

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

DANIELLE GOELDNER PEREIRA

Estrutura e dinâmica da abundância de bactérias, protozoários flagelados e ciliados
planctônicos: respostas ao cultivo de peixes em tanques-rede

Maringá

2008

DANIELLE GOELDNER PEREIRA

Estrutura e dinâmica da abundância de bactérias, protozoários flagelados e ciliados
planctônicos: respostas ao cultivo de peixes em tanques-rede

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais
do Departamento de Biologia, Centro de Ciências
Biológicas da Universidade Estadual de Maringá,
como requisito parcial para obtenção do título de
Doutor em Ciências Ambientais
Área de concentração: Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho

Maringá

2008

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

P436e

Pereira, Danielle Goeldner, 1980-

Estrutura e dinâmica da abundância de bactérias, protozoários flagelados e ciliados planctônicos : respostas ao cultivo de peixes em tanques-rede / Danielle Goeldner Pereira. – Maringá, 2008.

37 f.: il.

Tese (doutorado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)--Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Machado Velho.

1. Microorganismos aquáticos - Ecologia - Guairacá, Rio - Brasil - Regiões Sudeste e Sul. 2. Bactérias - Populações, Dinâmica de - Ecologia - Guairacá, Rio - Brasil - Regiões Sudeste e Sul. 3. Protozoários - Ecologia - Guairacá, Rio - Brasil - Regiões Sudeste e Sul. 4. Tanques-rede - Peixes - Cultivo. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em "Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais".

CDD 22. ed. -579.3178209816
NBR/CIP - 12899 AACR/2

FOLHA DE APROVAÇÃO

Estrutura e dinâmica da abundância de bactérias, protozoários flagelados e ciliados planctônicos: respostas ao cultivo de peixes em tanques-rede

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof Dr Luiz Felipe Machado Velho
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá (Presidente)

Profª Drª Josimeire Aparecida Leandrini
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Fábio de Azevedo
Faculdade Estadual de Educação
Ciências e Letras de Paranavaí (Fafipa)

Profª Drª Evanilde Benedito
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Prof Dr Fábio Amodeo Lansac-Tôha
Nupélia/Universidade Estadual de Maringá

Aprovada em: 07 de novembro de 2008.

Local de defesa: Anfiteatro do Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

DEDICATÓRIA

Dedicatória: Aos meus pais, por serem para mim exemplos de vida, mostrando-me em cada atitude, como ser correta e amada e, através do amor incondicional, me deram forças para lutar e acreditar sempre.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que tem me dado alívio, força, esperança, discernimento e coragem;

Ao meu orientador, Doutor Luiz Felipe Machado Velho, por estar sempre ao meu lado, mostrando-me os caminhos da ciência de forma amigável, generosa e paciente, não medindo esforços para que tudo desse certo, sobretudo nos momentos de maior dificuldade;

Ao Prof. Doutor Fábio Amodeo Lansac-Tôha, pela amizade, apoio, incentivo e colaboração durante todos estes anos;

Aos amigos e colegas do laboratório de Zooplâncton;

Ao Johny, pelo amor, carinho, incentivo e por compartilhar as alegrias e preocupações da minha vida tão intensamente;

A minha irmã Débora, meu cunhado Sérgio, e as minhas tias, Clarinda, Guiomar e Alvacir, pelo estímulo e, principalmente, compreensão;

Aos amigos que mesmo de longe, além de me fazerem sentir saudades imensas, me apoiaram e me incentivaram tremendamente;

Aos membros da banca, por terem aceitado meu convite;

Ao Luis Mauricio Bini, pelo auxílio nas análises estatísticas;

Ao Núcleo de Pesquisa em Limnologia, Ictiologia e Aqüicultura (Núvelia), pelas facilidades concedidas para a realização desse trabalho;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais, pelo apoio durante o curso;

Ao CNPq, pela concessão da bolsa.

Estrutura e dinâmica da abundância de bactérias, protozoários flagelados e ciliados planctônicos: respostas ao cultivo de peixes em tanques-rede

RESUMO

O presente estudo avaliou o efeito dos resíduos, provenientes da piscicultura em tanques-rede, sobre a abundância de frações heterotróficas da comunidade microbiana planctônica (bactérias, flagelados e ciliados), em um braço do reservatório de Rosana, rio Paranapanema (Brasil). Foram testadas as hipóteses de que maiores valores e um aumento gradativo da abundância, ao longo do tempo, seriam observados na região a jusante da piscicultura. O experimento foi realizado durante 120 dias, na região dos tanques, a 100 e 400 m montante e a 100 e 400 m á jusante dos tanques. Diferenças espaciais e temporais significativas dos valores de abundância foram registradas. Entretanto, a tendência geral de valores e trajetórias temporais similares da abundância entre as regiões analisadas, a ausência de um aumento gradativo dos valores ao longo do tempo e a predominância do mecanismo de controle *top-down* na estruturação das comunidades, sugerem que o incremento da quantidade de resíduos no ambiente não acarretou em desvio dos padrões espaciais e temporais naturais da abundância das comunidades analisadas. Esta ausência de alterações associadas à aqüicultura foi atribuída ao tipo de ambiente, hidrodinâmica, grau de isolamento e o número de tanques-rede utilizados.

Palavras-chaves: Comunidades microbianas. Plâncton. Tanques-rede. Abundância.

Structure and dynamic of planktonic bacteria, protozoa flagellates and ciliates abundance: response to cage culture fish farming

ABSTRACT

The present study evaluated the effect of waste from fish culture in net cages on the abundance of heterotrophic fraction of microbial planktonic community (bacteria, flagellates and ciliates), in an arm of Rosana reservoir, Paranapanema river (Brazil). We have tested the hypothesis that high values and a consecutive abundance increase, in time, would be observed at downstream region of installed cages. The present experiment was performed during 120 days at 100 and 400 m up and 100 and 400 m down the tanks. Spatial and temporal significant differences of abundance values were registered. However, a general tendency of similar values between the regions analyzed, the lack of a gradate increase of the values a long the time and the predominance of top-down control on the communities structure, suggest that the waste by aquaculture did not lead to a deviation of spatial and temporal nature patterns on abundance of heterotrophic fraction of microbial planktonic community, in the studied area. The lack of alterations associated to aquaculture was attributed to the ambient type, hydrodynamic, degree of isolation and the number of cage culture used.

Keywords: Microbial communities. Abundance. Plankton. Cage culture.

Tese elaborada e formatada conforme as normas da publicação científica *Aquaculture research*. Disponível em: <<http://www.wiley.com/bw/journal.asp?ref=1355-557x>>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	10
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
2.1 Área de Estudo	12
2.2 Desenho Experimental.....	13
2.3 Coleta de Fixação	14
2.4 Mensuração das variáveis limnológicas	14
2.4.1 Variáveis Abióticas	14
2.4.2 Bacterioplâncton.....	15
2.4.3 Flagelados.....	15
2.4.4 Ciliados.....	16
2.4.5 Zooplâncton.....	16
3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	17
4 RESULTADOS	18
4.1 Variáveis Limnológicas Abióticas.....	18
4.2 Estrutura das assembléias	20
4.2.1 Densidade	20
4.2.2 Biomassa.....	21
4.3 Contribuição das bactérias, protozoários flagelados e ciliados para a abundância total da fração heterotrófica da assembléia microbiana planctônica	22
4.4 Efeito dos fatores bióticos e abióticos	26
5 DISCUSSÃO	28
6 REFERÊNCIAS	33

1- INTRODUÇÃO

A produção de peixes em sistemas de cultivos intensivos, a qual visa o aumento da produção de alimento, é considerada uma fonte potencial do processo de eutrofização (Islam 2005). Os resíduos alimentares e metabólicos gerados por essa atividade, acarretam no incremento da concentração de nutrientes nos ecossistemas aquáticos (Sarà 2007a) e conseqüentemente, no aumento significativo da abundância de algumas comunidades planctônicas (Guo & Li 2003; Sarà 2007b).

Em ambientes marinhos, essas alterações na qualidade da água e na biota tem sido observadas em uma área entre 100 e 300m distante da instalação do cultivo (Sarà 2007b). Entretanto, a elevada complexidade de fontes de variação, tais como largura, hidrodinâmica, tempo de residência da água, suprimento de alimento, grau de intensificação, nível de produção e características dos corpos aquáticos podem influenciar fortemente na amplitude espacial dos efeitos da aqüicultura (Sarà 2007 a,b), levando à difíceis generalizações (Sarà 2007a).

As bactérias e os protozoários flagelados e ciliados são usualmente afetados pelo enriquecimento por nutrientes nos corpos aquáticos e se destacam como relevantes descritores ambientais (Samuelsson, Berglund, Haecky & Anderson 2002; Simek Hornak, Masin, Christak, Nedoma, Weinbauer & Dolan 2003).

Particularmente, o pequeno tamanho, as elevadas taxas metabólicas e o curto ciclo de vida (Dupuy, Ryckaert, Le Gall & Hartmann 2007) permitem a esses organismos uma reposta rápida às alterações das características do ambiente (Xu, Choi, Yang, Lee & Lei 2002). Em relação ao cultivo de peixes, a mensuração da densidade bacteriana parece ser a principal variável biótica descritora de alterações ambientais na coluna de água (Sara 2007b).

Investigações a respeito de como as comunidades microbianas respondem as alterações ambientais se tornam ainda mais relevantes tendo em vista, a importância desses organismos na contribuição em biomassa e no fluxo de energia, carbono e nutrientes nos ecossistemas aquáticos (Azam, Fenchel, Field, Gray, Meyer-Rell & Thingstad 1983). De acordo com Bisset, Bowman & Burke (2006), sem um entendimento da resposta das comunidades microbianas às perturbações ambientais é difícil prever os seus efeitos sobre a ciclagem de nutrientes e o funcionamento dos ecossistemas.

Embora o Brasil seja o principal produtor de tilápia da América Latina, devido à alta demanda do consumo interno, ao vasto conhecimento de técnicas para o seu cultivo em tanques-rede e ao elevado potencial hídrico (Bozano & Romero 2001), tem sido observado que grande parte das pesquisas científicas nacionais tem sido desenvolvida com enfoque na viabilidade econômica dessa modalidade de empreendimento (Brandão Gomes, Chagas & Araújo 2004; Marengoni 2006), e que pouco se sabe sobre os impactos ambientais que a aquicultura pode acarretar nos ecossistemas aquáticos brasileiros.

Portanto, o objetivo do presente estudo foi investigar a influência dos resíduos alimentares e metabólicos, proveniente do cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.) em tanques-rede, sobre a densidade, biomassa e a contribuição de frações heterotróficas de comunidades microbianas planctônicas (bactérias, flagelados e ciliados), em um braço do reservatório de Rosana, rio Paranapanema, Brazil. O impacto dessa atividade foi avaliado através das variações espaciais e temporais da abundância das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados, frente às alterações das características físicas e químicas da água, da biomassa da comunidade fitoplanctônica (representada pela concentração de clorofila *a*) e da densidade das comunidades zooplanctônicas (copépodos, cladóceros e rotíferos).

Nesse sentido, foram testadas as seguintes hipóteses: Considerando o pressuposto do fluxo de água seguir na direção montante - jusante i) espacialmente, não será observado efeito sobre a abundância das comunidades nas regiões a montante e na área de instalação dos tanques (Fig. 1a) ii) Maiores valores de densidade e biomassa das diferentes comunidades serão registrados na região 100m a jusante (Fig. 1c) e um aumento menos expressivo, à 400m jusante da instalação dos tanques (Fig. 1b); e iii) Temporalmente, será observado um aumento gradativo dos valores de densidade e biomassa nas regiões 100m (Fig. 1c) e 400m (Fig. 1b) à jusante da instalação dos tanques.

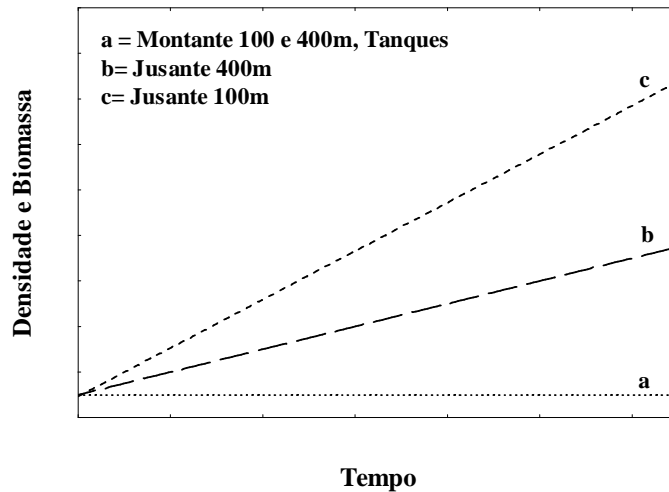


Fig 1. Hipóteses a serem testadas em relação ao efeito do aumento de restos alimentares e metabólitos nos corpos aquáticos, provenientes do cultivo intensivo de peixes em tanques-rede, sobre a abundância da fração heterotrófica da comunidade microbiana planctônica, em diferentes distâncias, ao longo de um período de 120 dias.

2- MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Área de Estudo

A Usina Hidrelétrica de Rosana está localizada no trecho do baixo Paranapanema, entre os municípios de Diamante do Norte (PR) e Porto Primavera (SP), nas coordenadas 22°36'S e 52°50'W (Fig. 2). A usina foi inaugurada em 1987 e possui uma área de 220 km² e extensão de 116 km em seu reservatório. A predominância dos usos da bacia hidrográfica associada ao ambiente rural (agricultura, pastagem e os próprios assentamentos e propriedades rurais), é significativa, correspondendo a quase 80% de toda a área da bacia.

O presente experimento foi desenvolvido em um tributário que deságua na região lacustre do reservatório de Rosana (Fig. 2). O braço formado pelo rio Guairaca possui forte influencia dos ventos na circulação horizontal das massas de água, sendo registrados na região litorânea bancos de macrófitas aquáticas, com predomínio de *Egeria najas* (Planch) e *Eichhornia azurea* (Kunth). O local de instalação dos tanques-rede é caracterizado como oligotrófico

(nitrogênio total, 445-881 $\mu\text{g L}^{-1}$ e fósforo total 9-25 $\mu\text{g L}^{-1}$), com profundidade máxima de 10m (UEM/Nupélia/Pronex 2006).

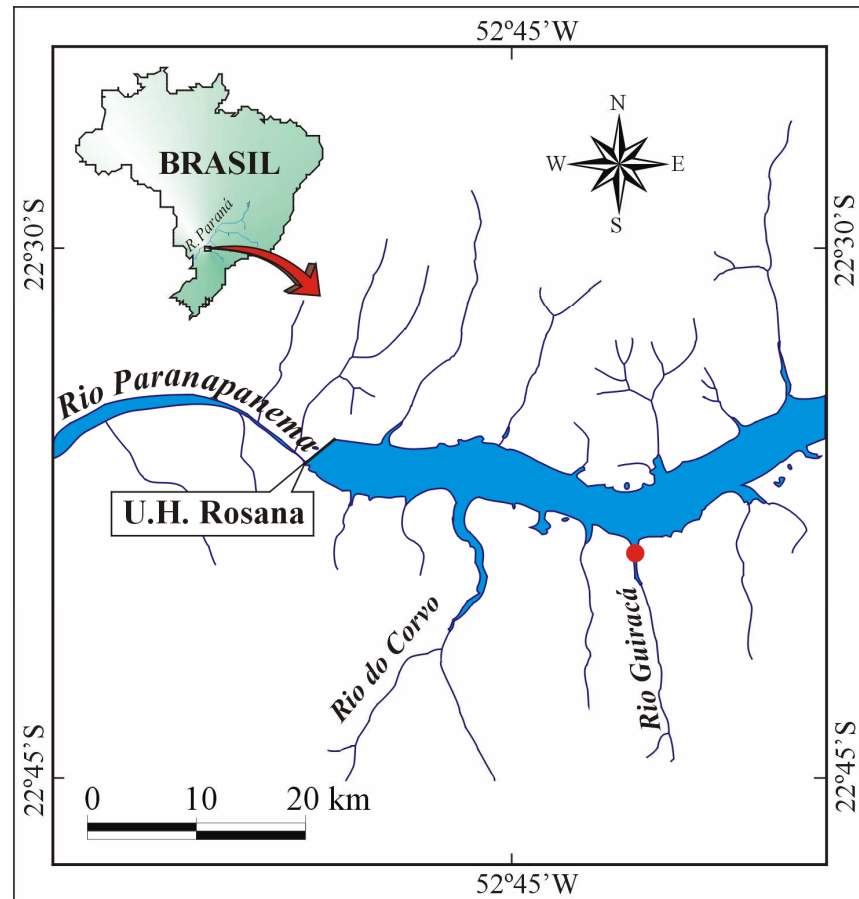


Figura 2- Mapa da Usina Hidrelétrica de Rosana, identificando a localização de instalação de tanques-rede para o cultivo de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.) no rio Guairacá (PR/SP).

2.2 - Desenho Experimental

O experimento foi realizado durante 120 dias, entre os meses de abril e agosto de 2006 (outono/inverno). Foram utilizados quinze tanques-rede, montados em baterias com cinco unidades, onde em cada bateria, foram estocados 50 kg m^{-3} (100 peixes m^3) ou 75 kg m^{-3} (150 peixes m^3) ou 100 kg m^{-3} (200 peixes m^3) de *Oreochromis niloticus* (L.). Os tanques foram confeccionados em tela tipo alambrado, com malha de 19,5 mm e área de 2,0 x 2,0 x 1,7 m,

permanecendo fechados e suspensos por flutuadores. A distância entre os diferentes conjuntos de tanques foi de aproximadamente 20 m. O arraçoamento foi realizado três vezes ao dia em quantidade determinada através a biomassa total do tanque, sendo utilizada ração industrializada.

2.3 - Coleta e fixação

As coletas foram realizadas no período da manhã, um dia antes da instalação dos tanques e 15, 30, 60, 90 e 120 dias após a instalação dos mesmos. As amostragens foram realizadas á subsuperfície em trélicas, na área de instalação dos tanques-rede, duas distâncias à montante (100 e 400 m) e duas distâncias à jusante (100 e 400 m) (Fig.3).

A água para a mensuração da abundância dos protozoários ciliados, da biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*) e para as análises das variáveis físicas e químicas, foi amostrada e acondicionada em garrafas plásticas (2 L), e posteriormente, preservada em caixas de isopor até o processamento em laboratório.

As amostras para a estimativa dos valores de densidade e biomassa das comunidades bacteriana e de flagelados foram coletadas e estocadas em frascos de vidro (100 mL), sendo ainda, fixadas com uma solução composta de lugol alcalino, formaldeído e tiosulfato (Sherr & Sherr 1993).

Os organismos zooplanctônicos foram coletados com o auxílio de moto-bomba, sendo filtrados 200 L de água por amostra em rede de plâncton com $68\mu\text{m}$ de abertura de malha. Posteriormente, o material coletado foi acondicionado em frascos de polietileno, e fixado com solução de formaldeído (4%), tamponada com carbonato de cálcio.

2.4 - Mensuração das variáveis limnológicas

2.4.1 - Variáveis abióticas

As seguintes variáveis abióticas foram determinadas em campo: pH, condutividade elétrica ($\mu\text{S cm}^{-1}$), oxigênio dissolvido (mg.L^{-1}) e temperatura da água ($^{\circ}\text{C}$).

As concentrações de fósforo total (P-total) (mg L^{-1}) (Mackereth, Heron, Talling, 1978), nitrogênio total (N-Total) (mg L^{-1}) (Bergamin, Reis & Zagatto 1978) e matéria particulada total (Teixeira, Tundizi & Kutner, 1995) foram determinadas em laboratório.

2.4.2 - *Bacterioplâncton*

O bacterioplâncton teve sua densidade determinada a partir da filtração de subamostras de 0,1ml de água em filtro preto Nucleopore/Watchman com 0,2 μm de abertura de poro, previamente coradas com aproximadamente 1 mL do fluorocromo 4,6'-diamidino-2-fenil-indole (Dapi), a 0,1 %, durante 15 minutos, no escuro. Em seguida, os filtros foram montados em lâminas, armazenados em geladeira por 24 horas, e posteriormente estocados em freezer a $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a contagem em microscópio. As bactérias foram quantificadas em aumento de 1000x em microscópio de epifluorescência (Zeiss Axiophot) e tiveram seu biovolume determinado através da equação proposta por Fry (1990): $v = (\pi/4) \cdot l \cdot w^2 (1 - w/3)$, onde: v = volume celular; l = comprimento e w = largura. Para a conversão de biovolume em biomassa, foi considerado que $1\ \mu\text{m}^3 = 3.5 \times 10^{-13}\ \text{gC}$ (BjØrnsen 1986). A biomassa foi expressa em $\mu\text{gC L}^{-1}$.

2.4.4 – *Fitoplâncton*

A biomassa fitoplancônica foi estimada através da análise de clorofila *a* (mg L^{-1}), segundo Golterman, Clymo & Ohmstad (1978).

2.4.3 - *Flagelados*

Para estimativa da densidade e biomassa dos flagelados, utilizou-se o mesmo protocolo de filtração, montagem de lâminas e quantificação descritas para o bacterioplâncton, sendo, no entanto, filtradas subamostras entre 5 e 15 mL de água, em filtro preto Nucleopore/Watchman

com 0,8 μm de abertura de poro, e contados no mínimo trezentas células ou cem campos por amostra.

A contagem dos flagelados totais (pigmentados + heterotróficos) foi realizada em filtro de luz UV. A diferenciação dos flagelados pigmentados e heterotróficos foi realizada em filtro de luz azul (resultando em fluoerescência vermelha nos flagelados pigmentados e fluorescência verde nos organismos heterotróficos). A abundância dos flagelados heterotróficos foi a diferença entre a abundância dos flagelados totais e dos flagelados pigmentados.

Simultaneamente às contagens, os indivíduos foram medidos com auxílio de oculares micrométricas, com o objetivo de determinar o volume celular, através das dimensões da célula e formas geométricas aproximadas (Wetzel & Likens 1991) e o conteúdo de carbono, a partir da expressão: $1\mu\text{m}^3 = 167 \text{ fg C}$ (Fenchel,1982).

2.4.4 - *Ciliados*

Para determinação da densidade de ciliados foram realizadas contagens *in vivo* através de vinte alíquotas de 25 μL que foram observadas em aumentos de 100x e 400x, em microscópio óptico Olympus CX41. Além disso, os ciliados tiveram suas imagens capturadas e arquivadas em computador, por meio de uma câmara digital CoolSnap-PRO acoplada ao microscópio. Posteriormente, os indivíduos fotografados foram medidos, através do programa de análise de imagens Image-Pro Express, a fim de se obter dados do biovolume celular (em μm^3 , a partir da forma geométrica aproximada - Wetzel & Likens 1991) e biomassa da comunidade de ciliados (considerando que $1 \mu\text{m}^3 = 110 \text{ fg C}$ – Weisse 1991). Os valores de biomassa foram expressos em $\mu\text{gC L}^{-1}$.

2.4.5 – *Zooplâncton*

Para a quantificação dos copépodos, cladóceros e rotíferos foram realizadas três subamostragens por amostra, com a utilização de uma pipeta tipo Stempel (2,5 mL). Foram contados, no mínimo, cinquenta indivíduos, em câmaras de Sedgwick-Rafter, sob microscópio óptico, sendo estabelecidas três subamostras (7,5 mL) para cada amostra coletada (Botrell,

Ducan, Gliwicz, Grygierek, Herzig, Hillbricht-Ilkowska, Kurasawa H, Larsson & Weglenska, 1976). A densidade foi expressa em número de organismos m^{-3} .

3 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Primeiramente, uma Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada, para avaliar as principais tendências de variações das características limnológicas abióticas, nas diferentes regiões, ao longo do tempo. (Programa PAST ; Hammer, Harper & Ryan 2001)

A significância da variação dos valores de densidade e biomassa das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados foi testada a partir da Análise de Variância Two Way Não Paramétrica, segundo Zar (1984).

Com o objetivo de identificar as variáveis bióticas e abióticas envolvidas na determinação dos padrões de abundância observados, foi realizada uma análise de Critério de Informação de Akaike (AIC). Dentre a densidade e a biomassa, foi selecionado como variável dependente das frações heterotróficas das comunidades microbianas planctônicas o atributo onde as maiores amplitudes de variação entre os tratamentos foi registrada. Como variáveis descritoras, foram selecionadas as principais variáveis reconhecidas na literatura como importantes controladores das frações heterotróficas das assembleias microbianas planctônicas. Nesse sentido, foram consideradas o eixo 1 da PCA (variáveis abióticas), a biomassa fitoplanctônica (concentração de clorofila *a*) e a densidade de cladóceros, copépodos e rotíferos. Além disso, a densidade das comunidades bacteriana e de protozoários flagelados e ciliados foi inserida nas análises como variável descritora quando estas não foram consideradas variáveis dependentes.

Como critério para a seleção dos modelos considerados plausíveis de inferência foram consideradas as diferenças no AICc (Δ_i) e o peso de Akaike para cada modelo (w_i). O melhor modelo que prediz a variação dos dados possui $\Delta_i = 0$. Entretanto, valores de $\Delta_i < 2$ são plausíveis e podem ser considerados para fazer inferências. Os modelos que apresentam Δ_i entre 3 e 7 são considerados com menor suporte, e modelos com $\Delta_i > 10$ não são considerados plausíveis e devem, em geral, ser omitidos das inferências. Os valores de Δ_i são também utilizados para selecionar o peso de Akaike para cada modelo (w_i) o qual fornece evidencia do melhor modelo explanatório e devem ser considerados na seleção dos modelos. Os valores de w_i

são padronizados pela soma das medidas de todos os modelos analisados, portanto, são dependentes dos modelos utilizados (Burnham & Anderson 1998). Para o cálculo do Critério de Informação de Akaike (AIC) foi utilizado o programa SAM v3.0 (Rangel, Diniz-Filho & Bini 2006).

Além disso, uma análise de correlação de Pearson foi utilizada para descrever o tipo de relação entre as variáveis dependentes e as descritoras da variação da abundância das frações heterotróficas das assembléias microbianas planctônicas. Para isso, foi utilizando o pacote estatístico STATISTICA, versão 7,1 (Statsoft Inc. 2005).

Para a realização de todas as análises estatísticas os dados foram previamente $\log(x+1)$ transformados (com exceção do pH), com objetivo de equalizar a variância.

Os valores médios e os desvios padrões das variáveis pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, temperatura da água, concentrações de fósforo total, nitrogênio total, clorofila, matéria particulada total e densidade zooplânctônica, as quais foram utilizadas para a realização das análises de Akaike e correlação de Pearson estão descritos na tabela 1.

4 - RESULTADOS

4.1 - Variáveis Limnológicas Abióticas

As principais tendências de variações das características limnológicas abióticas do experimento foram apresentadas através da Análise de Componentes Principais (PCA),

Nesse sentido, foi observado que 77 % da variabilidade dos dados foram resumidos nos dois primeiros eixos da PCA (Fig. 4). As variáveis que estiveram correlacionadas com o componente principal 1 (48 %) foram positivamente a temperatura ($R= 0,9$), pH ($R= 0,8$), condutividade elétrica ($R= 0,7$), concentração de fósforo total ($R= 0,5$) e matéria particulada total ($R= 0,5$) e negativamente a concentração de nitrogênio total ($R= -0,7$) e oxigênio ($R= -0,3$). No componente principal 2 (28 %) as variáveis mais correlacionadas foram, positivamente a temperatura ($R= 0,3$) e a concentração de fósforo total ($R= 0,04$) e negativamente a concentração de oxigênio dissolvido ($R= -0,8$), material particulado total ($R=-0,6$), concentração de nitrogênio total ($R=-0,5$), condutividade ($R= -0,4$) e o pH ($R= -0,3$).

Tabela 1: Dados das variáveis físicas e químicas e da densidade zooplancônica (média e desvio padrão) do experimento com tanques-rede realizado no rio Guairacá.

<i>Variáveis/Tempo</i>	<i>Montante 400m</i>	<i>Montante 100m</i>	<i>Tanques</i>	<i>Jusante 100m</i>	<i>Jusante 400m</i>
	<i>Média/Desvio Padrão</i>	<i>Média/Desvio Padrão</i>	<i>Média/Desvio Padrão</i>	<i>Média/Desvio Padrão</i>	<i>Média/Desvio Padrão</i>
Material Suspensão Total					
0	1,2 (+;- 0)	1,2 (+;- 0)	1 (+;- 0)	0,9 (+;- 0)	1,1 (+;- 0)
15	1,3 (+;- 0)	1,3 (+;- 0)	1,8 (+;- 0)	1,6 (+;- 0)	1,5 (+;- 0)
30	0,7 (+;- 0)	2 (+;- 0)	1,6 (+;- 0)	2,1(+;- 0)	1,9 (+;- 0)
60	0,5 (+;- 0)	0,7 (+;- 0)	0,7 (+;- 0)	0,8 (+;- 0)	1 (+;- 0)
90	1,5 (+;- 0)	1 (+;- 0)	0,8 (+;- 0)	0,9 (+;- 0)	1,7 (+;- 0)
120	1,3 (+;- 0)	1,3 (+;- 0)	1 (+;- 1)	1,8 (+;- 0)	1,3 (+;- 0)
pH					
0	7,2 (+;- 0)	7,3 (+;- 0)	7,3 (+;- 0)	7,3 (+;- 0)	7 (+;- 0)
15	7,7 (+;- 0)	7,7 (+;- 0)	7,7 (+;- 0)	7,7 (+;- 0)	7,7 (+;- 0)
30	7,1 (+;- 0)	8,4 (+;- 0)	7,9 (+;- 0)	8,6 (+;- 0)	8,3 (+;- 0)
60	7,2 (+;- 0)	7,2 (+;- 0)	7 (+;- 0)	7,1 (+;- 0)	7,2 (+;- 0)
90	7 (+;- 0)	7 (+;- 0)	7,2 (+;- 0)	7 (+;- 0)	7 (+;- 0)
120	7 (+;- 0)	7,3 (+;- 0)	7,4 (+;- 0)	7,2 (+;- 0)	7,2 (+;- 0)
Condutividade					
0	57 (+;- 0)	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	59 (+;- 0)
15	66 (+;- 1)	65 (+;- 0)	59 (+;- 0)	59 (+;- 1)	65 (+;- 1)
30	58 (+;- 0)	70 (+;- 1)	67 (+;- 0)	69 (+;- 1)	70 (+;- 1)
60	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)
90	61 (+;- 0)	61 (+;- 0)	58 (+;- 0)	61 (+;- 0)	61 (+;- 0)
120	58 (+;- 0)	58 (+;- 0)	62 (+;- 1)	61 (+;- 0)	60 (+;- 0)
Temperatura Água (°C)					
0	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)
15	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)	25 (+;- 0)	26 (+;- 0)	26 (+;- 0)
30	23 (+;- 0)	28 (+;- 0)	26 (+;- 0)	27 (+;- 0)	27 (+;- 0)
60	24 (+;- 0)	24 (+;- 0)	23 (+;- 0)	23 (+;- 0)	23 (+;- 0)
90	22 (+;- 0)	21 (+;- 0)	24 (+;- 0)	21 (+;- 0)	21 (+;- 0)
120	21 (+;- 0)	20 (+;- 0)	22 (+;- 0)	22 (+;- 0)	23 (+;- 0)
Oxigênio Dissolvido (%)					
0	81 (+;- 0)	82 (+;- 0)	77 (+;- 1)	80 (+;- 2)	84 (+;- 1)
15	85 (+;- 1)	86 (+;- 1)	87 (+;- 0)	87 (+;- 1)	85 (+;- 4)
30	81 (+;- 2)	96 (+;- 4)	90 (+;- 2)	98 (+;- 1)	96 (+;- 0)
60	84 (+;- 3)	85 (+;- 2)	80 (+;- 2)	83 (+;- 1)	84 (+;- 0)
90	89 (+;- 1)	88 (+;- 1)	85 (+;- 0)	90 (+;- 7)	87 (+;- 2)
120	98 (+;- 1)	96 (+;- 1)	94 (+;- 3)	94 (+;- 1)	95 (+;- 1)
Nitrogênio Total					
0	508 (+;- 0)	522 (+;- 25)	529 (+;- 21)	523 (+;- 7)	507 (+;- 0)
15	578 (+;- 21)	555 (+;- 77)	555 (+;- 64)	503 (+;- 23)	552 (+;- 28)
30	609 (+;- 36)	500 (+;- 15)	510 (+;- 60)	566 (+;- 50)	553 (+;- 24)
60	542 (+;- 18)	629 (+;- 16)	610 (+;- 53)	592 (+;- 14)	600 (+;- 19)
90	704 (+;- 30)	776 (+;- 66)	607 (+;- 12)	817 (+;- 12)	819 (+;- 93)
120	760 (+;- 54)	754 (+;- 25)	677 (+;- 7)	751 (+;- 75)	704 (+;- 9)
Fósforo Total					
0	13 (+;- 0)	14 (+;- 1)	14 (+;- 1)	15 (+;- 1)	16 (+;- 0)
15	15 (+;- 2)	14 (+;- 2)	13 (+;- 1)	12 (+;- 2)	18 (+;- 6)
30	15 (+;- 2)	19 (+;- 1)	16 (+;- 1)	19 (+;- 1)	18 (+;- 1)
60	15 (+;- 2)	14 (+;- 1)	16 (+;- 1)	15 (+;- 1)	17 (+;- 0)
90	11 (+;- 1)	14 (+;- 4)	16 (+;- 1)	11 (+;- 2)	11 (+;- 0)
120	16 (+;- 3)	16 (+;- 2)	10 (+;- 1)	11 (+;- 2)	12 (+;- 1)
Clorofila a					
0	2,5 (+;- 0)	2 (+;- 0)	1,4 (+;- 0)	2 (+;- 0)	1,5 (+;- 0)
15	3,2 (+;- 2)	2,7 (+;- 0)	5,3 (+;- 1)	3,0 (+;- 0,6)	2,7 (+;- 0,3)
30	2 (+;- 1)	3 (+;- 1)	1,4 (+;- 1)	2,6 (+;- 1)	5,3 (+;- 0,8)
60	2,7 (+;- 0)	2,6 (+;- 1)	2,7 (+;- 0)	2,4 (+;- 0,2)	3 (+;- 1)
90	1,7 (+;- 0)	2 (+;- 0)	2,6 (+;- 0)	1,4 (+;- 0,15)	1,3 (+;- 0,7)
120	4,6 (+;- 0)	4,3 (+;- 1)	2,6 (+;- 1)	4 (+;- 0,8)	2,4 (+;- 0,4)
Densidade Zooplancônica					
0	27513 (+;- 6052)	22180 (+;- 5459)	19584 (+;- 4444)	33077 (+;- 3641)	39863 (+;- 8754)
15	396350 (+;- 62939)	234263 (+;- 36733)	175479 (+;- 20795)	262537 (+;- 58109)	210945 (+;- 34401)
30	226434 (+;- 51647)	130752 (+;- 4163)	108708 (+;- 23936)	147676 (+;- 28259)	108439 (+;- 12139)
60	118536 (+;- 32251)	71967 (+;- 30726)	56590 (+;- 14126)	65060 (+;- 6513)	48157 (+;- 12281)
90	32403 (+;- 5357)	35876 (+;- 9342)	54145 (+;- 8486)	48077 (+;- 9961)	49357 (+;- 7237)
120	116108 (+;- 22868)	100238 (+;- 30030)	148548 (+;- 78803)	100224 (+;- 50068)	653255 (+;- 962224)

A partir desses resultados, é evidenciado que as variáveis abióticas não discriminaram as diferentes regiões analisadas e sim, evidenciaram uma variação clara dos valores ao longo do tempo (Fig. 3). De acordo com o agrupamento das unidades amostrais, foram observados que os 15 e 30 dias do experimento estiveram relacionados com as variáveis dispostas à direita do eixo 1. Por outro lado, posicionadas à esquerda do mesmo eixo e a direita do eixo 2 estão as unidades amostrais referentes aos 90 e 120 dias. Além disso, associadas às variáveis dispostas a esquerda do eixo 2, estiveram as unidades amostrais relativas ao período anterior à instalação dos tanques e aquelas relacionadas ao 60 dia.

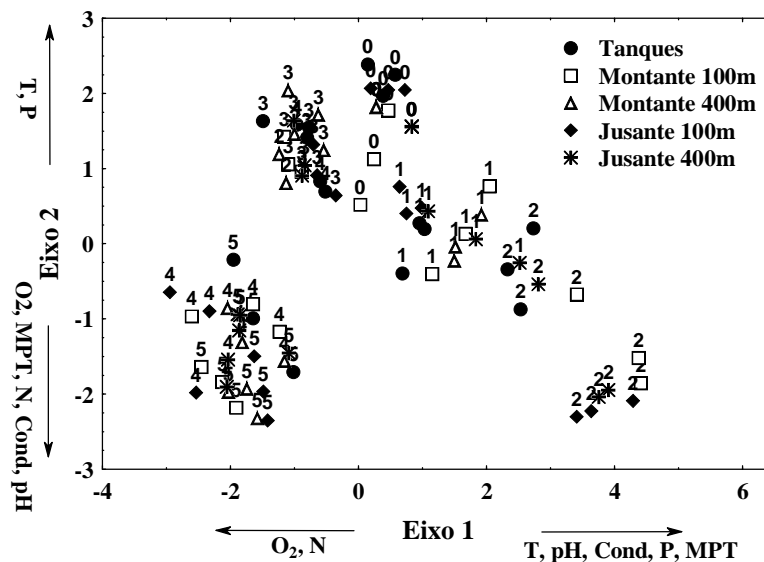


Figura 3. Distribuição dos escores das amostras ao longo dos eixos da PCA definidos pelas variáveis abióticas. O₂=Oxigênio, T= Temperatura, PT= Fósforo, NT= Nitrogênio Total, MPT=Material Particulado Total, Cond=Condutividade e pH. O período anterior à instalação dos tanques foi representado pelo número 0 e os períodos posteriores à instalação dos mesmos, ou seja, 15^o, 30^o, 60^o, 90^o e 120^o dias foram representados respectivamente pelos números 1, 2, 3, 4 e 5.

4.2 - Estrutura das comunidades

4.2.1 - Densidade

Os valores de densidade das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados variaram entre 0,9 e $8,3 \times 10^5$ cels.mL⁻¹; 0,2 e $5,7 \times 10^2$ cels.mL⁻¹ e 50 e $14,5 \times 10^2$ cels. L⁻¹, respectivamente.

Em relação à variação espacial, foram observados, em geral, valores de densidade similares entre as regiões analisadas, com exceção de um aumento dos valores na região 100m a jusante dos tanques aos 30 e 60 dias para as bactérias, a 400m jusante aos 90 e 120 dias para os flagelados e a montante da instalação dos tanques, e aos 90 e 120 dias do experimento, para os ciliados. Entre as regiões analisadas foram, ainda, verificadas flutuações semelhantes ao longo do período experimental (Fig. 4).

Temporalmente, foram constadas alterações marcantes dos valores de densidade das comunidades analisadas, entretanto, um padrão claro de variação não foi verificado. Nesse sentido, os maiores valores de densidade foram observados aos 15 dias de experimento para as comunidades bacteriana e de protozoários flagelados e aos 90 dias para a comunidade de protozoários ciliados. Por outro lado, os menores valores foram registrados aos 120 e 90 dias para as bactérias e os protozoários flagelados, respectivamente, e anteriormente ao início do experimento e aos 30 dias para os protozoários ciliados. Vale aqui ressaltar, uma tendência de padrões opostos de variação temporal entre as comunidades bacteriana e de protozoários flagelados e a assembléia de protozoários ciliados (Fig. 4).

As interações entre os fatores tratamento e tempo, obtidas através da Anova, para as bactérias (GL=20; H=1339; p=0,05), protozoários flagelados (GL=20; H=1338; p=0,05) e ciliados (GL=20; H=1319, p=0,05), evidenciaram que a significância das variações espaciais e temporais dependeu do tempo e da região analisados.

4.2.2 - *Biomassa*

Foram registradas variações dos valores de biomassa entre 4,09 a 85 $\mu\text{gC L}^{-1}$ para as bactérias, 0,08 a 13,75 $\mu\text{gC L}^{-1}$ para os protozoários flagelados e 0,002 e 26,32 $\mu\text{gC L}^{-1}$ para os protozoários ciliados.

Como o registrado espacialmente para a densidade, não foram observadas em geral, variações marcantes dos valores de biomassa, entre as regiões analisadas (Fig. 5). No entanto,

aumentos expressivos foram registrados à 100m a jusante da instalação dos tanques aos 30 e 60 dias de experimento, para as bactérias, em todas as áreas amostradas, aos 15 dias de experimento, para os flagelados, e na região a montante, aos 90 dias para os protozoários ciliados. Além disso, entre as regiões analisadas, foram verificadas, em geral, flutuações semelhantes dos valores de biomassa para cada uma das assembléias, ao longo do período experimental (Fig. 5).

Em relação à variação temporal, os resultados mostraram alterações expressivas dos valores de biomassa das frações heterotróficas das comunidades microbianas planctônicas não sendo, entretanto, verificado um padrão claro de variação (Fig. 5). Considerando a comunidade bacteriana, os maiores valores foram registrados aos 15 dias de experimento e os menores aos 90 e 120 dias. Para os protozoários flagelados, também foram observados maiores valores aos 15 dias, entretanto, os menores valores foram obtidos no período anterior à instalação dos tanques e aos 90 dias de experimento. Diferenças temporais marcantes entre os valores de biomassa dos protozoários ciliados foram verificadas somente aos 90 dias de experimento, onde os maiores valores foram observados (Fig. 5).

Os resultados obtidos através da Anova evidenciaram que os valores de biomassa das bactérias (GL=20; H=1326, p=0,05), protozoários flagelados (GL=20; H=1323, p=0,05) e ciliados (GL=20; H=1345, p=0,05) variaram significativamente dependendo da região e do tempo analisados. Dessa forma, diferenças espaciais e temporais significativas, entretanto, dependeram da distância e do período analisado.

4.3 - Contribuição das comunidades de bactérias, protozoários flagelados e ciliados para a abundância total.

Os resultados do presente experimento não evidenciaram variações marcantes na porcentagem de contribuição das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados, para a abundância total (Fig.6).

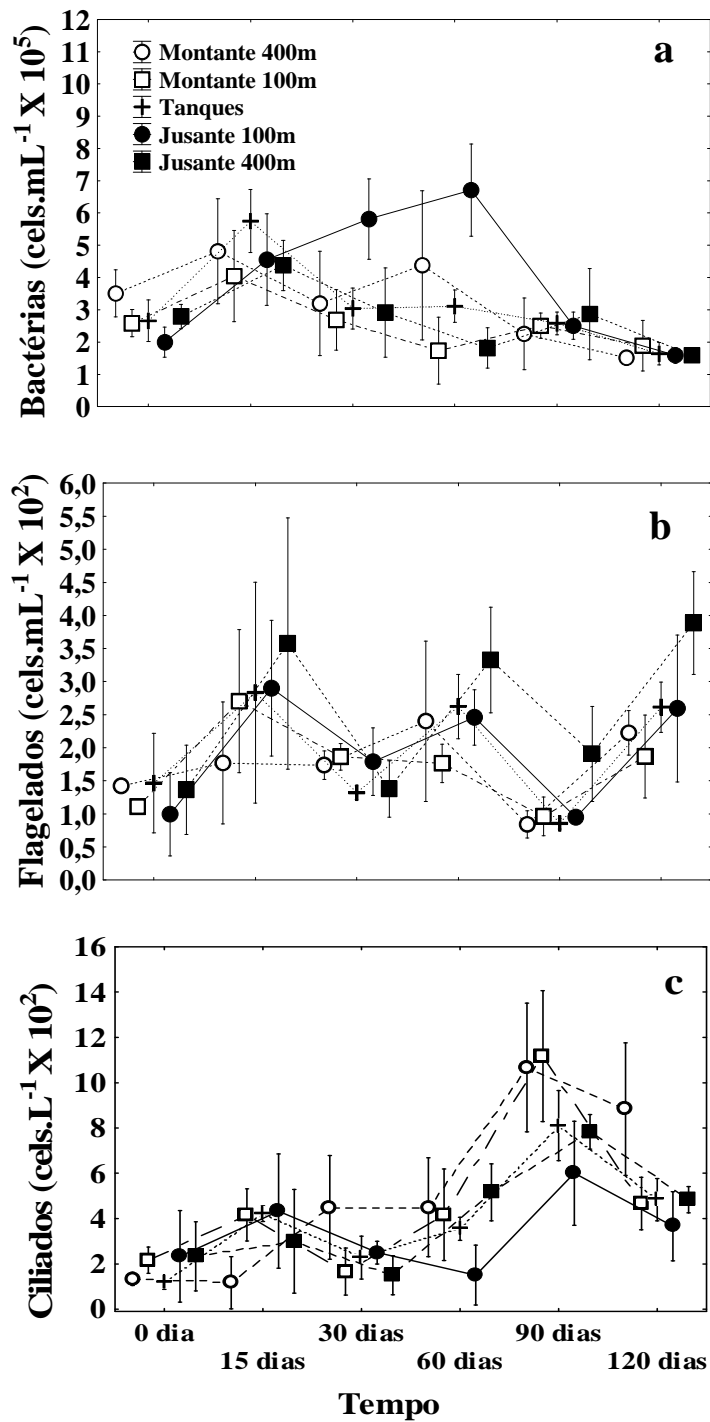


Figura 4. Variação da densidade média de bactérias (a) e protozoários flagelados (b) e ciliados (c) no rio Guairacá-PR, em diferentes regiões, durante um período de 120 dias de experimento com tanques-rede. Os pontos representam a média e as barras o desvio padrão.

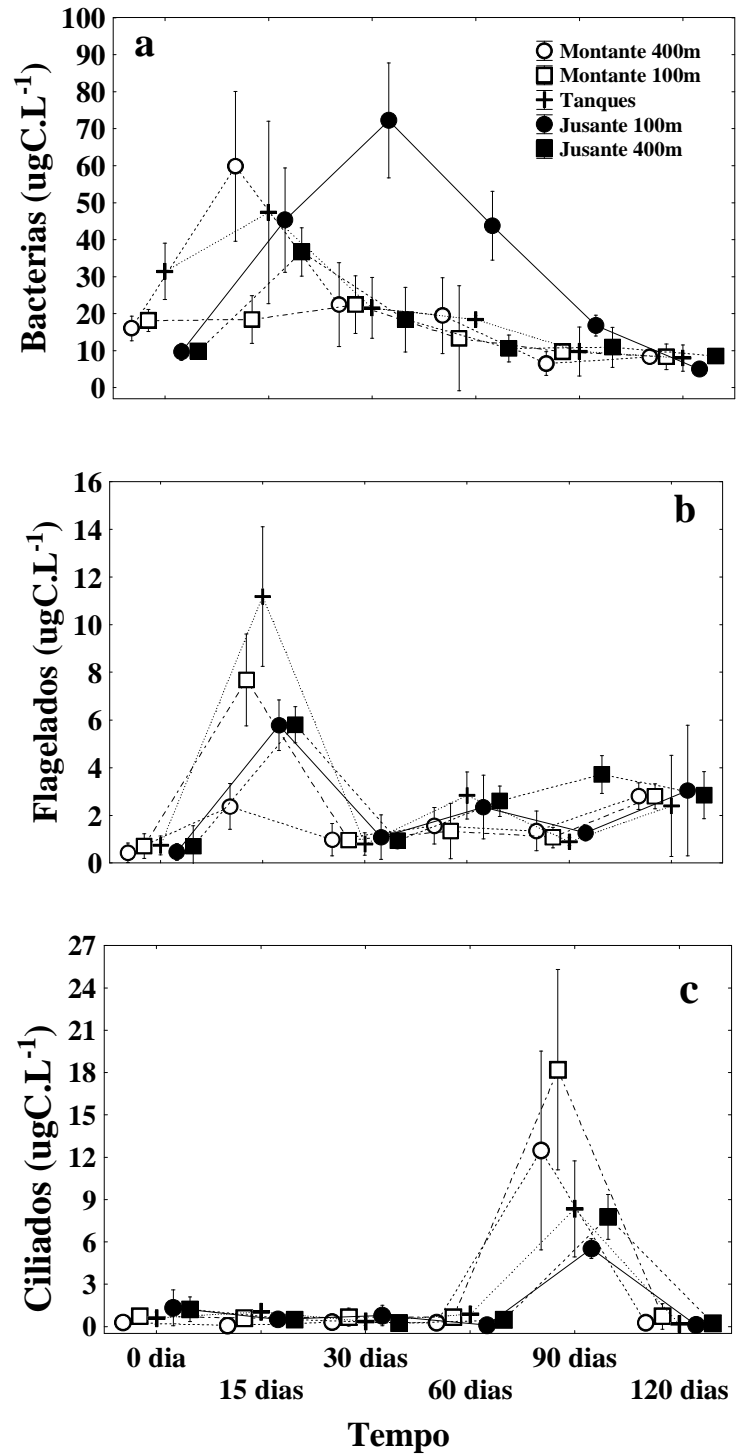


Figura 5. Variação da biomassa média de bactérias (a) e protozoários flagelados (b) e ciliados (c) no rio Guairaca-PR, em diferentes regiões, durante um período de 120 dias de experimento com tanques-rede. Os pontos representam a média e as barras o desvio padrão.

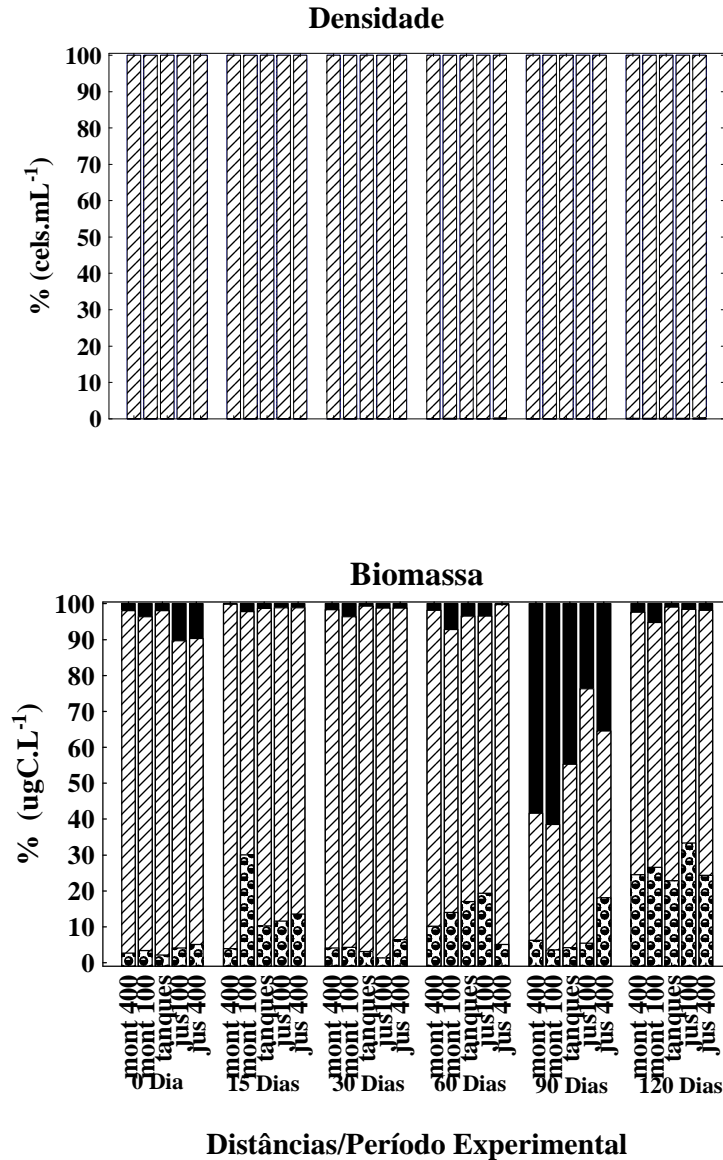


Figura 6. Variação da contribuição média em densidade e biomassa da assembléia de bactérias (área listrada), protozoários flagelados (área com círculos) e ciliados (área em negrito) em diferentes distâncias, durante um período de 120 dias de experimento com tanques-rede. mont 400= montante 400m, mont100=montante 100m, tanques= área de instalação dos tanques, jus 100=jusante 100m, jus 400= jusante 400m.

Entre as distâncias analisadas, bem como, ao longo de todo o experimento, foi evidenciada uma dominância clara da abundância da comunidade bacteriana, sendo registrada uma contribuição média de 99,9 % em termos de densidade, e 78,5 % em biomassa. Em relação à comunidade de flagelados, foi observada uma contribuição média de 0,08 % para a densidade e 11,7 % para a biomassa. As menores contribuições médias foram observadas para as comunidades

de ciliados, sendo verificados 0,00019% e 9,7 % de contribuição para a densidade e biomassa respectivamente (Fig.6).

4.4 - Efeitos dos fatores bióticos e abióticos

O modelo selecionado como o mais parcimonioso para inferências sobre a comunidade bacteriana incluiu somente as variáveis abióticas. Porém, uma considerável incerteza na seleção dos modelos foi confirmada de acordo com a diferença de Akaike ($\Delta_i < 2$) (Tabela 2). Nesse sentido, os quatro primeiros modelos classificados foram selecionados como plausíveis e incluem, além das variáveis abióticas, a densidade de flagelados, ciliados e dos componentes do zooplâncton. Dessa forma é evidenciado que, todas as variáveis selecionadas pelos quatro modelos afetaram simultaneamente a densidade bacteriana. Além disso, vale ressaltar que, as variáveis abióticas foram selecionadas como preditoras da variação da comunidade bacteriana em todos os modelos considerados parcimoniosos, o que evidencia a forte influencia destas variáveis sobre a densidade da bacteriana.

Tabela 2 . Critério de informação de Akaike para a densidade de bactérias

Modelo	Modelo	AIC _c	Δ AIC _c	w _i
Eixo 1	1	122.632	0	0.252
DFlag, Eixo1	2	124.197	1.565	0.115
DCili, Eixo1	3	124.319	1.687	0.108
DZoo, Eixo1	4	124.358	1.726	0.106
Cloro, Eixo1	5	124.823	2.191	0.084
DCili. DZoo, Eixo1	6	125.883	3.251	0.05

Densidade de ciliados (DCili), Densidade de Zooplâncton (DZoo), Densidade de Flagelados (DFlag), Clorofila (Cloro).

Para os protozoários flagelados, o modelo que melhor explicou a variação da densidade incluiu a densidade zooplancônica e a concentração de clorofila *a* (modelo 1 Tabela 3). Como o registrado para a comunidade bacteriana, é sugerido uma incerteza em relação as variáveis preditoras da densidade dos protozoários flagelados de acordo com a diferença de Akaike ($\Delta_i < 2$). Nesse sentido, os seis primeiros modelos são selecionados como parcimoniosos de inferência

e incluem além da densidade zooplanctônica e da concentração de clorofila a, a densidade de ciliados e bactérias e o eixo 1 da PCA. Dentre as variáveis selecionadas pelos melhores modelos passíveis de inferência é sugerido que a variação da densidade da comunidade de protozoários flagelados é mais fortemente influenciada pela densidade zooplanctônica, considerando que esta variável preditora foi incluída em todos os modelos considerados parcimoniosos.

Tabela 3 . Critério de informação de Akaike para a densidade de protozoários flagelados

Modelo	Modelo	AIC _c	AIC _c	w _i
DZoo, Cloro	1	121.258	0	0.169
DZoo, Cloro,Eixo 1	2	121.359	0.101	0.16
DZoo	3	122.157	0.9	0.108
DZoo, Eixo1	4	122.432	1.174	0.094
DCili,DZoo, Cloro, Eixo 1,	5	122.897	1.639	0.074
DBact, DZoo, Cloro, Eixo 1	6	123.306	2.048	0.061
DCili, DZoo, Cloro	7	123.484	2.226	0.055

Densidade de ciliados (DCili), Densidade de Zooplâncton (DZoo), Densidade Bacteriana (DBact), Clorofila (Cloro).

Em relação à comunidade de protozoários ciliados, foi evidenciado que o modelo mais parcimonioso incluiu a densidade zooplanctônica e as variáveis abióticas como variáveis preditoras da densidade da comunidade de ciliados (Tabela 4). Entretanto, devido à diferença de Akaike ($\Delta_i < 2$) os quatro primeiros modelos classificados são considerados plausíveis de inferência. Assim, é evidenciado que, além da densidade zooplanctônica e das variáveis abióticas, a densidade de flagelados e bactérias exercem relevante influência sobre a densidade da comunidade de ciliados. Além disso, as variáveis selecionadas no primeiro modelo também foram selecionadas em todos os modelos considerados plausíveis de inferência, evidenciando assim, a forte influência da densidade zooplanctônica e das variáveis ambientais sobre a densidade da comunidade de ciliados.

A partir das análises de correlação de Pearson foram evidenciadas relações positivas entre a densidade bacteriana e a densidade de protozoários flagelados ($R= 0,08$; $p= 0,4$), zooplâncton ($r= 0,1$; $p= 0,08$) e o eixo 1 da PCA ($R= 0,4$; $p= 0,00$), bem como, entre a densidade de flagelados

e a clorofila *a* ($R= 0,3$; $p= 0,002$), zooplâncton ($R= 0,4$; $p= 0,00$) e o eixo 1 da PCA ($R= 0,03$; $p= 0,7$). Por outro lado, relações negativas foram registradas entre a comunidade de ciliados e a densidade de bactérias ($R= -0,3$; $p= 0,007$), flagelados ($R= -0,004$; $p= 0,9$), zooplâncton ($R= -0,02$; $p= 0,8$) e o eixo 1 da PCA ($R= -0,5$; $p= 0,00$).

Tabela 4 . Critério de informação de Akaike para a densidade de protozoários ciliados

Modelo	Modelo	AIC _C	Δ AIC _C	wi
DZoo Eixo1	1	186.856	0	0.212
Eixo 1,	2	187.54	0.684	0.151
DFlag	3	188.313	1.457	0.103
DZoo,				
Eixo1,				
DBact,	4	188.381	1.525	0.099
DZoo,				
Eixo1,				
DZoo,	5	189.072	2.217	0.07
Cloro, Eixo1				
DBact,	6	189.227	2.371	0.065
Eixo1				

Densidade Bacteriana (DBact), Densidade de Zooplâncton (DZoo), Densidade de Flagelados (DFlag), Clorofila (Cloro).

5 - DISCUSSÃO

A deposição de efluentes nos ambientes aquáticos, proveniente da criação intensiva de peixes em cativeiro tem causado importantes alterações na estrutura das comunidades aquáticas (Guo & Li 2003).

No presente estudo, diferenças significativas dos valores de abundância das frações heterotróficas das comunidades microbianas planctônicas, entre as regiões analisadas e ao longo do período experimental foram registradas. Porém, a tendência geral de valores e trajetórias temporais similares da abundância dessas frações registrada entre as regiões analisadas, contrariou o padrão espacial esperado, ou seja, um incremento nos valores de abundância na região á jusante dos tanques. Além disso, evidenciou que a piscicultura não determinou um efeito pontual na abundância das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados na região de instalação dos tanques e á montante desta.

Considerando o exposto acima, bem como, as flutuações temporais expressivas da abundância das comunidades analisadas, poderia ser proposto o efeito dos efluentes da aquicultura sobre este atributo, em todo o ambiente de maneira homogênea. Entretanto, o aumento gradativo dos valores de abundância ao longo do período estudado, o qual evidenciaria este efeito, não foi verificado.

Por meio dos resultados obtidos pelo Akaike, as variáveis abióticas, bem como, as bióticas foram identificadas como importantes fatores que influenciaram a estruturação das frações heterotróficas das comunidades microbianas planctônicas.

Ao analisar as relações entre a densidade bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados e o eixo 1 da PCA, não foi possível evidenciar a influência específica de cada variável, mas sim, a importância geral dos fatores abióticos sobre a estruturação dessas comunidades. Estudos provenientes de lagos e rios de região temperada têm registrado que a temperatura, pH, condutividade elétrica, concentração de fósforo total, MPT, nitrogênio total e oxigênio são importantes variáveis que afetam os padrões de variação das comunidades microbianas (Carrick & Fahnenstiel 1989, Hwang & Health 1997, Bettez *et al.*, Samuelsson *et al.* 2002, Simek *et al.* 2003, Auer *et al.* 2004, Persson *et al.* 2008).

Dessa forma, o baixo impacto da piscicultura sobre a qualidade da água no rio Guairacá (UEM/ Nupélia/ Pronex 2006), bem como, as diferenças expressivas dos valores de abundância dessas comunidades somente entre os períodos estudados, as quais corroboram as tendências temporais verificadas para as variáveis abióticas, obtidas através da PCA, sugerem a importância das variáveis abióticas sobre as comunidades microbianas não associada ao impacto da piscicultura no ambiente estudado.

Em relação à influência das variáveis bióticas sobre a abundância das comunidades aquáticas, tem sido reportado que os mecanismos de controle *bottom-up* e *top-down*, relacionados à disponibilidade de recursos alimentares (Gasol, Simons & Kalff 1995) e a pressão de predação (Burns & Schallenberg, 1998), respectivamente, possuem papel relevante na estruturação das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados.

Tendo em vista que os organismos zooplancônicos são conhecidos por se alimentarem de ciliados (Tandonlécé, Pinel-Alloul, Bourbonnais & Pick 2004) e ainda, que os ciliados, são

potenciais predadores dos flagelados e bactérias (Weisse 1991), os resultados das correlações de Pearson associados aos obtidos pelo Akaike, evidenciaram a predação como um importante fator na estruturação das comunidades heterotróficas microbianas. A pressão de predação dos organismos zooplancônicos parece ter sido o principal fator que acarretou na redução da abundância dos ciliados, e conseqüentemente, no aumento da abundância das bactérias e dos protozoários flagelados.

Assim, contrariando o esperado, o mecanismo de controle *top-down*, (pressão de predação pelos organismos do zooplâncton), parece ter prevalecido sobre o mecanismo de controle *bottom-up* (acúmulo dos efluentes provenientes da aquicultura) na estruturação das frações heterotróficas das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados no rio Guairacá.

McQueen, Post & Mills (1986) observaram que o mecanismo de controle *top-down* prevalece sobre o mecanismo de controle *bottom-up* em ambientes limitados por nutrientes. Certamente, a predominância do mecanismo de controle *top-down* sobre a comunidade microbiana, exposta a piscicultura intensiva no rio Guairacá, é um indício do baixo impacto desta atividade sobre a qualidade da água, e conseqüentemente, da manutenção do estado oligotrófico do ambiente, bem como, da ausência do efeito da piscicultura sobre a abundância das comunidades microbianas analisadas.

Outro indício relacionado ao possível estado oligotrófico do rio Guairacá, mesmo após a instalação da piscicultura, seria o fato dos valores de abundância bacteriana serem inferiores e os dos protozoários flagelados e ciliados similares aos registrados em reservatório oligotrófico de região tropical (Pagioro, Velho, Lansac- Tôha, Pereira & Nakamura 2005).

O estado trófico dos ambientes aquáticos influencia significativamente a distribuição da abundância das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados (Auer *et al.* 2004; Pereira, Velho, Pagioro, Lansac- Tôha 2005; Pagioro *et al.* 2005).

Segundo Auer *et al.* (2004), quando lagos são comparados ao longo de um gradiente trófico, mecanismos de controle *bottom-up* parecem ser os principais fatores que controlam as comunidades planctônicas. Nesse sentido, por possuírem pouca disponibilidade de nutrientes, lagos classificados como oligotróficos são caracterizados por apresentarem baixas abundâncias de algumas comunidades microbianas (Pereira *et al.* 2005; Pagioro *et al.* 2005).

Os baixos valores de abundância de bactérias, flagelados e ciliados apresentados no presente estudo, sugerem o estado oligotrófico do rio Guairacá na presença da piscicultura em tanques-rede, entretanto, estudos relacionados ao grau de trofia devem ser intensificados em rios de região tropical, a fim de esta hipótese ser confirmada com maior clareza.

Embora não tenham sido observadas correlações negativas entre as comunidades zooplânctônicas, bacterianas e de flagelados, relações predador-presa provavelmente ocorreram entre estes organismos. Os componentes do zooplâncton são potencialmente capazes de se alimentarem de bactérias, bem como, de controlarem, através da predação, a abundância de flagelados (Tandonléké *et al.* 2004). De maneira semelhante, os flagelados heterotróficos são considerados importantes consumidores da comunidade bacteriana nos ecossistemas aquáticos (Simek, Armengol, Comerma, Garcia, Chrzanowski, Kojacká, Macek, Nedoma & Straskrabová 1999).

Em síntese, as evidências descritas acima sugerem que a atividade de piscicultura intensiva no rio Guairacá, não acarretou no desvio dos padrões espaciais e temporais naturais da abundância dessas comunidades.

Esta ausência do efeito da atividade de aquicultura também foi reportada em estudos de ambiente marinho, em região temperada, onde as variáveis abióticas (Yucel-Gier, Uslu & Bizzel 2008), e as comunidades microbianas (Alongi, Chong, Dixon, Sasekmar & Tirendi 2003; Pitta, Apostolaki, Tsagaraki, Tsapakis & Karakassis 2006), fitoplanctônica e zooplanctônica (Alongi *et al.* 2003) foram investigadas. De acordo com estes autores, a ausência de alterações ambientais associadas aos efluentes provenientes da piscicultura, deve-se a presença da alta velocidade do fluxo de água na área de instalação dos tanques.

Pitta *et al.* (2006) sugerem que os efluentes são transportados para longe do local da piscicultura, não sendo mensuráveis mesmo em áreas distantes. Essa idéia enfatiza a maior relevância do movimento lateral das excretas e da ração não consumida, sobre a força de sedimentação dos mesmos, observada por Chen, Beveridge & Telfer (1999) em ambientes com alta velocidade do fluxo de água. Nesse sentido, com o propósito de interpretar os resultados ecológicos relacionados ao efeito da aquicultura sobre os componentes da coluna de água, a hidrodinâmica tem sido considerada um fator chave (Sarà 2007b).

Em relação ao rio Guairacá, o fluxo de água também parece ser um fator relevante para a interpretação dos resultados obtidos no presente estudo. De acordo com von Sperling (1996) a água de drenagem de bacias ocupadas pela agricultura e pelo homem pode acarretar no processo de eutrofização dos ambientes aquáticos. Entretanto, apesar da predominância dos usos da bacia hidrográfica do rio Guairacá ser associada a atividade rural (agricultura, pastagem, assentamentos e propriedades rurais), este ambiente é classificado como oligotrófico.

Além da hidrodinâmica, outras evidências têm mostrado uma relação indireta entre o isolamento do ambiente e o efeito dos efluentes provenientes da aquicultura. De acordo com Sarà (2007a), as maiores diferenças entre o controle e as áreas de criação de peixes são detectadas em ambientes de água doce isolados.

Um outro fator que pode ser atribuído à ausência de associação entre a variação espacial e temporal dos valores de abundância das frações heterotróficas da comunidade microbiana planctônica e os efluentes da aquicultura é o número de tanques-rede utilizados. Possivelmente, a quantidade de gaiolas instaladas não produziu o efeito (enriquecimento) que seria determinado caso o cultivo fosse em larga escala. Marte, Cruz & Flores (2000) mostraram que um aumento no número de tanques acarreta na deterioração da qualidade da água.

Em síntese, o efeito improvável da piscicultura, sobre a abundância das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados planctônicos, no rio Guairacá, foi, atribuída às características intrínsecas do local, como grau de isolamento e provavelmente, a hidrodinâmica. Além disso, deve-se ressaltar o reduzido número de tanques-rede utilizados.

Processos naturais ocorridos no ambiente como, circulação da água, ventos, direções do fluxo de água e condições hidrológicas, parecem ter contribuído de modo relevante, para que a abundância das comunidades analisadas não sofresse alterações associadas à piscicultura.

Baseado nos resultados obtidos, as hipóteses iniciais relacionadas ao efeito relevante da atividade de piscicultura intensiva sobre a abundância das comunidades bacteriana, de protozoários flagelados e ciliados foram refutadas, visto que, um incremento consecutivo, ao longo do experimento, nos valores de abundância na região á jusante dos tanques, não foram observados.

Com o objetivo de prevenir a degradação dos corpos aquáticos, os resultados do presente estudo enfatizam a necessidade de uma seleção cuidadosa do local de instalação dos tanques-rede e o monitoramento dos possíveis efeitos dessa atividade.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alongi D. M., Chong V. C., Dixon P., Sasekmar A. & Tirendi F. (2003) The influence of fish cage aquaculture on pelagic carbon flow and water chemistry in tidally dominated mangrove estuaries of peninsular Malaysia. *Marine Environmental Research* **55**, 313-333.
- Auer B., Elzer U. & Arndt H. (2004) Comparison of pelagic food webs in lakes along a trophic gradient and with seasonal aspects: influence of resource and predation. *Journal of plankton Research* **26**, 697-709.
- Azam F., Fenchel T., Field J.G., Gray J.S., Meyer-Rell L. A. & Thingstad F. (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*. **19**, 257-263.
- Bergamim H., Reis B. F. & Zagatto E. A. G. (1978) A new device for improving sensitivity and stabilization in inflow injection analysis. *Analytica Chimica Acta* **97**, 63-70.
- Bisset A., Bowman J., Burke C. (2006) Bacterial diversity in organically-enriched fish farm sediments. *FEMS Microbial Ecology* **55**, 48-56.
- Bjorsen P.K. (1986) Automatic determinations of bacterioplankton biomass by means of image analyses. *Applied and Environmental Microbiology* **51**, 1199-1204.
- Bozano L. & Romero S. (2001) Criação de tilápia em gaiolas. Workshop Internacional de tilapia, cultivo y comercialización. Fondo Nacional de Desarrollo Pesquero. Tarapoto, San Martin, Peru. pp 12-13.
- Botrell H.H., Ducan A., Gliwicz Z., Grygierek E., Herzig A., Hillbriht-Ilkowska A., Kurasawa H., Larsson P., Weglenska T. (1976) A review of some problems in zooplankton production studies. *Norwegian Journal of Zoology* **24**, 419-456.

- Brandão F. R., Gomes L. C., Chagas E. C. & Araújo, L. D. (2004) Densidade de estocagem de juvenis de tambaqui durante a recria em tanques-rede. *Pesquisa agropecuária brasileira* **39**, 357-362.
- Burham K. P. & Anderson D. R. (1998) *Model Selection and Inference. A practical Information-Theoretic Approach*. Springer-Verlag New York Inc. pp 353.
- Burns C. W. & Schallenberg M. (1998) Impacts of nutrients and zooplankton on the microbial food web of an ultra-oligotrophic lake. *Journal of Plankton Research* **20**, 1501-1525.
- Chen Y., Beveridge M & Telfer T. (1999) Physical characteristics of commercial pelleted Atlantic salmon feeds and consideration of implications for modeling of waste dispersion through sedimentation. *Aquaculture International*, **7**, 89-100.
- Dupuy C., Ryckaert M., Le Gall S. & Hartmann H. J. (2007) Seasonal Variations in Planktonic Community Structure and Production in an Atlantic Coastal Pond: The Importance of Nanoflagellates. *Microbial Ecology* **53**, 537-548.
- Fenchel T. (1982) Ecology of heterotrophic flagellates. IV. Quantitative occurrence and importance as bacterial consumers. *Marine Ecology Progress Series* **9**, 35-42.
- Fry J. C. (1990) Direct methods and biomass estimation. *Methods in Microbiology* **22**, 42-85.
- Gasol J.M., Simons A. M. & Kalff J. (1995) Patterns in the top-down versus bottom-up regulation of heterotrophic nanoflagellates in temperate lakes. *Journal of Plankton Research* **17**, 1879-1903
- Golterman H. L. Clymo R. S. & Ohmstad M. A. M. (1978) *Methods for physical and chemical analysis of freshwater*. Oxford: Blackwell Scientific Publication. 214 pp.
- Guo L. & Li Z. (2003) Effects of nitrogen and phosphorus from fish cage-culture on the communities of a shallow lake in middle Yangtze River basin of China. *Aquaculture* **226**, 201-212.
- Hammer Ø., Harper D.A.T. & Ryan P. D. (2001) PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. *Palaeontologia Electronica* **4**: 9pp. http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
- Islam M. S. (2005) Nitrogen and phosphorus budget in coastal and marine cage aquaculture and impacts of effluent loading on ecosystem: review and analysis towards model development. *Marine Pollution Bulletin* **50**, 48-61.

- Mackaret F.Y.H., Heron J. & Talling J.F. (1978) Water analysis: some revised methods for limnologists. *Freshwater Biological Association* **36**, 1-120.
- McQueen D. J., Post J. R. & Mills E. L. (1986) Trophic relationships in freshwater pelagic ecosystems. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **43**, 1571-1581.
- Marengoni N. G. (2006) Produção de tilápia do nilo *Oreochromis niloticus* (Linhagem Chitrada), cultivada em tanques-rede, sob diferentes densidades de estocagem. *Archivos de zootecnia* **55**, 127-138.
- Marte C. L., Cruz P & Flores E. E. C. (2000) Recent developments in freshwater and marine cage aquaculture in the Philippines. In: *Proceedings of the First International Symposium on cage aquaculture in Asia* (ed. by I. C. Liao & C. K. Lin) pp. 237-242. Asian Fisheries Society, Manila.
- Pagioro T. A., Velho L. F. M. , Lansac- Tôha F. A., Pereira D. G., Nakamura A. K. (2005) Influência do grau de trofia sobre os padrões de abundância de bactérias e protozoários planctônicos em reservatórios do Estado do Paraná. In: Liliana Rodrigues; Sidinei Magela Thomaz; Angelo Antonio Agostinho; Luis carlos Gomes. (Org.). *Biocenoses em reservatórios: Padrões espaciais e temporais*. 1 ed. São Carlos: RIMA, p. 47-56.
- Pereira D. G., Velho L. F. M., Pagioro T. A., Lansac- Tôha F. A. (2005) Abundância de nanoflagelados heterotróficos no plâncton de reservatórios com distintos graus de trofia. *Acta Scientiarum* **27**, 43-50.
- Persson J., Vrede T. & Holmgren S. (2008) Responses in zooplankton populations to food quality and quantity changes after whole lake nutrient enrichment of an oligotrophic sub-alpine reservoir. *Aquatic Science* **70**, 142 – 155.
- Pitta P., Apostolaki E. T., Tsagaraki T., Tsapakis M. & Karakassis, I. (2006) Fish farming effects on chemical and microbial variables of the water column: a spatio-temporal study along the Mediterranean Sea. *Hydrobiologia* **563**, 99-118.
- Rangel T.F.L.V.B., Diniz-Filho J.A.F. & Bini L.M. (2006) Towards an integrated computational tool for spatial analysis in macroecology and biogeography. *Global Ecology and Biogeography* **15**: 321-327.

- Samuelsson K., Berglund J., Haecky P. & Anderson A. (2002) Structural changes in an aquatic microbial food web caused by inorganic nutrient addition. *Aquatic Microbial. Ecology* **29**, 29-38.
- Sará G. (2007a) A meta-analysis on the ecological effects of aquaculture on the water column: Dissolved nutrients. *Marine Environmental Research* **63**, 390-408.
- Sará G. (2007b) Ecological effects of aquaculture on living and non living suspended fractions of the water column: A meta analysis. *Water Research* **41**, 3187-3200.
- sustanaible future. *Marine Pollution Bulletin* **32**,159-166.
- Sherr E.B. & Sherr B.F. (1993) Preservation and storage of samples for enumeration of heterotrophic protists In: *Handbook of methods in Aquatic Microbial Ecology* (ed. by P. F. Kemp, B. F. Sherr, E. B. Sherr & J. J. Cole) pp. 207-212. Lewis Publishers, London, UK.
- Simek K., Armengol A.J., Comerma M., Garcia J. C., Chrzanowski T. H., Kojecká P., Macek M., Nedoma J. & Straskrabová V. (1999) Impacts of protistan grazing on bacterial dynamics and composition in reservoirs of diferent trophy. In: *Theoretic Reservoir Ecology and its Application* (ed. by J. G. Tundisi, M. Straškraba), pp. 267-282. International Institute of Ecology, Brazilian Academy of Sciences and Backhuys Publishers.
- Simek K., Hornak K., Masin M., Christak U., Nedoma J., Weinbauer M. G. & Dolan J. R. (2003) Comparing the effects of resource enrichment and grazing on a bacterioplankton community. *Aquatic Microbial. Ecology* **31**,123-135.
- Statsoft Inc. (2005) Version 7.1. Tulsa: Statistic. 3v.
- Stoecker D. K. & Capuzzo J. M. (1990) Predation on protozoa: its importance to zooplankton. *Journal of Plankton Research* **12**, 891-908.
- Tandoléké R. D., Pinel-Alloul B., Bourbonnais N. & Pick F. R. (2004) Factors affecting the bacteria-heterotrophic nanoflagellate relationship in oligo-mesotrophic lakes. *Journal of plankton Research* **26**, 681-695.
- Teixeira C., Tundizi J. G. & Kutner M. B. (1965) Plankton studies in a mangrove, II: The standing-stock and some ecological factors. *Bol. Inst. Oceanog.* **24**, 23-41.
- UEM/Nupélia/Pronex (2006) Limnologia física e química In: *Avaliação preliminar da viabilidade de tilápia nilótica em tanques-rede*. Relatório Parcial. Maringá. pp 1-18.

- von Sperling M. (1996) Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgotos. DESA-UFMG.
- Weisse T. (1991) The annual cycle of heterotrophic freshwater nanoflagellates: role of bottom-up versus top-down control. *Journal of plankton Research* **13**,167-185.
- Wetzel R.G. & Likens G.E. (1991) *Limnological Analyses*. New York. Springer-Verlag. 319 pp.
- Xu K., Choi J. K., Yang E. J., Lee K. C. & Lei Y. (2002) Biomonitoring of coastal pollution status using protozoan communities with a modified PFU method. *Marine Pollution Bulletin* **44**, 877–886.
- Yucel-Gier G., Uslu O. & Bizzel N. (2008) Effects of marine fish farming on nutrient composition and plankton communities in the Eastern Aegean Sea (Turkey). *Aquaculture Research* **39**, 181-194.
- Zar J. H. (1984) *Biostatistical Analysis* 2nd edition. New Jersey. Prentice-Hall, Inc Englewood Cliffs. 718 pp.