

AVALIAÇÃO DO NÍVEL TRÓFICO DAS ÁGUAS DO MAR PEQUENO

Resultados iniciais¹

Pedro Antonio Zagatto²
Rosalina Pereira de Almeida Araújo³
Elenita Gherardi Goldstein²
Eduardo Bertoletti²

RESUMO - Desde o início do século passado, o Valo Grande, canal com 3 km de extensão, conduzia as águas do rio Ribeira de Iguape para o Mar Pequeno (um braço de mar). Em 1978 esse canal foi fechado, por vários motivos, entre eles o de tentar restabelecer as condições naturais do Mar Pequeno. Isso provocou na região uma série de problemas, destacando-se o das enchentes. A fim de fornecer subsídios a estudos mais amplos sobre as possíveis consequências ecológicas quando da reabertura desse canal e da forma como seria executada, foram realizados alguns testes de produtividade algácea, com *Skeletonema costatum*, segundo os métodos da EPA - Environmental Protection Agency (1971, 1974) modificados. Essa espécie foi inoculada na água do Mar Pequeno contendo diferentes proporções de água do rio Ribeira de Iguape. Verificou-se que a água do rio apresentou características estimuladoras do crescimento algáceo. O máximo potencial foi alcançado numa primeira campanha na proporção de 10% da água do rio em relação à água do mar, na segunda na proporção de 30% e na terceira, de 20%, 40% e 50%. Essa proporção foi mais elevada à medida que a salinidade da água aumentava. O rendimento final máximo obtido no primeiro experimento foi de $1,84 \times 10^5$ células/ml, no segundo $1,65 \times 10^5$ células/ml, e $2,45 \times 10^5$ células/ml no terceiro experimento.

ABSTRACT - Trophic level of waters from Mar Pequeno (São Paulo State, Brazil) - preliminary results. Since the 1800's, the Valo Grande Channel, 3 km long, conducted the waters from Ribeira de Iguape river to Mar Pequeno (a sea inlet). This channel was closed in 1978, to return Mar Pequeno to its natural conditions. This attitude has lead to several problems, mostly flooding. In order to give support to more specific studies concerning the reopening of the channel and its consequences, some algal assays to assess the trophic level of the waters were conducted. The test species was *Skeletonema costatum*, and the EPA (1971, 1974) method was followed, with adaptations. The algae were inoculated in the water from Mar Pequeno, mixed with different proportions of Ribeira de Iguape river water. The river water has shown algal growth potential. The maximum value was detected in a first sampling occasion, in a 1:9 river water/sea water proportion, in a second occasion in a 3:7, and for a third one, in 2:8, 4:6 and 1:1. Those relations were higher with higher salinities. The maximum growth in the first experiment was 1.84×10^5 cells/ml; in the second, 1.65×10^5 cells/ml and in the third one, 2.45×10^5 cells/ml.

INTRODUÇÃO

O Mar Pequeno, localizado no litoral sul do Estado de São Paulo, é um braço de mar situado entre o continente e a Ilha Comprida. Esta região recebeu, desde o início do século passado até 1978, uma quantidade de água continental significativa, proveniente do rio Ribeira de Iguape, através da abertura de um canal denominado Valo Grande. Durante esse período, ocorreram profundas alterações ecológicas na região. Em agosto de 1978, esse canal foi fechado, com a finalidade principal de restabelecer as condições naturais do ambiente marinho. No entanto, devido a uma série de problemas que surgiram após o fechamento do Valo Grande, destacando-se entre eles o das enchentes, foi proposto um sistema de vertedores com comportas na barragem, que permitiria o escoamento do volume de água continental excedente para o Mar Pequeno.

A fim de fornecer subsídios a estudos mais amplos sobre as consequências ecológicas que poderiam ocorrer nesse ecossistema foram realizados alguns testes de produtividade algácea, que permitem avaliar o nível trófico ou nutricional de corpos d'água, bem como sua sensibilidade a mudanças ambientais (introdução de água doce no ambiente marinho).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de água em dois pontos de amostragem, representados na Figura 1: Ponto 1 - no rio Ribeira de Iguape, próximo à ponte da estrada Iguape-Biguá; Ponto 2 - no Mar Pequeno, próximo à Ilha Grande.

Em viagem prévia de reconhecimento da área, verificou-se que esta seria a estação de coleta no Mar Pequeno que teria provavelmente menor influência de água doce. Foram coletadas amostras de superfície, acondicionadas em frascos escuros de polietileno e transportadas em gelo. Dentro de um período de 24 horas após a coleta, as amostras foram filtradas em membrana de acetato de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade (Millipore HAWGO4700) e, quando necessário, pré-filtradas em membrana de fibra de vidro (Millipore AP20 04700). As membranas foram previamente lavadas com 50 ml de água destilada. Após a filtração, as amostras foram utilizadas, ou armazenadas a 4°C em frascos pirex esterilizados, até sua utilização no teste, quando foram novamente filtradas em membranas de acetato de celulose.

As amostragens foram realizadas em três ocasiões: janeiro, maio e julho de 1981. Durante a primeira coleta ocorreram fortes chuvas e inundações na região, quando a água do rio Ribeira de Iguape atingiu o Mar Pequeno devido ao transbordamento da barragem do Valo Grande. Nas demais não houve chuvas, as águas do rio permaneceram normalmente contidas pela barragem.

Foram realizados ensaios biológicos estáticos com *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve, de cultura proveniente de exem-

¹Trabalho apresentado no Simpósio "Algas - a Energia do Amanhã", no Instituto Oceanográfico da USP, 1982.

²Biólogos.

³Farmacêutica-Bioquímica da CETESB.

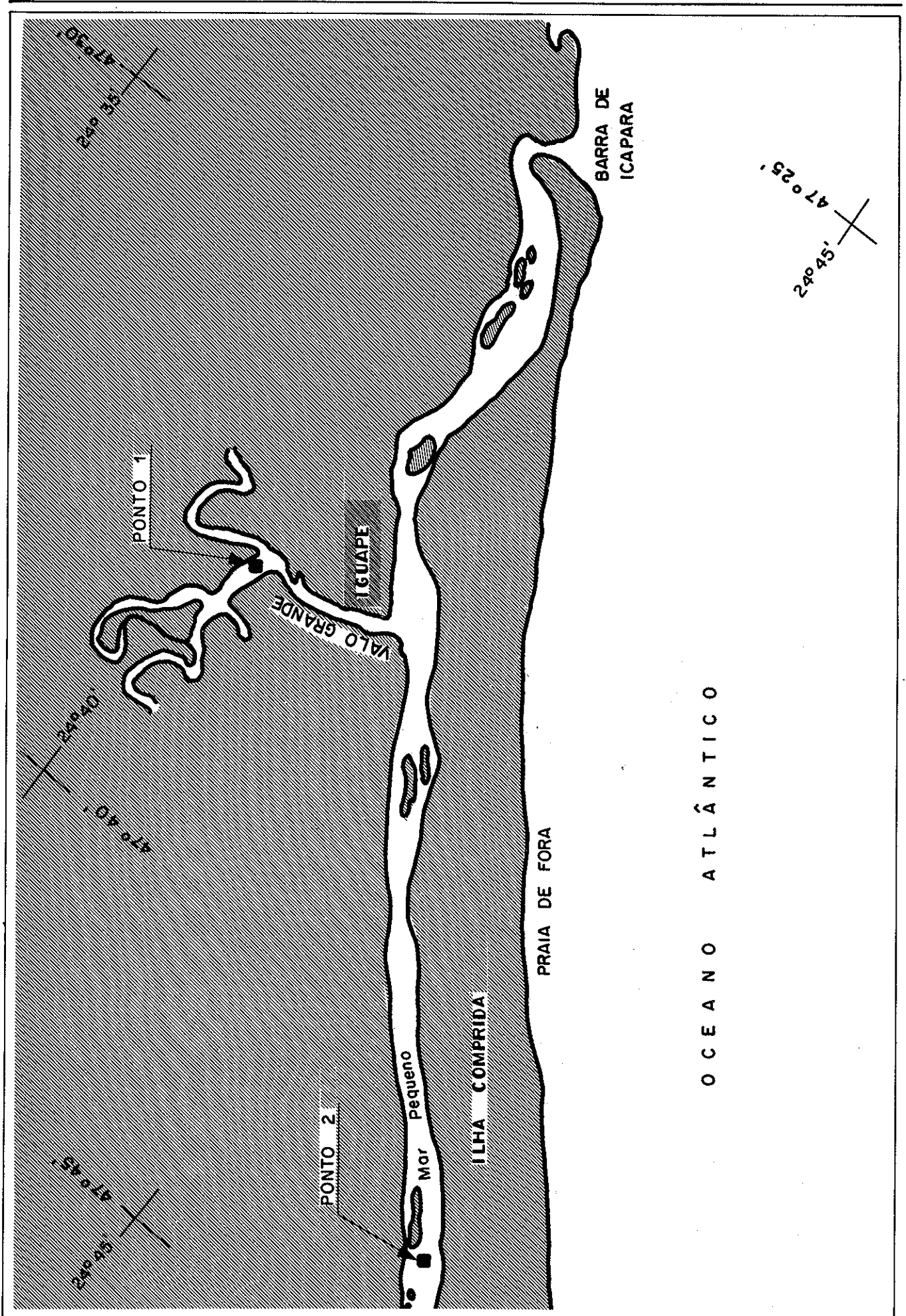


FIGURA 1 - Mapa da região estudada com a localização dos pontos de amostragem

plares isolados da região de Cananéia, cedida pelo Instituto Oceanográfico da USP. A cultura foi mantida em meio "f Guillard" (Guillard & Ryther, 1962, in Vieira, 1977).

O método utilizado para o teste foi o preconizado pela EPA (1971, 1974), tendo sido introduzidas algumas modificações (Vieira, 1975; CETESB, 1979). As condições mais relevantes são as seguintes:

- 100 ml do meio em frascos erlenmeyer de 250 e 300 ml;
- luminosidade: $3300 \pm 10\%$ lux;
- temperatura: 22 ± 2 °C;
- fotoperíodo: 13 horas luz/11 horas escuro;
- duração do experimento: 12 dias;
- determinação da biomassa: número de células/ml (contagem em câmaras de Sedgwick-Rafter);
- parâmetro de crescimento: "standing-crop" máximo;
- três réplicas por tratamento;
- inóculos: preparados a partir de culturas em fase exponencial de crescimento. As culturas foram centrifugadas duas vezes a 500-700 rpm por 20 minutos (primeira campanha) e 1.000 rpm por 10 minutos (segunda e terceira campanhas e ressuspensões em meio de cultura. Os inóculos foram preparados de tal forma que ao se introduzir 1 ml em cada frasco fosse atingida, no primeiro experimento, uma concentração inicial de cerca de 100 células/ml e nos demais 1.000 células/ml. As contagens foram realizadas em câmaras de Sedgwick-Rafter;
- disposição dos frascos erlenmeyer na bancada feita ao acaso, de acordo com tabelas preparadas diariamente (Fisher & Yates, 1971);
- lavagem da vidraria: com HCl 10% e água destilada.

Foi verificado o crescimento de *S. costatum* na água do Mar Pequeno e em diversas proporções desta com a água do rio Ribeira de Iguape, de acordo com os seguintes tratamentos:

- 1 - água do Mar Pequeno (100%)
- 2 - água do Mar Pequeno + 10% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 3 - água do Mar Pequeno + 20% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 4 - água do Mar Pequeno + 30% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 5 - água do Mar Pequeno + 40% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 6 - água do Mar Pequeno + 50% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 7 - água do Mar Pequeno + 70% de água do rio Ribeira de Iguape;
- 8 - água do Mar Pequeno + 90% de água do rio Ribeira de Iguape;

- 9 - água do rio Ribeira de Iguape (100%);
- 10 - meio "f Guillard" preparado com água do Mar Pequeno;
- 11 - controle do inóculo: meio "f Guillard" preparado com água marinha utilizada na manutenção das culturas, proveniente de Ubatuba (SP).

Os dados foram analisados através de análise de variância, e foi calculada a última diferença significativa ao nível de 5% (Snedecor & Cochran, 1967).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos constam da Tabela 1, na qual são apresentados, para cada tratamento, os valores médios do "standing-crop" máximo e da razão de crescimento em número de divisões por dia, o dia no qual foi atingido o máximo de crescimento algal e a salinidade.

No primeiro experimento houve algumas interferências, como por exemplo a contaminação de alguns tratamentos com uma ou duas outras espécies de algas, possibilitando apenas que se determinassem evidências preliminares. Embora devam ser encarados com cautela, estes resultados constam do presente trabalho pois a amostragem foi realizada em período no qual as condições ambientais foram extremas, ou seja, elevada pluviosidade e inundações, sendo que a contribuição de água doce para o Mar Pequeno foi bastante elevada. A salinidade desta água foi de 10,6‰ no ponto 2 e, ao ser inoculada com 100 células/ml de *S. costatum*, sustentou um crescimento algal de até 120.000 células/ml. A adição de 10% de água do rio Ribeira de Iguape, atingindo uma salinidade de 9,6‰, promoveu ligeiramente o crescimento da espécie teste. Este crescimento foi praticamente o mesmo observado para a água do Mar Pequeno quando a esta se adicionou 20% de água do rio, atingindo uma salinidade de 8,9‰. Em diluições nas quais a salinidade foi de 7,5‰ e 6,4‰, o potencial de crescimento algal, embora tenha sido elevado, foi bem menor do que o observado para a água do Mar Pequeno. Nas diluições onde a salinidade foi igual ou menor que 5,5‰ não se observou crescimento notável das células.

Os experimentos subsequentes não sofreram as interferências constatadas no primeiro teste e, como no primeiro, permitiram verificar que a água do Mar Pequeno é sensível à introdução de água do rio Ribeira de Iguape ao potencial de crescimento algal avaliado através do crescimento de *S. costatum*.

No segundo experimento, a água do Mar Pequeno (salinidade 15,8‰), contendo 10%, 20% e 30% de água do rio, com salinidades de 14,3‰, 12,7‰ e 11,1‰ respectivamente, promoveu o crescimento algal a níveis estatisticamente significativos.

TABELA 1 - Resultados dos experimentos realizados

Época de coleta	Janeiro			Maio			Julho				
	Nº Máximo de Cél. /ml	Salinidade (%‰)	Dia do Crescim. Máximo	Nº Máximo de Cél. /ml	Salinidade (%‰)	Dia do Crescim. Máximo	Nº Máximo de Cél. /ml	Salinidade (%‰)	Dia do Crescim. Máximo		
AMP	120.120	10,68	11°	28.406	15,8	3°	2,16	174.431	16,81	5°	3,14
AMP + 10% ARI	184.774	9,63	11°	100.654'	14,32	3°	2,21	212.987	15,13	5°	3,07
AMP + 20% ARI	116.126	8,92	11°	141.863'	12,67	3°/4°	2,89	247.464'	13,45	4°	2,49
AMP + 30% ARI	53.508	7,51	11°	165.338'	11,11	3°/4°	3,30	205.979	11,94	6°	2,48
AMP + 40% ARI	86.268	6,43	11°	62.232	9,61	3°	3,52	249.447'	10,25	6°	2,31
AMP + 50% ARI	1.940	5,54	9°/10°	72.779	8,04	4°/5°	1,72	247.799'	8,56	6°	2,55
AMP + 60% ARI	(1)	-	-	38.487	6,6	6°	1,69	136.281	6,86	6°	2,56
AMP + 70% ARI	1989	-	12°	20.755	5,1	10°/11°	1,23	114.317	5,07	7°/8°	2,03
AMP + 80% ARI	(1)	-	-	0	1,91(2)	-	-	99	3,64	9°/11°	-
AMP + 90% ARI	0	-	-	0	1,01(2)	-	-	213	-	3°/4°	-
ARI	0	-	-	0	-	-	-	0	-	-	-
Meio "f" + AMP	4.037.605	-	11°/12°	3.950.128	-	10°/11°	3,48	1.194.187	16,72	7°/9°	2,76
Meio "f" + água de Ubatuba	2.362.693	-	11°	1.583.616	30,87	4°/5°	2,88	2.332.595	-	11°	2,85
Temperatura média diária da solução teste (°C)	Máxima: 23,9 Mínima: 21,3 Média: 22,2			Máxima: 24,0 Mínima: 20,5 Média: 23,4			Máxima: 24,0 Mínima: 19,0 Média: 21,4				

(1) Não foi preparado o tratamento

(2) Medida em clorossidade

K = Razão de crescimento, em número de divisões/dia

= Diferença significativa em relação ao controle
AMP = Água do Mar Pequeno
ARI = Água do rio Ribeira de Iguape

TABELA 2 - Teores de nutrientes nas amostras de água coletadas nos Pontos 1 (rio Ribeira de Iguape) e 2 (Mar Pequeno)

Variáveis mg/l	1ª Campanha		2ª Campanha		3ª Campanha			
	Pontos de Coleta		1	2	1	2	1	2
Ortofosfato	0,025	0,01	0,045	0,015	0,09	0,05	-	-
Fosfato total	0,185	0,055	0,11	0,14	-	-	-	-
Nitrato	0,16	< 0,02	0,17	0,04	< 0,05	< 0,05	< 0,05	< 0,05
Nitrogênio total	1,20	0,80	0,10	0,6	-	-	-	-

Nos tratamentos contendo de 40% a 70% de água do rio Ribeira de Iguape, notou-se um crescimento algal elevado, porém não significativo em relação ao controle, sendo que a salinidade variou entre 9,6 e 5,1‰. Abaixo desta salinidade não houve crescimento algal. Em algumas réplicas observou-se a presença de células até o terceiro dia do experimento.

No terceiro teste, a água do Mar Pequeno (salinidade 16,8‰), contendo 20%, 40% e 50% de água do rio, com salinidades de 13,4‰, 10,2‰ e 8,6‰ respectivamente, promoveu o crescimento algal a níveis estatisticamente significativos. Nos demais tratamentos o crescimento algal foi elevado, porém não significativo em relação ao controle. Em diluições de água do mar nas quais a salinidade foi inferior a 5‰ foram observadas células de *S. costatum* até o terceiro ou quarto dia do experimento. As células de *S. costatum* utilizadas no segundo e terceiro experimentos apresentavam um diâmetro médio de $5,09 \pm 0,86 \mu\text{m}$ e $4,41 \pm 0,44 \mu\text{m}$ respectivamente.

Em experimentos semelhantes realizados com amostras de água da baía de Santos com a espécie *Phaeodactylum tricornutum*, os valores máximos de biomassa estimados através do número de células/ml estiveram em média ao redor de $1 a 4 \times 10^6$ em amostras de água de superfície (CETESB-IOUSP, 1975). A cultura de *S. costatum* foi mantida em meio "f" com água proveniente da região de Ubatuba, a partir da qual foram preparados os inoculos para os experimentos.

A salinidade dos inoculos (cultura "mãe") variou entre 30 e 35‰. Pelos resultados apresentados por Aragão (1980), a espécie teste não deve ter sofrido choques osmóticos ao ser transferida para tratamentos com diferentes salinidades, à exceção daquelas contendo 80%, 90% e 100% de água do rio Ribeira de Iguape.

Foi observado que em menores salinidades o "standing-crop" máximo foi atingido após um maior tempo de incubação. Pela análise das curvas de crescimento (não apresentadas neste trabalho), verificou-se uma fase "lag" um pouco mais longa a partir do tratamento contendo 50% de água do rio Ribeira, acentuando-se muito no tratamento com 70% de água do rio.

A estimativa da razão de crescimento permitiu verificar que a maioria dos valores encontrados nos dois experimentos está coerente com os encontrados por Aragão (1980), embora as condições de luz e temperatura dos experimentos efetuados no presente trabalho tenham sido diferentes.

A viabilidade do inoculo foi testada através do crescimento em meio "f Guillard" com a água de manutenção. A água do Mar Pequeno enriquecida com as soluções nutrientes do meio "f" permitiu verificar a ausência de substâncias inibidoras do crescimento algal em concentrações efetivas.

A alga escolhida para os experimentos predominou no ponto de amostragem localizado no Mar Pequeno nas primeira e segunda campanhas e representou quase 20% do fitoplâncton total no mês de julho, na terceira campanha (CETESB, 1982).

Apesar do organismo utilizado ser representativo do ecossistema em estudo, a aplicação dos resultados de testes com o apresentado às condições ambientais é limitada, pois eles representam ecossistemas simples, em vez de sistemas complexos naturais nos quais predadores, competidores, parasitas e outros vivem em equilíbrio dinâmico, sujeitos a fatores sazonais e a numerosos outros fatores ambientais que com frequência permitem que uma ou outra espécie predomine periodicamente. Além disto, uma única alga-teste em um sistema simples e protegido pode responder de formas diferentes quando ocorrem mudanças ambientais e nutricionais.

Estes métodos, no entanto, são utilizados com frequência, pois são relativamente simples, de curta duração e requerem poucos equipamentos. Se o crescimento da alga-teste é estimulado por qualquer concentração de nutrientes, há evidência de que o material testado tem de fato um potencial para acelerar a eutrofização

das águas receptoras, embora um valor numérico deste potencial seja difícil de ser transferido para condições de campo. Foi esta a situação constatada nos três experimentos realizados com *S. costatum*, com amostras coletadas em condições bastante distintas.

Quanto aos nutrientes, verificou-se que os níveis de ortofosfato foram bem mais elevados no rio Ribeira de Iguape do que no Mar Pequeno, o mesmo ocorrendo com os níveis de nitrato, com exceção da terceira campanha (Tabela 2). Os valores de ortofosfato aumentaram da primeira para a terceira campanha: seus valores máximos coincidiram com os valores mais elevados de "standing-crop" máximo obtidos nos experimentos, apesar dos valores de nitrato estarem abaixo do nível de detecção.

CONCLUSÃO

A água do rio Ribeira de Iguape apresentou características estimuladoras do crescimento algal e portanto eutrofizantes. O máximo potencial foi manifestado na primeira campanha na proporção de 10% em relação à água do mar, na segunda na proporção de 30% e na terceira, de 20%, 40% e 50%. Esta proporção foi mais elevada à medida que a salinidade da água marinha era também maior.

O rendimento final máximo obtido no primeiro experimento foi de $1,84 \times 10^5$ células/ml, no segundo $1,65 \times 10^5$ células/ml e $2,49 \times 10^5$ células/ml no terceiro.

REFERÊNCIAS

- ARAGÃO, E. A. *Alguns Aspectos da autoecologia de Skeletone-ma costatum (Greville) Cléve de Cananéia (25° S, 48° W), com especial referência ao fator salinidade*. Tese de doutoramento. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 1980, 140p., Tabs., Figs.
- CETESB/Instituto Oceanográfico da USP, São Paulo. *Relatório sobre as pesquisas realizadas na região da Baixada Santista, visando estimar o grau de eutrofização*. São Paulo, Convênio CETESB, Instituto Oceanográfico da USP, 1975 (Relatório técnico, não publicado).
- CETESB, São Paulo. *Norma Técnica L5.321 - Determinação do potencial de crescimento algal*. São Paulo, CETESB, 1979, 11 p.
- *Levantamento preliminar das condições ecológicas atuais do complexo Valo Grande - Mar Pequeno*. São Paulo, CETESB, 1982 (Relatório técnico).
- EPA, Environmental Protection Agency. *Algal assay procedure bottle test*. National Eutrophication Research Program, Environmental Protection Agency, 1971, 82 p.
- *Marine algal assay procedure bottle test*. EPA 660/3-75008, Eutrophication and Lake Restoration Branch, National Environmental Research Center. Corvallis, Oregon, 1974, 43 p.
- FISHER, R. A. & YATES, F. *Tabelas estatísticas para pesquisa em Biologia, Medicina e Agricultura*. São Paulo, Editora da USP/Editora Polígono, 1971, 150 p.
- SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. *Statistical Methods*. 6th. ed., Iowa State Univ. Press, U.S.A., XIV, 1967, 593 p.
- VIEIRA, A. A. H. *Estudos experimentais em fitoplâncton marinho: culturas e aspectos ecofisiológicos*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Instituto Oceanográfico, 1975.
- *Métodos de cultura de algas do plâncton marinho: estudos realizados nas regiões de Cananéia e de Ubatuba, SP. Bolm Inst. Oceanogr. S. Paulo 26 : 303-338, 1977.*