofila *a*, Nitrito, Nitrato, N-amoniaco, NT, PSR, PT, Si e as razões NT:PT)<sup>8</sup> sobre as assembleias de AB, FB, AA e FA foram testadas. O efeito marginal ( $\lambda_1$ ) corresponde a parte da inercia (variância) explicada por somente uma variável quando os efeitos

---

<sup>8</sup> OD (Oxigênio Dissolvido), SO (Saturação do Oxigênio); SST (Sólidos Suspensos Totais); SSV (Sólidos Suspensos Voláteis); SSF (Sólidos Suspensos Fixos); NT (Nitrogênio Total); PSR (Fósforo Solúvel Reativo); PT (Fósforo total); Si (Silício Solúvel Reativo)

das outras variáveis explanatórias são ignorados. O efeito condicional corresponde a parte da variância explicada por uma variável quando outras variáveis já estão incluídas no modelo (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). Nas RDAs prévias as variáveis foram incluídas nos modelos pelo procedimento de “forward selection”. A significância dos efeitos marginais e condicionais foi acessada pelo teste de Monte Carlos (499 permutações) (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). As variáveis com efeito condicional significativo foram retidas nos respectivos modelos finais de RDA. O nível de significância admitido em todas as análises foi de  $p < 0,05$ .

Como para bactérias aderidas e livres, AB e FB, apenas uma única variável apresentou efeito condicional significativo ( $p < 0,05$ ), a segunda variável que apresentou maior efeito condicional (mesmo que não significativo  $p > 0,05$ ) sobre a variabilidade destas assembleias também foi incluída nos respectivos modelos finais de RDA. A RDA para arqueias livres (AL) não foi apresentada, haja vista que nenhuma das variáveis medidas apresentou efeito significativo sobre a composição desta assembleia.

Calculou-se o R quadrado ajustado ( $R^2$  ajustado) global dos modelos finais de RDA. O  $R^2$  ajustado é calculado pela fórmula:  $R^2 \text{ ajustado} = 1 - [(n-1)/(n - m - 1)] \times (1 - R^2)$ , onde  $n$  é o número de objetos (amostras) e  $m$  é o número de variáveis explanatórias (PERES-NETO et al., 2006). Como em todas as RDA finais foram retidas duas variáveis explanatórias, o valor de  $m$  foi sempre igual 2.

Com base nas matrizes de similaridade de Jaccard as amostras também foram ordenadas pelo método de escalonamento multidimensional (MDS) (Mc CUNE; GRACE, 2002; CLARKE; WARWICK, 2001; CLARKE; GORLEY 2006), indicando os grupos formados nas análises de agrupamento. Nos gráficos de MDS a contribuição das variáveis retidas nas RDA finais para cada uma das assembleias foram plotadas como círculos de tamanhos diferentes de acordo com os seus valores em cada uma das amostras. A robustez da MDS é dada pelos valores de estresse que quanto mais próximos de zero, melhor o ajuste entre a distância original dos objetos e a configuração obtida.

Para as análises de agrupamento, SIMPROF e MDS utilizou-se o programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY 2006). Para DCA e RDA o programa utilizado foi o Canoco 4.5 (Biometry, Wageningen, The Netherlands) (TER BRAAK; SMILAUER, 2002).

## 2.2 RESULTADOS

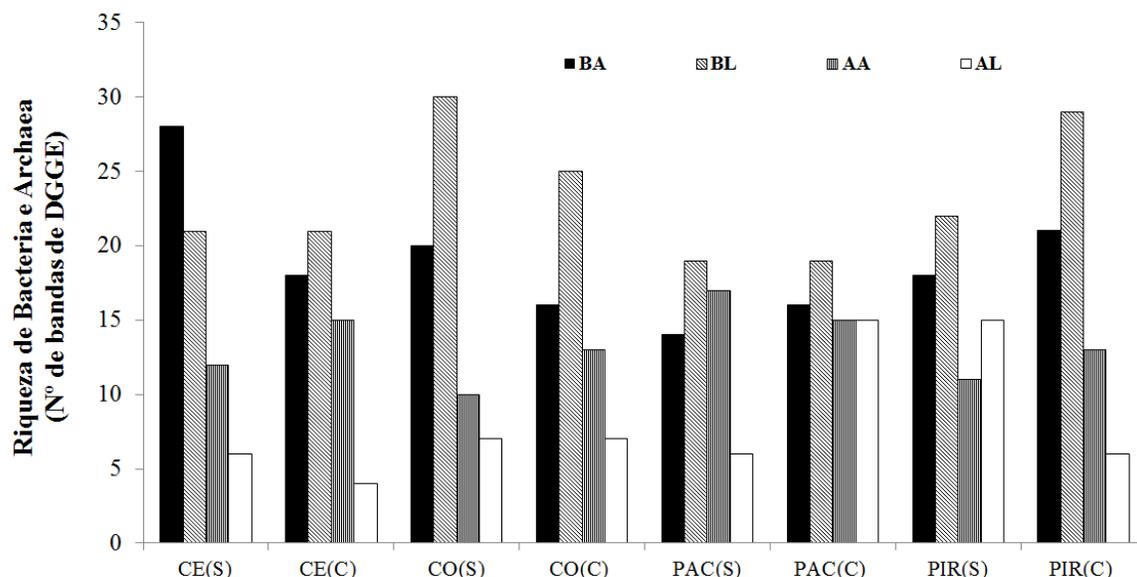
### 2.2.1 Riqueza

A riqueza de Bacteria e Archaea, representada pela soma das UTOs de vida livre e aderidas são mostradas na Figura 10. Independente da condição ambiental a riqueza de Bacteria foi maior que a de Archaea em todos os estuários. Em todas as amostras, com exceção do CE(S), a riqueza de BL foi maior que a de BA. Também com exceção do PAC(C) e PIR(S) a riqueza de AA foi maior que a de AL.

Levando em consideração a riqueza total de Bacteria (nº de UTOs de BA + BL) é possível observar um padrão de variação sazonal distinto entre os estuários. Enquanto para o CO e CE a maior riqueza total de Bacteria foi encontrada no período seco, para o PAC e PIR foi no período chuvoso. Destaca-se que para o CE, CO e PIR a diferença entre o seco e chuvoso foi de cerca de 10 OTUs e para o PAC foi de apenas 2 OTUs.

Para a riqueza total de Archaea (nº de UTOs de AA + AL) observou-se uma menor variação sazonal, sendo a diferença entre o período seco e chuvoso de no máximo de 3 OTUs no CE e CO e de 7 OTUs no PAC e PIR. Com exceção do PIR, as maiores riquezas de Archaea foram observadas no período chuvoso.

Figura 10 - Riqueza de Bactérias aderidas (BA) e livres (BL) e Arqueas aderidas (AA) e livres (AL) nos estuários dos Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C).



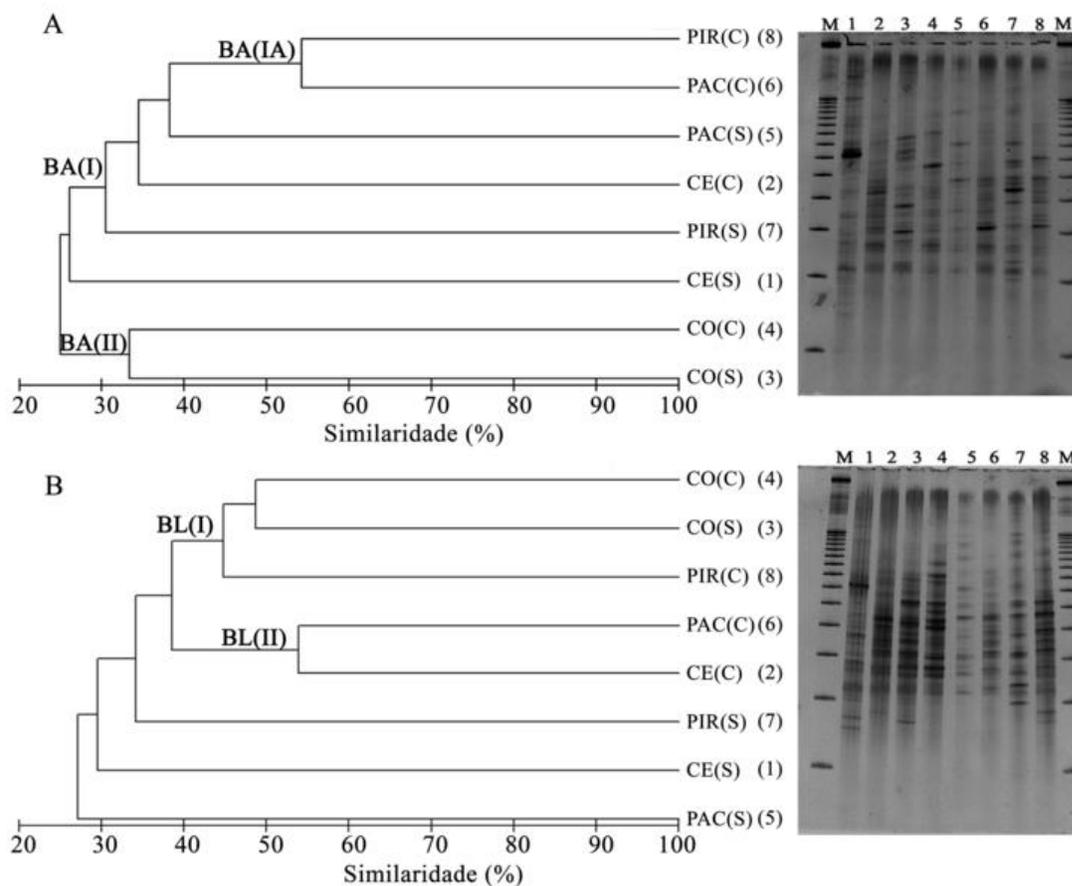
### 2.2.2 Análise de similaridade

Nas figuras 11a e 11b são apresentadas as análises de agrupamento baseadas nas matrizes de similaridade Jaccard para BA e BL, respectivamente. Considerando a variação temporal em cada estuário, o CE, CO, PAC e PIR compartilharam 31%, 33%, 36% e 34% de suas UTOs de BA entre o período seco e chuvoso, respectivamente. Comparando-se todos os estuários na análise de agrupamento para BA houve a tendência de formação de dois grupos com nível de 30% de similaridade, embora segundo o teste de SIMPROF a formação dos mesmos não tenha significativa ( $p > 0,05$ ). O grupo BA(I) incluiu o CE(C), PAC(S), PAC(C), PIR(S) e PIR(C) e grupo BA(II) o CO(S) e CO(C). Destaca-se um grupo menor BA(IA) formado pelo PAC(C) e PIR(C) com 54% de similaridade. O CE(S) não esteve incluído na formação destes grupos (Figura 11a).

Considerando a variação temporal em cada estuário para a BL os estuários CE, CO, PAC e PIR compartilharam 31%, 48%, 31% e 24% das UTOs entre o período seco e chuvoso, respectivamente. Na análise de agrupamento para BL houve a tendência de formação de dois grupos com 40% de similaridade, embora segundo o teste de SIMPROF a formação dos mesmos, tal como observado para BA, não tenha sido significativa ( $p > 0,05$ ). O grupo BL(I) inclui o

CO(S), CO(C) e PIR(C) e o grupo BL(II) o CE(C) e PIR(C) (Figura 11b). A composição de BL no CE(S), PAC(S) e PIR(S) foram distintas entre si e também das demais amostras.

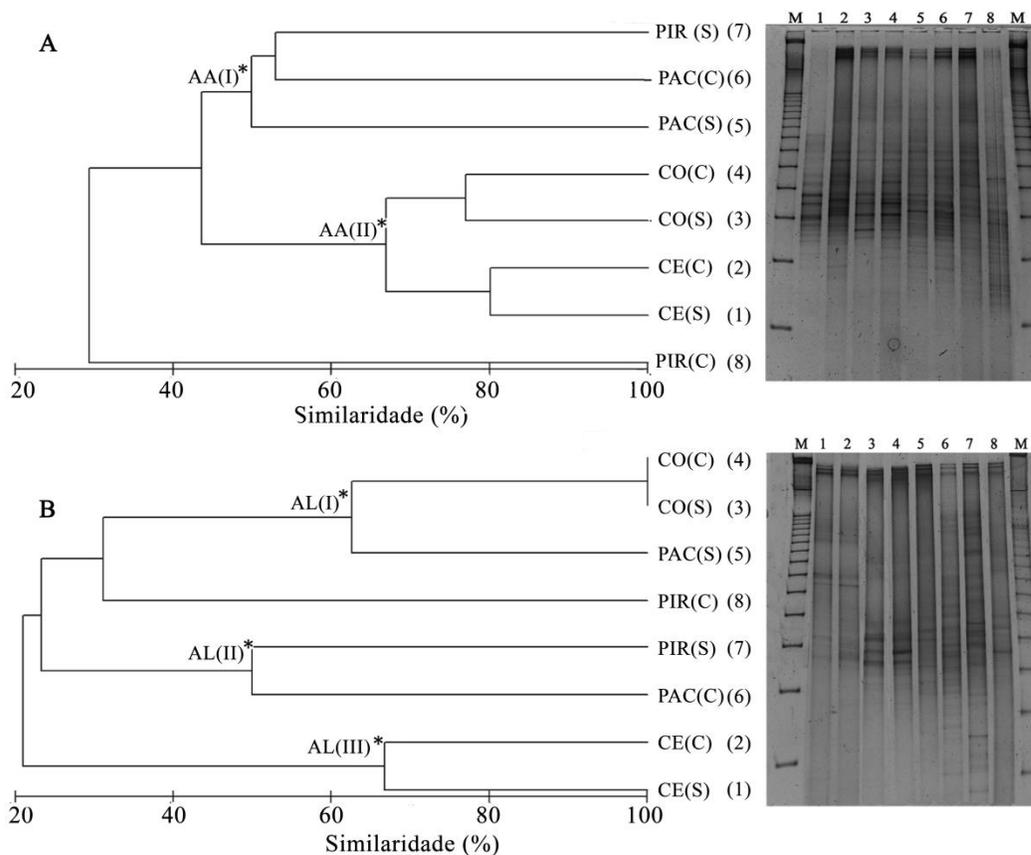
Figura 11 - Análise de agrupamento para as assembleias de Bactérias Aderidas (BA) (A) e Livres (BL) (B), evidenciando os grupos formados. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), marcador (M).



Nas figuras 12a e 12b são apresentadas as análises de agrupamento baseadas nas matrizes de similaridade Jaccard para AA e AL. Para AA foi encontrada uma menor variação temporal que para BA e BL. Os estuários CE, CO, PAC e PIR compartilharam, respectivamente, 80%, 77%, 52% e 50% das UTOs de AA entre o período seco e chuvoso. Segundo o teste de SIMPROF houve a formação significativa ( $P < 0.05$ ) de dois grupos com pelo menos 50% de similaridade. O grupo AA(I) foi formado pelas amostras PAC(C), PIR(C) e PIR(S) e o grupo AA(II) pelas amostras CE(S), CE(C), CO(S) e CO(C) (Figura 12a).

Para AL a menor variação temporal entre o período seco e chuvoso foi encontrada no CO e CE, onde 67% e 100% das UTOs estiveram presentes em ambos os períodos. Para o PAC e PIR cerca de 30% das UTOs de AL estiveram presentes em ambos os períodos. De acordo com o teste de SIMPROF houve a formação significativa ( $p < 0.05$ ) de três grupos com pelo menos 50% de similaridade. O grupo AL(I) foi formado pelas amostras CO(S), CO(C) e PAC(S); o grupo AL(II) pelas amostras PIR(S) e PAC(C); e o grupo III pelo CE(S) e CE(C) (Figura 12b).

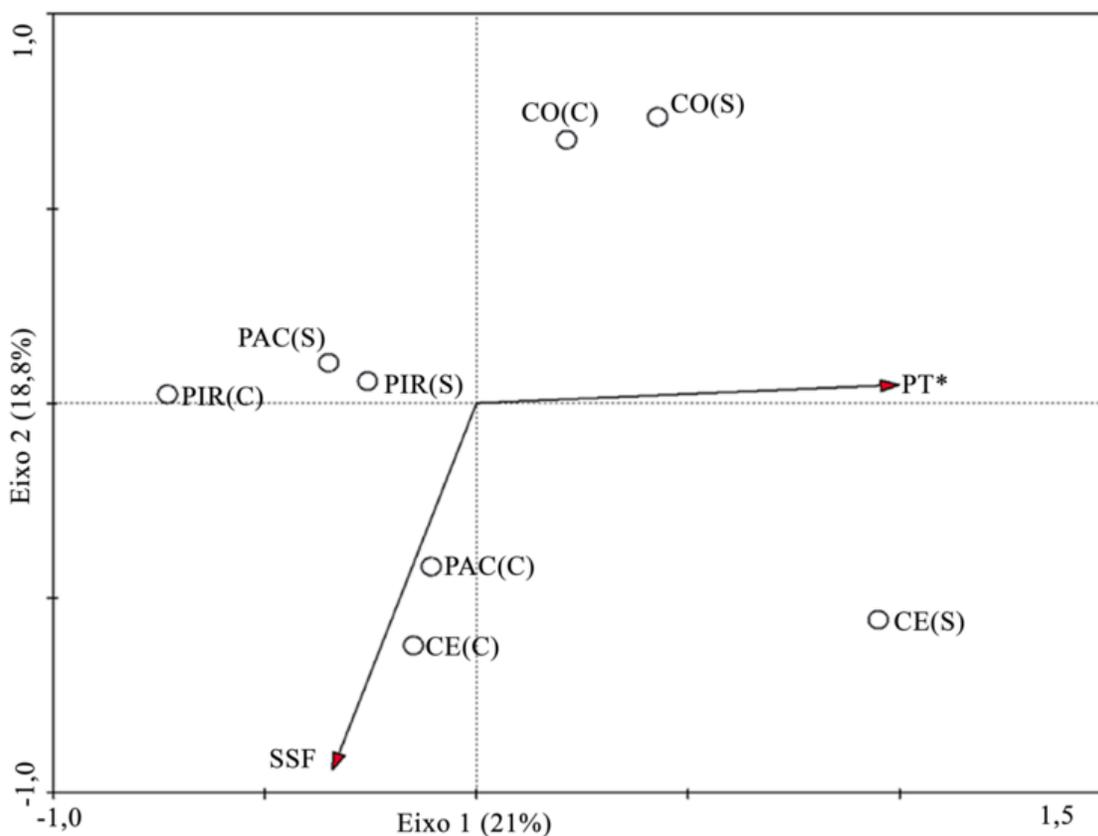
Figura 12 - Análise de agrupamento para as assembleias de Arqueas Aderidas (BA) (A) e Livres (BL) (B), evidenciando os grupos formados. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), marcador (M).



### 2.2.3 Análise de redundância (RDA) e escalonamento multidimensional (MDS)

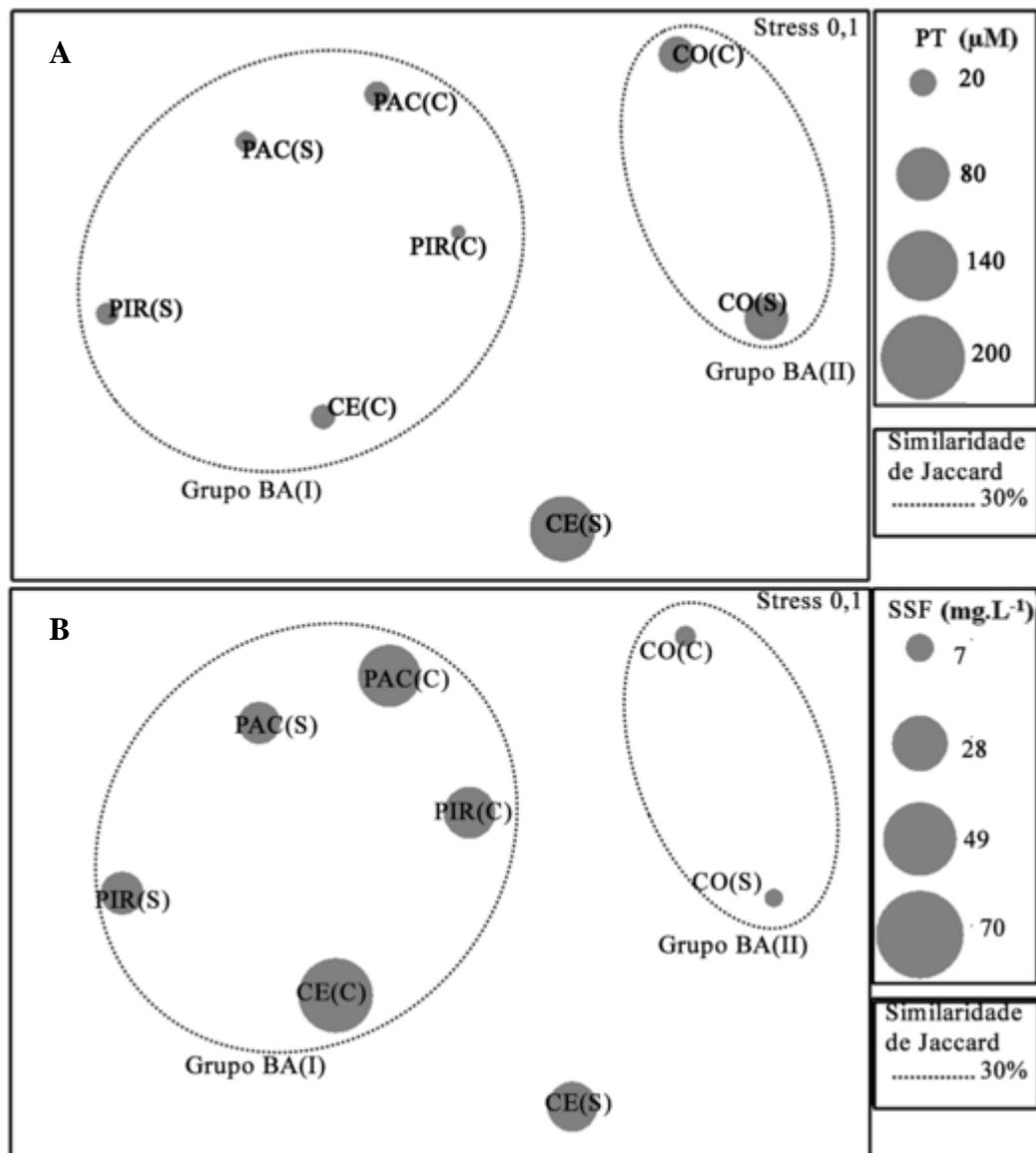
Com objetivo de determinar quais fatores ambientais poderiam explicar a variabilidade na composição das assembleias utilizou-se a Análise de Redundância (RDA). Na RDA prévia para BA as concentrações de PT ( $\lambda_1 = 0,210$ ,  $p = 0,012$ ), PSR ( $\lambda_1 = 0,199$ ,  $p = 0,032$ ) e NT ( $\lambda_1 = 0,194$ ,  $p = 0,038$ ) apresentaram efeitos marginais significativos sobre a composição desta assembleia. Quando os efeitos condicionais foram calculados apenas o TP ( $\lambda_A = 0,210$ ,  $P = 0,012$ ) permaneceu como significativo. O PSR e o NT perderam significância devido as suas fortes correlações com o PT. Depois do PT a segunda variável com maior efeito condicional (mesmo que não significativa) retida na RDA final para BA foram as concentrações de SSF ( $\lambda_A = 0,19$ ;  $P = 0,05$ ). A variação na composição de BA entre os estuários representadas pelos eixos 1 e 2 foram, respectivamente, 21,0% e 18,8% (Figura 13). Com o eixo 1 a variável ambiental mais fortemente correlacionada foi o PT ( $R = 0,9641$ ) e com o eixo 2 foi o SSF ( $R = - 0,9048$ ). Considerando-se o  $R^2$  ajustado global da RDA final, a variação total na composição de BA explicada foi de 15,7% ( $R^2$  ajustado = 0,157).

Figura 13 - Análise de Redundância para a assembleia de Bactérias Aderidas (BA). CE (Ceará), CO (Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). \*Variável com efeito condicional significativo ( $p < 0.05$ ).



Na MDS para a composição de BA os grupos obtidos na Análise de agrupamento foram marcados e pôde-se observar que as OTUs do grupo BA(I) foram relacionadas com as menores concentrações de PT ( $< 20 \mu\text{M}$ ) e SSF variando entre 20 e  $70 \text{ mg.L}^{-1}$  (Figuras 14a e 14b). O grupo BA(II) que foi formado pelas UTOs de BA do CO(S) e CO(C) foi relacionado as concentrações de PT intermediárias entre aquelas do grupo BA(II) e a do CE(S). As UTOs do grupo BA(II) também são associadas aos menores valores de SSF dentro do conjunto amostral. Claramente a composição de CE(S) distinguiu-se das demais pelas maiores concentrações de PT.

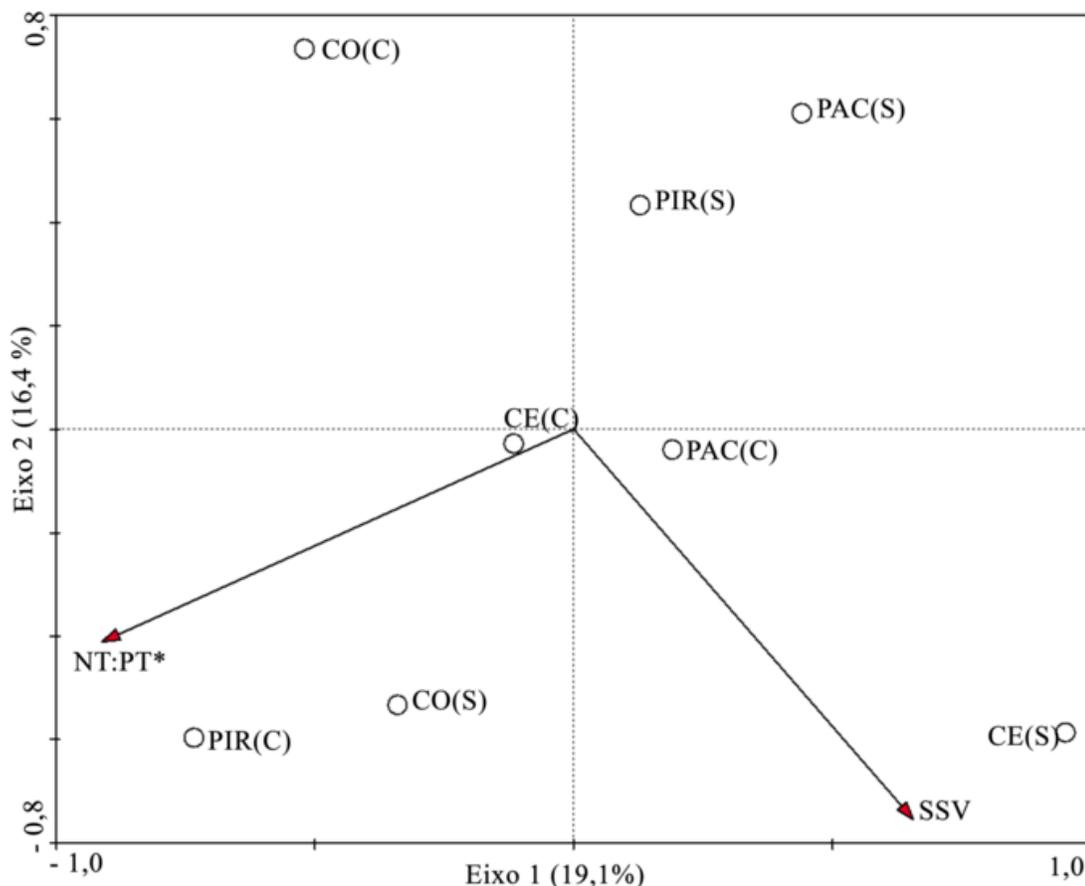
Figura 14 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para as bactérias aderidas. Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição de PT (A) e SSF (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO (Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C), PT (Fósforo Total), SST (Sólidos suspensos totais).



Para BL apenas as razões NT:PT apresentou efeitos marginal ( $\lambda_1 = 0,19$ ,  $P = 0,021$ ) e condicional significativos ( $\lambda_A = 0,19$ ,  $P = 0,021$ ). Obedecendo ao mesmo critério utilizado para BA, no modelo final de RDA para BL incluiu-se as razões NT:PT e as concentrações de SSV ( $\lambda_A = 0,17$ ,  $P = 0,14$ ) que foi a segunda variável com maior efeito condicional, mesmo que não significativo (Figure 15). Os dois primeiros eixos representaram 35,5% da variação na composição BL, embora segundo o cálculo do  $R^2$  ajustado a variação total de BL explicada pelo modelo tenha sido de apenas 9,7% ( $R^2$  ajustado = 0,097). Com o eixo 1 (19,1%) esteve mais

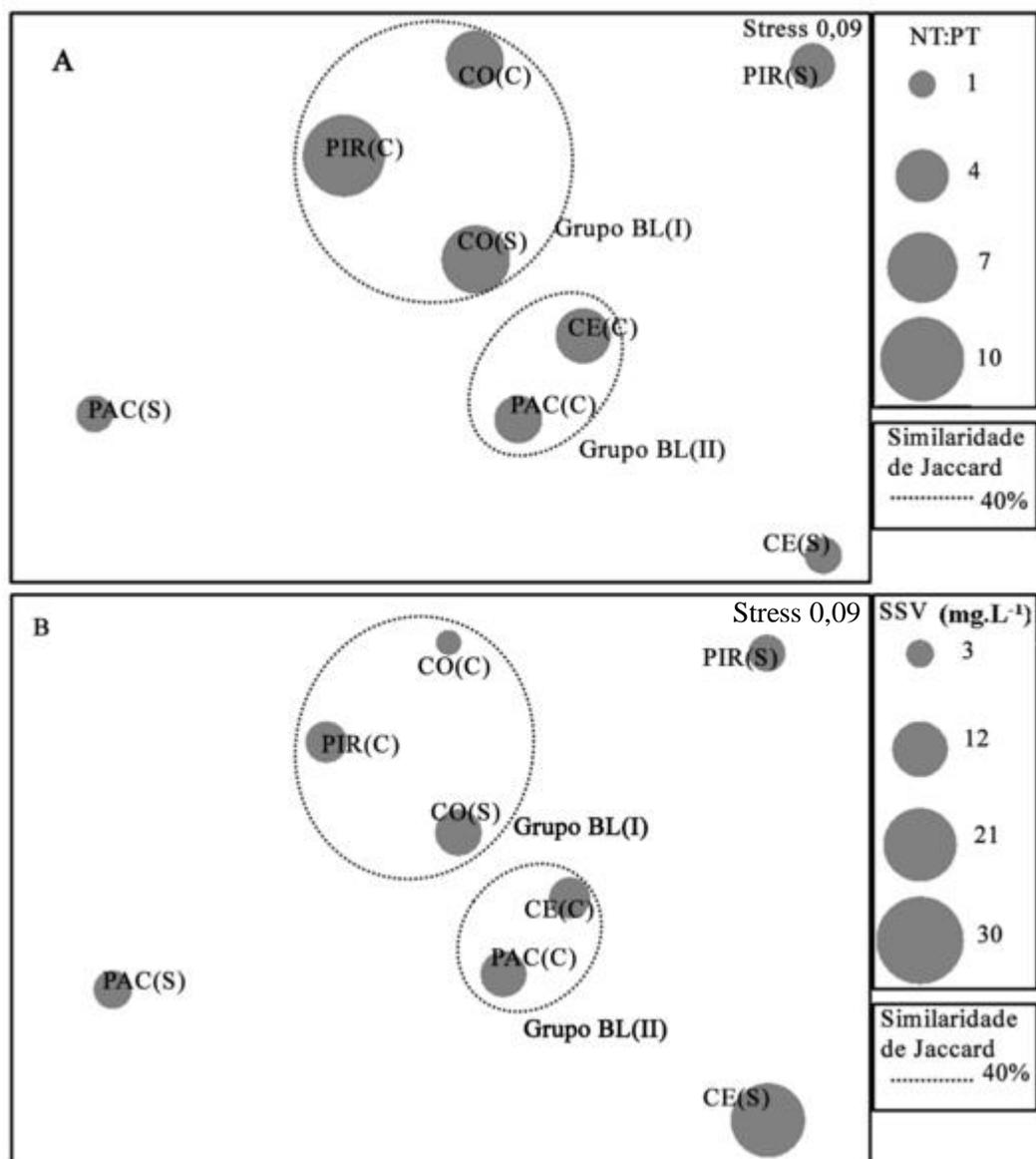
fortemente correlacionada as razões NT:PT ( $R = -0,9033$ ) e com o eixo 2 (16,4%) as concentrações de SSV ( $R = -0,7360$ ).

Figura 15 - Análise de Redundância para a assembleia de Bactérias Livres (BL). CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). \*Variável com efeito condicional significante ( $p < 0,05$ ).



Na MDS para BL observa-se que a composição de UTOs das amostras presentes no grupo BL(I) foi associada às maiores razões NT:PT dentro do conjunto amostral (Figura 16a). A composição do grupo BL(II) esteve associada com razões NT:PT intermediárias entre o grupo BL(I) e as encontradas no CE(S), PAC(S) e PIR(S). Levando em consideração as concentrações de SSV nenhum padrão foi observado em relação aos grupos (Figura 16b).

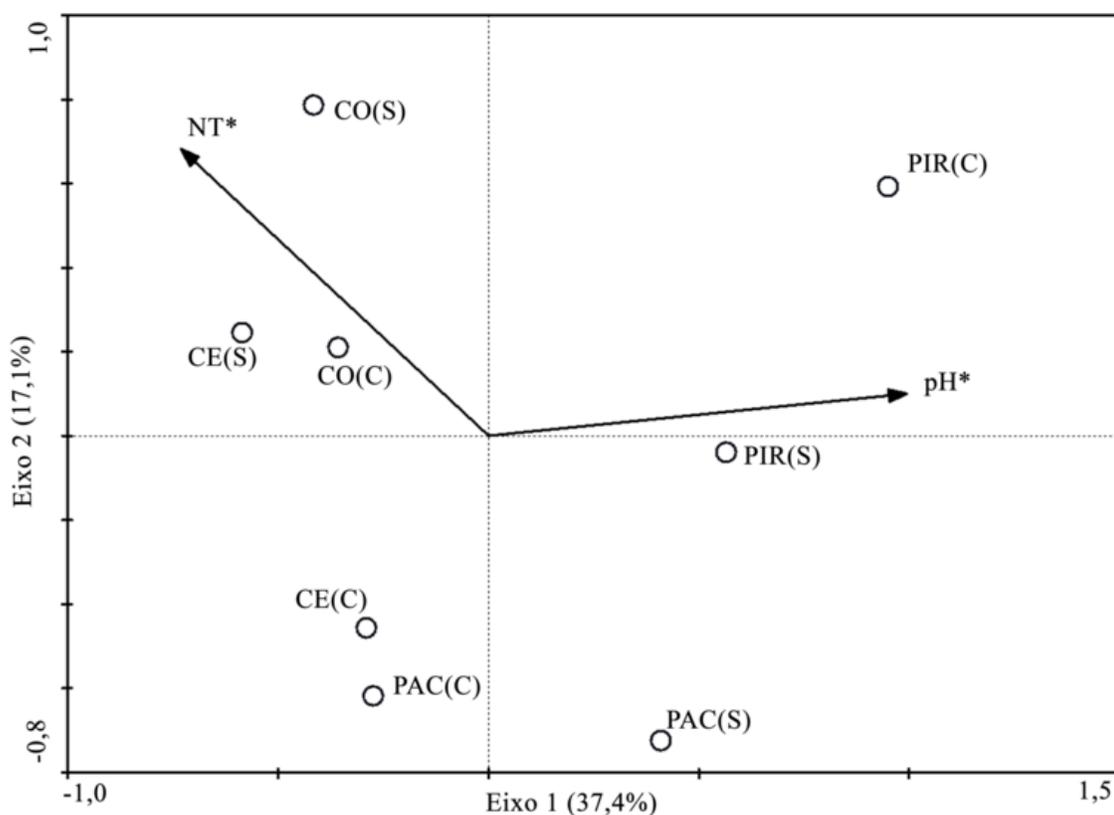
Figura 16 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para Bactérias Livres. Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição das razões NT:PT (A) e SSV (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C).



Para AA as variáveis que apresentaram efeitos marginais significativos foram o pH ( $\lambda_1 = 0,372$ ,  $p = 0,002$ ) e as concentrações de N-Amoniacal ( $\lambda_1 = 0,306$ ,  $p = 0,018$ ), PSR ( $\lambda_1 = 0,292$ ,  $p = 0,032$ ), PT ( $\lambda_1 = 0,282$ ,  $p = 0,030$ ) e NT ( $\lambda_1 = 0,280$ ,  $p = 0,032$ ). Considerando os efeitos condicionais o pH ( $\lambda_A = 0,370$ ,  $P = 0,002$ ) e NT ( $\lambda_A = 0,180$ ,  $P = 0,028$ ) foram as variáveis que permaneceram como significativas. Estas duas variáveis foram retidas na RDA final para AA

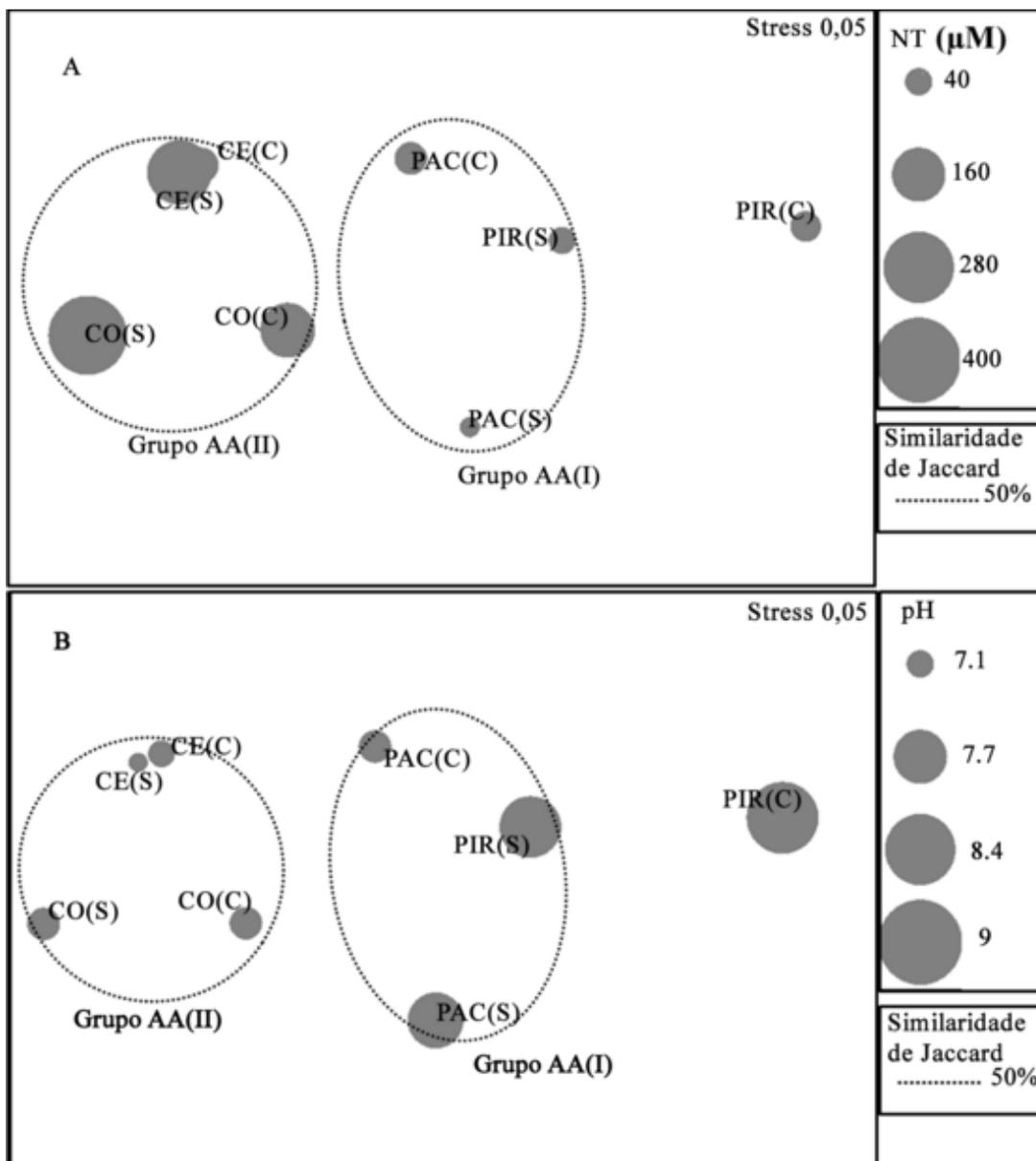
(Figura 17). A variação na composição de AA representada pelos eixos 1 e 2 na RDA final foi de 37,4% e 17,1%, respectivamente. Com o eixo 1 esteve mais fortemente correlacionado o pH ( $R=0,9574$ ) e com o eixo 2 o NT ( $R=0,6494$ ). O NT também teve uma forte correlação negativa com o eixo 1 ( $R= - 0,7036$ ). Segundo o  $R^2$  ajustado global da RDA final, 36,4% da variação na composição de AA foi explicada ( $R^2$  ajustado = 0,363).

Figura 17 - Análise de Redundância para a assembleia de Arqueas Aderidas (AA). CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C). \*Variável com efeito condicional significativo ( $p<0.05$ ).



Na MDS para AA observa-se que a composição de UTOs das amostras presentes no grupo AA(II) foram associadas aos maiores valores de NT e menores valores de pH (Figura 18a e 18b). A composição de AA no PIR(R) distancia-se das demais amostras pelos maiores valores de pH (8,4).

Figura 18 - MDS indicando os grupos formados na análise de agrupamento para Arqueas Aderidas (AA). Os círculos de tamanhos diferentes representam a contribuição do NT (A) e pH (B) em cada uma das amostras. CE (Ceará), CO( Cocó), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR), Seco (S), Chuvoso (C).



## 2.3 DISCUSSÃO

A menor riqueza de arqueas quando comparada a de bactérias neste estudo coincide com o encontrado para outros estuários na camada superficial da coluna d'água (e.g. CRUMP; ARMBRUST; BAROSS, 2000; CRUMP; BARROS, 2000), e indicam que as bactérias devem ter sido mais abundantes que as arqueias em todas as amostras. De fato, estudos demonstram que embora as arqueas estejam presentes na camada superficial da coluna d'água de ambientes estuarinos e costeiros, as bactérias são mais abundantes e, portanto, dominantes (BOUVIER; DEL GIORGIO 2002; GARNEAU et al., 2009; OLAPADE et al., 2012).

Por sua vez, as arqueas são frequentemente associadas às partículas em suspensão (CRUMP et al., 2000; GARNEAU et al., 2006; WELLS et al., 2006), o que justifica a maior riqueza de AA quando comparada a de AL na maioria das amostras. Nas partículas em suspensão há uma maior abundância de recursos, incluindo compostos biodegradáveis e recalcitrantes, assim como a presença de zonas anaeróbicas (SIMON et al., 2002).

A menor diversidade de BA em relação a BL é mostrada em outros estudos (JING; LIU, 2012; ACINAS et al., 1997), embora em sistemas eutróficos e, principalmente, em estuários que são ambientes ricos em partículas em suspensão, a contribuição de BA para a produção bacteriana total possa ser maior que 90% (CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998; GARNEAU et al., 2009; ORTEGA-RETUERTA et al., 2013).

De maneira geral, considerando-se tanto a variação na riqueza total, como a porcentagem de UTOs que foram comuns ao período seco e chuvoso em cada estuário, pôde-se observar que as bactérias apresentaram uma maior variação sazonal que as arqueias. Neste sentido, destaca-se a baixa variação sazonal encontrada para AA e FA no CO e CE, onde mais de 60% das OTUs encontradas no período seco permaneceram no período chuvoso. Esses resultados indicam que estas podem ser arqueias nativas e bem adaptadas às mudanças sazonais nas concentrações de nutrientes, clorofila *a*, oxigênio dissolvido, SST e salinidade nestes estuários (CE e CO) (ver Parte 1). Embora diversos estudos mostrem que as arqueas podem variar sazonalmente (MURRAY et al., 1998; AUGUET et al., 2011), em alguns ambientes este grupo de procariotos é dominado por poucas UTOs que possuem uma alta estabilidade temporal (BANO et al., 2004), sugerindo assim uma maior resistência às mudanças ambientais.

Interessantemente, Colares e Melo (2013) analisando durante dois anos a variação sazonal na composição de procariotos no solo de rizosfera de *Rhizophora mangle* do manguezal do Rio Pacoti observaram que enquanto para as bactérias o padrão de variação foi sazonal, para as arqueias o padrão de variação foi anual.

Quanto a variação na composição das assembleias entre os estuários observou-se que BA e AA foram as mais sensíveis as diferenças nas concentrações de nutrientes. Segundo a RDA para BA, dentre o conjunto de variáveis ambientais medidas, a variação na composição desta assembleia entre os estuários foi principalmente explicada ( $R^2$  ajustado = 0,146) pelas diferenças nas concentrações de PT e SSF. A baixa porcentagem de explicação dada por estas duas variáveis foi também indicada pela disposição espacial das amostras na MDS para BA, onde a distribuição espacial das amostras dentro do Grupo BA(II) diferiu da encontrada na RDA para BA. Isto demonstra que outros fatores além dos analisados e representados na RDA devem estar influenciando a variabilidade da composição de BA entre as amostras.

Em contrapartida, observando a RDA e a MDS para BA é possível dizer que as mais altas concentrações de PT encontradas no CE(S), CO(S) e CO(C) explicaram em parte, porque a composição de BA nestas três amostras diferiu das demais. Dentro deste contexto, outros estudos têm mostrado que tanto as concentrações de fósforo como as nitrogênio afetam a composição de bactérias (ZHANG et al. 2009; LAQUE et al. 2010), destacando a interferência da poluição antropogênica na seleção de populações bacterianas.

Por sua vez, a composição de BA no CO(S) e CO(C) diferiu do CE(S) e das demais amostras por terem estado relacionadas às mais baixas concentrações de SSF dentro do conjunto amostral. No CO(S) e CO(C) as concentrações de SSF também foram as menores dentro do conjunto amostral. Dentro deste contexto, Jing e Liu (2012) relacionaram a variação na composição BA em um estuário subtropical (estuário do Rio Pearl, Hong Kong, China) a mudanças não só na quantidade, mas também na qualidade das partículas em suspensão.

Na RDA para FB mostrou-se o efeito significativo de NT:PT sobre a composição desta assembleia. Isto é consistente com outros estudos que tem mostrado que tal como observado para o fitoplâncton, o bacterioplâncton também é afetado pela limitação de fósforo ou nitrogênio no ambiente (REVILLA et al., 2000; CARLSSON et al., 2012; GREGORACCI et al., 2012), isto é, pelas razões NT:PT.

A baixa porcentagem de explicação na variação de BL dada pelas razões NT:PT é indicada pela grande diferença entre a disposição espacial das amostras nas respectivas MDS e RDA para BL. Nestas análises é possível observar, no entanto, que CE(S), PAC(S) e PIR(S) diferiram das demais amostras pelas menores razões TN:TP, tendo as mesmas diferido entre si quanto as concentrações de clorofila *a*. Salienta-se que considerando um padrão de 10N:1P para o bacterioplâncton (FAGERBAKKE; HELDAL; NORLAND, 1996) sugere-se que, em especial, no CE(S), PAC(S) e PIR(S) a composição de BL deve ter sido composta por UTOs adaptadas a baixas razões estequiométricas. Por sua vez, como indicado na MDS a composição de BL deve ter diferido das demais amostras devido as mais altas concentrações de SSV (matéria orgânica particulada) nesta amostra.

Como observado na RDA e MDS para AA, a variação na composição desta assembleia entre os estuários foi relacionada significativamente as concentrações de NT e pH. Isto está de acordo com o reconhecido papel das arqueias (Arqueias Oxidante de Amônia - AOA) no ciclo do nitrogênio (FRANCIS et al., 2005; WUCHTER et al., 2006) e da influência do pH na composição de AOA (LI et al., 2013). Claramente, a composição no CO e CE se distinguiu do PAC e PIR pelas maiores concentrações de NT e menores valores de pH.

Levando em consideração os efeitos marginais significativos, isto é, a influência de uma variável sobre a composição das assembleias quando os efeitos de outras variáveis são ignorados, tanto as concentrações de fósforo como de nitrogênio afetaram as composições de BA e AA. Isto sugere que BA e AA podem ser reguladas por fatores similares na camada superficial de ambientes estuarinos. Dentro deste contexto, estudos demonstram que o padrão de distribuição global de bactérias e arqueias é similar, o que sugere que ambas as assembleias podem ser controladas pelos mesmos fatores (LOZUPONE; KNIGHT, 2007; AUGUET; BARBERAN; CASAMAYOR, 2010).

Devido a escassez de trabalhos que estudem a dinâmica das assembleias de arqueias na camada superficial de estuários, os resultados do presente estudo são interessantes porque indicam que mesmo nesta camada, onde as arqueas podem representar menos de 3% da abundância total de procariotos (BOUVIER e DEL GIORGIO, 2002), elas podem ser agentes dinâmicos dos ciclos biogeoquímicos.

Embora nem o teor de partículas em suspensão nem de oxigênio tenham sido apontados na RDA como determinantes da composição de AA e FA, é importante considerar que o fato de todos os estuários terem apresentando altas concentrações de partículas em suspensão e níveis de subsaturação de oxigênio, pode ter contribuído para a alta riqueza de arqueias na camada superficial. Por outro lado, devido a pequena profundidade dos estuários estudados, a presença de arqueias do sedimento na coluna d'água também deve ser considerada.

O fato de nenhuma variável medida ter sido identificada como importante para explicar a composição de FA, sugere que esta assembleia pode estar participando menos ativamente dos processos biogeoquímicos nos estuários estudados.

Por fim, é preciso destacar que apesar das grandes diferenças de salinidade entre os estuários, este não foi um fator que explicou a variação na composição das assembleias de procariotos entre os mesmos. Isso foi corroborado tanto pela RDA como pelas MDS, onde não foi possível se observar um gradiente em função dos níveis de salinidade para a composição de qualquer das assembleias.

Em concordância com estes resultados, Sousa et al. (2006) compararam por DGGE a composição do bacterioplâncton em quatro estuários da costa do Ceará (Pacoti, Pirangi, Choró e Jaguaribe) e observaram que as UTOs dominantes foram comuns a todos os estuários, mostrando que as mesmas não sofreram influência dos diferentes valores de pH, salinidade ou do número de anos da atividade carcinicultura nos estuários.

Colares e Melo (2013) também avaliaram a influência de fatores ambientais (pH, salinidade, material orgânica e porcentagem silte-argila) sobre a distribuição espacial e temporal das assembleias microbianas no manguezal do Rio Pacoti e mostraram que, apesar das grandes diferenças de salinidade entre o período seco e chuvoso, este não foi um fator que explicou a distribuição de bactérias e arqueias nos sedimentos deste manguezal.

Por outro lado, Rodrigues et al. (2013) avaliaram por DGGE a composição bacteriana no estuário do Rio Cachoeira (Bahia, nordeste do Brasil) e indicaram que a salinidade e os nutrientes inorgânicos foram reguladores da distribuição de bactérias ao longo do gradientes de salinidade neste estuário. Apesar destas conclusões, neste mesmo trabalho é importante enfatizar que metade das UTOs encontradas foram comuns as regiões de salinidade variando de 3,16 a 25.

### 2.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do grande gradiente de salinidade observado nos estuários estudados a variabilidade na composição de Bacteria e Archaea foi mais relacionada as concentrações de nitrogênio e fósforo. As assembleias aderidas às partículas foram mais associadas aos nutrientes do que as de vida livre, sugerindo uma maior participação das mesmas nos ciclos biogeoquímicos nestes estuários.

Embora as concentrações de nutrientes (N e P), além das razões NT:PT e pH tenham influenciado significativamente a composição das assembleias procarióticas, os baixos valores de explicação dos dados por RDA mostraram que é difícil determinar os fatores chaves que modulam a composição de bactérias e arqueas em estuários de baixo de influxo. Outros fatores além dos medidos neste estudo (e.g. carbono orgânico dissolvido, lise viral, predação) podem ter sido determinantes para explicar grande parte da variação residual não explicada pelos modelos de RDA. Além disso, as baixas correlações lineares entre os teores de nutrientes e a composição das assembleias foi um indicativo de que não é apenas um único fator, mas sim uma combinação de fatores o que explica a dinâmica de procariotos em estuários de baixo influxo.



## **Parte 3:**

# **Estudo da assembleia de Fitoplâncton em estuários de baixo influxo sob estresses antropogênicos**

## **3.1 METODOLOGIA**

### **3.1.1 Amostragem e preservação das amostras**

As amostras destinadas as análises quali-quantitativas de fitoplâncton foram coletadas em duplicata nos estuários dos Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR) nos períodos seco (nov/2010) e chuvoso (Maio/2011), concomitante as coletas das amostras para as análises físico-químicas da água (Parte 1). As amostragens ocorreram com o auxílio de garrafa de Van Dorn na profundidade de 0,5 m. A localização das estações de coleta foi previamente descrita na Parte 1. As amostras para as análises de fitoplâncton foram coletadas em duplicata e fixadas imediatamente após a coleta. Uma das réplicas foi fixada em solução de Lugol 2% (Dinâmica) na proporção de 100 mL de água para 1 mL de Lugol. A outra foi fixada com Formaldeído 40% (Dinâmica) neutralizado com Bórax (Dinâmica) na proporção de 100 mL de água para 1 mL do fixador. Foram escolhidos dois tipos de fixador porque ambos possuem vantagens e desvantagens. O Lugol é o tipo de fixador mais comumente utilizado, no entanto como causa a coloração das amostras a identificação de alguns organismos pode ser dificultada. Portanto, utilizou-se também o formol o qual possui a vantagem de manter a coloração natural dos organismos, não sendo todavia aconselhável para a contagem de células sem parede já que a forma das mesmas podem ser distorcidas e os flagelos perdidos (EDLER; ELBRÄCHTER, 2010).

Para auxiliar na análise qualitativa das espécies de cada estuário também foram feitos arrastos horizontais com rede de plâncton com malha de 20  $\mu$ m. Essas amostras foram armazenadas em frascos plástico de 200 mL e foram imediatamente fixadas Formaldeído 40% (Dinâmica) neutralizado com Bórax (Dinâmica) na proporção de 100 mL de água para 10 mL do fixador.

### 3.1.2 Análises quali-quantitativas

A quantificação e identificação dos organismos foi feita segundo o método de Utermöhl em microscópio invertido com aumento de 400x (Olympus CK2) (EDLER; ELBRÄCHTER, 2010), tanto nas amostras fixadas com Lugol quanto naquelas fixadas com Formaldeído. A câmara de contagem foi preenchida com volume de 2 a 10 mL de água, na dependência da concentração celular. A contagem foi padronizada para se obter 100 indivíduos (células, colônias, filamentos e tricomas) da espécie dominante, tendo sido o erro padrão estimado em 20% e o limite de confiança de 95% (EDLER; ELBRÄCHTER, 2010).

A identificação das espécies foi completada pela observação em microscópio óptico binocular com aumento de 400 a 1000x (Zeiss modelo Standard 25) das amostras de rede de plâncton.

A identificação no menor nível taxonômico possível foi baseada em bibliografia específica (livros, teses, dissertações e artigos) para cada grupo fitoplânctônico, destacando dentre estes: Al-Yamani e Saburova (2010; 2011); Al-Kandari, Al-Yamani e Al-Rifaie (2009); Bicudo e Menezes (2005); Comas (1996), Cupp (1943); Domingos e Menezes (1998); Domingues e Torgan (2011); Godinho et al. (2010); Islabão e Odebrecht (2011); Komárek e Anagnostidis (2000); Komárek e Komárková (2004); Komárek e Anagnostidis (2005); Komárek e Cronberg (2001); Komárek e Fott (1983); Menezes e Novarino (2003); Round, Crawford e Mann (1990); Santos (2008), Silva (2009); Rosini (2010); Tell e Conforti (1986); e Tomas (1996). Os sistemas de classificação adotados foram os apresentados em: Komárek e Anagnostidis (1989; 2000; 2005) para Cyanophyta; Steidinger e Tangen (1996) para Dinophyta; Round, Crawford e Mann (op. cit.) para Bacillariophyta; e Van den Hoek, Mann e Jahns (1995) e Bicudo e Menezes (2005) para Chlorophyta, Euglenophyta e Cryptophyta.

### 3.1.2 Análise de Dados

- **Abundância relativa**

A abundância relativa (AR) de táxons (Divisões ou espécies) em cada uma das amostras foi calculada de acordo com a fórmula:

$$AR (\%) = D \times 100 / DT, \text{ onde:}$$

D = densidade de cada táxon na amostra;

DT = densidade total de organismos na amostra.

Os resultados expressos em porcentagem foram definidos nas seguintes categorias:

AR > 70% - Táxon dominante;

40% < AR ≤ 70% – Táxon abundante;

10 < AR ≤ 40 – Táxon pouco abundante;

AR ≤ 10% - Táxon raro.

- **Riqueza total**

Correspondeu ao número total de táxons específicos em cada amostra.

- **Índices de diversidade**

O índice de diversidade de Shannon (H') (1948) foi calculado de acordo com a fórmula:

$$H' = - \sum p_i \times \log_2 p_i$$

sendo,

$$p_i = N / D$$

onde, N = densidade de organismos de cada espécie; D = densidade total de organismos. Para o cálculo deste índice utilizou-se o programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY, 2006)

- **Análise de similaridade**

Para observar a similaridade entre as amostras quanto a densidade e composição da assembleia de fitoplâncton foi utilizada a análise de agrupamento a partir da matriz de similaridade de Bray-Curtis (Mc CUNE; GRACE, 2002) dos dados de densidade das espécies descritoras transformadas por raiz quarta. A transformação por raiz quarta é comumente utilizada para dados de contagem porque reduz o peso (influência) das espécies altamente abundantes na amostra (CLARKE, WARWICK; 2001). O método de agrupamento foi o das médias não ponderadas de grupos pareados (UPGMA). As espécies descritoras foram definidas como aquelas que alcançaram abundância relativa maior ou igual a 1% em pelo menos uma das amostras. Para verificar se a formação dos grupos observados na análise de agrupamento foi significativa utilizou-se a análise de similaridade de perfil (SIMPROF) com 499 permutações e nível de significância de  $p < 0,05$  (CLARKE, WARWICK; 2001; CLARKE; GORLEY, 2006). Por sua vez, para identificar quais espécies explicaram a similaridade entre as amostras dentro de cada um dos grupos fez-se o teste de Percentagem de Similaridade (SIMPER) (CLARKE, WARWICK; 2001; CLARKE; GORLEY, 2006). O programa PRIMER 6.0 (CLARKE; GORLEY, 2006) foi utilizado para todas estas análises.

- **Correlações de Spearman**

Para verificar a existência de correlações significativas entre a densidade total, a riqueza, a diversidade e biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*) e as variáveis abióticas medidas nos estuários (Parte 1)<sup>9</sup> fez-se o teste de correlação de Spearman. Para este procedimento as oito amostras foram consideradas, tendo sido, portanto, o valor de  $n=8$ . Os valores médios dos dados abióticos e da clorofila *a* foram previamente transformadas ( $\log(x+1)$ ). Este tipo de transformação é comumente utilizada para dados ambientais no intuito de diminuir a

---

<sup>9</sup> Secchi, pH, Sal (salinidade), T (temperatura), OD (Oxigênio dissolvido), SO (Saturação do oxigênio), Sólidos suspensos totais (SST), Sólidos suspensos fixos (SSF), Sólidos Suspensos voláteis (SSV), N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (N-Amoniacal), NT (Nitrogênio total), PSR (Fósforo Solúvel Reativo), PT (Fósforo total), Si (Silício solúvel reativo), NT:PT (Razões molares Nitrogênio total:Fósforo total).

heterogeneidade das variâncias dos dados (McCUNE; GRACE, 2002). O nível de significância admitido foi de  $p < 0.05$ . Apenas os valores significativos são destacados nas seções de Resultados e Discussão. Para estas análises utilizou-se o programa STATISTICA® for Windows, v 7.0, Stat Soft.

- **Análise de Correspondência Canônica (ACC)**

Para entender a relação entre a estrutura espacial e temporal da assembleia fitoplanctônica e as variáveis ambientais analisadas utilizou-se a Análise de Correspondência Canônica (ACC). A ACC foi escolhida porque o tamanho do gradiente estimado por uma Análise de Correspondência Retificada (DCA) feita previamente foi maior que 3,0, o que mostrou que as espécies seguiram uma distribuição normal (ANDREOTE et al., 2009). Para estas análises (DCA e ACC) foi preparado uma matriz com os valores de densidade das espécies descritoras (abundância relativa  $\geq 1\%$ ). Assim como para as análises anteriormente descritas os valores de densidade das espécies foram transformados por raiz quarta e os dados abióticos pelo cálculo do  $\log(x + 1)$ .

Primeiramente fez-se uma ACC prévia em que o efeito marginal ( $\lambda_1$ ) de todas as variáveis foi acessado. Este efeito corresponde a parte da inercia (variância) explicada por somente uma variável quando os efeitos das outras variáveis explanatórias são ignorados (TER BRAAK; SMILAUER, 2002). A significância destes efeitos foi acessada pelo teste de Monte Carlos (499 permutações). Nesta ACC prévia mostrou-se que do conjunto de dezessete variáveis abióticas analisadas (Parte 1)<sup>10</sup> três apresentaram efeito marginal significante. Somente estas três variáveis abióticas (Salinidade, Nitrogênio total e Silício solúvel reativo) foram utilizadas em uma segunda ACC. Nesta ACC final a significância dos eixos foi obtida pelo teste de Monte Carlos (499 permutações). O nível de significância admitido em todas as análises foi de  $p < 0,05$ . Para a DCA e ACC o programa utilizado foi o Canoco 4.5 (Biometry, Wageningen, The Netherlands).

---

<sup>10</sup> Secchi, pH, Sal (salinidade), T (temperatura), OD (Oxigênio dissolvido), SO (Saturação do oxigênio), Sólidos suspensos totais (SST), Sólidos suspensos fixos (SSF), Sólidos Suspensos voláteis (SSV), N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (N-Amoniacal), NT (Nitrogênio total), PSR (Fósforo Solúvel Reativo), PT (Fósforo total), Si (Silício solúvel reativo), NT:PT (Razões molares Nitrogênio total:Fósforo total).



## 3.2 RESULTADOS

### 3.2.2 Estrutura da assembleia fitoplanctônica

A assembleia de fitoplâncton nos estuários CE, CO, PAC e PIR, nos períodos seco (S) e chuvoso (C), foi composta por 155 táxons distribuídos entre as Divisões Cyanophyta (30), Chlorophyta (33), Bacillariophyta (45), Cryptophyta (10), Euglenophyta (19) e Dinophyta (14), além de quatro táxons não identificados (ONI).

Na tabela 7 é apresentado um apanhado geral acerca do número de táxons pertencentes às diferentes Divisões fitoplanctônicas, totais e exclusivos, dos locais (estuário/período) de amostragem. Destaca-se que considerando os quatro estuários as maiores porcentagens de táxons exclusivos de cada local (> 60%) foram registradas no período seco.

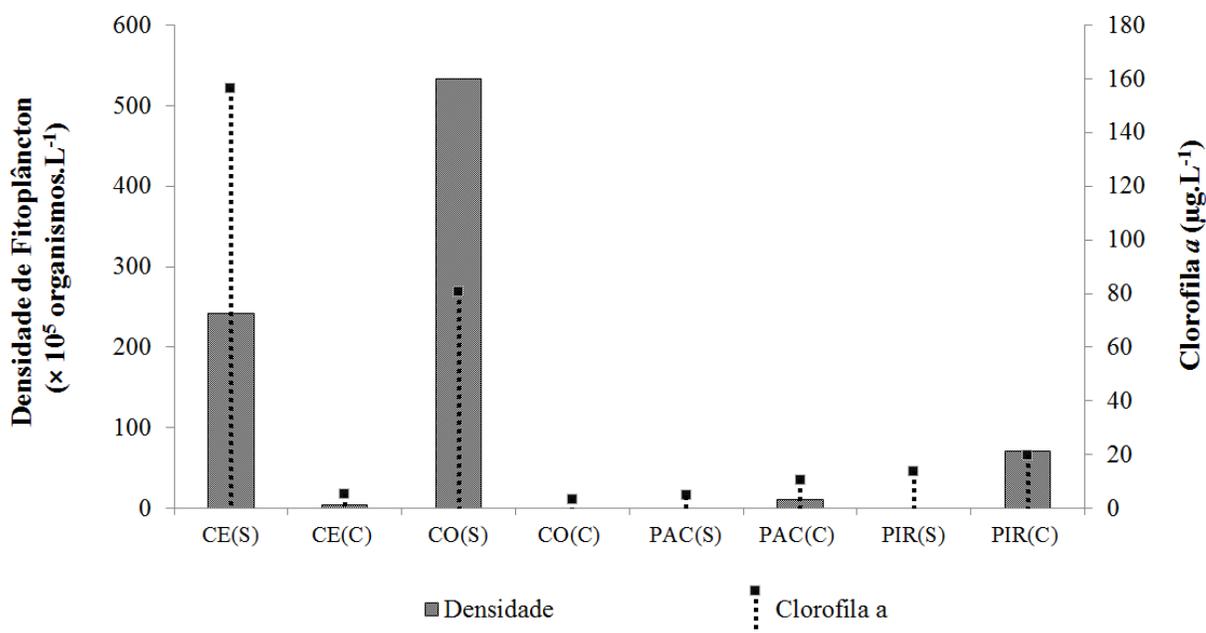
Tabela 7 - Número de táxons total e exclusivos pertencentes às diferentes Divisões fitoplanctônicas dos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). ONI: Organismos não identificados.

Divisões	ESTUÁRIOS(PERÍODO)							
	CE(S)	CE(C)	CO(S)	CO(C)	PAC(S)	PAC(C)	PIR(S)	PIR(C)
CYANOPHYTA	5	10	10	7	0	4	0	14
CHLOROPHYTA	2	1	14	12	0	5	0	14
BACILLARIOPHYTA	6	12	5	7	14	5	12	5
CRYPTOPHYTA	2	3	1	2	1	0	1	2
EUGLENOPHYTA	0	6	1	7	2	3	1	5
DINOPHYTA	4	0	1	0	2	1	5	1
ONI	0	1	1	1	0	0	1	0
Nº Total de táxons	19	33	33	36	19	18	20	41
Táxons exclusivos								
CYANOPHYTA	2	4	7	2	0	0	0	7
CHLOROPHYTA	0	0	8	7	0	3	0	6
BACILLARIOPHYTA	4	7	2	2	10	3	11	1
CRYPTOPHYTA	2	2	0	0	1	0	1	2
EUGLENOPHYTA	0	3	1	3	2	2	1	4
DINOPHYTA	4	0	1	0	2	1	5	1
ONI	0	1	1	1	0	0	1	0
Nº Total de táxons exclusivos	12	17	20	15	15	9	19	21
% Total de táxons exclusivos	63%	52%	61%	42%	79%	50%	95%	51%

- **Densidade Fitoplanctônica total e Biomassa Fitoplanctônica total**

A densidade total do fitoplâncton variou de  $1,1 \times 10^5$  org L<sup>-1</sup> [CO(C) e PAC(S)] a  $533,6 \times 10^5$  org L<sup>-1</sup> [CO(S)], enquanto a biomassa fitoplanctônica estimada através da clorofila *a* variou de 3,4 µg L<sup>-1</sup> [CO(C)] a 156,4 µg L<sup>-1</sup> [CE(S)] (Figura 19). No CE e CO as maiores densidades foram encontradas no período seco, enquanto nos estuários PAC e PIR as maiores densidades foram registradas no período chuvoso. Nos estuários CE e CO as diferenças de densidade entre os períodos seco e chuvoso foram de duas ordens de grandeza, e nos estuários PAC e PIR foram de uma ordem de grandeza. Dentre as variáveis ambientais analisadas (Parte 1) a densidade total fitoplanctônica foi positiva e significativamente correlacionada com as concentrações de clorofila *a* (medida estimadora da biomassa fitoplanctônica) ( $P=0,9848$ ;  $p<0,05$ ) e com as concentrações de N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $P=0,8264$ ;  $p<0,05$ ) e SSV ( $P=0,9286$ ;  $p<0,05$ ). A correlação entre a densidade fitoplanctônica e SSV indicam que grande parte do material orgânico em suspensão presente nos estuários correspondeu ao próprio fitoplâncton.

Figura 19 - Densidade total e biomassa (estimada por concentração de clorofila *a*) fitoplanctônica nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C).

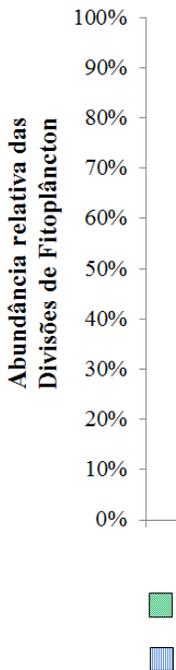




- **Composição Fitoplanctônica e Abundância Relativa (%)**

Nos quatro estuários no período seco observou-se a dominância (abundância relativa  $\geq 70\%$ ) de Cryptophyta e Cyanophyta respectivamente nos estuários CE e CO, e de Bacillariophyta, nos estuários PAC e PIR (Figura 20). No período chuvoso, observou-se a dominância (abundância relativa  $\geq 70\%$ ) da Divisão Chlorophyta apenas no estuário PIR. Nos estuários CE e PAC os grupos abundantes (abundância relativa  $\geq 40\%$  e  $< 70\%$ ) no período chuvoso foram Bacillariophyta e Cyanophyta, respectivamente. No estuário CO, no período chuvoso, registrou-se o maior equilíbrio quanto à abundância relativa das diferentes Divisões, tendo sido Cyanophyta e Chlorophyta os grupos de maior abundância relativa ( $\sim 35\%$  cada Divisão) nesta amostragem (Figura 20).

Figura 20 - Abundância relativa (%) das Divisões fitoplanctônicas nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C).



Quanto à composição específica, considerando-se a abundância relativa mais alta registrada em uma das amostras, observou-se que dos 155 táxons dois foram dominantes, um abundante, 15 pouco abundantes e 137 raros. No Apêndice 1 são apresentadas as abundâncias relativas dos 155 táxons fitoplanctônicos nos respectivos locais (estuário/período) de coleta. Os valores de densidade e abundância relativa dos táxons dominantes, abundantes e pouco abundantes podem ser observados na Tabela 8.

Dos 155 táxons, 65 foram definidos como táxons descritores, isto é, alcançaram abundância relativa maior ou igual a 1% em pelo menos uma das oito amostras. Na Tabela 9 apresenta-se uma classificação ecológica dos táxons descritores (identificados ao nível de espécie) quanto a salinidade em que os mesmos podem ser comumente encontrados. Nesta classificação ecológica também se indicou quando as espécies descritoras são associadas a condições eutróficas.

Tabela 8 - Composição específica dos táxons dominantes, abundantes e pouco abundantes considerando-se a abundância relativa mais alta registrada em um dos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). D: Densidade ( $\times 10^3 \text{ org L}^{-1}$ ); AR: Abundância relativa (%); CRYP: Cryptophyta; BAC: Bacilariophyta; CHL: Chlorophyta; CYA: Cyanophyta; EUG: Euglenophyta

Táxons	ESTUÁRIOS(PERÍODO)										
	CE(S)		CE(C)		CO(S)		CO(C)		PAC(S)		
	D	AR	D	AR	D	AR	D	AR	D	AR	
<b>DOMINANTES (AR <math>\geq</math> 70%)</b>											
Cryptomonas/Rhodomonas 1 (CRYP)	22016,1	91,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bacillariophyceae 4 (BAC)	0	0	0	0	0	0	0	0	67,3	63,0	
<b>ABUNDANTES (AR <math>\geq</math> 40% e &lt; 70%)</b>											
Synechocystis cf. aquatilis (CYA)	0	0	0	0	25580,3	48,0	0,0	0,0	0	0	
<b>POUCO ABUNDANTES (AR <math>\geq</math> 10% e &lt; 40%)</b>											
Monoraphidium contortum (CHL)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Monoraphidium kormakovae (CHL)	0	0	61,8	12,0	185,6	0,4	0	0	0	0	
Aulacoisera distans (BAC)	0	0	123,7	24,0	0	0	2,6	2,5	0	0	
Planktothrix isothrix (CYA)	0	0	3,5	0,7	0	0	2,8	2,7	0	0	
Bacillariophyceae 2 (BAC)	0	0	0	0	0	0	0	0	20,2	18,9	
Jaaginema cf. subtilissimum (CYA)	1,0	0,004	2,0	0,4	853,8	1,6	16,4	15,6	0	0	
Monoraphidium caribeum (CHL)	123,7	1,0	0	0	74,2	0,1	15,6	15,0	0	0	
Actinastrum cf. aciculare (CHL)	0	0	0	0	816,6	2,0	15,6	15,0	0	0	
Romeria cf. gracilis (CYA)	0	0	0	0	6959,9	13,0	0	0	0	0	
Cylindrospermopsis raciborskii (CYA)	0	0	4	0,8	0	0	0	0	0	0	
Merismopedia cf. tenuissima (CYA)	61,8	0,2	61,8	12,0	668,2	1,0	0	0	0	0	
Navicula sp1 (BAC)	0	0	61,8	12,0	0	0	0	0	0	0	
Cyclotella cf. meneghiniana (BAC)	0	0	61,8	12,0	2264,3	4,0	4,2	4,0	0	0	
Trachelomonas cf. volvocina var. volvocina (EUG)	0	0	61,8	12,0	0	0	1,4	1,0	0	0	
Pseudanabaena limnetica (CYA)	0	0	0	0	0	0	11,6	11,0	0	0	

Tabela 9 - Lista dos 65 táxons descritores encontrados nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos Seco (S) e Chuvoso (C). Classificação ecológica: D - Dulcícola; S/E - Salobro e/ou Estuarino (águas Oligohalinas/Mesohalinas); M – Marinho (águas euhalinas e polihalinas); Eu – ambientes eutróficos

	CE(S)	CE(C)	CO(S)	CO(C)	PAC(S)	PAC(C)	PIR(S)	PIR(C)	Classificação ecológica	Referências*
<b>Filo Cyanophyta</b>										
Jaaginema cf. subtilissimum	X	X	X	X		X		X	D, S/E, Eu	1
Jaaginema sp1		X		X				X		
Romeria cf. gracilis			X						D, S/E, Eu	1, 2,3
Pseudanabaena limnetica				X		X		X	D, S/E, Eu	1, 4
Planktothrix agardhii	X	X						X	D, S/E, Eu	1,4,5,6
Planktothrix isothrix		X		X		X		X	D, Eu	5, 6
Phormidium cf. acuminatum var. longe-attenuatum			X						S/E	1
Phormidium sp1			X	X						
Cylindrospermopsis raciborskii		X				X		X	D, Eu	5
Merismopedia cf. tenuissima	X	X	X						D, S/E, Eu	1,4
Merismopedia sp1								X		
Synechocystis cf. aquatilis			X						D, S/E, Eu	7,4
Synechocystis cf. salina			X						S/E, M	7, 8
<b>Filo Chlorophyta</b>										
Actinastrum cf. aciculare			X	X				X	D, Eu	2, 9
Closterium acutum						X		X	D, Eu	10
Monoraphidium caribeum	X		X	X				X	D, Eu	11
Monoraphidium contortum						X		X	D, Eu	2, 10
Monoraphidium griffithii	X		X	X				X	D, Eu	2, 10
Monoraphidium komarkovae		X	X					X	D, Eu	12
Monoraphidium minutum			X						D, Eu	10
Crucigenia tetrapedia								X	D, Eu	9
Scenedesmus arcuatus var. platydiscus				X		X			D, Eu	9
Dictyosphaerium sp.						X				
Micractinium cf. pusillum			X						D, S/E, Eu	9, 10, 22
Chlorococcales 1			X	X						
Chlorococcales 3			X					X		
Chlorococcales 5								X		
<b>Filo Bacillariophyta</b>										
Thalassiosira weissflogii			X						S/E	13, 14, 15
Thalassiosira sp3							X			
Cyclotella cf. meneghiniana		X	X	X		X			D, Eu	10, 14

	CE(S)	CE(C)	CO(S)	CO(C)	PAC(S)	PAC(C)	PIR(S)	PIR(C)	Classificação ecológica	Referências*
Cyclotella cf. striata	X								S/E, M	16, 17
Aulacoseira granulata var. angustissima		X	X	X		X		X	D, Eu	10
Aulacoisera granulata var granulata		X		X				X	D, Eu	10
Aulacoisera distans		X		X					D, Eu	10
aff. Proboscia sp.					X					
Coscinodiscophyceae 1					X					
Coscinodiscophyceae 3				X						
Thalassionema nitzschioides					X		X		M	16
Navicula cf. amphiceropsis		X		X		X			D	18
Navicula cf. antonii		X							D	18
Navicula cf. salinicola							X		M	19
Navicula sp1		X								
Navicula sp4					X	X				
Cylindrotheca closterium	X		X		X		X		S/E, M	16
Nitzschia cf. palea				X					D, S/E, Eu	16, 18, 19
Nitzschia sp3						X	X	X		
Bacillariophyceae 2					X					
Bacillariophyceae 3							X			
Bacillariophyceae 4					X		X			
<b>Filo Cryptophyta</b>										
Cryptomonas cf. ovata		X		X					D, Eu	20
Cryptomonas/Rodhomonas 1	X									
Cryptomonas/Rodhomonas 2	X									
Cryptomonas/Rodhomonas 3		X								
Cryptomonas sp.			X	X						
aff. Plagioselmis sp.								X		
Cryptophyceae 2								X		
<b>Filo Euglenophyta</b>										
Strombomonas rotunda								X	D, Eu	21
Trachelomonas sp3		X		X						
Trachelomonas cf. volvocina var. volvocina		X		X		X		X	D, Eu	20
Lepocinclis acus				X		X			D, Eu	21
Euglenophyceae 2						X				
<b>Filo Dinophyta</b>										
cf. Gymnodinium sp5						X				
Peridinium sp1					X					

Protoperidinium sp.

X

Durinskia sp.

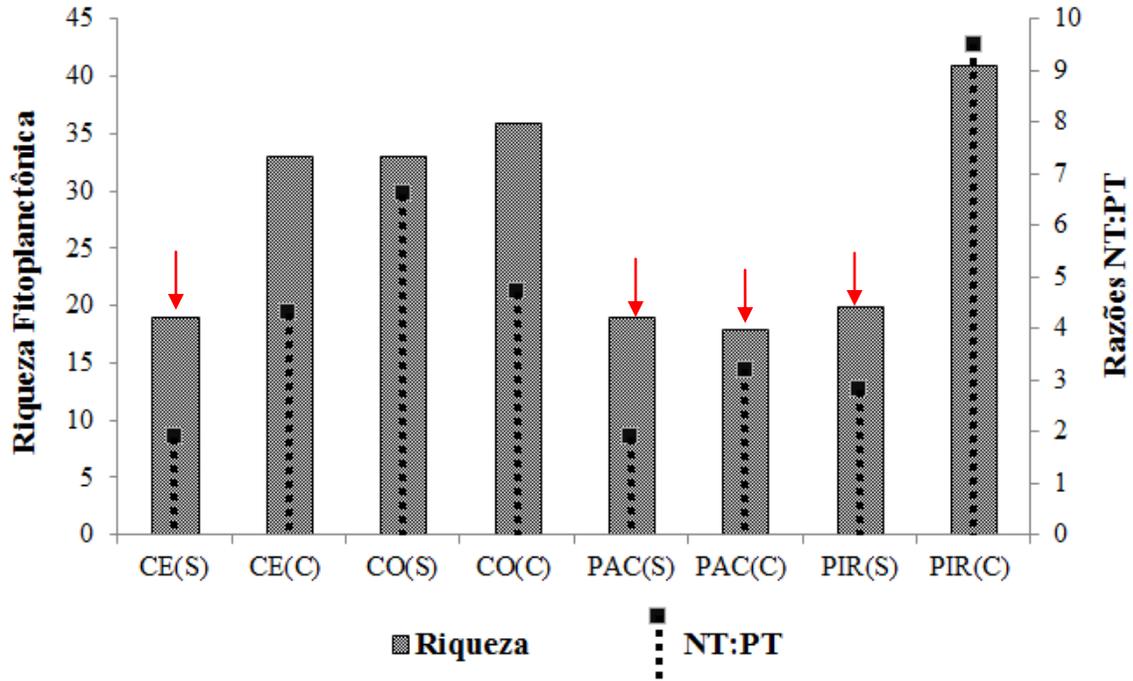
X

\*Referências: 1- Komárek e Anagnostidis (2005); 2- Tucci et al. (2006); 3- Lopes et al. (2012); 4- Chomérat et al. (2007); 5- Bittencourt-Oliveira et al. (2014); 6- Komárek e Komárková (2004); 7- Komárek e Anagnostidis (2000); 8 - Huszar et al. (1998); 9- Naselli-Flores e Barone. (2000); 10- Padisák, Crosseti and Naselli-Flores (2009); 11- Comas (1996); 12- SILVA (1999); 13- Torgan e Santos (2006); 14 - Ferrari e Ludwig (2007); 15- Round (1990); 16- Moreira Filho et al. (1999); 17- Zong et al. (2010); 18- Laux e Torgan (2011); 19- Sylvestre et al. (2001); 20- Moura et al. (2007); 21- Domingues e Torgan (2011); 22- Marshall e Burchardt (2004)

- **Riqueza Fitoplanctônica**

A riqueza de táxons (número total de táxons) variou de 18 [PAC(C)] a 41 [PIR(C)] (Figura 21). Dentre as variáveis abióticas analisadas (Parte 1) a riqueza fitoplanctônica foi positiva e significativamente correlacionada com as razões NT: PT ( $P=0,8121$ ;  $p<0,05$ ). Levando em consideração que as razões NT: PT em todos os estuários foram baixas (mín. 1,9:1; máx. 9,5:1) e indicaram uma limitação de nitrogênio em relação ao fósforo, pode-se observar que as condições mais severas de limitação de nitrogênio (razões  $\leq 3,2:1$ ) coincidiram com as menores riquezas de fitoplâncton (riqueza  $\leq 20$ ) (Figura 21).

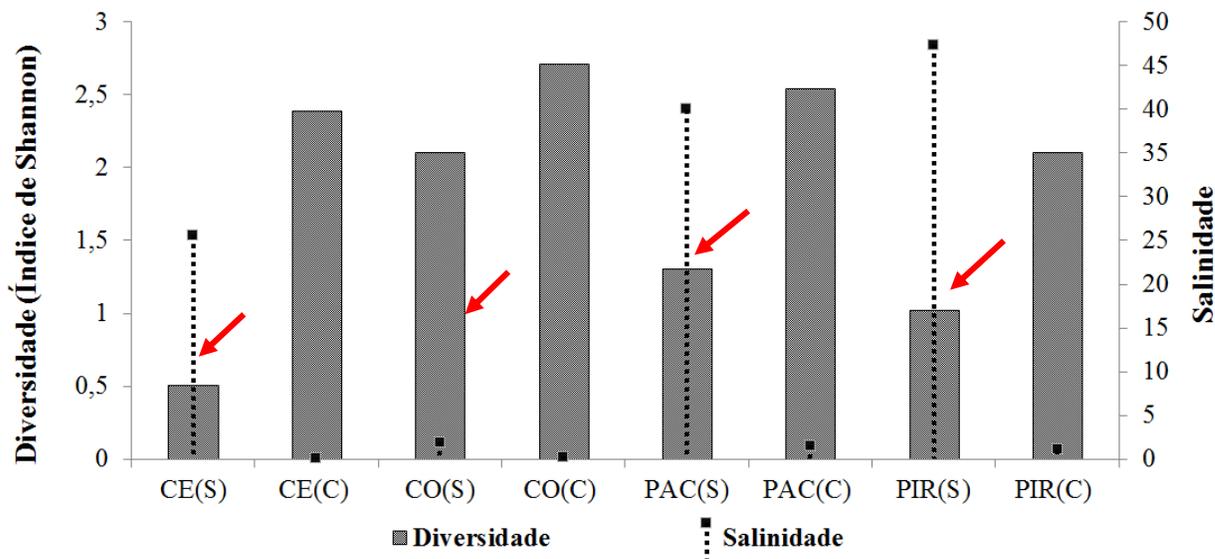
Figura 21 - Riqueza fitoplanctônica e razões NT:PT nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). As setas em vermelho indicam os locais onde a limitação de nitrogênio foi mais severa (razões  $\leq 3,2:1$ ) e os valores de riqueza fitoplanctônica foram menores (riqueza  $\leq 20$ )



- **Diversidade Fitoplanctônica**

A diversidade fitoplanctônica variou de 0,5 [CE(S)] a 2,7 [CO(C)] e foi em todos os estuários, maior no período chuvoso que no período seco (Figura 22). A diversidade fitoplanctônica foi negativa e significativamente correlacionada com os valores de salinidade ( $P = -0,7619; p < 0,05$ ).

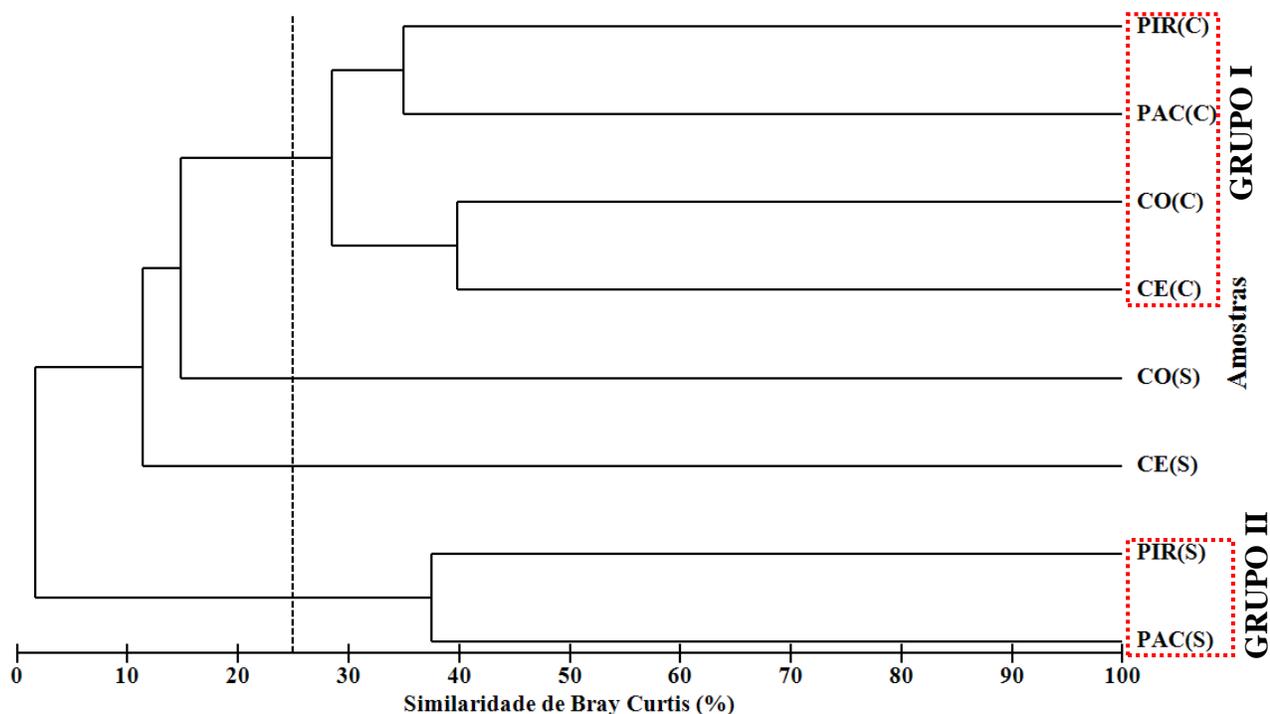
Figura 22 - Diversidade fitoplancônica e valores de salinidade nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C) de estudo. As setas em vermelho indicam os locais onde os valores de salinidade foram maiores ( $\geq 1.9$ ) e a diversidade estimada foi menor ( $\leq 2.1$ ).



- **Análise de similaridade**

A análise de agrupamento baseada na matriz de similaridade de Bray Curtis para os dados de densidade total (transformação raiz quarta) das espécies descritoras (abundância relativa  $\geq 1\%$ ) é mostrada na Figura 23. Considerando um nível de similaridade mínimo de 25% pôde-se observar a formação de dois grupos, sendo o primeiro (grupo I) formado pelas quatro amostras do período chuvoso CE(C), CO(C), PAC(C) e PIR(C) e o segundo (grupo II) formado por duas amostras do período seco PAC(S) e PIR(S). Segundo o teste de SIMPROF a formação dos grupos I e II foi significativa ( $p < 0.05$ ; 499 permutações).

Figura 23 - Análise de agrupamento baseada na matriz de similaridade Bray Curtis para os dados de densidade total das espécies descritoras encontradas nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C).



Através do procedimento SIMPER obteve-se que as espécies que contribuíram em 90% para o valor de similaridade de 31,5% encontrado para o **Grupo I** foram: a **euglenofícea** *Trachelomonas* cf. *volvocina* var. *volvocina* (12,76%); as **cianobactérias filamentosas** *Jaaginema* cf. *subtilissimum* (11,94%), *Planktothrix isothrix* (11,1%), *Jaaginema* sp1 (4,45%), *Pseudanabaena limnetica* (5,78%) e *Cylindrospermopsis raciborskii* (5,07%); as **diatomáceas** *Cyclotella* cf. *meneghiniana* (8,16%), *Aulacoseira granulata* var. *angustissima* (6,3%), *Navicula* cf. *amphiceropsis* (5,77%), *Aulacoseira granulata* var. *granulata* (4,27%), *Nitzschia* sp3 (2,61%) e *Aulacoseira distans* (2,16%); e as **clorofíceas** *Monoraphidium kormakovae* (2,78%), *Closterium acutum* (2,61%), *Monoraphidium contortum* (2,2%) e *Monoraphidium caribeum* (2,09%). Quase em sua totalidade, estas são espécies dulcícolas comumente encontradas em ambientes eutróficos (Tabela 9).

As espécies que contribuíram em 90% para o valor de similaridade de 37,58% do **grupo II** foram as **diatomáceas** identificadas como Bacillariophyceae 4 (60,66%),

*Cylindrotheca closterium* (25,18%) e *Thalassionema nitzschioides* (14,16%). *C. closterium* e *T. nitzschioides* são espécies marinhas que também são encontradas nas porções mesohalinas e polihalinas de estuários (Tabela 9).

Pela análise de agrupamento evidencia-se que as amostras CE(S) e CO(S) foram as que apresentaram composição e densidade fitoplanctônica mais distintas das demais amostras. No teste de SIMPER as espécies que mais distinguiram o CE(S) das demais amostras, por terem sido exclusivamente encontradas nesta amostra, foram as **criptofíceas** *Cryptomonas/Rodhomonas* 1 e *Cryptomonas/Rodhomonas* 2; e a **diatomácea** *Cyclotella* cf. *striata*, uma espécie eurihalina comumente encontrada em estuários (Tabela 9).

O CO(S) foi por sua vez mais caracterizado pelas **cianobactérias** *Synechocystis* cf. *aquatilis*, *Synechocystis* cf. *salina* e *Romeria* cf. *gracilis*; pela clorofíceia *Micractinium* cf. *pusillum* e pela diatomácea *Thalassiosira weissflogii*, que foram todas exclusivamente encontradas nesta amostra. *S.* cf. *aquatilis*, *R.* cf. *gracilis* e *Micractinium* cf. *pusillum* são espécies de água doce, mas que podem ser encontradas em condições oligohalinas em estuários eutróficos (Tabela 9). *S.* cf. *salina* e *T. weissflogii* são mais associadas a condições salobras e/ou euhalinas (Tabela 9).

- **Análise de Correspondência Canônica (ACC)**

Na tabela 10 é apresentado o resultado da ACC prévia em que todas as variáveis ambientais medidas neste estudo foram incluídas e testadas quanto a sua significância para explicar a variabilidade dos dados bióticos de maneira individual (ou seja, quando só uma destas variáveis era incluída no modelo de ACC). A significância foi verificada pelo teste de Monte Carlos com 499 permutações. O resultado desta primeira ACC foi que as variáveis com efeito marginal significativo foram salinidade, concentração de sílica e nitrogênio total. A porcentagem da variância explicada por cada variável individualmente foi obtida dividindo-se seus respectivos autovalores pela inercia total.

Tabela 10 - Resultado da Análise de Correspondência Canônica prévia em que o efeito marginal de todas as variáveis foi testado. \*Teste de Monte Carlos (499 permutações, nível de significância  $p < 0,05$ ).

Variáveis explanatórias	Efeito marginal Autovalores ( $\lambda_1$ )	Porcentagem da variância explicada (%)	F	P
Sal	0,752	20,1	1,511	0,018*
Si	0,709	19,0	1,404	0,014*
NT	0,682	18,2	1,337	0,02*
Secchi	0,642	17,2	1,244	0,064
TP	0,62	16,6	1,193	0,156
PSR	0,613	16,4	1,175	0,152
N-NH <sub>3</sub> + N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,596	15,9	1,137	0,226
NT:PT	0,595	15,9	1,136	0,162
N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0,594	15,9	1,134	0,228
SSF	0,575	15,4	1,09	0,294
SSV	0,513	13,7	0,953	0,642
pH	0,497	13,3	0,920	0,606
SST	0,479	12,8	0,881	0,652
T	0,41	11,0	0,739	0,84
N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0,409	10,9	0,736	0,926
OD	0,385	10,3	0,688	0,924
SO	0,306	8,2	0,535	0,952
Inercia Total	3,74			

Sal (salinidade), T (temperatura), OD (Oxigênio dissolvido), SO (Saturação do oxigênio), Sólidos suspensos totais (SST), Sólidos suspensos fixos (SSF), Sólidos Suspensos voláteis (SSV), N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup> (Nitrito), N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (Nitrato), N-NH<sub>3</sub> + N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (N-Amoniacal), NT (Nitrogênio total), PSR (Fósforo Solúvel Reativo), PT (Fósforo total), Si (Silício solúvel reativo), NT:PT (Razões molares Nitrogênio total:Fósforo total).

Estas três variáveis foram então incluídas na ACC final cujo resultado é sumarizado na Tabela 11 e na Figura 24. Os autovalores dos eixos 1 (autovalor = 0,811) e 2 (autovalor = 0,670) explicaram 39,6% da variância dos dados bióticos (densidade das espécies) e 69,4% da relação entre os dados bióticos e as variáveis ambientais. No teste de Monte Carlos (499 permutações) mostrou-se que o primeiro eixo canônico ( $F=1,108$ ;  $p=0,028$ ) e todos os eixos canônicos foram significantes ( $F=1,773$ ;  $p=0,002$ ). Os coeficientes de correlação entre as espécies e os dados ambientais para o primeiro eixo foi de 0,984, enquanto para o segundo eixo foi de 0,985, indicando uma forte correlação entre o fitoplâncton e as variáveis ambientais incluídas na ACC final (Tabela 11).

O eixo 1, que explicou 21,7% da variabilidade dos dados bióticos, se correlacionou mais fortemente e positivamente com a salinidade ( $r = 0,7540$ ) e negativamente com a sílica ( $r = -0,5835$ ). Pode-se dizer que neste eixo 1 observou-se a diferença entre a influência marinha e fluvial na composição fitoplanctônica dos estuários. As amostras com maior influência marinha [CE(S), PAC(S) e PIR(S)] posicionaram-se no lado positivo do eixo 1. Portanto, as espécies nestas amostras foram marinhas ou estuarinas propriamente ditas, sendo as presentes em PAC(S) e PIR(S), tolerantes a condição de hipersalinidade (salinidade entre 40 e 47).

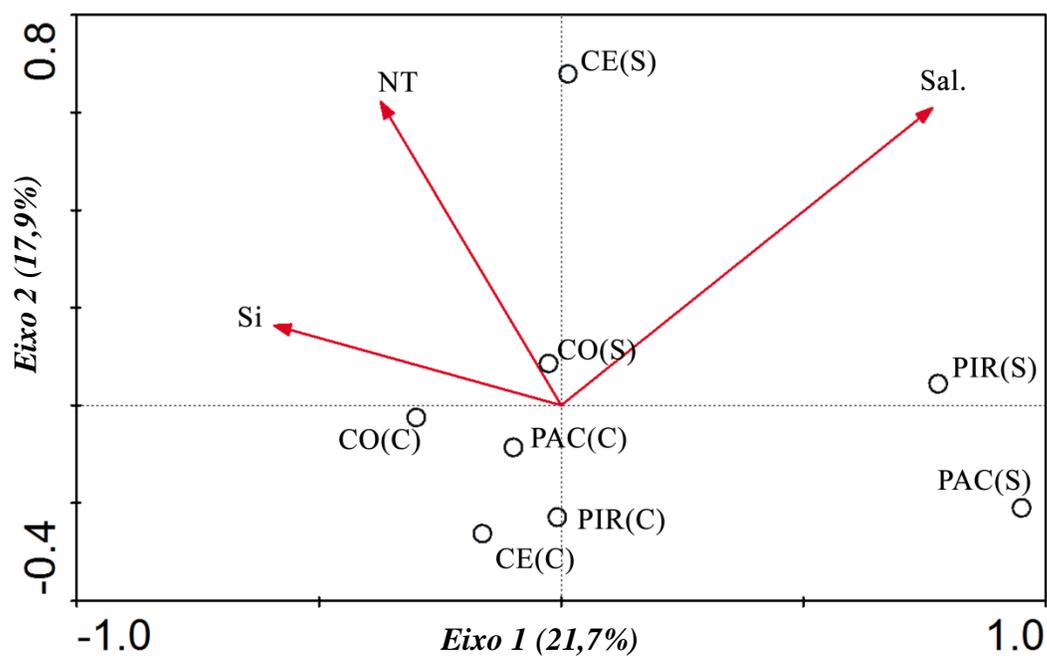
O eixo 2, que explicou 17,9% da variabilidade dos dados, se correlacionou mais fortemente com o NT ( $r = 0,6127$ ). As amostras hipereutróficas (Parte 1) CE(S) e CO(S) foram as mais correlacionadas com este eixo. As maiores concentrações de NT foram encontradas nas amostras CE(S) e CO(S), seguida da amostra CO(C) (Parte 1). Pode-se deduzir desses resultados que as espécies presentes nesses estuários apresentam preferência por nitrogênio amoniacal, já que este representou mais de 70% do nitrogênio total nestas amostras.

Tabela 11 - Resultado da Análise de Correspondência Canônica em que só as variáveis com efeito marginal significativo foram retidas.

Eixos	Eixo 1	Eixo 2	Inercia Total
Autovalores	0,811	0,670	3,74
Variância acumulada para os dados bióticos (%)	21,7	39,6	
Variância acumulada para a relação entre as espécies e os dados ambientais (%)	38,0	69,4	
Correlações entre as espécies e os dados ambientais	0,984	0,985	
Correlações entre as variáveis explanatórias e os dois primeiros eixos			
Sal.	0,7540	0,6000	
NT	-0,3672	0,6127	
Si	-0,5835	0,1617	
Teste de Monte Carlos (499 permutações)			
Significância do primeiro eixo canônico	F= 1,108	p= 0,0280	
Significância de todos os eixos canônicos	F= 1,773	p= 0,002	

NT (Nitrogênio total), Si (Silício Solúvel Reativo) e Sal. (Salinidade).

Figura 24 - Análise de Correspondência Canônica mostrando a variabilidade espacial e temporal da estrutura da assembleia de fitoplâncton nos quatro estuários de estudo (CE, CO, PAC e PIR) nos períodos seco (S) e chuvoso (C). NT (Nitrogênio total), Si (Silício Solúvel Reativo) e Sal. (Salinidade).



### 3.3 DISCUSSÃO

Os estuários cearenses CE, CO PIR e PAC estão sendo afetados pelo processo de eutrofização, haja vista que em todos eles as descargas de nitrogênio e fósforo por fontes antrópicas excedem as entradas por fontes naturais (LACERDA et al., 2008). Dentre estes quatro sistemas, CO e CE, no período seco, destacaram-se como os mais afetados pelo processo de eutrofização, tendo sido classificados como hipereutróficos, enquanto as demais amostras foram classificadas como eutróficas, de acordo com as concentrações de fósforo total (PT) e clorofila *a*. No CO(S) e CE(S) mais de 80% do nitrogênio total (NT) foi composto por N-amoniacoal e mais de 30% do PT foi composto por fósforo solúvel reativo (PSR) (Parte 1).

A estrutura da assembleia fitoplanctônica em áreas estuarinas e costeiras têm sido profundamente alteradas pela intensificação do processo de eutrofização em todo o planeta. Por exemplo, estudos de longa duração realizados na Baía Chesapeake, o maior estuário dos Estados Unidos, tem relacionado o aumento na densidade fitoplanctônica e as mudanças ocorridas na composição desta assembleia ao aumento contínuo do estado trófico desta Baía e seus tributários (MARSHALL et al., 2005).

Neste sentido, como reflexo do estado hipereutrófico, a biomassa (clorofila *a*) e a densidade total fitoplanctônica ( $\text{org L}^{-1}$ ) das amostras CE(S) e CO(S) foram pelo menos três vezes maiores que aquelas encontradas nas demais amostras eutróficas. Além disso, como observado na análise de agrupamento, as composições de fitoplâncton encontradas em CO(S) e CE(S) também foram bastante distintas das demais amostras.

No CE(S) houve a dominância da criptofíceia *Cryptomonas/Rodhomonas* 1. Florações sazonais de criptofíceas nanoplanctônicas ( $< 20 \mu\text{m}$ ) são comuns em regiões estuarinas mesohalinas e polihalinas (e.g. MARSHALL et al., 2006). Estas são favorecidas pelas condições de alta turbidez (REYNOLDS, 2002), hipoxia (e.g. ROTHENBERGER et al., 2013) e pelo aumento nas concentrações de nutrientes inorgânicos (e.g. PINCKNEY et al., 1998; ROTHENBERGER et al., 2013), tal como observado no CE(S).

No CO(S) houve a dominância de cianobactérias não fixadoras de nitrogênio (não heterocitadas), sendo a espécie mais representativa *Synechocystis* cf. *aquaticus*, que representou cerca de 50% da densidade total fitoplanctônica nesta amostra. É importante destacar que no

Brasil *Synechocystis* cf. *aquaticus* já foi identificada como uma espécie potencialmente produtora de microcistina (SANT'ANNA et al., 2008). A ocorrência e dominância de *Synechocystis* cf. *aquaticus* em estuários é associada a sua tolerância ao aumento da salinidade (SHEN et al., 2010), o que justifica o seu sucesso no CO(S), que se apresentou oligohalino.

Além disso, outro fator chave para a alta abundância relativa de *Synechocystis* cf. *aquaticus* e de outra cianobactéria *Romeria* cf. *gracilis* no CO(S) deve ter sido as altas concentrações de nutrientes inorgânicos (N-amoniaco e PSR), já que ambas são espécies tipicamente encontradas em ambientes eutrofizados (e.g. TUCCI et al., 2006; SOARES; HUSZAR; ROLAND, 2007). Ressalta-se que para o sucesso de cianobactérias não heterocitadas são requeridas altas concentrações tanto de fósforo quanto de nitrogênio (PEARL et al., 2001).

Neste sentido, é preciso ressaltar que embora se tenha associado as altas densidades e biomassas fitoplanctônicas encontradas no CO(S) e CE(S) às maiores concentrações de nutrientes inorgânicos destas amostras, as espécies predominantes nas mesmas parecem bem adaptadas em assimilar estes nutrientes mesmo nas baixas razões NT:PT ( $< 7N:1P$ ) encontradas nesses ambientes (Parte 1). Sabe-se que apesar das razões atômicas entre nitrogênio e fósforo requeridas pelo fitoplâncton seja aproximadamente  $16N:1P$  (REDFIELD, 1958), os requerimentos nutricionais de cada espécie podem variar de acordo com as suas taxas de absorção, assimilação e capacidade de estocagem destes nutrientes (VUORIO et al., 2005). Além disso, as razões N:P podem ter um papel secundário em sistemas hipereutróficos onde as concentrações dos nutrientes são altas, podendo inclusive exceder a capacidade assimilativa do fitoplâncton (PEARL et al., 2001).

Assim sugere-se que em especial no CE(S) e CO(S) as altas concentrações de NT, em mais de 80% composto por N-amoniaco, que é rapidamente assimilado pelo fitoplâncton, devam ter compensado a potencial limitação de nitrogênio indicada pelas baixas razões estequiométricas NT:PT. De fato, a significância do NT ( $p < 0,05$ ) observada na ACC para explicar parte da variação na estrutura da assembleia fitoplanctônica entre os estuários mostrou que as concentrações de NT, mais do que as razões N:P por si, foi um dos fatores chaves para estimular o crescimento, assim como para terminar a composição fitoplanctônica dos mesmos. A correlação positiva e significativa entre a densidade fitoplanctônica e as concentrações de nitrito

corroboraram o efeito positivo das concentrações de nitrogênio sobre o crescimento do fitoplâncton.

Dentro deste contexto, Kim et al. (2007) estudaram os efeitos da limitação de nutrientes em um reservatório hipereutrófico e observaram que o crescimento do fitoplâncton quando as razões N:P foram mantidas constantes foi estimulado pela adição de nitrogênio, em especial quando estas razões foram  $\leq 7,0$ . Desta forma, tanto as razões N:P como as concentrações absolutas destes nutrientes vão determinar se um ambiente está ou não sob condições limitantes.

Por outro lado, a correlação significativa positiva entre o aumento nas razões N:P e a riqueza fitoplanctônica sugeriu que nos locais [CE(S), PAC(S), PAC(C) e PIR(S)] onde as razões N:P foram as menores ( $< 3N:1P$ ) a pressão seletiva foi maior, o que resultou em uma menor quantidade de táxons (riqueza  $\leq 20$ ) adaptada a esta estequiometria. Nos demais locais onde as razões N:P foram maiores que 4N:1P as riquezas foram maiores que 30 táxons.

Na ACC obteve-se que parte da variação na estrutura da composição fitoplanctônica também foi explicada significativamente ( $p < 0.05$ ) pela salinidade e sílica. A salinidade é frequentemente relatada como um dos principais fatores que determinam a distribuição do fitoplâncton em estuários, sendo que a maioria das espécies é adaptada para condições euhalinas, polihalinas, mesohalinas ou oligohalinas, e apenas poucas espécies ocorrem ao longo de todo o gradiente de salinidade do estuário (LANCELOT; MUYLAERT, 2011).

Considerando todo o conjunto amostral, o papel seletivo da salinidade não foi apenas sobre a composição, mas também sobre a diversidade fitoplanctônica, haja vista a correlação negativa significativa entre a salinidade e a diversidade de Shannon nas amostras. Atenta-se que os valores de diversidade fitoplanctônica encontradas para o CE, PAC e PIR foram pelo menos duas vezes menores no período seco que no chuvoso. Esta correlação negativa entre a salinidade e a diversidade fitoplanctônica demonstra a importância do acompanhamento dos efeitos da salinidade, em especial de hipersalinidade, sobre o fitoplâncton em estuários de baixo influxo fluvial.

Além de nitrogênio e fósforo, a sílica é um nutriente essencial para o crescimento das diatomáceas (LANCELOT; MUYLAERT, 2011). Dentro deste contexto, é importante salientar que apesar das amostras PAC(S) e PIR(S) terem sido relacionadas com os baixos valores de

sílica, encontrou-se predominantemente nessas amostras Bacillariophyceae 4, uma diatomácea de pequeno tamanho (comprimento = 11-15  $\mu\text{m}$ ) e portando, com pouco requerimento de sílica.

Como observado na análise de agrupamento, as amostras PAC(S) e PIR(S) formaram o grupo II. Além de Bacillariophyceae 4, as diatomáceas *Cylindrotheca closterium* e *Thalassionema nitzschioides*, as quais são espécies comuns na costa do Nordeste do Brasil (MOREIRA FILHO al., 1999) distinguiram estas amostras das demais. Ressalte-se que embora a presença destas espécies eurihalinas indique que as mesmas devam ter sido trazidas pela maré para dentro dos estuários, a diatomácea penada Bacillariophyceae 4, em especial, que alcançou mais de 60% de abundância relativa no PAC(S) e PIR(S), se mostrou bem adaptada a condição de hipersalinidade registrada nestas amostras.

A análise de agrupamento também mostrou que as amostras dos quatro estuários coletadas no período chuvoso ficaram todas agrupadas no grupo I. As principais espécies que caracterizam esse grupo foram dulcícolas e provavelmente transportadas para dentro do estuário com o aporte fluvial, haja vista que os quatro estuários foram oligohalinos ou mesmo dominados por água doce no período chuvoso. Considerando que essas espécies são também comumente encontradas em ambientes eutróficos, a condição eutrófica dos estuários analisados, também no período chuvoso, foi corroborada pela composição fitoplanctônica. Destacaram-se dentre as espécies descritoras que ocorreram exclusivamente no período chuvoso em todos os estuários a cianobactéria *Planktothrix isoethrix* e a euglenofícea *Trachelomonas* cf. *volvocina* var. *volvocina*, ambas dulcícolas e típicas de ambientes eutróficos. Ressalta-se que *Planktothrix isoethrix* já foi registrada como potencialmente produtora de microcistina (SANT'ANNA et al., 2008).

### 3.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os maiores valores de densidade e composição fitoplanctônica encontrada no CE e CO no período seco corroboraram a condição hipereutrófica dos mesmos e mostraram condições muito favoráveis ao desenvolvimento de florações fitoplanctônicas nestas áreas. Neste período, no CE a predominância foi do fitoflagelado nanoplanctônico *Cryptomonas/Rodhomonas* 1 e no CO foi da cianobactéria *Synechocystis cf. aquatilis*.

Ainda no período seco no PAC e PIR os táxons presentes não foram associadas à condição eutrófica, mas sim a influência marinha nestas amostras. Em ambas as amostras ocorreu a predominância de uma diatomácea penada (comprimento= 11-15  $\mu\text{m}$ ) e das diatomáceas marinhas *Cylindrotheca closterium* e *Thalassionema nitzschioides*.

No período chuvoso a dominância de espécies dulcícolas e eutróficas (e. g. *Planktothrix isoethrix* e *Trachelomonas cf. volvocina* var. *volvolcina*), demonstraram que neste período todos os estuários recebem não apenas o aporte fluvial de sólidos em suspensão, mas também de espécies fitoplanctônicas bem adaptadas à condição oligohalina e eutrófica dos estuários.

Destaca-se que dentre estas espécies que alcançaram altas densidades estiveram duas cianobactérias, *Synechocystis cf. aquatilis* e *Planktothrix isoethrix*, com potencial para produção de microcistinas.

A variação na estrutura da assembleia de fitoplâncton entre os estuários, nos períodos seco e chuvoso, foi principalmente explicada pelas concentrações de sílica, nitrogênio e salinidade. A salinidade também exerceu um papel significativo e negativo sobre a diversidade fitoplanctônica, indicando a necessidade do acompanhamento do aumento dos níveis de salinidade nestes ambientes.

Sabendo que os organismos fitoplanctônicas são os principais produtores primários em estuários, os resultados do presente estudo sugeriram que outros níveis tróficos também podem estar sendo afetados pelo processo de eutrofização nos estuários estudados. Dos nutrientes analisados, o nitrogênio parece ser o fator chave que modula a estrutura da composição fitoplanctônica nestes estuários.

#### 4. CONTRIBUIÇÕES DO ESTUDO

Esse estudo trouxe relevantes contribuições ao conhecimento das assembleias de bactérias, arqueas e fitoplâncton em estuários tropicais de baixo influxo.

Primeiramente, merece destaque que independentemente da condição ambiental, a riqueza de bactérias foi sempre maior que a de arqueas nesses estuários. Esse resultado reafirma a predominância do Domínio Bacteria no funcionamento dos ciclos biogeoquímicos nos estuários. Apesar disso, com base na maior correlação entre Nitrogênio total e assembleia de arqueas, comparado com a relação entre Nitrogênio total e assembleia de bactérias, mostram que embora em minoria, organismos do Domínio Archaea também desempenham um papel importante no ciclo do nitrogênio na camada superficial desses ambientes.

O estudo também trouxe uma valiosa contribuição ao conhecimento da diversidade taxonômica do fitoplâncton, com o levantamento da diversidade de quatro estuários de baixo influxo nos períodos seco e chuvoso. Além disso, mostrou que as variações espacial e temporal das assembleias fitoplanctônicas são moduladas principalmente pela concentração de nutrientes (especialmente sílica e nitrogênio) e pela salinidade.

A confirmação de que a salinidade tem um efeito mais pronunciado na diversidade da assembleia fitoplanctônica, do que nas assembleias procarióticas, ressalta a urgente necessidade de monitoramento dessa variável, tendo em vista que alterações significativas nas populações dos produtores primários nos estuários pode comprometer o funcionamento de todo o ecossistema.

## REFERÊNCIAS

ACINAS, S. G.; ANTÓN, J.; RODRÍGUEZ-VALERA, F. Diversity of free-living and attached bacteria in offshore western Mediterranean waters as depicted by analysis of genes encoding 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, 514-522, 1999

AL-KANDATI, M.; AL-YAMANI, F.Y.; AL-RIFAIE, K. **Illustrated guide on the benthic diatoms**. Kuwait: Kuwait Institute for Scientific Research (Publisher), ISBN, 2009, 350p.

AL-YAMANI, F. Y.; SABUROVA, M. A. **Illustrated guide on the flagellates of Kuwait's intertidal soft sediments**. Kuwait: Kuwait Institute for Scientific Research (Publisher), ISBN, 2010, 197p.

AL-YAMANI, F. Y.; SABUROVA, M. A. **Illustrated guide on the benthic diatoms**. Kuwait: Kuwait Institute for Scientific Research (Publisher), ISBN, 2011, 352p.

ALMEIDA, M. A., CUNHA, M. A., & ALCÂNTARA, F. Seasonal change in the proportion of bacterial and phytoplankton production along a salinity gradient in a shallow estuary. **Hydrobiologia**, v. 475, p. 251-262, 2002

ANDERSON, D. M.; GLIBERT, P. M.; BURKHOLDER, J. M. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. **Estuaries**, v.25, 704-726, 2002

ANDREOTE, F. D.; AZEVEDO, J. L.; ARAÚJO, W. L. Assessing the diversity of bacterial communities associated with plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 417-432, 2009

ANDREWS, J. E.; BRIMBLECOMBE, P.; JICKELLS, T. D.; LISS, P. S.; REID, B. J. **An Introduction to Environmental Chemistry**. 2.ed. Blackwells, Oxford, 2004, 296 p.

APHA, American Public Health Association. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. Washington: American Public Health Association, AWWA, 1999.

AMINOT, A.; CHAUSSEPIED, M. **Manuel des analyses chimiques en milieu marin**. Brest: Centre National pour l'Exploration des Oceans, 1983.

ARNDT, S.; VANDERBORGHT, J.P.; REGNIER, P. Diatom growth response to physical forcing in a macrotidal estuary: coupling hydrodynamics, sediment transport, and biogeochemistry. **Journal of Geophysical Research – Oceans**, v. 112, p-1-23, 2007

ARNDT, S.; LACROIX, G.; GYPENS, N.; REGNIER, P.; LANCELOT, C. Nutrient dynamics and phytoplankton development along an estuary–coastal zone continuum: a model study. **Journal of marine systems**, v. 84, p.49-66, 2011

ATLAS, R.M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**, 4.ed. California: Benjamin Cummings publishing company, 1998, 692p.

AUGUET, J. C.; BARBERAN, A.; CASAMAYOR, E. O. Global ecological patterns in uncultured Archaea. **The ISME journal**, v. 4, n. 2, p.182-190, 2010

AUGUET, J. C.; NOMOKONOVA, N.; CAMARERO, L.; CASAMAYOR, E. O. Seasonal changes of freshwater ammonia-oxidizing archaeal assemblages and nitrogen species in oligotrophic alpine lakes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, n. 6, p. 1937-1945, 2011

AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G.; GRAY, J. S.; MEYER-REIL, L. A.; THINGSTAD, F. The ecological role of water-column microbes in the sea. **Marine ecology progress series. Oldendorf**, v. 10, p. 257-263, 1983

BARRERA-ALBA, J. J.; GIANESELLA, S. M. F.; MOSER, G. A. O.; SALDANHA-CORRÊA, F. M. P. Influence of allochthonous organic matter on bacterioplankton biomass and activity in a eutrophic, sub-tropical estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 82, p. 84-94, 2009

BANO, N.; RUFFIN, S.; RANSOM, B.; HOLLIBAUGH, J. T. Phylogenetic composition of Arctic Ocean archaeal assemblages and comparison with Antarctic assemblages. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 2, p. 781-789, 2004

BAUER, J.E.; BIANCHI, T.S. Dissolved Organic Carbon Cycling and Transformation. In: Wolanski, E; McLusky, D.S. (eds). **Treatise on Estuarine and Coastal Science**, Waltham: Academic Press, 2011. cap. 5, p 7-67

BARBOSA, A.B.; CHÍCHARO, M.A. Hydrology and Biota Interactions as Driving Forces for Ecosystem Functioning. In: Wolanski E and McLusky DS (eds.), **Treatise on Estuarine and Coastal Science**, Waltham: Academic Press. 2011. cap. 10, p 7-47

BASTOS, R. B.; FEITOSA, F. A. N.; KOENING, M. L.; MACHADO, R. C. A.; MUNIZ, K. Caracterização de uma zona costeira tropical (Ipojuca-Pernambuco-Brasil): produtividade fitoplanctônica e outras variáveis ambientais. **Brazilian Journal of Aquatic Sciences and Technology**, v. 15, n.1, p. 1-10, 2011.

BAUMGARTEN, M. da G. Z.; ROCHA, J. M. de B.; NIENCHESKI, L. F. H. **Manual de análises em oceanografia química**. Rio Grande: Editora FURG, 1996.

BARON, J. S.; HALL, E. K.; NOLAN, B. T.; FINLAY, J. C.; BERNHARDT, E. S.; HARRISON, J. A.; CHAN, F.; BOYER, E.W. The interactive effects of excess reactive nitrogen and climate change on aquatic ecosystems and water resources of the United States. **Biogeochemistry**, v. 114, p. 71-92, 2013.

BERNHARD, A. E.; DONN, T.; GIBLIN, A. E.; STAHL, D. A. Loss of diversity of ammonia-oxidizing bacteria correlates with increasing salinity in an estuary system. **Environmental Microbiology**, v. 7, p. 1289-1297, 2005

BERNHARD, A. E.; BOLLMANN, A. Estuarine nitrifiers: new players, patterns and processes. *Estuarine, coastal and shelf science*, v. 88, p. 1-11, 2010

BETTAREL, Y.; BOUVIER, T.; BOUVIER, C.; CARRÉ, C.; DESNUES, A.; DOMAIZON, I., JACQUET, S.; ROBIN, A.; SIME-NGANDO, T. Ecological traits of planktonic viruses and prokaryotes along a full-salinity gradient. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 76, p. 360-372.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas continentais do Brasil**. São Carlos: Rima, 2005, 489p.

BIDLE, K. D.; FLETCHER, M. Comparison of free-living and particle-associated bacterial communities in the Chesapeake Bay by stable low-molecular-weight RNA analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, p. 944-952, 1995

BILLEN, G.; GARNIER, J. River basin nutrient delivery to the coastal sea: assessing its potential to sustain new production of non-siliceous algae. **Marine Chemistry**, v. 106, p. 148-160, 2007

BITTENCOURT-OLIVEIRA, M.C.; PICCIN-SANTOS, V.; MOURA, A. N. ARAGÃO-TAVARES, N.K.C.; CORDEIRO-ARAÚJO, M.K. Cyanobacteria, microcystins and cylindrospermopsin in public drinking supply reservoirs of Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 2014. doi: 10.1590/0001-3765201302512

BORDALO, A. A.; VIEIRA, M. E. Spatial variability of phytoplankton, bacteria and viruses in the mesotidal salt wedge Douro Estuary (Portugal). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 63, p. 143-154, 2005

BOUVIER, T. C.; DEL GIORGIO, P. A. Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries. **Limnology and oceanography**, v. 47, n. 2, p. 453-470, 2002

BRICKER, S. B.; LONGSTAFF, B.; DENNISON, W.; JONES, A.; BOICOURT, K.; WICKS, C.; WOERNER, J. Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: a decade of change. **Harmful Algae**, v. 8, p. 21-32, 2008

BURFORD, M. A.; WEBSTER, I. T.; REVILL, A. T.; KENYON, R. A.; WHITTLE, M.; CURWEN, G. Controls on phytoplankton productivity in a wet-dry tropical estuary. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 113, p. 141-151, 2012

CAMPELO, M.J.A.; PASSAVANTE, J.Z.O.; KOENING, M.L. Biomassa fitoplanctônica (clorofila a) e parâmetros ambientais na Praia de Carne de Vaca, Goiana, Pernambuco, Brasil. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife – PE, v. 27, n. 2, p. 27-41. 1999.

CAPRIULO, G. M.; SMITH, G.; TROY, R.; WIKFORS, G. H.; PELLET, J.; YARISH, C. The planktonic food web structure of a temperate zone estuary, and its alteration due to eutrophication. **Hydrobiologia**, v. 475/476, p. 263-333, 2002

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

CARLSSON, P.; GRANÉLI, E.; GRANÉLI, W.; RODRIGUEZ, E.G.; CARVALHO, W.F.; BRUTEMARK, A.; LINDEHOFF, E. Bacterial and phytoplankton nutrient limitation in tropical marine waters, and a coastal lake in Brazil. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 418-419, p. 37-45, 2012

CARRASCO, N. K.; PERISSINOTTO, R. Development of a halotolerant community in the St. Lucia Estuary (South Africa) during a hypersaline phase. *PloS one*, v. 7. e29927. doi:10.1371/journal.pone.0029927

CASAMAYOR, E. O.; MASSANA, R.; BENLLOCH, S.; ØVREÅS, L.; DÍEZ, B.; GODDARD, V. J.; GASOL, J.M.; JOINT, I.; RODRÍGUEZ-VALERA, F.; PEDRÓS-ALIÓ, C. (2002). Changes in archaeal, bacterial and eukaryal assemblages along a salinity gradient by comparison of genetic fingerprinting methods in a multipond solar saltern. **Environmental Microbiology**, v. 4, p. 338-348.

CHAI, C.; YU, Z.; SONG, X.; CAO, X. The status and characteristics of eutrophication in the Yangtze River (Changjiang) Estuary and the adjacent East China Sea, China. **Hydrobiologia**, v. 563, p. 313-328, 2006

CHEN, Z.; LI, Y.; PAN, J. Distributions of colored dissolved organic matter and dissolved organic carbon in the Pearl River Estuary, China. **Continental Shelf Research**, v.24, p. 1845-1856, 2004

CHOMÉLAT, N.; GARNIER, R.; BERTRAND, C.; CAZAUBON, A. Seasonal succession of cyanoprokaryotes in a hypereutrophic oligo-mesohaline lagoon from the South of France. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 72, p. 591-602, 2007

CHUWEN, B. M.; HOEKSEMA, S. D.; POTTER, I. C. The divergent environmental characteristics of permanently-open, seasonally-open and normally-closed estuaries of south-western Australia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 85, p. 12-21, 1999.

CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. **PRIMER v6: User Manual/Tutorial**. Plymouth, UK: PRIMER-E, 2006

CLEMENTINO, M. M.; VIEIRA, R. P.; CARDOSO, A. M.; NASCIMENTO, A. P. A. D.; SILVEIRA, C. B. D.; RIVA, T. C.; GONZALEZ, A. C. M.; PARANHOS, R.; ALBANO, R.M.; VENTOSA, A.; MARTINS, O. B. Prokaryotic diversity in one of the largest hypersaline coastal lagoons in the world. **Extremophiles**, v.12, p. 595-604, 2008

CLOERN, J.E.; ALPINE, A.E.; COLE, B.E.; WONG, R.L.J.; ARTHUR, J.F.; BALL, M.D. River discharge controls phytoplankton dynamics in the northern San Francisco Bay estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 16, p. 415–429, 1983

COGERH, Companhia de Gestão dos Recursos Hídricos, 2010. Bacias Metropolitanas - Relatório de Tarefas – I. <http://portal.cogerh.com.br/planos-de-bacias/relatorios-de-tarefas-i>. Accessed 30 June 2012

COLARES, G. B.; MELO, V.M.M. Relating microbial community structure and environmental variables in mangrove sediments inside *Rhizophora mangle* L. habitats. **Applied Soil Ecology**, v. 64, p. 171–177, 2013

COLE, G.A. **Textbook of limnology**. Illinois, USA: Waveland Press, 1983.

COLOMBET, J.; SIME-NGANDO, T. Seasonal depth-related gradients in virioplankton: lytic activity and comparison with protistan grazing potential in Lake Pavin (France). **Microbial Ecology**, v. 64, p. 67-78, 2012

COMAS, A. G. **Las Chlorococcales dulciacuícolas de Cuba.**, Berlin/Stuttgart: Gebrüder Borntraeger, 1996. 269p.

COTNER, J. B.; BIDDANDA, B. A. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. **Ecosystems**, v. 5, p. 105-121, 2002

COTTRELL, M. T.; KIRCHMAN, D. L. Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the Cytophaga-Flavobacter cluster consuming low-and high-molecular-weight dissolved organic matter. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 66, p.1692-1697, 2000

COTTRELL, M. T.; KIRCHMAN, D. L. Contribution of major bacterial groups to bacterial biomass production (thymidine and leucine incorporation) in the Delaware estuary. **Limnology and Oceanography**, v. 48, p. 168-178, 2013

COSTA, L. S.; HUSZAR, V. L. M.; OVALLE, A. R. Phytoplankton functional groups in a tropical estuary: hydrological control and nutrient limitation. **Estuaries and Coasts**, v. 32, p. 508-521, 2009

CUEVAS, L. A.; DANERI, G.; JACOB, B.; MONTERO, P. Microbial abundance and activity in the seasonal upwelling area off Concepción (~ 36 S), central Chile: a comparison of upwelling and non-upwelling conditions. **Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography**, v. 51, p. 2427-2440, 2004

CUGIER, P.; BILLEN, G.; GUILLAUD, J. F.; GARNIER, J.; MÉNESGUEN, A. Modelling the eutrophication of the Seine Bight (France) under historical, present and future riverine nutrient loading. **Journal of Hydrology**, v. 304, p. 381-396, 2005

CUPP, E. E. Marine plankton diatoms of the West Coast of North America. **Bull. Scripps Inst. Oceanogr. Univ. Califórnia** , v.5, n.1, p.1-238, 1943.

CRESPO, B. G.; POMMIER, T.; FERNÁNDEZ-GÓMEZ, B.; PEDRÓS-ALIÓ, C. Taxonomic composition of the particle-attached and free-living bacterial assemblages in the Northwest Mediterranean Sea analyzed by pyrosequencing of the 16S rRNA. *Microbiology Open*, v. 2, 541-552, 2013

CRUMP, B. C.; ARMBRUST, V.; BAROSS, J.A. Phylogenetic analysis of particle-attached and free-living bacterial communities in the Columbia river, its estuary, and the adjacent coastal ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, p. 3192-3204, 1999

CRUMP, B. C.; BAROSS, J. A. Archaeoplankton in the Columbia River, its estuary and the adjacent coastal ocean, USA. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 31, 231-239, 2000

CRUMP, B. C.; BAROSS, J.A.; SIMENSTAD, C.A. Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA. *Aquatic Microbial Ecology*, v. 14, p. 7–18, 1998

CRUMP, B. C.; HOPKINSON, C. S.; SOGIN, M. L.; HOBBIIE, J. E. Microbial biogeography along an estuarine salinity gradient: combined influences of bacterial growth and residence time. *Applied and environmental microbiology*, v. 70, p. 1494-1505, 2004

DAFNER, E. V.; WANGERSKY, P. J. A brief overview of modern directions in marine DOC studies Part II—Recent progress in marine DOC studies. *Journal of Environmental Monitoring*, v. 4, p. 55-69, 2002

DANOVARO, R. Do bacteria compete with phytoplankton for inorganic nutrients? Possible ecological implications. *Chemistry and Ecology*, v. 4, p. 83-96, 1998

DANOVARO, R.; CORINALDESI, C.; DELL'ANNO, A.; FUHRMAN, J. A.; MIDDELBURG, J. J.; NOBLE, R. T.; SUTTLE, C. A. Marine viruses and global climate change. *FEMS Microbiology Reviews*, v. 35, p. 993-1034, 2011

DANERI, G.; MONTERO, P.; LIZÁRRAGA, L.; TORRES, R.; IRIARTE, J. L.; JACOB, B.; GONZÁLES, H.E.; TAPIA, F. J. Primary Productivity and heterotrophic activity in an enclosed marine area of central Patagonia (Puyuhuapi channel; 44° S, 73° W). *Biogeosciences Discussions*, v. 9, p. 5929–5968, 2012.

DAY, J.H. What is an estuary? *South African Journal of Science*, v. 76, p. 198, 1980

DE JONGE, V. N.; ELLIOTT, M.; ORIVE, E. Causes, historical development, effects and future challenges of a common environmental problem: eutrophication. *Hydrobiologia*, v. 475/476, p. 1-19, 2002 v

DELONG, E. F. Archaea in Coastal Marine Environments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 89, p. 5685–5689, 1992

DOMINGOS, P.; MENEZES, M. Taxonomic remarks on planktonic phytoflagellates in a hypertrophic tropical lagoon (Brazil). *Hydrobiologia*, v. 369/370, p. 297–313, 1998.

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

EDLER, L.; ELBRÄCHTER, M. The Utermöhl method for quantitative phytoplankton analysis. **Microscopic and molecular methods for quantitative phytoplankton analysis**. Paris: UNESCO, p. 13-20

EGGERS, S. L.; LEWANDOWSKA, A. M.; BARCELOS E RAMOS, J.; BLANCO-AMEIJEIRAS, S.; GALLO, F.; MATTHIESSEN, B. Community composition has greater impact on the functioning of marine phytoplankton communities than ocean acidification. **Global Change Biology**, v. 20, p. 713-723, 2014

ELLOUMI, J.; CARRIAS, J. F.; AYADI, H.; SIME-NGANDO, T.; BOUAÏN, A. Communities structure of the planktonic halophiles in the solar saltern of Sfax, Tunisia. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 81, 19-26, 2009

ENGEL, A.; PIONTEK, J.; GROSSART, H. P.; RIEBESELL, U.; SCHULZ, K. G.; SPERLING, M. Impact of CO<sub>2</sub> enrichment on organic matter dynamics during nutrient induced coastal phytoplankton blooms. **Journal of Plankton Research**, p.1-7, 2014. doi: 10.1093/plankt/fbt125

ESCHRIQUE, S. A.; MARINS, R. V.; MOREIRA, M. O. P.; ALMEIDA, M. D. Hidrogeoquímica do Fósforo no Estuário do Jaguaribe (CE). In: Braga, E.S. (Org.). **Brazilian Journal of Oceanography**, Volume Especial do IISBO: Oceanografia e Mudanças Globais. 1ed. São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2008, v. 1, p. 629-647.

ESCHRIQUE, S.A. **Estudo do balanço biogeoquímico dos nutrientes principais como indicador da influência antrópica em sistemas estuarinos do nordeste e sudeste do Brasil**. 2011. 254 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Marinhas Tropicais)- Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

FAGERBAKKE, K. M.; HELDAL, M.; NORLAND, S. Content of carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and phosphorus in native aquatic and cultured bacteria. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 10, n. 1, p. 15-27, 1996

FALKOWSKI, P. G. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of CO<sub>2</sub> in the ocean. **Nature**, v. 387, p. 272-275, 1997

FEITOSA, F.A.N.; SILVA-CUNHA, M.G.G.; PASSAVANTE, J.Z.O.; NEUMANN-LEITÃO, S.; LINS, I.C. Estrutura do microfitoplâncton no sistema estuarino do Rio Goiana, Pernambuco, Brasil. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, Recife, v.2, n.27, p.15-25, 1999.

FENCHEL, T. The microbial loop—25 years later. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 366, p. 99-103, 2008

- FEKI, W.; HAMZA, A.; FROSSARD, V.; ABDENNADHER, M.; HANNACHI, I.; JACQUOT, M.; BELHASSEN, M.; ALEYA, L. What are the potential drivers of blooms of the toxic dinoflagellate *Karenia selliformis*? A 10-year study in the Gulf of Gabes, Tunisia, southwestern Mediterranean Sea. **Harmful Algae**, v. 23, p. 8-18, 2013
- FERRARI, F.; LUDWIG, T. A. V. Coscinodiscophyceae, Fragilariophyceae and Bacillariophyceae (Achnanthes) of the Ivaí, São João and Patos rivers in the Ivaí basin, Prudentópolis, Paraná State, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 421-441, 2007
- FERREIRA, D. de M.; MELO, J. V.; NETO, L. X. da C. Influência da carcinicultura sobre a salinização do solo em áreas do município de Guamaré/RN. **Holos**, v. 2, p. 72-80, 2008.
- FIGUEIREDO, J.A.; MUNIZ, K.; MACÊDO, S.J.; FLORES MONTES, M.J.; FEITOSA, F.A.N. Hidrologia e biomassa fitoplancônica nas barras Orange e Catuama (canal de Santa Cruz), em Itamaracá-PE: variação nictemeral. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 39, p. 5-17. 2006.
- FINDLAY, S.; PACE, M. L.; LINTS, D.; COLE, J. J.; CARACO, N. F.; PEIERLS, B. Weak coupling of bacterial and algal production in a heterotrophic ecosystem: The Hudson River estuary. **Limnology and Oceanography**, v.36, p.268-278, 1991
- FLEMER, D. A.; CHAMP, M. A. What is the future fate of estuaries given nutrient over-enrichment, freshwater diversion and low flows? **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 247-258, 2006
- FRANCIS, C. A.; ROBERTS, K. J.; BEMAN, J. M.; SANTORO, A. E.; OAKLEY, B. B. 2005. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, p. 14683-14688.
- FONTES, M. L. S.; ABREU, P. C. A. Vigorous Specialized Microbial Food Web in the Suboxic Waters of a Shallow Subtropical Coastal Lagoon. **Microbial ecology**, v. 64, p. 334-345, 2012
- FORTUNATO, C. S.; CRUMP, B. C. Bacterioplankton community variation across river to ocean environmental gradients. **Microbial ecology**, v. 62, p. 374-382, 2011
- FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Análise das chuvas de 2005 sobre o estado do Ceará. Disponível em: <<http://www.funceme.br/DEPAM/index.htm>>. Acesso em 20/10/2005.
- FUNCEME. Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos. Download de Séries Históricas. Disponível em: <<http://www4.funceme.br/funceme/categoria1/monitoramento/funceme/categoria1/monitoramento/download-de-series-historicas>>. Acesso em 20/08/2009.
- GARNEAU, M. È; VINCENT, W. F.; ALONSO-SÁEZ, L.; GRATTON, Y.; LOVEJOY, C. Prokaryotic community structure and heterotrophic production in a river-influenced coastal arctic ecosystem. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 42, p. 27-40, 2006

GARNEAU, M. È.; VINCENT, W. F.; TERRADO, R.; LOVEJOY, C. Importance of particle-associated bacterial heterotrophy in a coastal Arctic ecosystem. **Journal of Marine Systems**, v. 75, n.1, p. 185-197, 2009.

GASOL, J. M., CASAMAYOR, E. O., JOINT, I., GARDE, K., GUSTAVSON, K., BENLLOCH, S.; DÍEZ, B.; SCHAUER, M.; MASSANA, R.; PEDRÓS-ALIÓ, C. Control of heterotrophic prokaryotic abundance and growth rate in hypersaline planktonic environments. **Aquatic Microbial Ecology**, v.34, p. 193-206, 2004

GLIBERT, P. M.; ALLEN, J.; BOUWMAN, A. F.; BROWN, C. W.; FLYNN, K. J.; LEWITUS, A. J.; MADDEN, C. J. Modeling of HABs and eutrophication: status, advances, challenges. **Journal of Marine Systems**, v. 83, p. 62-275, 2010

GODINHO, L.R.; GONZÁLEZ, A. A. C.; BICUDO, C. E. M. Criptógamos do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga, São Paulo, SP. Algas, 30: Chlorophyceae (Família Scenedesmaceae). **Hoehnea**, v.37, n. 3, p. 85-102, 2010.

GREGORACCI, G. B.; NASCIMENTO, J. R.; CABRAL, A. S.; PARANHOS, R.; VALENTIN, J. L.; THOMPSON, C. C.; THOMPSON, F. L. Structuring of bacterioplankton diversity in a large tropical bay. **PloS one**, v. 7, e31408. 2012. doi. 10.1371/journal.pone.0031408

GROSSART, H.P., KAM W. T., THOMAS K., HELLE, P. Comparison of cell-specific activity between free-living and attached bacteria using isolates and natural assemblages. **FEMS Microbiology Letters**, v. 266, p. 194-200, 2007

GYPENS, N.; BORGES, A. V.; SPEECKAERT, G.; LANCELOT, C. The dimethylsulfide cycle in the eutrophied Southern North Sea: A model study integrating phytoplankton and bacterial processes. **PloS one**, v. 9, n.1, e85862, 2014

HAMMER, Ø.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P. D. 2001. PAST: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, p. 1-9.

HARRISON, P. J.; CONWAY, H. L.; HOLMES, R. W.; DAVIS, C. O. Marine diatoms grown in chemostats under silicate or ammonium limitation. III. Cellular chemical composition and morphology of *Chaetoceros debilis*, *Skeletonema costatum*, and *Thalassiosira gravida*. **Marine Biology**, v. 43, p.19-31, 1977

HEDGES, J. I.; KEIL, R. G. Organic geochemical perspectives on estuarine processes: sorption reactions and consequences. **Marine Chemistry**, v. 65, p. 55-65, 1999

HEISLER, J.; GLIBERT, P. M.; BURKHOLDER, J. M.; ANDERSON, D. M.; COCHLAN, W.; DENNISON, W. C.; DORTCH, Q.; GOBLER, C.J.; HEIL, C.A.; HUMPHRIES, E.; LEWITUS, A.; MAGNIEN, R.; MARSHALL, H.G.; SELLNER, K.; STOCKWELL, D.A.; STOECKER, D.K.; SUDDLESON, M. Eutrophication and harmful algal blooms: a scientific consensus. **Harmful algae**, v. 8, p. 3-13, 2008

- HENRIQUES, I. S.; ALVES, A.; TACÃO, M.; ALMEIDA, A.; CUNHA, Â.; CORREIA, A. Seasonal and spatial variability of free-living bacterial community composition along an estuarine gradient (Ria de Aveiro, Portugal). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 68, p. 139-148, 2006
- HERFORT, L.; SCHOUTEN, S.; ABBAS, B.; VELDHUIS, M. J.; COOLEN, M. J.; WUCHTER, C.; BOON, J.P.; HERNDL, G.J.; SINNINGHE DAMSTÉ, J. S. Variations in spatial and temporal distribution of Archaea in the North Sea in relation to environmental variables. **FEMS Microbiology Ecology**, 62(3), 242-257, 2007
- HERLEMANN, D. P.; LABRENZ, M.; JÜRGENS, K.; BERTILSSON, S.; WANIEK, J. J.; ANDERSSON, A. F. Transitions in bacterial communities along the 2000 km salinity gradient of the Baltic Sea. **The ISME Journal**, v. 5, p. 1571-1579, 2011
- HEWSON, I.; FUHRMAN, J. A. Richness and diversity of bacterioplankton species along an estuarine gradient in Moreton Bay, Australia. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, p. 3425-3433, 2004
- HITCHCOCK, J. N.; MITROVIC, S. M.; KOBAYASHI, T.; WESTHORPE, D. P. Responses of estuarine bacterioplankton, phytoplankton and zooplankton to dissolved organic carbon (DOC) and inorganic nutrient additions. **Estuaries and Coasts**, v.33, p. 78-91, 2010
- HOLLIBAUGH, J. T.; WONG, P. S.; MURRELL, M. C. Similarity of particle-associated and free-living bacterial communities in northern San Francisco Bay, California. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 21, p. 103-114, 2000
- HOLLIBAUGH, J. T.; GIFFORD, S.; SHARMA, S.; BANO, N.; MORAN, M. A. Metatranscriptomic analysis of ammonia-oxidizing organisms in an estuarine bacterioplankton assemblage. **The ISME Journal**, v. 5, p.866-878, 2011
- HOWARTH, R. W. Coastal nitrogen pollution: a review of sources and trends globally and regionally. **Harmful Algae**, v.8, p. 14-20, 2008
- HOWARTH, R.; CHAN, F.; CONLEY, D. J.; GARNIER, J.; DONEY, S. C.; MARINO, R.; BILLEN, G. Coupled biogeochemical cycles: eutrophication and hypoxia in temperate estuaries and coastal marine ecosystems. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, p. 18-26, 2011
- HOWARTH, R. W.; MARINO, R. Nitrogen as the limiting nutrient for eutrophication in coastal marine ecosystems: Evolving views over three decades. **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 364–376, 2006.
- HOWARTH, R.W.; SWANEY, D.P.; BUTLER, T.J.; MARINO, R. Climatic control on eutrophication of the Hudson River estuary. **Ecosystems**, v. 3, p. 210–215, 2000

HUSZAR, V. L. M.; SILVA, L. H. S.; DOMINGOS, P.; MARINHO, M.; MELO, S.; Phytoplankton species composition is more sensitive than OECD criteria to the trophic status of three Brazilian tropical lakes. **Hydrobiologia**, v. 369, p. 59-71, 1998

IBAMA. **Diagnóstico da atividade de carcinicultura no Estado do Ceará**. Fortaleza, 2005. 240 p.

ISLABÃO, C. A.; ODEBRECHT, C. Dinoflagelados (Peridiniales, Prorocentrales) do microplâncton na plataforma continental e talude do extremo sul do Brasil (inverno 2005, verão 2007). **Biota Neotropica**, v.11, n. 3, p. 153-166, 2011

JING, H.; LIU, H. Contrasting bacterial dynamics in subtropical estuarine and coastal waters. **Estuaries and coasts**, v.35, n. 4, p. 976-990, 2012

KAN, J., CRUMP, B. C., WANG, K., & CHEN, F. Bacterioplankton community in Chesapeake Bay: predictable or random assemblages. **Limnology and oceanography**, v. 51, p. 2157-2169, 2006

KARL, D. M. Microbially Mediated Transformations of Phosphorus in the Sea: New Views of an Old Cycle. **Annual Review of Marine Science**, v. 6, p. 279-337, 2014

KHALIFA, N.; SABAE, S. Z. Investigation on Mutual Relations between Bacteria and Zooplankton in Damietta Branch, River Nile, Egypt. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 8, p. 2679-2688, 2012

KIM, H. S.; HWANG, S. J.; SHIN, J. K.; AN, K. G.; YOON, C. G. Effects of limiting nutrients and N: P ratios on the phytoplankton growth in a shallow hypertrophic reservoir. **Hydrobiologia**, v. 581, p. 255-267, 2007

KIRCHMAN, D. L.; DITTEL, A. I.; MALMSTROM, R. R.; COTTRELL, M. T. Biogeography of major bacterial groups in the Delaware Estuary. **Limnology and oceanography**, v. 50, 1697-1706, 2005

KIRCHMAN, D. L. The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. **Microbial Ecology**, v. 28, 255-271, 1994

KIRCHMAN, D.L. Understanding roles of microbes in marine pelagic food webs: a brief history. In: Kirchman, D.L. (Ed.), **Microbial Ecology of the Oceans**, 2.ed. New York: Wiley-Blackwell. 2008. cap. 1, p. 1-26

KIRCHMAN, D. L.; ELIFANTZ, H.; DITTEL, A. I.; MALMSTROM, R. R.; COTTRELL, M. T. Standing stocks and activity of archaea and bacteria in the western arctic ocean. **Limnology and oceanography**, v. 52, 495-507, 2007

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. Modern approach to the classification system of cyanophytes. 4 - Nostocales. **Arch. Hydrobiol. Suppl.**, v. 56, 1989. p. 247-345.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota.1.** Teil: Chroococcales. Berlin: Spektrum, Akademische Verlag (Süßwasserflora von Mitteleuropa; Band 19/1), 2000, 548p.

KOMÁREK, J.; ANAGNOSTIDIS, K. **Cyanoprokaryota 2.** Teil: Oscillatoriales. In: B. Büdel, L. Krienitz, G. Gärtner & M. Schagerl (eds). Süßwasserflora von Mitteleuropa 19. Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, München, 2005, 759 p.

KOMÁREK, J.; KOMÁRKOVÁ, J. Taxonomic review of the cyanoprokaryotic genera *Planktothrix* and *Planktothricoides*. *Czech Phycology*, v. 4, p. 1-18, 2004

KOMÁREK, J.; CRONBERG, G. Some chroococcalean and oscillatorialean Cyanoprokaryotes from African lakes, ponds and pools. **Nova Hedwigia**, vol. 73, p. 129-160, 2001.

KOMÁREK, J.; FOTT, B. Chlorophyceae (Grünalgen). Chlorococcales. In: Huber-Pestalozzi, G. (ed.). **Das Phytoplankton des Süßwassers, Systematik und Biologie** 7(1). Stuttgart, E. schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, 1983, 1044p.

KRITZBERG, E. S.; COLE, J. J.; PACE, M. M.; GRANÉLI, W. Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs? **Aquatic Microbial Ecology**, v. 38, p. 103-111, 2005

KUDO, Y.; NAKAJIMA, T.; MIYAKI, T.; OYAIZU, H. Methanogen flora of paddy soils in Japan. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 22, n.1, p. 39-48, 1997

LACERDA, L. D. Inputs of nitrogen and phosphorus to estuaries of northeastern Brazil from intensive shrimp farming. **Brazilian Journal Aquatic Science Technology**, v. 10, n.12, p. 13-27, 2006.

LACERDA, L. D.; MOLISANI, M. M.; SENA, D.; MAIA, L. P. Estimating the importance of natural and anthropogenic sources on N and P emission to estuaries along the Ceará State Coast NE Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 141, p. 149-164, 2008

LACERDA, S. R.; KOENING, M. L.; NEUMANN-LEITÃO, S.; FLORES-MONTES, M. J. Phytoplankton nyctemeral variation at a tropical river estuary (Itamaracá – Pernambuco – Brazil). **Brazilian Journal of Biology**, v. 64, p. 81-94, 2004.

LANCELOT, C.; MUYLAERT, K. Trends in Estuarine Phytoplankton Ecology. In: Wolanski E and McLusky DS (eds.), **Treatise on Estuarine and Coastal Science**, Waltham: Academic Press. 2011. cap. 7, p 5-15

LAQUE, T.; FARJALLA, V.F.; ROSADO, A.S.; ESTEVES, F.A. Spatiotemporal variation of bacterial community composition and possible controlling factors in tropical shallow lagoons. **Microbial Ecology**, v. 59, p. 819–829, 2010

LARGIER, J. Low-inflow estuaries: hypersaline, inverse, and thermal scenarios. In: Valle-Levinson, A. (ed). **Contemporary Issues in Estuarine Physics**, New York: Cambridge University Press, 2010. cap. 09, p. 247-272.

LARGIER, J.L.; HOLLIBAUGH, J. T.; SMITH, S. V. Seasonally Hypersaline Estuaries in Mediterranean-climate Regions. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 45, p. 789–797, 1997.

LAUX, M.; TORGAN, L. C. Diatomáceas com plastídios no plâncton da foz dos rios do Delta do Jacuí, sul do Brasil: um complemento à taxonomia tradicional. **Iheringia, Série Botânica**, v. 66, p. 109-132, 2011

LEÃO, B. M.; PASSAVANTE, J. Z. O.; SILVA-CUNHA, M. G. G.; SANTIAGO, M. F. S. Ecologia do microfítoplâncton do estuário do rio Igarassu, PE, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, p.711-722, 2008.

LI, Z.; JIN, W.; LIANG, Z.; YUE, Y.; LV, J. Abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in response to various habitats in Pearl River Delta of China, a subtropical maritime zone. **Journal of Environmental Sciences**, v. 25, n.6, p. 1195-1205, 2013

LIONARD, M.; MUYLAERT, K.; VAN GANSBEKE, D.; VYVERMAN, W. Influence of changes in salinity and light intensity on growth of phytoplankton communities from the Schelde river and estuary (Belgium/The Netherlands). **Hydrobiologia**, v. 540, p. 105-115, 2005

LIU, Z.; HUANG, S.; SUN, G.; XU, Z.; XU, M. Diversity and abundance of ammonia-oxidizing archaea in the Dongjiang River, China. **Microbiological Research**, v. 166, p. 337-345, 2011

LOPES, V. R.; RAMOS, V.; MARTINS, A.; SOUSA, M.; WELKER, M.; ANTUNES, A.; VASCONCELOS, V. M. Phylogenetic, chemical and morphological diversity of cyanobacteria from Portuguese temperate estuaries. **Marine environmental research**, v. 73, p. 7-16, 2012

LOZUPONE, C. A.; KNIGHT, R. Global patterns in bacterial diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 104, n.27, p. 11436-11440, 2007

LYONS, M. M.; DOBBS, F. C. Differential utilization of carbon substrates by aggregate-associated and water-associated heterotrophic bacterial communities. **Hydrobiologia**, v. 686, p. 181-193, 2012

MALONE, T. C.; CONLEY, D.J.; FISHER, T.R.; GLIBERT, P.M.; HARDING, L.W.; SELLNER, K.G. Scales of Nutrient-Limited Phytoplankton Productivity in Chesapeake Bay. **Estuaries**, v. 19, p. 371-385, 1996

- MATCHER, G. F.; DORRINGTON, R. A.; HENNINGER, T. O.; FRONEMAN, P. W. Insights into the bacterial diversity in a freshwater-deprived permanently open Eastern Cape estuary, using 16S rRNA pyrosequencing analysis. **Water Sa**, v. 37, p. 81-390, 2011
- MARSHALL, H.G.; BURCHARDT, L.; LACOUTURE, R.A Review of phytoplankton composition within Chesapeake Bay and its tidal estuaries. **Journal of Plankton Research**, v. 27, n. 11, p. 1083-1102, 2005
- MARSHALL, H. G.; LACOUTURE, R. V.; BUCHANAN, C.; JOHNSON, J. M. Phytoplankton assemblages associated with water quality and salinity regions in Chesapeake Bay, USA. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 69, n. 1, p. 10-18, 2006
- MARSHALL, H. G.; BURCHARDT, L. Phytoplankton composition within the tidal freshwater-oligohaline regions of the Rappahannock and Pamunkey Rivers in Virginia. **Castanea**, v. 69, p. 272-283, 2004
- MASÓ, M.; GARCÉS, E. Harmful microalgae blooms (HAB); problematic and conditions that induce them. **Marine Pollution Bulletin**, v. 53, p.620-630, 2006
- MCCUNE, B.; GRACE, J. B.; URBAN, D. L. **Analysis of ecological communities**. Gleneden Beach, Oregon: MjM software design, 2002, 300 p.
- MCKEE, L. J.; EYRE, B. D.; HOSSAIN, S. Transport and retention of nitrogen and phosphorus in the sub-tropical Richmond River estuary, Australia—A budget approach. **Biogeochemistry**, v. 50, p. 241-278.
- MENEZES, M.; NOVARINO, G. How diverse are planktonic cryptomonads in Brazil? Advantages and difficulties of a taxonomic-biogeographical approach. **Hydrobiologia**, v. 502, p. 297-306, 2003
- MIDDELBURG, J. J.; HERMAN, P. M. Organic matter processing in tidal estuaries. **Marine Chemistry**, v. 106, p. 127-147, 2007
- MILLER, M. A.; KUDELA, R. M.; MEKEBRI, A.; CRANE, D.; OATES, S. C.; TINKER, M. T.; STAEDLER, M.; MILLER, W.A.; TOY-CHOUTKA, S.; TOY-CHOUTKA, C.; HARDIN, D.; LANGLOIS, G.; MURRAY, M.; WARD, K.; JESSUP, D. A. Evidence for a novel marine harmful algal bloom: cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. **PLoS One**, v. 5, e12576, 2010. doi:10.1371/journal.pone.0012576
- MOLISANI, M. M.; BARROSO, H.S.; BECKER, H.; MOREIRA, M. O. P.; HIJO, C. A. G.; MONTE, T. M.; VASCONCELLOS, G. H. Trophic state, phytoplankton assemblages and limnological diagnosis of the Castanhão Reservoir, CE, Brazil. **Acta Limnologica Brasiliensia**, v. 22, n.1, p. 1-12, 2010.

MOLISANI, M. M.; CRUZ, A. L. V.; MAIA, L. P. Estimation of the freshwater river discharge to estuaries in Ceará State, Brazil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 39, p. 53-60, 2006.

MOLISANI, M. M.; LISIEUX, R.; CAVALCANTE, M.D.; MAIA, L.P. Effects of water management on hydrology and water quality of a semi-arid watershed in the northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Aquatic Science and Technology**, v. 11, p. 43-49, 2007.

MONTES, M. J. F.; MACÊDO, S.J.; KOENING, M.L. N:Si:P Atomic Ratio in the Santa Cruz Channel, ItamaracáPE (Northeast Brazil): a Nyctemeral Variation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 45, n.2, p. 114-124, 2002.

MOREIRA, M. O. P. Programa Zoneamento Ecológico e Econômico do Ceará – Zona Costeira. **Relatório técnico do subprojeto “Biomassa do fitoplâncton (clorofila *a*) nos estuários do estado do Ceará.”** Fortaleza – CE, 2005, 42 p.

MOREIRA FILHO, H.; ESKINAZI-LEÇA, E.; VALENTE –MOREIRA, I.M.; CUNHA, J.A. Avaliação taxonômica e ecológica das diatomáceas (Chrysophyta -Bacillariophyceae) marinhas e estuarinas nos estados de Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Piauí, Maranhão, Pará e Amapá, Brasil. **Trabalhos Oceanográficos da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 27, p.55-90, 1999.

MOURA, A. D. N.; BITTENCOURT-OLIVEIRA, M. D. C.; DANTAS, Ê. W.; ARRUDA NETO, J. D. D. T. Phytoplanktonic associations: a tool to understanding dominance events in a tropical Brazilian reservoir. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 641-648, 2007

MUIR, D. G.; PERISSINOTTO, R. Persistent phytoplankton bloom in Lake St. Lucia (iSimangaliso Wetland Park, South Africa) caused by a cyanobacterium closely associated with the genus *Cyanothece* (Synechococcaceae, Chroococcales). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 77, p. 5888-5896, 2011

MURRAY, A. E.; PRESTON, C. M.; MASSANA, R.; TAYLOR, L. T.; BLAKIS, A., WU, K.; DELONG, E. F. Seasonal and spatial variability of bacterial and archaeal assemblages in the coastal waters near Anvers Island, Antarctica. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, n. 7, p. 2585-2595, 1998

MUYLAERT, K.; SABBE, K.; VYVERMAN, W. Changes in phytoplankton diversity and community composition along the salinity gradient of the Schelde estuary (Belgium/The Netherlands). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 82, 335-340, 2009

MUYZER, G.; DE WAAL, E. C.; UITTERLINDEN, A. G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. **Applied and environmental microbiology**, v. 59, n.3, p. 695-700, 1993

- MUKHERJEE, J.; RAY, S. Carbon cycling from mangrove litter to the adjacent Hooghly estuary, India—A modelling study. **Procedia Environmental Sciences**, v. 13, p. 391-413, 2012
- MYAT, S.; THAW, M.C.H.; MATSUOKA, K.; LAY, K.K.; KOIKE, K. Phytoplankton surveys off the southern Myanmar coast of the Andaman Sea: an emphasis on dinoflagellates including potentially harmful species. **Fisheries science**, v. 78, p. 1091-1106, 2012
- NAGATA, T. Organic matter– Bacteria interactions in seawater. In: Kirchman, D.L. (Ed.), **Microbial Ecology of the Oceans**, 2.ed. New York: Wiley-Blackwell. 2008. cap. 7, p. 207–242
- NAKATSU, C. H. Soil Microbial Community Analysis Using Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. **Soil Science Society of America Journal**, v. 71, n. 2, p. 562–571, 2007.
- NASELLI-FLORES, L; BARONE, R. Phytoplankton dynamics and structure: a comparative analysis in natural and man-made water bodies of different trophic state. *Hydrobiologia*, v. 438, p. 65–74, 2000
- NILIN, J.; CASTRO, C.B.; PIMENTEL, M.F.; FRANKLIN JR., W.; MATOS, R.F.G.; LOTUFO, T.M.C.; COSTA-LOTUFO, L.V. Water Toxicity Assessment of the Ceará River Estuary (Brazil). **Journal Brazilian Society Ecotoxicology**, v. 2, n. 2, 2007.
- NIXON, S. W. Coastal marine eutrophication: a definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, v. 41, p. 199-219, 1995
- NOGALES, B.; LANFRANCONI, M. P.; PIÑA-VILLALONGA, J. M.; BOSCH, R. Anthropogenic perturbations in marine microbial communities. **FEMS Microbiology reviews**, v. 35, p.275-298, 2011
- OLAPADE, O. A. Diel fluctuations in the abundance and community diversity of coastal bacterioplankton assemblages over a tidal cycle. **Microbial ecology**, v. 63, p. 96-102, 2012
- OLIVEIRA, G. D.; MATTOS, K.M. da C. Impactos ambientais provocados pela indústria de camarão no município de Nísia Floresta (RN). **Revista Gerenciais**, v. 6, p. 183-188, 2007.
- OREN, A. The bioenergetic basis for the decrease in metabolic diversity at increasing salt concentrations: implications for the functioning of salt lake ecosystems. **Hydrobiologia**, v. 466, p. 61-72, 2001
- ORTEGA-RETUERTA, E.; JOUX, F.; JEFFREY, W. H.; GHIGLIONE, J. F. Spatial variability of particle-attached and free-living bacterial diversity in surface waters from the Mackenzie River to the Beaufort Sea (Canadian Arctic). **Biogeosciences**, v. 10, p. 2747–2759, 2013
- ØVREÅS, L.; FORNEY, L.; DAAE, F. L.; TORSVIK, V. Distribution of Bacterioplankton in Meromictic Lake Sælenvannet, as Determined by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of PCR-Amplified Gene Fragments Coding for 16S rRNA. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 63, n. 9, p. 3367–3373, 1997

PADISÁK, J.; CROSSETTI, L.O.; NASELLI-FLORES, L. Use and misuse in the application of the phytoplankton functional classification: a critical review with updates. *Hydrobiologia*, v. 621, p.1–19, 2009

PAERL, H. W. Coastal eutrophication and harmful algal blooms: Importance of atmospheric deposition and groundwater as " new" nitrogen and other nutrient sources. **Limnology and Oceanography**, v. 42, p. 1154-1165, 1997

PAERL, H. W.; FULTON, R. S.; MOISANDER, P. H.; DYBLE, J. Harmful freshwater algal blooms, with an emphasis on cyanobacteria. **The Scientific World Journal**, v. 1, p. 76-113, 2001

PAERL, H. W.; DYBLE, J.; TWOMEY, L.; PINCKNEY, J. L.; NELSON, J.; KERKHOF, L. Characterizing man-made and natural modifications of microbial diversity and activity in coastal ecosystems. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 81, p. 487-507, 2002

PAERL, H. W.; VALDES, L. M.; PEIERLS, B. L.; ADOLF, J. E.; HARDING, L. W. Anthropogenic and climatic influences on the eutrophication of large estuarine ecosystems. **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 448-462, 2006

PAERL, H.W.; JUSTIC, D. Estuarine Phytoplankton. In: Day, J.W.; Crump, B. C.; Kemp, W. M.; Yáñez-Arancibia, A.; (Eds), **Estuarine Ecology**, 2.ed. New Jersey: Wiley-Blackwell. 2013.cap. 4, p. 85-110

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

PARVEEN, B.; REVEILLIEZ, J. P.; MARY, I.; RAVET, V.; BRONNER, G.; MANGOT, J. F.; DOMAIZON, I.; DEBROAS, D. Diversity and dynamics of free-living and particle-associated Betaproteobacteria and Actinobacteria in relation to phytoplankton and zooplankton communities. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 77, p. 461-476, 2011

PAVÉS, H. J.; GONZÁLEZ, H. E.; CASTRO, L.; IRIARTE, J. L. Carbon Flows Through the Pelagic Sub-food Web in Two Basins of the Chilean Patagonian Coastal Ecosystem: the Significance of Coastal–Ocean Connection on Ecosystem Parameters. **Estuaries and Coasts**, p. 1-13, 2014. doi: 10.1007/s12237-014-9780-y

PEDRÓS-ALIÓ, C.; CALDERÓN-PAZ, J. I.; MACLEAN, M. H.; MEDINA, G.; MARRASÉ, C.; GASOL, J. M.; GUIXA-BOIXEREU, N. The microbial food web along salinity gradients. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 32, p. 143-155, 2000

PERES-NETO, P.; LEGENDRE, P.; DRAY, S.; BORCARD, D. Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. **Ecology**, v. 87, p. 2614–2625, 2006

PESSOA, E.V. **Estudo do “standing-crop” da água do estuário do rio cocó (ceará-brasil), como indicador das modificações físico-químicas do meio.** Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento e Meio Ambiente) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2002

PETTERSSON, L. H.; POZDNYAKOV, D. Biology and ecology of harmful algal species. In: **Monitoring of Harmful Algal Blooms**, p. 25-47. Springer Berlin Heidelberg. 2013

PINCKNEY, J. L.; PAERL, H. W.; TESTER, P.; RICHARDSON, T. L. The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. **Environmental Health Perspectives**, v. 109, 699-706, 2001

POTTER I.C.; CHUWEN, B.M.; HOEKSEMA, S.D.; ELLIOTT, M. The concept of an estuary: A definition that incorporates systems which can become closed to the ocean and hypersaline. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 87, p. 497-500

PRITCHARD, D. W. What is an estuary: physical viewpoint. **Estuaries**, v. 83, p. 3-5, 1967

RABALAIS, N. N.; TURNER, R. E.; DÍAZ, R. J.; JUSTIĆ, D. Global change and eutrophication of coastal waters. **Journal of Marine Science**, v.66, p.1528-1537, 2009

RAYMOND, P. A; BAUER, J. E. Bacterial consumption of DOC during transport through a temperate estuary. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 22, p. 1-12, 2000

REDFIELD, A.C. The biological control of chemical factors in the environment. **American Science**, v. 46, p. 205–222, 1958.

REYNOLDS, C. S.; HUSZAR, V.; KRUK, C.; NASELLI-FLORES, L.; MELO, S. Towards a functional classification of the freshwater phytoplankton. **Journal of Plankton Research**, v. 24, n. 5, p. 417-428, 2002

REVILLA, M.; IRIARTE, A.; MADARIAGA, I.; ORIVE, E. Bacterial and phytoplankton dynamics along a trophic gradient in a shallow temperate estuary. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 50, p. 297-313, 2000

RIEMANN, L.; HOLMFELDT, K.; TITELMAN, J. Importance of viral lysis and dissolved DNA for bacterioplankton activity in a P-limited estuary, northern Baltic Sea. **Microbial Ecology**, v. 57, p. 286-294, 2009

RODRIGUES, C. S. P.; SOUZA, S. S.; REZENDE, R. P.; SILVA, A.; ANDRIOLI, J. L.; COSTA, H.; FONTANA, R.; DIAS, J. C. T. Application of denaturing gradient gel electrophoresis for detection of bacterial and yeast communities along a salinity gradient in the estuary of the Cachoeira River in Brazil. **Genetics and molecular research**, v. 12, 1752-1760, 2013

ROSINI, E. **Fitoplâncton de pesqueiros da Região Metropolitana de São Paulo: levantamento florístico.** 2010. 225 f. Dissertação (Mestrado em biodiversidade vegetal e

meio ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, 2008.

ROTHENBERGER, M. B.; SWAFFIELD, T.; CALOMENI, A. J.; CABREY, C. D. Multivariate Analysis of Water Quality and Plankton Assemblages in an Urban Estuary. **Estuaries and Coasts**, p. 1-17, 2013

ROUND, F. E.; CRAWFORD, R. M.; MANN, D. G. **The Diatoms Biology & Morphology of the Genera**. Cambridge: Cambridge University Press, 1990, 747p.

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

SANTIAGO, M. F.; SILVA-CUNHA, M. D. G. G.; NEUMANN-LEITÃO, S.; COSTA, K. M. P. D.; PALMEIRA, G. C. B.; NETO, P., ; NUNES, F. S. Phytoplankton dynamics in a highly eutrophic estuary in tropical Brazil. **Brazilian Journal of Oceanography**, v. 58, n. 3, p. 189-205, 2010

SANTOS, K. R. S. **Biodiversidade de algas e cianobactérias de três lagoas (“salina”, “salitrada” e “baía”) do Pantanal da Nhecolândia, MS, Brasil**. 2008. 255f. Dissertação (Mestrado em biodiversidade vegetal e meio ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, 2008.

SCHNETZER, A.; MILLER, P. E.; SCHAFFNER, R. A.; STAUFFER, B. A.; JONES, B. H.; WEISBERG, S. B.; DIGIACOMO, P.M.; BERELSON, W.M.; CARON, D. A. (2007). Blooms of *Pseudo-nitzschia* and domoic acid in the San Pedro Channel and Los Angeles harbor areas of the Southern California Bight, 2003–2004. **Harmful Algae**, v. 6, p. 372-387, 2013

SCHULTZ, G. E.; WHITE, E. D.; DUCKLOW, H. W. Bacterioplankton dynamics in the York River estuary: primary influence of temperature and freshwater inputs. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 30, p. 135-148, 2003

SCHAPIRA, M.; POLLET, T.; MITCHELL, J. G.; SEURONT, L. Respiration rates in marine heterotrophic bacteria relate to the cytometric characteristics of bacterioplankton communities. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 89, p. 1161-1169, 2010

SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379-423, 1948.

SHEN, P. P.; TAN, Y. H.; HUANG, L. M.; ZHANG, J. L.; YIN, J. Q. Occurrence of brackish water phytoplankton species at a closed coral reef in Nansha Islands, South China Sea. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 1718-1725, 2010

SHARP, J. H.; YOSHIYAMA, K.; PARKER, A. E.; SCHWARTZ, M. C.; CURLESS, S. E.; UREGARD, A. Y.; OSSOLINSKI, J.E.; DAVIS, A. R. A biogeochemical view of estuarine eutrophication: seasonal and spatial trends and correlations in the Delaware Estuary. **Estuaries and Coasts**, v. 32, p. 1023-1043, 2009

SHERR, E.B.; SHERR, B. Understanding roles of microbes in marine pelagic food webs: a brief history. In: Kirchman, D.L. (Ed.), **Microbial Ecology of the Oceans**, 2.ed. New York: Wiley-Blackwell. 2008. cap. 2, p. 27-44

SILVA, D. **Revisao do gênero Planktothrix Anagnostidis & Komarek, 1988 (Cyanobacteria/Oscillatoriales), no Brasil**. 2009. 245 f. Tese de Doutorado (Doutorado em biodiversidade vegetal e meio ambiente) - Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo, São Paulo, 2009.

SILVA, L. H. S. Fitoplâncton de um reservatório eutrófico (lago Monte Alegre), Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p.281-303, 1999

SILVEIRA, C. B., CARDOSO, A. M., COUTINHO, F. H., LIMA, J. L., PINTO, L. H., ALBANO, R. M., CLEMENTINO, M. M.; MARTINS, O.B.; VIEIRA, R. P. (2013). Tropical Aquatic Archaea Show Environment-Specific Community Composition. **PLOS ONE**, v. 8, e76321.

SIMON, M.; GROSSART, H. P.; SCHWEITZER, B.; PLOUG, H. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems. **Aquatic Microbial Ecology**, v.28, n. 2, p. 175-211, 2002.

SMITH, J. M.; CASCIOTTI, K.L.; CHAVEZ, F.P; FRANCIS, C.A. Differential contributions of archaeal ammonia oxidizer ecotypes to nitrification in coastal surface waters. **The ISME Journal** , 2014. doi:10.1038/ismej.2014.11

SMITH, V. H.; TILMAN, G. D.; NEKOLA, J. C. Eutrophication: impacts of excess nutrient inputs on freshwater, marine, and terrestrial ecosystems. **Environmental Pollution**, v., p. 179-196, 1999

SMITH, V. H. Responses of estuarine and coastal marine phytoplankton to nitrogen and phosphorus enrichment. **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 377-384, 2006

SMITH, V. H.; SCHINDLER, D. W. Eutrophication science: where do we go from here? **Trends in Ecology & Evolution**, v. 24, p. 201-207, 2009

SOARES, M. C. S.; HUSZAR, V. L.; ROLAND, F. Phytoplankton dynamics in two tropical rivers with different degrees of human impact (Southeast Brazil). **River Research and Applications**, v.23, p. 698-714, 2007

SOARES, T. C. M. **Variação sazonal, transporte e partição de Hg no gradiente fluviomarinho do rio Jaguaribe – CE**. 2011. 101 f. Dissertação (Mestrado em Ciências

Marinhas Tropicais)- Instituto de Ciências do Mar, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2011.

SOUSA, O. V.; MACRAE, A.; MENEZES, F. G. R.; GOMES, N. C. M.; VIEIRA, R. H. S. F.; MENDONÇA-HAGLER, L. C. S. The impact of shrimp farming effluent on bacterial communities in mangrove waters, Ceará, Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 52, p. 1725-1734, 2006

STEIDINGER, K. A.; TANGEN, K. Dinoflagellates. In: TOMAS, C. R. (Ed.) **Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates**. Florida: Academic Press, 1996. p. 387-584.

STEPANAUSKAS, R.; MORAN, M. A.; BERGAMASCHI, B. A.; HOLLIBAUGH, J. T. Covariance of bacterioplankton composition and environmental variables in a temperate delta system. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 31, p. 85-98, 2003

STRAYER, D. L.; PACE, M. L.; CARACO, N. F.; COLE, J. J.; FINDLAY, S. E. Hydrology and grazing jointly control a large-river food web. **Ecology**, v. 89, p. 12-18, 2008

STRICKLAND, J.D.H.; PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis**. Ottawa: Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada, 1972.

SUZUMURA, M.; KOKUBUN, H.; ARATA, N. Distribution and characteristics of suspended particulate matter in a heavily eutrophic estuary, Tokyo Bay, Japan. **Marine Pollution Bulletin**, v. 49, n.5, p. 496-503, 2004

SYLVESTRE, F.; BECK-EICHLER, B.; DULEBA, W.; DEBENAY, J. P. Modern benthic diatom distribution in a hypersaline coastal lagoon: the Lagoa de Araruama (RJ), Brazil. **Hydrobiologia**, v. 443, p. 213-231, 2001

TADA, Y.; TANIGUCHI, A.; SATO-TAKABE, Y.; HAMASAKI, K. Growth and succession patterns of major phylogenetic groups of marine bacteria during a mesocosm diatom bloom. **Journal of Oceanography**, v. 68, p. 509-519, 2012

TELL, G.; CONFORT, V. **Euglenophyta pigmentadas de la Argentina**. Berlin: Cramer, 1986. 301p.

TEIRA, E.; MARTÍNEZ-GARCÍA, S.; LØNBORG, C.; ÁLVAREZ-SALGADO, X. A. Growth rates of different phylogenetic bacterioplankton groups in a coastal upwelling system. **Environmental Microbiology Reports**, v.1, 545-554.

TER BRAAK, C.J.F., SMILAUER, P. CANOCO Reference Manual and CanoDraw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca, NY, 2002.

TOLEDO JR, A.P.; TALARICO, M.; CHINEZ, S. J.; AGUDO, E. G. A aplicação de modelos simplificados para a avaliação de processo da eutrofização em lagos e reservatórios Tropicais:

In: **Anais do 12º Congresso Brasileiro de Engenharia Sanitária, 1983, Camboriú (SC)**. Camboriú: Associação Brasileira de engenharia Sanitária, 1983. 34 p.

TOMAS, C. R. **Identifying Marine Phytoplankton**. Florida: Academic Press, 1996. 598p.

TORGAN, L. C.; SANTOS, C. D. *Thalassiosira weissflogii* (Coscinodiscophyceae, Bacillariophyta) em ambientes lacustres na Planície Costeira do sul do Brasil. **Iheringia**, v. 61, p. 135-138, 2006

TUCCI, A.; SANT'ANNA, C. L.; GENTIL, R. C.; AZEVEDO, M. T. P. Fitoplâncton do Lago das Garças, São Paulo, Brasil: um reservatório urbano eutrófico. **Hoehnea**, v. 33, n.2, p. 147-175, 2006

TURNER, R. E.; RABALAIS, N. N.; JUSTIC, D.; DORTCH, Q. Future aquatic nutrient limitations. **Marine Pollution Bulletin**, v. 46, p. 1032-1034, 2003

UNESCO. **Chemical methods for use in marine environmental monitoring. Intergovernmental Oceanographic Commission** (Manual and guides, 12), Paris, 1983. Disponível em: [http://www.jodc.go.jp/info/ioc\\_doc/Manual/055950eo.pdf](http://www.jodc.go.jp/info/ioc_doc/Manual/055950eo.pdf). Acesso em: 15 Ago 2010.

VALDERRAMA, J. C. The simultaneous analysis of total nitrogen and total phosphorus in natural waters. **Marine Chemistry**, v.10, p. 109-122, 1981

VALLE-LEVINSON, A. Definition and classification of estuaries. In: Valle- Levinson, A. (Ed.), **Contemporary Issues in Estuarine Physics**, first ed. New York: Cambridge University Press, 2010, cap. 1, p. 1-11.

VAN DER ZEE, C.; ROEVROS, N.; CHOU, L. Phosphorus speciation, transformation and retention in the Scheldt estuary (Belgium/The Netherlands) from the freshwater tidal limits to the North Sea. **Marine chemistry**, v. 106, p. 76-91, 2007

VERITY, P.G.; BORKMAN, D.G. A Decade of Change in the Skidaway River Estuary. III. Plankton. **Estuaries and Coasts**, v. 33, p. 513-540, 2010

VIEIRA, R. P.; CLEMENTINO, M. M.; CARDOSO, A. M.; OLIVEIRA, D. N.; ALBANO, R. M.; GONZALEZ, A. M.; PARANHOS, R.; MARTINS O. B. Archaeal communities in a tropical estuarine ecosystem: Guanabara Bay, Brazil. **Microbial Ecology**, v. 54, p. 460-468, 2007

VUORIO, K.; LAGUS, A.; LEHTIMÄKI, J. M.; SUOMELA, J.; HELMINEN, H. Phytoplankton community responses to nutrient and iron enrichment under different nitrogen to phosphorus ratios in the northern Baltic Sea. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 322, p. 39-52, 2005

WELLS, L. E.; CORDRAY, M.; BOWERMAN, S.; MILLER, L.A.; VINCENT, W.F.; DEMING, J.W. Archaea in particle-rich waters of the Beaufort Shelf and Franklin Bay,

Canadian Arctic: clues to an allochthonous origin? **Limnology and Oceanography**, v. 51, p. 47–59, 2006

WETZ, M. S.; HUTCHINSON, E. A.; LUNETTA, R. S.; PAERL, H. W.; & TAYLOR, J. ; Severe droughts reduce estuarine primary productivity with cascading effects on higher trophic levels. **Limnology and Oceanography**, v. 56, p. 627-638, 2011

WU, Z.; YU, Z.; SONG, X.; YUAN, Y.; CAO, X.; LIANG, Y. The spatial and temporal characteristics of harmful algal blooms in the southwest Bohai sea. **Continental Shelf Research**, v. 59, p. 10-17.

WU, Q. L.; ZWART, G.; SCHAUER, M.; KAMST-VAN AGTERVELD, M. P.; HAHN, M. W. (2006). Bacterioplankton community composition along a salinity gradient of sixteen high-mountain lakes located on the Tibetan Plateau, China. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 72, p. 5478-5485, 2006

WUCHTER, C.; ABBAS, B.; COOLEN, M. J. L.; HERFORT, L.; VAN BLEIJSWIJK, J.; TIMMERS, P.; STROUS, M.; TEIRA, E.; HERNDL, G. J.; MIDDELBURG, J. J.; SCHOUTEN, S.; DAMSTÉ, J. S. S. Archaeal nitrification in the ocean. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, p. 12317–12322, 2006

XINFENG, Z.; JIAQUAN, D. Affecting Factors of Salinity Intrusion in Pearl River Estuary and Sustainable Utilization of Water Resources in Pearl River Delta. In: Fukushi, K.; Hassam, K. M.; HONDA, R.; SUMI, A. (eds), **Sustainability in Food and Water: An Asian Perspective**, New York: Springer, 2010, p. 11-17.

YAO, Q.; YU, Z.; LI, L.; CHEN, H.; MI, T. Transformation and source of nutrients in the Changjiang Estuary. **Science China Chemistry**, p. 1-12, 2014

ZHANG, R.; LIU, B.; LAU, S. C.; KI, J. S.; QIAN, P. Y. Particle-attached and free-living bacterial communities in a contrasting marine environment: Victoria Harbor, Hong Kong. **FEMS microbiology ecology**, v. 61, p. 496-508, 2007

ZHANG, R.; LAU, S. C. K.; KI, J.-S.; THIYAGARAJAN, V.; QIAN, P.-Y. Response of bacterioplankton community structures to hydrological conditions and anthropogenic pollution in contrasting subtropical environments. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 69, p. 449-460, 2009

ZHOU, W., LI, T., CAI, C., HUANG, L., WANG, H., XU, J., DONG, J.; ZHANG, S. Spatial and temporal dynamics of phytoplankton and bacterioplankton biomass in Sanya Bay, northern South China Sea. **Journal of Environmental Sciences**, v. 21, p. 595-603, 2009

ZHOU, W.; LONG, A.; JIANG, T.; CHEN, S.; HUANG, L.; HUANG, H. CHUANGHUA, C.; YAN, Y. (2011). Bacterioplankton dynamics along the gradient from highly eutrophic Pearl River Estuary to oligotrophic northern South China Sea in wet season: implication for anthropogenic inputs. **Marine Pollution Bulletin**, v. 62, p.726-733, 2011

ZONG, Y.; KEMP, A. C.; YU, F.; LLOYD, J. M.; HUANG, G.; YIM, W. W. S. (2010). Diatoms from the Pearl River estuary, China and their suitability as water salinity indicators for coastal environments. **Marine Micropaleontology**, v.75, p. 38-49, 2010.

APÊNDICE I – Abundâncias relativas dos táxons de Fitoplâncton encontrados nos estuários do Rios Ceará (CE), Cocó (CO), Pacoti (PAC) e Pirangi (PIR) nos períodos Seco (S) e Chuvoso (C). \*Táxons descritores: abundância relativa  $\geq 1\%$  em pelo menos uma das amostras

	CE(S)	CE(C)	CO(S)	CO(C)	PAC(S)	PAC(C)	PIR(S)	PIR(C)
<b>Filo Cyanophyta</b>								
<b>Class Cyanophyceae</b>								
<b>Ordem Pseudanabaenales</b>								
<b>Família Pseudanabaenaceae</b>								
Jaaginema cf. subtilissimum*	0,004	0,4	1,6	15,6		3,1		0,5
Jaaginema sp1*		0,4		2,3				0,03
Romeria cf. gracilis*			13,0					
Pseudanabaena limnetica*				11,0		6,2		0,1
Pseudanabaena papillaterminata								0,04
Pseudanabaena contorta								0,2
<b>Ordem Oscillatoriales</b>								
<b>Família Phormidiaceae</b>								
Arthrospira sp	0,004							
Planktothrix agardhii*	0,05	0,5						1,9
Planktothrix isothrix*		0,7		2,7		22,9		0,9
Phormidium cf. acuminatum var. longe-attenuatum*			1,5					
Phormidium formosum		0,10						
Phormidium sp1*			1,4	5,3				
Phormidium sp2								0,03
<b>Ordem Nostocales</b>								
<b>Família Nostocaceae</b>								
Anabaena sp1		0,4						
Anabaena sp2								0,04
Anabaena sp3								0,01
Anabaenopsis elenkinii								0,5
Cylindrospermopsis raciborskii*		0,8				12,3		0,2
Nostocales 1			0,07					
<b>Ordem Oscillatoriales</b>								
<b>Família Oscillatoriaceae</b>								
Oscillatoria limosa				0,4				0,04
Oscillatoria sp1	0,004							
<b>Ordem Synechococcales</b>								
<b>Família Merismopediaceae</b>								
Aphanocapsa incerta			0,2					
Aphanocapsa sp1			0,3					

Aphanocapsa sp2		0,2					
Merismopedia cf. glauca				0,4			
Merismopedia cf. punctata		0,2					
Merismopedia cf. tenuissima*	0,3	12,0	1,3				
Merismopedia sp1*							3,1
Synechocystis cf. aquatilis*			47,9				
Synechocystis cf. salina*			2,7				
<b>Filo Chlorophyta</b>							
<b>Classe Chlorophyceae</b>							
<b>Ordem Chlorococcales</b>							
<b>Família Coelastraceae</b>							
Actinastrum cf. aciculare*			1,5	14,8			0,5
<b>Ordem Chlorococcales</b>							
<b>Família Chlorellaceae</b>							
Closteriopsis acicularis							0,5
Closterium acutum*					6,2		1,6
Closterium cf. setaceum							0,5
Monoraphidium caribeum*	0,5		0,1	14,8			2,6
Monoraphidium contortum*					3,1		34,7
Monoraphidium griffithii*	0,008		4,1	2,7			0,5
Monoraphidium kormakovae*		12,0	0,3				33,0
Monoraphidium minutum*			1,3				
<b>Ordem Chlorococcales</b>							
<b>Família Scenedesmaceae</b>							
Crucigenia tetrapedia*							2,1
Desmodesmus denticulatus				0,6			
Desmodesmus opoliensis				0,6			
Scenedesmus arcuatus var. platydiscus*				0,4	3,1		
Scenedesmus cf. javanensis				0,2			
Scenedesmus sp1							0,5
Westella botryoides			0,5				
Tetrastrum triangulare				0,4			
<b>Ordem Chlorococcales</b>							
<b>Família Oocystaceae</b>							
Oocystis sp.			0,07				
<b>Ordem Chlorococcales</b>							
<b>Família Hydrodictyceae</b>							
Pediastrum duplex var. gracillimum					0,08		
Pediastrum tetras				0,2			
<b>Ordem Chlorococcales</b>							

<b>Família Characiaceae</b>								
Schroederia sp.								0,5
<b>Ordem Chlorococcales</b>								
<b>Família Botryococcaceae</b>								
Dictyosphaerium subsolitarium				0,4				
Dictyosphaerium sp.*						3,1		
Quadricoccus aff.				0,2				
<b>Ordem Chlorococcales</b>								
<b>Família Micractiniaceae</b>								
Micractinium cf. pusillum*			2,7					
<b>Classe Chlorophyceae</b>								
Chlorophyceae 1								0,5
<b>Ordem Chlorococcales</b>								
Chlorococcales 1*			1,8	0,2				
Chlorococcales 2			0,2					
Chlorococcales 3*			0,8					1,0
Chlorococcales 4			0,5					
Chlorococcales 5*								1,6
<b>Classe Zignemaphyceae</b>								
<b>Ordem Desmiales</b>								
Cosmarium sp1			0,1					
Cosmarium sp2			0,1					
<b>Filo Bacillariophyta</b>								
<b>Classe Coscinodiscophyceae</b>								
<b>Ordem Thalassiosirales</b>								
<b>Família Thalassiosiraceae</b>								
Thalassiosira minima							0,2	
Thalassiosira weissflogii*			1,9					
Thalassiosira sp1	0,3							
Thalassiosira sp2	0,8							0,5
Thalassiosira sp3*							5,5	
<b>Ordem Thalassiosirales</b>								
<b>Família Stephanodiscaceae</b>								
Cyclotella cf. meneghiniana*		12,0	4,2	4,0		6,2		
Cyclotella cf. striata*	3,8							
Cyclotella sp2	0,8							
<b>Ordem Aulacoseirales</b>								
<b>Família Aulacoseiraceae</b>								
Aulacoseira granulata var. angustissima*		3,5	0,2	0,2		0,1		0,0
Aulacoseira granulata var. granulata*		0,6		1,5				0,0

Aulacoisera distans*		24,0		2,5			
<b>Ordem Rhizosoleniales</b>							
<b>Família Rhizosoleniaceae</b>							
aff. Proboscia sp.*					1,1		
<b>Ordem Parariales</b>							
<b>Família Paraliaceae</b>							
Paralia sulcata					0,7		
<b>Ordem Melosirales</b>							
<b>Família Melosiraceae</b>							
Melosira dubia					0,2		
<b>Ordem Hemiaulales</b>							
<b>Família Hemiaulaceae</b>							
Bellerochea malleus							0,2
<b>Classe Coscinodiscophyceae</b>							
Coscinodiscophyceae 1*					5,4		
Coscinodiscophyceae 2					0,2		
Coscinodiscophyceae 3*				1,0			
<b>Classe Fragilariophyceae</b>							
<b>Ordem Fragilariales</b>							
<b>Família Fragilariaceae</b>							
Asterionellopsis glacialis							0,2
<b>Ordem Licmophorales</b>							
<b>Família Licmophoraceae</b>							
Licmophora sp							0,2
<b>Ordem Thalassionematales</b>							
<b>Família Thalassionemataceae</b>							
Thalassionema nitzschioides*					2,1		0,2
<b>Classe Bacillariophyceae</b>							
<b>Ordem Naviculales</b>							
<b>Família Naviculaceae</b>							
Navicula cf. amphiceropsis *		0,6		2,7		9,2	
Navicula cf. antonii*		1,2					
Navicula cf. salinicola*							1,8
Navicula sp1 *		12,0					
Navicula sp3					0,2		
Navicula sp4*					0,4	3,1	
Navicula sp5	0,5						
<b>Ordem Naviculales</b>							
<b>Família Pleurosigmataceae</b>							
Pleurosigma sp.							0,014

Gyrossigma sp.					0,2			
<b>Ordem Bacillariales</b>								
<b>Familia Bacillariophyceae</b>								
Cylindrotheca closterium*	0,004		6,1		1,9		5,2	
<b>Ordem Cymbellales</b>								
<b>Familia Cymbellaceae</b>								
Placoneis sp.					0,2			
<b>Ordem Bacillariales</b>								
<b>Family Bacillariaceae</b>								
Nitzschia cf. acicularis					0,2			
Nitzschia flexoides		0,2						
Nitzschia cf. gracillis		0,6						
Nitzschia cf. palea*				3,2				
Nitzschia cf. umbonata		0,4						
Nitzschia sp1		0,4						
Nitzschia sp2		0,8						
Nitzschia sp3*						6,2	0,3	1,6
Nitzschia sp4							0,2	
<b>Classe Bacillariophyceae</b>								
Bacillariophyceae 1			0,3					
Bacillariophyceae 2*					18,9			
Bacillariophyceae 3*							5,1	
Bacillariophyceae 4*					63,0		77,1	
<b>Filo Cryptophyta</b>								
<b>Classe Cryptophyceae</b>								
<b>Ordem Cryptomonadales</b>								
<b>Family Cryptomonadaceae</b>								
Cryptomonas cf. curvata		0,4						
Cryptomonas cf. ovata*		1,0		0,6				
Cryptomonas/Rodhomonas 1*	90,5							
Cryptomonas/Rodhomonas 2*	1,0							
Cryptomonas/Rodhomonas 3*		1,4						
Cryptomonas sp.*			2,4	1,0				
<b>Ordem Pyrenomonadales</b>								
<b>Family Geminigeraceae</b>								
aff. Plagioselmis sp.*								1,6
<b>Classe Cryptophyceae</b>								
Cryptophyceae 1							0,2	
Cryptophyceae 2*								3,1
Cryptophyceae 3					0,2			

<b>Filo Euglenophyta</b>							
<b>Classe Euglenophyceae</b>							
<b>Ordem Euglenales</b>							
<b>Família Euglenaceae</b>							
Euglena cf. acus		0,2					
Euglena erenbergii							0,014
Euglena sp1			0,4				
Euglena sp2							0,5
Strombomonas rotunda*							1,0
Trachelomonas sp1		0,2					
Trachelomonas sp2		0,2					
Trachelomonas sp3*		0,2		7,4			
Trachelomonas sp4							0,5
Trachelomonas cf. volvocina var. volvocina*		12,0		1,3		3,1	2,6
<b>Família Phacaceae</b>							
Phacus longicauda var. tortus		0,8		0,2			
Phacus sp1				0,2			
Phacus sp2				0,8			
Lepocinclis acus*				0,2		6,2	
<b>Ordem Eutreptiales</b>							
<b>Família Eutreptiaceae</b>							
Eutreptiella sp1					0,2		
Eutreptiella sp2							0,5
<b>Classe Euglenophyceae</b>							
Euglenophyceae 1				0,2			
Euglenophyceae 2*						3,1	
Euglenophyceae 3					0,2		
<b>Filo Dinophyta</b>							
<b>Classe Dinophyceae</b>							
<b>Ordem Gymnodiniales</b>							
<b>Família Gymnodiniaceae</b>							
Gymnodinium sp1	0,8						
Gymnodinium sp2	0,3						
Gymnodinium sp3	0,3						
cf. Gymnodinium sp4			0,1				
cf. Gymnodinium sp5*						3,1	
Gyrodinium sp.							0,5
<b>Família Tovelliaceae</b>							
Katodinium glaucum	0,3						
<b>Ordem Peridinales</b>							

