

**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

Mestrado em Bioquímica

Dissertação

**Otimização de protocolos para determinação de  
Ficobiliproteínas e sua relação com a caracterização  
físico-química e biológica de albufeiras de Portugal  
(Alqueva) e Cabo Verde.**

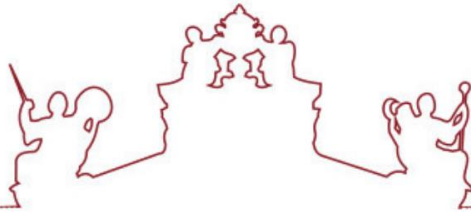
Jessica Cristina Almeida Carvalho

Orientador(es) / Maria Helena Batista da Costa Guerreiro de Novais

Maria Alexandra Marchâ Penha

Évora 2019





**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

Dissertação

**Otimização de protocolos para determinação de  
Ficobiliproteínas, e sua relação com a caracterização  
físico-química e biológica de albufeiras de Portugal  
(Alqueva) e Cabo Verde.**

Jessica Cristina Almeida Carvalho

Orientador(es) / Maria Helena Batista da Costa Guerreiro de Novais

Maria Alexandra Marchâ Penha

Évora 2019

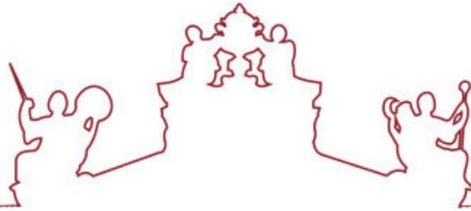
---

---

---

---

---



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

- Presidente / Célia M. Antunes (Universidade de Évora)
- Vogal / Isabel Alves-Pereira (Universidade de Évora)
- Vogal-orientador / Maria Alexandra Marchâ Penha (Universidade de Évora)

Évora 2019



---

## Agradecimentos

A realização dessa dissertação de mestrado contou com o imprescindível apoio, que serei eternamente grata.

Primeiramente agradeço pela oportunidade de estagiar e realizar a minha tese no Laboratório da Água da Universidade de Évora.

Os meus sinceros e profundo agradecimento à toda equipa simpática e carinhosa do Laboratório da Água da Universidade de Évora, agradeço pela calorosa receção, e atenção que tiveram comigo.

Agradeço á professora Manuela Morais – Diretora do Laboratório da Água pela oportunidade. E a professora Célia Antunes e Ana Costa pela ajuda disponibilizada.

De um modo particular o meu reconhecimento às minhas Orientadoras Alexandra Penha e Maria Helena Novais, “as melhores orientadoras do mundo” por terem aceitado orientar o meu trabalho de Mestrado, pela imensa paciência, dedicação, amizade, e por terem partilhado comigo as suas competências científicas, experiência que de muito me valeram, para a realização desse trabalho e que levarei para a minha vida.

Á minha querida Susana Nunes, pela disponibilidade, atenção e carinho para comigo. Á minha querida amiga Nádía Correia e meu querido René Sanches por todo apoio e incentivo.

A todos os meus familiares que sempre me apoiaram e contribuíram incondicionalmente para a minha evolução e superação durante todo o meu percurso académico. Em especial aos meus pais Renato Carvalho, Lina Almeida e irmã Joseane Carvalho, tia Amélia Carvalho e primas Cláudia e Márcia Carvalho.

De um modo geral, agradeço a todos que me apoiaram, duma forma ou outra, na realização desse trabalho.

## Agradecimento Institucional

# ALOP

Alentejo Observation and Prediction systems



UNIVERSIDADE DE ÉVORA




UNIVERSIDADE DE ÉVORA  
ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA  
LABORATÓRIO DA ÁGUA



UNIÃO EUROPEIA  
Fundo Europeu  
de Desenvolvimento Regional



**Instituto de Ciências da Terra**  
**Institute of Earth Sciences**



---

*Dedico esse trabalho á toda minha família em especial á minha querida Mãe Lina Maria dos Santos Almeida, grandiosa guerreira que incansavelmente manteve-se ao meu lado, dando todo apoio em todas as passagens da minha vida. Pelo amor, educação, carinho, amizade, conforto e proteção maternal e também pelas puxadas de orelhas que muito me ajudaram. Sou ciente de que só sou o que sou hoje graças á ela, e que não teria conseguido alcançar essa meta se não pudesse contar com todo o seu apoio.*

*“À memória de minha irmã Catisa Almeida “*

---

<b>Índice geral</b>	
<b>Agradecimentos</b> .....	i
<b>Índice de figuras</b> .....	vi
<b>Índice de tabelas</b> .....	viii
<b>Abreviaturas</b> .....	x
<b>Resumo</b> .....	xi
<b>Abstract</b> .....	xii
<b>I. Introdução</b> .....	1
1.1 Problemática .....	3
1.2 Objetivos do estudo.....	4
<b>II. Fundamentos teóricos</b> .....	5
2.1 Fitoplâncton .....	5
2.2 Cianobactérias.....	6
2.2.1 Florações de Cianobactérias e seus impactes .....	9
2.2.2 Biologia molecular na determinação de Cianobactéria e de genes que codificam a produção de toxinas.....	10
2.3 Clorofilas .....	11
2.4 Ficobiliproteínas.....	13
2.4.1 Bioatividades das Ficobiliproteínas.....	15
2.5 Caracterização da albufeira de Alqueva – Alentejo.....	17
2.6 Enquadramento geográfico e problemática hídrica em Cabo Verde .....	19
<b>III. Metodologia</b> .....	22
3.1 Recolha de amostras.....	22
3.2 Análise Laboratorial.....	23
3.3 Análise estatística.....	28
<b>IV. Resultados e Discussão</b> .....	30
4.1 Otimização de Protocolos para extração e determinação da concentração de ficobiliproteínas .....	30
4.2 Amostras Alqueva - Projeto ALOP.....	31
4.2.1 Clorofila <i>a</i> .....	31
4.2.1.1 Diferenças entre plataformas e campanhas .....	31
4.2.1.2 Diferenças entre plataformas e profundidades .....	33
4.2.2 Ficobiliproteínas .....	36
4.2.2.1 Diferenças entre plataformas e campanhas .....	36
4.2.2.2 Diferenças entre plataformas e profundidades .....	38
4.2.3 Relação entre concentração de diferentes pigmentos fotossintéticos .....	40
4.2.4 Parâmetros Físico-químicos .....	41

---

4.2.4.1	Diferenças entre plataformas.....	41
4.2.4.2	Diferenças entre campanhas.....	42
4.2.4.3	Diferenças entre profundidades.....	44
4.2.5	Relação com os parâmetros físico-químicos.....	46
4.3	Amostras de Cabo Verde.....	51
4.3.1	Ficobiliproteínas totais e Clorofila <i>a</i> .....	51
4.3.2	Identificação Fitoplanctónica - Cianobactérias.....	51
4.3.3	Deteção de Cianobactérias potencialmente tóxicas, por Biologia Molecular PCR em tempo real.....	54
4.3.3.1	Gene que identifica a presença de Cianobactérias (16S rRNA).....	55
4.3.3.2	Genes que codificam a produção de Toxinas.....	56
4.3.4	Parâmetros físico-químico das Albufeiras de Cabo Verde.....	62
<b>V.</b>	<b>Conclusão.....</b>	<b>64</b>
<b>VI.</b>	<b>Bibliografia.....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXO 1-</b>	<b>Teste de optimização.....</b>	<b>74</b>
<b>ANEXO 2-</b>	<b>Cálculo do Rácio da qualidade ecológica.....</b>	<b>75</b>
<b>ANEXO 3-</b>	<b>Teste de Correlação por Plataforma.....</b>	<b>76</b>
<b>ANEXO 4-</b>	<b>Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos.....</b>	<b>78</b>



---

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Estrutura das Ficobiliproteínas .....	14
<b>Figura 2.</b> Espectros de absorção das Ficobiliproteínas .....	14
<b>Figura 3.</b> Localização das plataformas do projecto ALOP .....	18
<b>Figura 4.</b> Albufeiras de Cabo Verde, adaptado de Rodrigues 2014 .....	20
<b>Figura 5.</b> Concentração de Clorofila a ( $\mu\text{g/L}$ ), nas várias campanhas de amostragem, nas diferentes plataformas. ....	32
<b>Figura 6.</b> Concentração de Clorofila a ( $\mu\text{g/L}$ ), nas várias profundidades amostradas, nas diferentes plataformas. ....	33
<b>Figura 7.</b> Concentração de Ficobiliproteínas totais ( $\text{mg/mL}$ ), nas várias campanhas de amostragem, nas diferentes plataformas. ....	37
<b>Figura 8.</b> Concentração de Ficobiliproteínas totais ( $\text{mg/mL}$ ), nas várias profundidades amostradas, nas diferentes plataformas,.....	39
<b>Figura 9.</b> Eletroforese de gel de agarose do resultado de PCR em tempo real sobre teste de deteção de Cianobactérias e genes responsáveis pela produção de toxinas em amostras das Albufeiras de Cabo Verde. ....	54
<b>Figura 10.</b> Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene 16SrRNA de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. ....	55
<b>Figura 11.</b> Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene mcyA de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. ....	56
<b>Figura 12.</b> Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene mcyB de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. ....	57
<b>Figura 13.</b> Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene mcyE de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. ....	57
<b>Figura 14.</b> Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene mcyE/nda de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. ....	58

---

**Figura 15.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene Peptido sintetase de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde..... 58

**Figura 16.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene Poliquetido sintetase de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde. .... 59

## Índice de tabelas

<b>Tabela 1.</b> Tipos de Cianobactérias e seus mecanismos de ação .	8
<b>Tabela 2.</b> Estrutura das Clorofilas.....	11
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros in situ medidos para a caracterização Físico-química. ....	22
<b>Tabela 4.</b> Equação monocromática de Lorenzen .....	23
<b>Tabela 5.</b> Equações tricromáticas de Jeffrey & Humphrey.....	23
<b>Tabela 6.</b> Condições testadas no teste de otimização.....	24
<b>Tabela 7.</b> Equações para determinação da concentração de Ficobiliproteínas. ....	26
<b>Tabela 8.</b> Parâmetros físico-químicos medidos no Laboratório e respectivo método de análise.....	26
<b>Tabela 9.</b> Sequências dos primers específicos para os genes alvos estudados com os respectivos tamanhos do produto PCR esperados e referências bibliográficas. ....	27
<b>Tabela 10.</b> Reagentes utilizados na reação de PCR em tempo real com respectivas concentrações.....	28
<b>Tabela 11.</b> Protocolo de cada corrida de PCR em tempo real. ....	28
<b>Tabela 12.</b> Resultados da otimização - determinação de Ficobiliproteínas (mg/mL)....	30
<b>Tabela 13.</b> Valores de Clorofila a ( $\mu\text{g/L}$ ) [Mediana (mínimo - máximo)], nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem. (n=140) .....	31
<b>Tabela 14.</b> Valores de Clorofila a ( $\mu\text{g/L}$ ) [mediana (mínimo - máximo)] nas diferentes plataformas por profundidade na coluna de água. n=140 .....	33
<b>Tabela 15.</b> Valores de Ficobiliproteínas totais (mg/mL) [Mediana (mínimo- máximo)] nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem.(n=140).....	37
<b>Tabela 16.</b> Valores de Ficobiliproteínas totais (mg/mL) [mediana (mínimo - máximo)] nas diferentes plataformas por profundidade na coluna de água.(n=140) .....	38
<b>Tabela 17.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos * $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito. Geral para todas a Plataformas, (n=140).....	40
<b>Tabela 18.</b> Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo- máximo)], nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem .....	41
<b>Tabela 19.</b> Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo- máximo)], nas diferentes campanhas de amostragem.....	42

---

<b>Tabela 20.</b> Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo- máximo)], nas diferentes profundidades .....	44
<b>Tabela 21.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre as Ficobiliproteínas totais e Clorofila a, por plataforma, com os parâmetros físico-químicos .....	46
<b>Tabela 22.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre as Ficobiliproteínas totais e Clorofila a, nas diferentes campanhas, com os parâmetros físico-químicos.....	47
<b>Tabela 23.</b> Coeficientes de correlação de Pearson dos pigmentos por profundidade com os parâmetros físico-químicos .....	48
<b>Tabela 24.</b> Concentração de Ficobiliproteínas totais e Clorofila a, nas diferentes albufeiras de Cabo Verde estudadas. ....	51
<b>Tabela 25.</b> Abundância relativa dos diferentes grupos fitoplanctónicos- albufeiras de Cabo Verde.....	52
<b>Tabela 26.</b> Lista das principais Cianobactérias nas albufeiras de Cabo Verde .....	52
<b>Tabela 27.</b> Parâmetros físico-químicos analisados nas amostras das albufeiras de Cabo Verde. ....	62
<b>Tabela A 1.</b> Cálculo do Rácio da qualidade ecológica (RQE) .....	75
<b>Tabela A 2.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Montante.....	76
<b>Tabela A 3.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Mourão .....	76
<b>Tabela A 4.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Álamos .....	77
<b>Tabela A 5.</b> Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Lucefécit.....	77
<b>Tabela A 6.</b> Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos ao longo das campanhas de amostragem. ....	78
<b>Tabela A 7.</b> Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos por diferentes profundidades. ....	79

---

## Abreviaturas

- ALOP – Sistemas de observação, previsão e alerta na atmosfera e em reservatórios de água do Alentejo
- ANTX – Anatoxina
- APC – Aloficocianina
- Chl *a* – Clorofila *a*
- Chl *b* – Clorofila *b*
- Chl *c* – Clorofila *c*
- CYL – Cilindrospermopsina
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- Fico – Ficobiliproteína
- Feo – Feopigmentos
- INAG – Instituto Nacional de Água
- MIC – Microcystina
- mcyA – microcystina A
- mcyB – microcystina B
- mcyE – microcystina E
- mcyE/nda – microcystina E/Nodularina
- NOD – Nodularina
- PC – Ficocianina
- PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
- PE – Ficoeritrina
- RPM – Rotações por minuto
- RQE – Rácio de qualidade ecológica
- STX – Saxitoxina

---

## Resumo

As Ficobiliproteínas são pigmentos proteicos fluorescentes com atividade fotossintética. Específicos das Cianobactérias, usadas como indicadores da qualidade da água nas albufeiras. As Cianobactérias podem produzir Cianotoxinas, constituindo um importante problema de saúde pública. Otimizou-se o protocolo para determinação das Ficobiliproteínas e correlacionou-se a sua concentração com os parâmetros físico-químicos e biológicos de amostras de águas doces de Portugal e Cabo Verde. Aplicaram-se técnicas de Biologia Molecular nas amostras de Cabo Verde. Observou-se que existe uma correlação entre as Ficobiliproteínas totais e a Clorofila *a*, e que fatores físico-químicos influenciam a ocorrência desses pigmentos. Constatou-se presença de espécies de Cianobactérias potencialmente tóxicas nas amostras de Cabo Verde, e essa ocorrência está relacionada com os fatores ambientais, e que o uso de técnicas moleculares pode ser um recurso complementar. As Ficobiliproteínas podem ser utilizadas como potencial indicador da qualidade da água, juntamente com a Clorofila *a*, nas massas de água fortemente modificadas.

**Palavras chaves:** Cianobactérias, Cianotoxinas, Clorofila, Pigmentos fotossintéticos, Qualidade da água das albufeiras.

---

## **Protocol optimization for determination of Phycobiliproteins and their relationship with characterization physicochemical and biological water reservoirs of Portugal (Alqueva) and Cape Verde.**

### **Abstract**

Phycobiliproteins are fluorescent protein pigments with photosynthetic activity. Cyanobacteria specific, used as indicators of water quality in the reservoirs. Cyanobacteria can produce cyanotoxins, which is a major public health problem. The protocol for the determination of phycobiliproteins was optimized and its concentration was correlated with the physicochemical and biological parameters of freshwater samples from Portugal and Cape Verde. Molecular Biology techniques were applied to the Cape Verde samples. It was observed that there is a correlation between total phycobiliproteins and chlorophyll a, and that physicochemical factors influence the occurrence of these pigments. Potentially toxic cyanobacterial species were found in Cape Verde samples, and this occurrence is related to environmental factors, and the use of molecular techniques may be a complementary resource. Phycobiliproteins can be used as a potential indicator of water quality, together with Chlorophyll a, in strongly modified water bodies.

**Keywords:** Chlorophyll, Cyanobacteria, Cyanotoxins, Photosynthetic pigments, Water quality from reservoirs.

---

## I. Introdução

As Cianobactérias são microalgas potencialmente produtoras de toxinas, que podem provocar problemas de saúde pública tanto no homem como nos animais. Usualmente conhecidas como cianotoxinas, constituem uma ampla fonte de produtos naturais, que por vezes são tóxicos, com possível função protetora das Cianobactérias e que são libertadas para o meio quando as células se rompem, podendo ocasionar efeitos agudos e crónicos nos outros seres vivos (Carmichael 1992; Zurawell et al. 2005).

Intoxicações de populações humanas por consumo de água contaminada por cianotoxinas têm sido relatadas em diversos países (Chorus & Bartram 1999). É recomendado que se faça a monitorização das Cianobactérias presente nas massas de água assim como nos pontos de captação (Hamilton et al. 2016), em termos de número de células e abrangendo as toxinas ligadas às células, e as reservas de toxinas extracelulares, dissolvidas na água (Chorus & Bartram 1999).

A Clorofila *a* tem sido muito utilizada como indicador de qualidade da água das reservas hídricas, e é considerado bom indicador. Associada aos pigmentos recorre-se à avaliação dos parâmetros físico-químicos que servem de suporte para complementar as informações dos elementos biológicos, que por sua vez são utilizados na avaliação ecológica da água (INAG I.P. 2009).

Para além da Clorofila *a*, as Cianobactérias contêm as Ficobiliproteínas com a função de otimizar a eficiência fotossintética das espécies que as possuem. Como apenas existe em alguns grupos de algas como criptófitas, rodófitas e glaucocistófitas que são normalmente pouco abundantes e frequentes em águas doces, esse pigmento considera-se específico das Cianobactérias, pelo que a sua avaliação permite obter informações acerca da dinâmica de Cianobactérias presente numa determinada reserva aquática em estudo (Lauceri et al. 2017).

O seu estudo remonta ao ano 1973 com Bennett & Bogorad, os primeiros a propor as equações para a determinação da concentração dos diferentes tipos de Ficobiliproteínas. Posteriormente, o estudo das Ficobiliproteínas foi aprofundado e foram surgindo algumas alterações relativamente às equações iniciais, para a determinação da sua concentração (Stewart & Farmer 1984; Sarada et al. 1998; Viskary & Colyer 2003; Lawrenz et al. 2010; Sobiechowska-Sasim et al. 2014; Lauceri et al. 2017).



---

Em conjunto com a Clorofila *a* podem auxiliar na classificação da qualidade de água, sendo um parâmetro que pode ser mais específico que a Clorofila *a* pois esta última é encontrada noutros grupos que fazem parte do Fitoplâncton (Fernandes et al. 2009; Khatoon et al. 2018).

A aposta em projetos sobre os recursos hídricos atualmente tem emergido numa realidade onde cada vez mais a água se torna um bem escasso. O projeto “Sistemas de observação e previsão no Alentejo – ALOP” é um desses projetos cujo objetivo é aperfeiçoar uma atividade multivalente no controlo da interação atmosfera, água e ecossistema. No âmbito deste projeto, são realizados estudos na região da albufeira de Alqueva – Alentejo, de forma a aprimorar o conhecimento dessa grande albufeira. Adicionalmente, pretende-se desenvolver, de maneira integrada, ferramentas que possibilitem a observação, o alerta e a previsão na área da meteorologia e da água (em termos de quantidade e de qualidade), incluindo a avaliação da evolução atmosférica e da sua relação com a água, e do impacto na vida das pessoas e em atividades económicas. Um dos objetivos específicos consiste em recorrer à tecnologia de forma a fazer uma avaliação célere da qualidade da água (ecológica e química) em eventuais situações de risco, sendo neste âmbito que se enquadra o presente estágio.

A água é um recurso imprescindível para a sobrevivência neste planeta, no entanto, vários países sofrem com a carência desse líquido precioso, facto que condiciona o seu desenvolvimento, pois interfere nos aspetos sociais, económicos e ambientais (Paz et al. 2000). Paz et al. (2000), na sua publicação, apontou Cabo Verde como um país, entre vários outros, que sofrem problemas de carência hídrica, conseqüentemente o governo de Cabo Verde apostou na construção de Albufeiras como forma de resolver essa problemática (Santos 2013).

Entretanto Cabo Verde dispõe de poucos recursos para fazer o estudo das bacias hidrográficas, devido à escassez financeira, nesse sentido surgiu uma cooperação com Portugal (Universidade de Évora) para realizar em conjunto um estudo a fim de avaliar a qualidade de água presente em seus reservatórios.

---

## 1.1 Problemática

Devido à sua capacidade de sobreviverem em uma ampla variedade de ambientes, as Cianobactérias têm uma distribuição Ubíqua. A sua proliferação e a sua capacidade de produzir toxinas tem despertado muito interesse no mundo da investigação científica, pois representa um problema de saúde pública.

A sua densidade em células/mL é utilizada como um dos parâmetros de avaliação da qualidade da água das albufeiras e lagos, sendo a sua determinação feita com base na análise por Microscopia óptica de inversão. Outro parâmetro bioindicador da qualidade da água é a Clorofila *a*, que já possui uma metodologia reconhecida, no entanto este pigmento não é específico das Cianobactérias, pelo que os resultados com base na avaliação da Clorofila *a* podem não refletir com exatidão a presença de Cianobactérias numa massa de água em estudo.

Nesse sentido, a aposta na determinação das Ficobiliproteínas, um pigmento específico das Cianobactérias como um parâmetro complementar à Clorofila *a*, pode oferecer uma informação mais eficiente sobre a qualidade da água da albufeira. Entretanto a extração e determinação desse pigmento deve ser muito bem estudada, pois esse processo pode apresentar dificuldades devido ao tamanho da célula e à resistência da parede celular. Acredita-se que a aplicação dessas metodologias na albufeira do Alqueva seja pertinente, pela importância que representa para Portugal.

Relativamente ao estudo nas albufeiras de Cabo Verde, a problemática assenta na insuficiência de estudos sobre a qualidade da água presente nesses reservatórios, nesse sentido acredita-se que a aposta em técnicas diferentes, porém complementares, possa fornecer informações para a avaliação da qualidade hídrica, recorrendo à cooperação com Portugal que em termos do estudo hídrico encontra-se mais avançado.

---

## 1.2 Objetivos do estudo

- Otimizar protocolos de extração e determinação da concentração de Ficobiliproteínas em amostras de águas doces superficiais;
- Aplicar o protocolo para determinar a concentração dos pigmentos Fotossintéticos, nomeadamente Clorofilas e Ficobiliproteínas em amostras de água da albufeira de Alqueva - Portugal, recolhidas no âmbito do projeto ALOP e das albufeiras de Cabo Verde;
- Relacionar os resultados obtidos da determinação da concentração das Ficobiliproteínas com a concentração de Clorofila *a*, *b*, *c*, Feopigmentos e com os parâmetros físico-químicos e biológicos;
- Estudar a hipótese das Ficobiliproteínas poderem ser utilizadas como um potencial indicador da qualidade da água, juntamente com a Clorofila *a*, nas massas de água fortemente modificadas.
- Detetar a presença de Cianobactérias e genes que codificam a produção de Cianotoxinas, em diferentes albufeiras de Cabo Verde, por Biologia molecular.

---

## II. Fundamentos teóricos

### 2.1 Fitoplâncton

O Fitoplâncton é composto por organismos unicelulares microscópicos com capacidade fotossintética que vivem comumente suspensos na coluna hídrica, podendo estar agrupados (coloniais) ou serem solitários (não coloniais), com dimensões que variam entre 1 a 500  $\mu\text{m}$ . Por dependerem da luz solar vivem na zona Eufótica e alguns criaram estratégias de adaptação como vacúolos de gás e flagelos. Engloba uma grande diversidade de algas, entre elas as Cianobactérias, com distinção em termos taxonómicos, fisiológicos e morfológicos e que apresentam diferenças quanto a condições e respostas a parâmetros físico-químicos como a temperatura, luz, e concentração de nutrientes. A complexidade fisiológica do fitoplâncton possibilita a convivência de múltiplas espécies e a interação constante num mesmo volume de água, e também uma distribuição sazonal da comunidade como resposta a alterações dos parâmetros ambientais (INAG I.P. 2009).

Em termos taxonómicos destacam-se os grupos seguintes: Bacillariophyceae (Diatomáceas), Conjugatophyceae (e.g. Desmidiáceas), Chlorophyceae (Clorófitas, algas verdes), Chrysophyceae (Crisofíceas), Cryptophyceae (Criptofíceas), Cyanobacteria (Cianobactérias), Dinophyceae (Dinoflagelados) e Euglenophyceae (Euglenófitas), sendo essa classificação baseada na morfologia celular, cor, tipo de reservas alimentares, e pigmentos fotossintéticos (INAG I.P. 2009).

---

## 2.2 Cianobactérias

As Cianobactérias são micro-organismos procariotas, fotossintéticos que habitam principalmente em lagos, rios, albufeiras, embora possam estar presentes em rochas e solos. São estruturalmente semelhantes às bactérias e funcionalmente semelhante às algas, sendo por isso designadas comumente de algas azuis (Graham et al. 2008; Markl et al. 2018).

Estima-se que a sua origem remonta a cerca de 2,5 bilhões de anos, sendo assim considerado os primeiros produtores primários, responsáveis pela libertação de oxigénio elementar na atmosfera primitiva (Veiga 2008; Schirrmeyer et al. 2016; Soo et al. 2017).

São providos de Clorofila *a* e diversos pigmentos acessórios, dos quais se destacam as Ficobiliproteínas (Ficocianinas, Ficoeritrinas e Aloficocianinas) que representam cerca de 40% do seu teor total de proteínas solúveis (Rizzo 2015; Khatoon et al. 2018). Por essa razão pode-se dizer que as Ficobiliproteínas são pigmentos característicos/específicos das Cianobactérias. Fatores ambientais como temperatura, pH e disponibilidade de nutrientes influenciam significativamente as Cianobactérias e conseqüentemente a produção de Ficobiliproteínas (Rizzo 2015; Khaton et al. 2018).

A composição da parede celular é à base de peptidoglicano (mureína), associado a alguns aminoácidos e glucosaminas, características semelhantes à das bactérias, reforçando a questão da sua evolução análoga. A sua reserva energética é a cianoficina, associada a lípidos. A reprodução é feita de forma assexuada por processos de divisão celular ou formação de esporos (Fernandes et al. 2009).

As Cianobactérias estão presentes em diferentes habitats, onde exercem importante papel quanto à manutenção de processos funcionais do ecossistema e na reciclagem de nutrientes, porém ambientes aquáticos são os preferidos desse grupo, onde a maioria das espécies possui melhor crescimento, com condições como pH neutro alcalinas (pH 6-9), temperatura entre 15 a 30 graus Celsius e elevada concentração de nutrientes com destaque para azoto e fósforo (Azevedo 1998).

Ao longo dos anos, as Cianobactérias foram sofrendo alterações decorrente de processos externos, originando diversas estratégias adaptativas almejando a eficiência principalmente quanto a situações de stress ambiental. A sua ecologia é muito

---

diversificada, o que lhes confere grande capacidade de responder com sucesso e de forma célere à eutrofização tanto de lagos naturais como reservatórios, sobressaindo de forma clara na comunidade fitoplanctónica (Fernandes et al. 2009).

A capacidade de assimilar compostos orgânicos de baixo peso molecular que lhes permite sobreviver em ambientes com carência ou sem luz, é uma estratégia adaptativa que se torna profícua em ambientes com elevada turbidez. Outra estratégia é a produção de quelantes que as salvagam dos metais (removem os metais), justificando o facto de as Cianobactérias serem encontradas em locais com grande impacto da atividade do Homem. Possuem outras estratégias como capacidade de assimilar ortofosfato em excesso, produção de vesículas gasosas (aerótopos), produção de bainhas ou matriz de mucilagem (Fernandes et al. 2009).

Adicionalmente, podem produzir toxinas, derivadas de processos metabólicos muitas vezes regulados por genes específicos ou em parte resultantes do mecanismo de defesa do microrganismo (Zurawell et al. 2005). São produzidas intracelularmente na fase de crescimento exponencial, e a sua libertação para o espaço externo pode ocorrer durante a senescência ou morte celular, porém podem ser libertadas devido a alguma estratégia adaptativa face às condições do meio (Merel et al. 2013). As cianotoxinas são classificadas em hepatotóxicas (microcistinas, nodularinas e cilindropermopsinas), neurotóxicas (Anatoxin-a e Saxitoxinas) e por último as dermatotóxicas (Carmichael et al. 2001; Merel et al. 2013). Na tabela 1 encontram-se os principais tipos de cianotoxinas e os possíveis efeitos na saúde humana.

O primeiro caso relatado de contaminação por cianotoxinas foi no ano de 1878, numa população de ovelhas (Salgado 2010; Buratti et al. 2017; Veal et al. 2017). Inúmeras doenças em humanos vêm sendo correlacionadas com espécies tóxicas de Cianobactérias, pois essas toxinas podem ser extremamente inflamatórias, podendo causar patologias a vários níveis (Funari & Testai 2008; Buratti et al. 2017).

Casos de envenenamento pela presença de cianotoxinas nas águas são cada vez mais recorrentes, apresentando registos de ocorrência a nível global e acredita-se que o contexto das alterações climáticas se apresente como condição que favoreça a formação e desenvolvimento das Cianobactérias e consequentemente das toxinas (Macário et al. 2015).

Essa incidência considerável de cianotoxinas pelo mundo e os riscos que representa para a saúde pública, podendo também causar problemas económicos além de comprometer a qualidade da água (Bortoli & Pinto 2015; Macário et al. 2015), levantou uma certa preocupação das autoridades competentes quanto a medidas para a monitorização das Cianobactérias com carácter tóxico (Rastogi et al. 2015).

Por caracterizar-se como problema de saúde pública, a Organização Mundial de Saúde definiu categorias de riscos para Microcistina-LR avaliado como sendo:

- Baixo – inferior a 10 µg/L
- Moderado – 10-20 µg/L
- Alto – 20-200 µg/L
- Muito alto – superior a 2000 µg/L

**Tabela 1.** Tipos de Cianobactérias e seus mecanismos de ação - adaptado de Merel et al. 2013.

Cianotoxina	Modo de acção	Efeitos causados
<b>Microcistina (MIC)</b>	Inibe a fosfatase proteica	Insuficiência hepática e hemorragia hepática
<b>Nodularina (NOD)</b>	Inibe a fosfatase proteica	Insuficiência hepática e hemorragia hepática
<b>Cilindrospermopsina (CYL)</b>	Inibe a síntese de proteínas	Insuficiência hepática e renal
<b>Anatoxina (ANTX-a)</b>	Liga-se aos recetores nicotínicos de acetilcolina. Inibe a acetilcolinesterase	Paralisia muscular, fraqueza muscular, dispneia e convulsões
<b>Saxitoxinas (STXs)</b>	Liga-se aos canais de sódio	Ataxia, convulsões e paralisia

Entre os grupos de cianotoxinas, as mais comuns encontradas em água doce são as Hepatotoxinas, que além de terem potente hepatotoxicidade, são também promotores tumorais devido à proliferação de células cancerígenas causada pela inibição das fosfatases (Pantelić et al. 2013). E dessas a mais relatada é a microcistina, que compõe a principal família de cianotoxinas, com ocorrência em várias partes do mundo (Ásia, África, Europa e América do Norte), por isso tem sido alvo de vários estudos. Essa toxina é produzida principalmente por *Microcystis* (primeiro género no qual foi identificada), entretanto pode ser produzida por outros géneros como *Oscillatoria*, *Nostoc*, *Anabaena* e *Anabaenopsis* (Merel et al. 2013).

---

Na Europa não se têm registado casos de intoxicações por Cianobactérias, apesar de diversos estudos demonstrarem a presença de Cianobactérias tóxicas em reservatórios, ainda que algumas vezes seja em quantidades mínimas (Dias et al. 2011).

### **2.2.1 Florações de Cianobactérias e seus impactes**

O crescimento das Cianobactérias é influenciado por diversos fatores como a temperatura da água, pH, intensidade da luz, concentração de dióxido de carbono, assim como pela disponibilidade de nutrientes indispensáveis, características físicas da massa de água como a profundidade e a forma, estabilidade da coluna de água, caudal (rios) ou movimentos horizontais, vento e tempo de retenção da água (Kuo et al. 2018).

É de ressaltar que o enriquecimento em nutrientes responsáveis pela ocorrência de florações ou *blooms* de Cianobactérias deriva de causas naturais, assim como de atividades humanas, nomeadamente múltiplas atividades agrícolas, industriais e urbanas que potenciam consideravelmente fenómenos naturais, associados aos fenómenos de alterações climáticas (Davis et al. 2009; Paerl & Paul 2012).

Uma vez que os *blooms* de Cianobactérias dependem das condições ambientais, assim como da disponibilidade de nutrientes, essa dinâmica pode ser diferente de país para país. Estudos indicam que em Portugal os *blooms* de Cianobactérias ocorrem desde a primavera até ao princípio do outono, devido às características do clima mediterrânico, por outro lado, em regiões de clima tropical como o Brasil essa dinâmica é observada o ano inteiro (Bellém 2014).

A dinâmica da comunidade fitoplanctónica em Portugal, como em outros países é sujeita a variações sazonais, causadas pela variação das condições ambientais, por exemplo Diatomáceas dominam sob condições de baixa temperaturas e altos níveis de nutrientes, por outro lado a dominância de Cianobactérias coincide com temperaturas mais altas (Figueiredo et al. 2006; Ahn et al. 2011). Estudos sobre a avaliação de Cianobactérias são levados a cabo em muitos países como forma de ter mais conhecimento sobre a problemática a elas associada, e devido à potencial toxicidade para animais e humanos (Pilon et al. 2019).



---

### 2.2.2 **Biologia molecular na determinação de Cianobactéria e de genes que codificam a produção de toxinas**

A classificação das Cianobactérias é geralmente baseada numa abordagem mais tradicional, considerando especialmente as características morfológicas. Porém essa abordagem pode ser questionada, pois as características morfológicas podem sofrer alterações, podendo oferecer informações enganosas (Kumari et al. 2009).

As técnicas moleculares surgem como técnicas auxiliares da identificação morfológica, complementares, confiáveis no registo da informação da diversidade das Cianobactérias (Kumari et al. 2009), nomeadamente os avanços na sequenciação de nova geração de genes amplificados de DNA ambiental tornaram possíveis estudos mais aprofundados das Cianobactérias (Pilon et al. 2019).

Atualmente, espécies de Cianobactérias podem ser identificadas com auxílio a técnicas moleculares, imprescindíveis na deteção prévia, assim como na disponibilização de dados sobre a abundância e dominância dessas espécies. Estas técnicas conseguem detetar Cianobactérias tóxicas mesmo antes delas libertarem as toxinas para a água, pelo que podem ser utilizadas como um método de alerta, com capacidade de detectar a composição taxonómica do *bloom* e a sua potencial toxicidade antes de se tornar um problema real (Al-Tebrineh et al. 2012).

Dentre inúmeras técnicas moleculares, destaca-se a Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês, Polymerase Chain Reaction – PCR. A PCR em tempo real revela-se como uma técnica rápida e eficiente para discriminar a complexidade da dinâmica dos blooms de Cianobactérias, podendo identificar os genes específicos para as Cianobactérias, assim como os genes das toxinas e assim fazer a monitorização das espécies que são potencialmente produtoras de toxinas (Pearson & Neilan 2008).

A maioria dos métodos baseados em PCR utiliza sequências de 16S rRNA, apesar de muitos outros marcadores terem sido testados (Kumari et al. 2009). Entretanto como esse marcador pode ser muito limitado para a grande variedade de Cianobactérias, incluindo as produtoras e não produtoras de toxinas, torna-se pertinente testar os genes que codificam os potenciais agentes tóxicos, como forma a fazer a monitorização das massas de água (Rantala et al. 2008; Cordeiro 2015).

Usualmente como forma de complementar o PCR, aplica-se a Eletroforese em gel de Agarose - método utilizado para estimar o tamanho dos fragmentos de ácidos nucleicos, DNA ou RNA (Videira 2001).

## 2.3 Clorofilas

A Clorofila é um dos principais pigmentos com capacidade fotossintética, processo esse imprescindível para a variedade da vida na terra. A sua descoberta (1817) é atribuída a dois químicos franceses Pelletier e Caventou. Desde a época da sua descoberta até hoje algumas variedades de Clorofilas foram descobertas, existindo atualmente 5 tipos: Clorofilas *a*, *b*, *c*, *d* e *f*, sendo esta última descoberta recentemente. É característico de organismos aeróbicos com capacidade de fotossíntese, das quais destacam grande parte das plantas, algas e cianobactérias (Matos 2016).

Em termos estruturais, com exceção da Clorofila *c*, são todos semelhantes (*a*, *b*, *d*, *f*) possuindo um núcleo tetrapirrólico, com um átomo de magnésio na posição central, ligado a uma cadeia de fitol (Tabela 2). Devido a essas diferenças em termos estruturais, cada um dos tipos de Clorofila possui espectros de absorção distintos (Matos 2016).

**Tabela 2.** Estrutura das Clorofilas - adaptado de Matos 2016

Radical 1	Radical 2	Radical 3	Radical 4	Tipo de Clorofila
CH <sub>3</sub>	CH=CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Clorofila <i>a</i>
CH <sub>3</sub>	CH=CH <sub>2</sub>	CHO	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Clorofila <i>b</i>
CH <sub>3</sub>	CHO	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Clorofila <i>d</i>
CHO	CH=CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>	Clorofila <i>f</i>

A Clorofila *b* é encontrada nas plantas, enquanto as clorofilas *c* e *d* são características de espécies de diatomáceas, algas castanhas e vermelhas. A Clorofila *f* comparativamente à Clorofila *a*, possui uma capacidade de absorção maior (Matos 2016).

---

Para a determinação de clorofila, apesar de ser um método muito utilizado, é necessário ter em atenção algumas considerações, visto que as suas moléculas apresentam uma instabilidade podendo até sofrer degradação, condicionado por fatores como pH, temperatura e excesso de luminosidade. Em 1952 investigadores propuseram o método espectrofotométrico para avaliar os pigmentos do Fitoplâncton, esse método envolve a medição das absorvâncias em 3 comprimentos de onda diferentes. A concentração da Clorofila pode ser determinada atualmente recorrendo a vários métodos, incluindo cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), espectrometria e fluorometria (INAG I.P. 2009).

A medição da Clorofila é comumente utilizada para avaliar a biomassa da comunidade fitoplanctónica, servindo como parâmetro indicador para avaliar a qualidade da água. Essa medição surgiu como complemento do método tradicional de contagem das algas (baseado em quantificação em microscopia ótica), sendo a quantificação da Clorofila menos cara e mais rápida, podendo assim ajudar na otimização de procedimentos que visam melhorar a qualidade da água e reduzir o custo do tratamento em casos necessários (Jones & Lee 1982).

A análise tradicional de Clorofila baseava-se na sua quantificação, porém com a evolução científica esta tem sido utilizada em associação com técnicas de monitorização via satélite, na qual a concentração de Clorofila *a* é demonstrada através da refletividade, geralmente de cor verde, que reflete as suas propriedades óticas (Hellweger et al. 2004). Estudos indicam que esse sistema de monitorização é confiável pois os resultados obtidos equivalem às medidas reais de Clorofila *a* analisado pela leitura espectrofotométrica. A associação destes dois métodos disponibiliza dados que possibilitem programas de monitorização e controlo do local estudado, e são pertinentes na avaliação do processo de eutrofização e classificação da qualidade da água de uma bacia hidrográfica (Harvey et al. 2015).

A classificação das massas de água fortemente modificadas em Portugal engloba a análise do potencial ecológico, incluindo os parâmetros biológicos, físico-químicos de suporte e químicos. Nesta avaliação a Clorofila *a* é um dos pigmentos avaliados a fim de disponibilizar informações sobre a variabilidade fitoplanctónica, pois desde há muito tempo, diversos estudos vêm demonstrando uma importante e significativa relação entre a biomassa fitoplanctónica e a Clorofila *a* assim como a disponibilidade de importantes

---

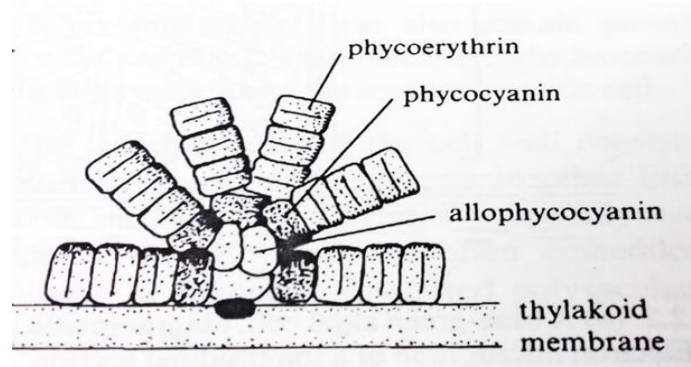
nutrientes (APA 2016). A clorofila *a* é degradada em feofitina e feoforbide que são compostos designados de Feopigmentos, que são comumente determinados na avaliação da clorofila (Figueiredo 2018).

## **2.4 Ficobiliproteínas**

As Ficobiliproteínas são complexos constituídos por proteína-pigmento fluorescentes e hidrossolúveis, com capacidade para absorverem luz em certas regiões do espectro, considerada com atividade fotossintética. Para além das Cianobactérias, podem também estar presentes em algumas algas eucarióticas do grupo das criptófitas, rodófitas e glaucocistófitas (Lawrenz et al. 2011; Johnson et al. 2014).

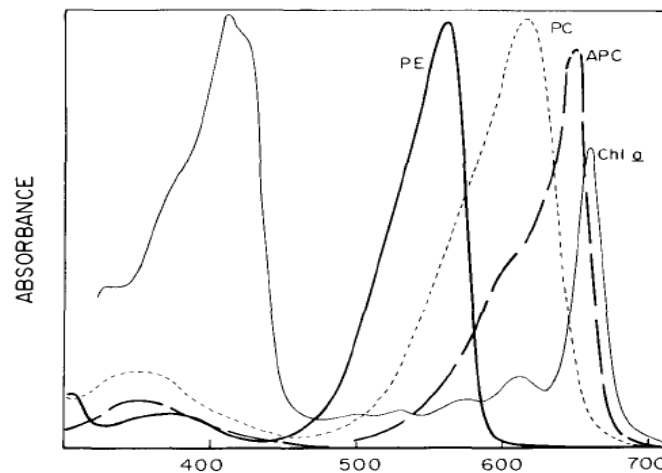
Os primeiros cristais de Ficobiliproteínas foram isolados no final do século XIX por Molisch Hans, destacando a sua natureza proteica, facto que veio ser provado por diversos estudos posteriores. Logo depois, no início do século XX, a composição dos aminoácidos das Ficobiliproteínas foi estudada pela primeira vez, e a sequência completa foi conseguida em 1978 (Nobre 2015).

A nível estrutural as Ficobiliproteínas são constituídas por cromóforos tetrapirrólicos de cadeia aberta, comumente chamados ficobilinas e encontram-se organizados em complexos moleculares designados ficobilissomas (Matos 2016). Esses ficobilissomas possibilitam a organização em termos geométricos das Ficobiliproteínas a fim de potenciar a captura de luz, na qual realizam a transferência de energia de excitação por processos isentos de radiação, direcionando-os para reação nas membranas fotossintéticas para transformação em energia química (Viskari & Colyer 2003; Nobre 2015). Essa eficiência é importante principalmente para algas/Cianobactérias que se encontram em ambientes ou regiões onde ocorrem grandes variações da intensidade da luz solar, sendo assim, as Ficobiliproteínas absorvem comprimentos de onda da luz solar que a Clorofila *a* não conseguiria absorver (Nobre 2015).



**Figura 1.** Estrutura das Ficobiliproteínas - Adaptado de Hoek et al. 1995

Com base nas características espectrais e pela composição dos pigmentos, as Ficobiliproteínas dividem-se em 3 principais grupos como mostra a figura 1: as Ficoeritrinas (PE) que absorvem a luz entre os 495 e 540 – 570 nm, Ficocianinas (PC) com máxima absorção em 610 – 620 nm e Aloficocianinas (APC) que absorvem entre os 650 - 655 nm (Figura 2), e no geral são solúveis em água, muito estáveis em pH fisiológico (Viskari & Colyer 2003) e são bastante fluorescentes.



**Figura 2.** Espectros de absorção das Ficobiliproteínas (PE- Ficoeritrina, PC- Ficocianina, APC- Aloficocianina) e da Clorofila a (adaptado de MacColl & Guard-Friar 2018)

Na luz visível as Ficocianinas aparecem de cor azul, as Ficoeritrinas de cor vermelha e as Aloficocianinas com cor púrpura, pois cada grupo possui um cromóforo de ficobilina diferente (Matos 2016; Chisti 2018).

---

Geralmente a extração de Ficobiliproteínas é feita por associação de diversos métodos físico-químicos, como trituração, sonicação, maceração fazendo uso de azoto líquido, sulfato de amônio para fazer fracionamento, e uso de tampão fosfato (Nobre 2015). Para a determinação e quantificação de Ficobiliproteínas, uma das técnicas mais relatadas é baseada nas propriedades espectrais de extratos aquosos para se avaliar os pigmentos presentes na amostra analisada (Lage-Yusty et al. 2013).


É imprescindível que os métodos para extração e quantificação da Ficobiliproteínas sejam métodos céleres e confiáveis pois, esse pigmento tem despertado grande importância no campo tecnológico (Lage-Yusty et al. 2013) e como parâmetro que disponibiliza informações sobre a composição da população fitoplanctônica, especialmente Cianobactérias, contribuindo para a avaliação da qualidade da água (Stewart & Farmer 1984; Horváth et al. 2013).

Alguns trabalhos vêm sendo realizados com o objetivo de extrair e quantificar as Ficobiliproteínas, no entanto ainda se pretende encontrar um protocolo padronizado. Essas diferenças estão desde a forma de colheita da amostra, até ao método de extração, tendo estudos que apenas utilizam tampão fosfato, outros defendem o uso de enzimas para facilitar a ruptura da parede da célula (Lawrenz et al. 2011). Entretanto essas tentativas são necessárias e indispensáveis, uma vez que estudos indicam que a extração de Ficobiliproteínas é normalmente difícil devido ao tamanho da célula, sua distribuição limitada, resistência da parede celular e dificuldade na sua purificação (Reis et al. 1998; Viskari & Colyer 2003; Lawrenz et al. 2011).

A sua extração difere da das Clorofilas e dos carotenoides, pois elas são solúveis em água pelo que a extração deve ser feita à base de tampão fosfato, enquanto as Clorofilas e carotenoides apresentam solubilidade em solventes orgânicos (Lawrenz et al. 2011).

#### **2.4.1 Bioatividades das Ficobiliproteínas**

Ultimamente surgiu um grande interesse sobre os produtos naturais bioativos pois esses vêm demonstrando capacidade de melhorar a saúde humana, e esse interesse recaiu também sobre as Cianobactérias, pois as Ficobiliproteínas são compostos de produtos naturais com elevado potencial biológico (Pagels et al. 2019). As Ficobiliproteínas têm sido



---

comparadas a outros compostos fitoquímicos, apresentando capacidade antioxidante e, por ser estruturalmente semelhante à bilirrubina também é atribuído a capacidade de remover espécies reativas de Oxigênio (Hirata et al. 2000; Pagels et al. 2019).

Entretanto essas atividades só foram confirmadas em experiências in vitro, ou em estudos em modelos animais, porém já se observaram alguns efeitos fisiológicos do consumo alimentar de Ficobiliproteínas.

Devido à sua cor intensa e brilhante também têm sido utilizadas na indústria alimentar como pigmento natural em produtos lácteos, geleias, gelados, refrigerantes, sobremesas, decoração de bolos doces e ainda na indústria farmacêutica e cosmética (Sonani et al. 2016; Chisti 2018).

Graças às suas propriedades fluorescentes têm sido utilizadas como agentes fluorescentes em imunoenaios, citometria de fluxo, microscopia de fluorescência auxiliando no diagnóstico e nas pesquisas biomédicas (Sonani et al. 2016). Numa linha de investigação completamente diferente, a administração de Ficobiliproteínas em ratinhos diabéticos mostrou ter um efeito antidiabético, podendo ser utilizado como agente preventivo de algumas complicações da Diabetes, nomeadamente nefropatia (Pagels et al. 2019).

No geral, observa-se que as Ficobiliproteínas para além de ser um parâmetro que determina a presença de Cianobactérias, contribuindo para avaliação da qualidade de água, possuem uma grande variedade de utilidades aplicáveis em diversas áreas.

---

## 2.5 Caracterização da albufeira de Alqueva – Alentejo

A história da albufeira de Alqueva remonta ao ano de 1920, com a recolha de registos territoriais da região, confirmada em 1958 pelo Plano de Rega do Alentejo. Anos depois, no âmbito do acordo bilateral entre Espanha e Portugal, objetivando a melhoria de gestão e planificação das águas da Península Ibérica foi decidida a construção da albufeira de Alqueva pelos representantes políticos desses Países. Entretanto a obra foi suspensa inúmeras vezes, decorrente de problemas políticos, sociais e ambientais (Wateau 2011).

A albufeira de Alqueva, inaugurada em 2002, é o maior lago artificial da Europa, situado no curso principal rio Guadiana, é uma imensidão de água circundada por uma paisagem natural (Arvela 2013; Rodrigues 2016). Constitui uma das mais potentes obras públicas e investimentos de Portugal no que diz respeito à dimensão e quanto à tentativa de resolver a problemática de recursos hídricos no Alentejo (Arvela 2013).

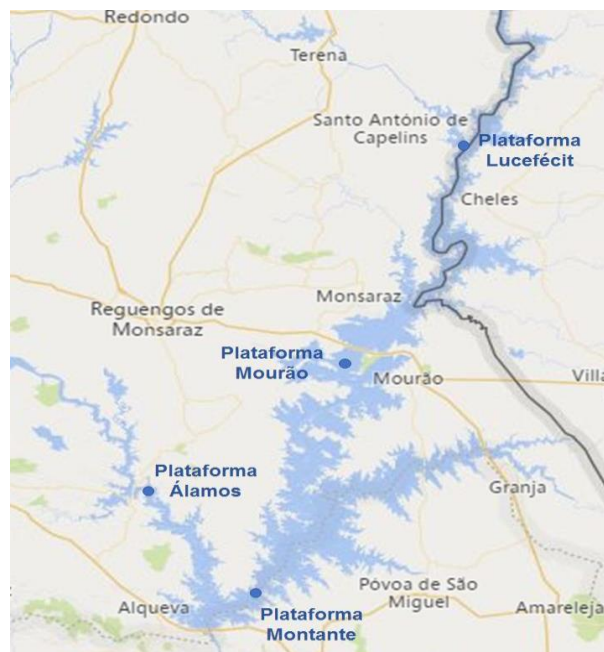
O espelho de água com cerca de 250 km<sup>2</sup> encontra-se repartido por oito concelhos de Portugal, sendo elas: Alandroal, Elvas, Évora, Moura, Mourão, Portel, Reguengos de Monsaraz e Vila Viçosa, e os restantes 35 km<sup>2</sup> encontram-se em Espanha concretamente na província de Badajoz (Comunidad de Extremadura), completando assim um volume total de 4 150 hm<sup>3</sup> dos quais cerca de 3150 hm<sup>3</sup> são de capacidade útil (Rodrigues 2016).

Foi construída com múltiplos aproveitamentos, sendo o principal a constituição de uma reserva hídrica estratégica que possa pôr cobro às necessidades da região, tendo em conta a irregularidade do rio Guadiana, e os periódicos anos de seca que costumam surgir na região. Entre outros aproveitamentos estão: reforço da capacidade de produção de energia hidroelétrica a partir da instalação de uma central hidroelétrica, abastecimento hídrico regular às indústrias e populações, rega destinado as atividades agrícolas, assim como reforço dos atuais reservatórios distribuídos pelo território; criação de potenciais turísticos, monitorização/combate à desertificação e às alterações climáticas e dinamização do emprego na região, desde a construção do empreendimento até à sua plena exploração (Arvela 2013).



A sua construção contribuiu de forma incontestável para o desenvolvimento e sustentabilidade dessa região do país, pois é responsável pela irrigação de cerca de 120.000 hectares de terra agrícola na região alentejana. O sistema de irrigação é constituído por 69 pequenas albufeiras, represas e reservatórios, associado a 382 km de uma rede que faz a conexão entre as pequenas barragens, 1.620 km de redes de condutas secundárias responsáveis por conduzir a água ao terreno dos produtores agrícolas, 47 estações de bombagem de água e 6 pequenas centrais hidroelétricas e uma única central fotovoltaica (Dias-Sardinha et al. 2018).

O empreendimento de Alqueva envolve uma vasta área de rega e compreende vários reservatórios. Neste estudo apenas se considerou a albufeira de Alqueva, recorrendo a plataformas flutuantes localizadas em vários pontos de norte a sul da albufeira (Figura 3).



**Figura 3.** Localização das plataformas do projecto ALOP na albufeira de Alqueva

---

## 2.6 Enquadramento geográfico e problemática hídrica em Cabo Verde

O Arquipélago de Cabo Verde, um país insular, encontra-se situado no Oceano Atlântico, a Oeste da costa do Senegal, a uma distância de cerca de 500 km (Ministério do Ambiente e Agricultura de Cabo Verde 2007; Santos 2011). É constituído por 10 ilhas, 15 ilhéus, e tendo em consideração os ventos alísios de nordeste que atingem o arquipélago encontram-se divididos em dois grupos: Barlavento (Santo Antão, São Vicente, Santa Luzia (desabitada), São Nicolau, Sal e Boavista e seis ilhéus) e Sotavento (Maio, Santiago, Fogo e Brava e sete ilhéus) (Costa 2013; Barreto 2015; Santos 2015).

Localiza-se na zona do Sahel, situação que condiciona a sua condição ambiental caracterizada por um clima tropical seco, com temperatura média anual de 25°C, e grande variação de precipitação, demonstrando-se cada vez mais escassa (Santos 2015). Segundo Oliveira (2011) a média da temperatura do ar apresenta uma certa regularidade anual, com o mês de janeiro o mais frio com uma média de 23,5° e o mês de Outubro o mais quente com uma média de 27,5 °C.

Destacam-se duas épocas climáticas distintas: a estação seca (Novembro a Junho) e a estação húmida ou estação das chuvas (Julho a Outubro) (Ministério do Ambiente e Agricultura, 2007). As chuvas são irregulares e escassas distribuindo-se pelas ilhas de forma heterogénea, com reflexos negativos no abastecimento de água, na pecuária e nas condições de exploração agrícola (Correia et al. 2010; Varela 2016).

A maior ilha do arquipélago é a ilha de Santiago onde fica sediada a cidade da Praia, capital do país. Esta é composta por nove concelhos, onde se distribuem cerca de duzentos mil habitantes (Lima 2014; INE 2018). As principais atividades desenvolvidas são a agricultura (base económica dos concelhos do Interior), a pecuária (como meio de subsistência) e a pesca.

Por dispôr de escassos recursos naturais e enfrentar vários problemas causados pela escassez de água, tem-se observado grande impacto na agricultura, a nível económico e no desenvolvimento do País (Monteiro 2013). Nesse sentido, o governo de Cabo Verde desde meados dos anos 80 vem apostando em estratégias de captação de águas das chuvas e recentemente, na construção de Albufeiras, aposta com o intuito de satisfazer as necessidades agrícolas no país (Santos 2013).


O plano de captação de água das chuvas estabelecia a construção de 17 barragens, 29 diques e mais de 70 furos almejando a captação de aproximadamente 75 milhões m<sup>3</sup>/ano até ao ano 2017, entretanto não se pôde pôr em prática todos os planos por diversas razões, relacionadas com a política e disponibilidade de recursos financeiros assim como cooperações (Shahidian et al. 2014).

No ano 2006, com o apoio do Governo Chinês foi construída a primeira barragem de Cabo Verde – barragem de Poilão, localizada na bacia de Ribeira seca, no concelho de Santa Cruz - Ilha de Santiago, com uma capacidade de cerca de 1,7 milhões de metros cúbicos (Shahidian et al. 2014). Anos depois foram-se inaugurando novas barragens nomeadamente a de Saquinho, Salineiro, Faveta, Figueira Gorda, Flamengos (Santiago), Canto Cagarra (Santo Antão) e Banca Furada (São Nicolau) (Figura 4).

A albufeira de Figueira Gorda considerada uma das maiores infraestruturas no ramo da hidráulica em Cabo Verde, reúne boas condições topográficas, geográficas e possui uma bacia hidrográfica com um grande índice de pluviometria, que é considerado superior à média de toda a ilha de Santiago. Possui uma capacidade de armazenamento superior à das outras barragens (1,8 milhões de metros cúbicos de água, chegando a armazenar o triplo quando comparada com outras barragens (Ferreira 2016; Moreira 2018). A albufeira de Flamengos localizada no Concelho de São Miguel possui capacidade de armazenar aproximadamente 852.600 m<sup>3</sup> de água.



*Figura 4. Albufeiras de Cabo Verde, adaptado de Rodrigues 2014*



---

A construção das albufeiras vem trazendo vários impactos nos vários setores do país: no setor agrícola juntamente com ações de aprimoramento da agricultura, implementação do sistema de rega gota-gota, adoção de culturas hidropônicas e culturas protegidas em estufas, tem contribuído para o crescimento exponencial na produção agrícola. A nível social vem gerando postos de trabalhos aos jovens do meio rural que atualmente trabalham nas estufas gerando autoemprego ou empregos sazonais como forma de geração de rendimento (Rodrigues 2014).

### III. Metodologia

#### 3.1 Recolha de amostras

- **Amostras da albufeira de Alqueva - ALOP**

No âmbito do projeto ALOP foram realizadas 5 campanhas de amostragem na Albufeira de Alqueva em 4 plataformas: Lucefécit, Mourão, Montante e Álamos durante os meses de Abril, Junho, Julho, Setembro e Novembro do ano 2018.

Em cada plataforma recolheu-se 6 -7 litros de água a diferentes profundidades (superfície, 1 metro, 2 metros, 3 metros, fim da zona eufótica, meio da albufeira e fundo da albufeira) utilizando uma garrafa de Van Dorn, com 3,2 L de capacidade. Mediram-se os parâmetros *in situ* (Temperatura, pH, turbidez, condutividade e oxigénio dissolvido) apresentados na tabela 3 recorrendo a uma sonda multiparamétrica.

Preencheu-se a ficha de campo com as informações sobre as condições meteorológicas, e se determinou a profundidade da zona eufótica multiplicando a profundidade do disco de Secchi x 2.5. No total foram recolhidas 140 amostras no projeto ALOP.

- **Amostras de Cabo Verde**

Foram recolhidas amostras de água em 3 Albufeiras da ilha de Santiago (Poilão, Figueira Gorda e Flamengos) no mês de outubro de 2018. Congelaram-se as amostras para trazer para Portugal. Mediram-se os parâmetros *in situ* – tabela 3 (Temperatura, pH, Turbidez, condutividade e oxigénio dissolvido).

**Tabela 3.** Parâmetros *in situ* medidos para a caracterização Físico-química.

Parâmetros	Unidades	Método de análise
Temperatura	(°C)	Sonda multiparamétrica (AquaTROL 600 IN-SITU)
pH	Escala de Sorensen	
Condutividade	(µS/cm)	
Oxigénio dissolvido	%sat O <sub>2</sub>	
Turbidez	NTU	

## 3.2 Análise Laboratorial

- **Determinação de Clorofila a:** foi feita com base na norma NP 4327:1996 e EN ISO 10260:1992, no Standard Methods 10200H. Essa análise foi efetuada pelos técnicos do Laboratório da Água.

Resumidamente baseia-se na filtração da amostra em filtros de fibra de vidro (Papel filtro fibra vidro GF/C 47mm cx 10u 0002418 48,20 Whatman), introduzi-los nos respetivos tubos devidamente identificados, adicionar 8 ml de acetona a 90% com uma micropipeta, macerar e deixar no frio (4°C) durante 8 – 20 horas.

Centrifugar (centrofriger - BL II P selecta) durante 20 minutos a 4000 rpm e realizar a leitura espectrofotométrica do extrato imediatamente após a centrifugação.

Realizou-se a acidificação das amostras adicionando 100 µl de ácido clorídrico (HCl 0.1N) na cuvete e misturar cuidadosamente, esperar 1 minuto e medir outra vez a absorvância do extrato da amostra a 750 nm e a 665 nm contra o branco de acetona a 90%. Esse procedimento é feito para corrigir a Clorofila e só é feita quando se pretende determinar a Clorofila usando as equações de Lorenzen.

Determinar a concentração de Clorofila utilizando uma das duas equações: Monocromática de Lorenzen - 1967 (tabela 4) ou Tricromática de Jeffrey & Humphrey- 1975 (tabela 5).

**Tabela 4.** Equação monocromática de Lorenzen - Determinação de Clorofila a e de Feopigmentos.

Pigmento	Equação
Clorofila a	$\text{Chl a (mg/m}^3) = 11.4 \times K \times [(A_{665} - A_{750}) - (A_{665A} - A_{750A})] \times V_1 / (V_2 \times I)$
Feopigmentos	$\text{Feo (mg/m}^3) = 11.4 \times K \times [R \times (A_{665A} - A_{750A}) - (A_{665} - A_{750})] \times V_1 / (V_2 \times I)$

**Tabela 5.** Equações tricromáticas de Jeffrey & Humphrey - Determinação da Clorofila a, b e c.

Pigmento	Equação
Clorofila a	$\text{Chl a (mg/m}^3) = [11.85 (A_{664} - A_{750}) - 1.54 (A_{647} - A_{750}) - 0.08(A_{630} - A_{750})] \times V_1 / (V_2 \times I)$
Clorofila b	$\text{Chl b (mg/m}^3) = [-5.43 (A_{664} - A_{750}) + 21.03 (A_{647} - A_{750}) - 2.66 (A_{630} - A_{750})] \times V_1 / (V_2 \times I)$
Clorofila c	$\text{Chl c (mg/m}^3) = [-1.67 (A_{664} - A_{750}) - 7.60 (A_{647} - A_{750}) + 24.52 (A_{630} - A_{750})] \times V_1 / (V_2 \times I)$

- **Determinação de Ficobiliproteínas:** Inicialmente realizou-se um teste de otimização com amostras recolhidas num charco próximo do Laboratório da Água e a sua análise foi feita em triplicado para a cada condição testada

A sociedade científica tem pautado por escolhas de métodos otimizados como forma de aprimorar o trabalho laboratorial, diminuindo os gastos e aumentando a eficiência e eficácia da técnica/método.

Neste trabalho, com o intuito de otimizar o protocolo para a determinação de Ficobiliproteínas testou-se algumas condições, já anteriormente utilizadas em outros trabalhos de pesquisas, a fim de verificar qual das condições apresentava um resultado mais eficiente na determinação desse pigmento.

Para extração de Ficobiliproteínas usualmente utiliza-se o método de congelamento/descongelamento, demonstrando grande grau de efetividade, pois esse método provoca a destruição da barreira de permeabilidade celular, permitindo a saída do material interno da célula. O ciclo de congelação/descongelação geralmente é feito a uma temperatura de -20°C para congelar e 4°C ou temperatura ambiente para o processo de descongelamento. Geralmente, em associação com o método congelação/descongelação, usa-se a sonicação que é um método que utiliza ultrassons para destruir estruturas celulares gerando elevadas pressões sobre uma amostra em solução.

A sua aplicação é aconselhável apenas em amostras pequenas, uma vez que para amostras volumosas, é necessário mais tempo e muitas vezes é difícil conduzir energia de forma suficiente para atuar em todas as amostras. Por outro lado, a energia das ondas pode ser convertida em calor, que conseqüentemente irá influenciar o equilíbrio da porção proteica dos pigmentos (Li et al. 2019). As condições testadas para a otimização do protocolo estão apresentadas na tabela 6.

**Tabela 6.** Condições testadas no teste de otimização para a extração de Ficobiliproteínas

Condições		Características
Tipo de material dos tubos	Tubo de vidro	De 10 ml
	Tubo de plástico	
Temperatura do banho de ultrassom	Temperatura ambiente	20°C
	Fria	4°C
Tipo de solução tampão	Com NaCl	10 mM de (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O) e 150 mM de NaCl, pH 7
	Sem NaCl	10 mM (10 mM de Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O), pH 7

---

Para a preparação do tampão de extração pesaram-se os compostos, misturou-se água destilada e adequou-se o pH (7) com auxílio de um medidor de pH (Metrohm), adicionando ácido clorídrico (HCl).

Seguindo procedimento adaptado do estudo de Horváth et al. 2013, apresentado em detalhe no Anexo 1

---

1. Filtrar um volume de amostra em filtro (Papel filtro fibra vidro GF/C 47mm cx 10u 0002418 48,20 Whatman).
  2. No tubo, colocar o filtro e macerar adicionando 6 mL de solução tampão fosfato e transferir para um tubo de vidro. (Alternativa: se possível macerar o filtro dentro do tubo de vidro).
  3. Fazer ciclos de congelação: 1) congelar durante 3 horas a  $-20^{\circ}\text{C}$ ; 2) descongelar a temperatura ambiente; 3) congelar durante a noite a  $-20^{\circ}\text{C}$  e 4) descongelar durante 24 horas a  $4^{\circ}\text{C}$ .
  4. Colocar os tubos no aparelho de ultrassom (Transsonic T660/H Elma) durante 60 segundos, com pausa de 60 segundos, repetir 4 vezes. Fazer os ciclos com o banho a temperatura ambiente ou a frio.
  5. Centrifugar (Centrifriger – BL II P selecta) a 5000 rpm durante 40 minutos, a  $10^{\circ}\text{C}$ .
  6. Transferir o sobrenadante para outro tubo (este sobrenadante é o que contém maior concentração de Ficobiliproteínas).
  7. Com auxílio do espectrofotômetro ler as absorvâncias a 562, 620, 652, 675 e 750 nm no sobrenadante e fazer análise espectrofotométrica.
- 

Após o teste de Otimização, tendo em conta a melhor condição para a determinação da concentração das Ficobiliproteínas, seguiu-se o protocolo que apresentou melhores resultados, aplicando-o as 143 amostras que se pretendia estudar. A determinação da concentração de Ficobiliproteínas foi calculada tendo em conta as equações propostas por Lauceri et al. 2017 (tabela 7).



**Tabela 7.** Equações para determinação da concentração de Ficobiliproteínas (mg/mL).

Ficobiliproteína	Equação
Ficocianina	$[PC] = (Abs620 - 0.474Abs652)/5.34$
Aloficocianina	$[APC] = (Abs652 - 0.208Abs620)/5.09$
Ficoeritrina	$[PE] = (Abs652 - 2.41[PC] - 0.849[APC])/9.62$
PC – Ficocianina, APC – Aloficocianina, PE - Ficoeritrina	

- **Medição dos parâmetros Físico-químicos:** Para todas as amostras, realizou-se a medição dos parâmetros físico-químicos seguindo os métodos abaixo indicados na tabela 8. A análise destes parâmetros foi efectuada pelos técnicos do Laboratório da Água.

**Tabela 8.** Parâmetros físico-químicos medidos no Laboratório e respetivo método de análise.

Parâmetros	Unidades	Método de análise	Referência
Nitratos	(mg/L N)	Coluna de Cádmio + Espectrofotómetro	SMEWW4500NO3E*
Azoto total	(mg/L N)		SMEWW4500NO3E*
Nitritos	(mg/L N)	Espetrometria de Absorção molecular	SMEWW4500NO2B*
Fosfatos	(mg/L P)		SMEWW4500-PE*
Fósforo total	(mg/L P)		Rodier
*SMEWW 2012			

**Identificação Fitoplanctónica:** foi feita usando câmaras de sedimentação e com auxílio de microscópio ótico de inversão, seguindo o método de Utermohl, baseados na norma EN 15204: 2006, no Standard Methods 10200F e 10200I. Essa análise foi efetuada pelos técnicos do Laboratório da Água, e só foi realizada nas amostras de Cabo Verde.

- **Análise por Biologia molecular**

Essa técnica foi aplicada somente às amostras das albufeiras de Cabo Verde, pois tem-se ainda poucas informações acerca do estudo das albufeiras de Cabo Verde usando recurso à biologia molecular, e porque serve como uma técnica complementar no estudo das Cianobactérias usando pigmentos fotossintéticos.

Para a extração de DNA total das amostras de água das albufeiras de Cabo Verde recorreu-se ao kit de extração E.Z.N.A.® Water DNA Kit seguindo as instruções do fabricante, seguido de determinação da concentração de DNA total por Espectrofotometria de Absorção Molecular usando a referência Dortch et al. (1983), seguindo a referida equação:

$$[\text{DNA total}] (\text{ng}/(\mu\text{L})) = \text{Abs}_{260\text{nm}} * 50 \text{ ng}/\mu\text{L} * \text{fator de diluição}$$

De seguida aplicou-se a técnica de PCR em tempo real e Eletroforese.

- **PCR em tempo real**

Para a determinação da presença de Cianobactérias e genes produtores de toxinas, por PCR em tempo real, foram selecionados 7 genes. As sequências de *primers* utilizados, o respetivo tamanho do produto esperado em pares de bases (pb) e as referências podem ser observadas na tabela 9.

Essa técnica foi aplicada às amostras das albufeiras de Flamengos, Figueira Gorda e Poilão.

**Tabela 9.** Sequências dos primers específicos para os genes alvos estudados com os respetivos tamanhos do produto PCR esperados e referências bibliográficas.

Nr.	Gene Alvo	Sequencia do primer 5'-3'	Tamanho (bp)	Referência	Observações
1	16S rRNA	AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG GCTTCGGCACGGCTCGGGTCGATA	780	Neilan et al.1997; Jungblut et al.2005	Gene universal para Cianobactérias
2	<i>mcyA</i>	AAAATTTAAAAGCCGTATCAAA AAAAGTGTTTTATTAGCGGCTCAT	297	Hisbergues et al.2003	Genes específicos para regiões A, B e E do gene da Microscistina (2, 3 e 4) e gene específico para região comum de Microscistina e Nodularina (5)
3	<i>mcyB</i>	TGGGAAGATGTTCTTCAGGTATCCAA AGAGTGGAAACAATATGATAAGCTAC	350	Nonneman e Zimba 2002	
4	<i>mcyE</i>	CGCAAACCCGATTTACAG CCCCTACCATCTTCATCTTC	755	Quahid et al.2005	
5	<i>mcyE/nda</i>	TTTGGGGTTAACTTTTTGGCCATAGTC AATTCTTGAGGCTGTAAATCGGGTTT	472	Jungblut e Neilan 2006	
6	Péptido sintetase	GGCAAATGTGATAGCCACGAGC GATGGAACATCGCTCACTGGTG	597	Schembri et al. 2001	
7	Poliquetido sintetase	GAAGCTCTCTGGAATCCGGTAA AATCCTTACGGGATCCGGTGC	650	Schembri et al.2001	Poliquetido sintetase da Cilindropermopsina

Para cada corrida de PCR utilizaram-se os reagentes descritos na tabela 10 e seguiu-se o protocolo na tabela 11.

**Tabela 10.** Reagentes utilizados na reação de PCR em tempo real com respectivas concentrações.

Reagente	Concentração solução stock	Concentração dentro de cada tubo	Volumes por reação
<i>iTaq Supermix (Bio-Rad)</i>	2X	1X	10
<i>Forward primer</i>	10 µM	250 nM	0,5
<i>Reverse primer</i>	10 µM	250 nM	0,5
<i>BSA</i>	10 µM	0,5 µM	1,0
<i>Água estéril</i>	-	-	7
<i>DNA</i>	-	-	1 µL
<i>Volume por poço</i>	20 µL		

**Tabela 11.** Protocolo de cada corrida de PCR em tempo real.

Passo	Temperatura	Tempo	Nr. ciclos
<i>Desnaturação Inicial</i>	95 °C	5 min	1
<i>Desnaturação</i>	95 °C	10 seg	40
<i>Alinhamento</i>	58 °C	20 seg	
<i>Alongamento</i>	72 °C	30 seg	
<i>“Melting” point</i>	65 – 95 °C	De 0,5 seg em 0,5 seg	-


O resultado do PCR em tempo real foi analisado recorrendo ao software Bio-Rad CFX manager Industrial Diagnostic edition 2.2. e confirmado por eletroforese em gel de agarose 1%.

### 3.3 Análise estatística

A análise estatística fez-se recorrendo ao software Excel e aos programas estatísticos STATISTICA 8.0 (StatSoft Inc. 2001), e SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., Chicago, IL)”. Os testes realizados foram, teste de Normalidade, Teste não paramétrico (Kruskal-Wallis test e Mann-Whitney tests), assim como teste correlação de Pearson.

O teste de normalidade foi realizado para ver se os dados seguiam uma distribuição normal, mesmo sabendo que no geral as amostras ambientais não seguem uma distribuição normal, foi necessário realizá-lo para poder a partir daí dar sequência a outros testes.

Os testes não paramétricos Kruskal-Wallis test e Mann-Whitney tests foram usados para analisar a significância ou não entre as matrizes no caso observar se existia diferença ou



---

não de concentrações dos pigmentos por meses, plataformas ou por profundidades. Por sua vez o teste de correlação de Pearson foi realizado com o intuito de ver se existia ou não uma relação entre os diferentes pigmentos.

## IV. Resultados e Discussão

### 4.1 Otimização de Protocolos para extração e determinação da concentração de ficobiliproteínas

De todas as condições testadas, observou-se que a condição na qual se obtiveram valores de Ficobiliproteínas superiores foi em tubo de vidro, com sonicação em água fria (4°C) e a extração feita com tampão com NaCl (tabela 12, valores assinalados a negrito e com \*), para todos os subtipos de Ficobiliproteínas (Ficocianina, Ficoeritrina e Aloficocianina). Por essa razão escolheram-se estas condições para aplicar às amostras alvos de estudos.

**Tabela 12.** Resultados da otimização - determinação de Ficobiliproteínas (mg/mL). Os valores a negrito nos resultados representam os valores mais elevados.

		Plástico		Vidro	
		Água 20°C	Água 4°C	Água 20°C	Água 4°C
PC	com NaCl	1,658	1,749	1,85	<b>4,813*</b>
	sem NaCl	2,759	1,421	2,65	1,936
APC	com NaCl	1,006	1,009	1,302	<b>4,329*</b>
	sem NaCl	1,38	0,98	1,758	1,437
PE	com NaCl	1,99	2,046	2,262	<b>4,614*</b>
	sem NaCl	2,963	1,497	3,338	2,267

PC – Ficocianina, APC – Aloficocianina, PE - Ficoeritrina

O banho de sonicação teve melhor prestação em água fria, o que já se esperava, pois, o processo de sonicação em si gera uma corrente de calor que pode degradar esses pigmentos. Logo, ao efetuar a sonicação com água a baixa temperatura diminui o risco de degradação desses pigmentos (Horváth et al. 2013; Li et al. 2019). O uso de tampão fosfato salino é muito importante na medida que a sua função é manter o pH da solução.

## 4.2 Amostras Alqueva - Projeto ALOP

### 4.2.1 Clorofila *a*

A agência Portuguesa do Ambiente no Plano de Gestão de Região hidrográfica 2016/2021, estabelece o valor de referência de Clorofila *a* para as albufeiras do Sul para 1,6 ug/L, um rácio de qualidade ecológica (RQE) de 0,17, e o valor guia estabelecido para a fronteira Bom/Razoável é de 9,5 ug/L. Recordando que para as albufeiras do Sul o cálculo do RQE os valores a utilizar deverão corresponder a médias anuais (INAG 2009).

Com base nesses dados calculou-se o RQE dos valores da Clorofila *a*, e verificou-se que o RQE ultrapassou os valores guia de fronteira Bom/Razoável praticamente em todas as campanhas e plataformas, com alguns valores abaixo da fronteira observados no meio e fundo. Os resultados encontram-se apresentados no Anexo 2 (tabela A1).

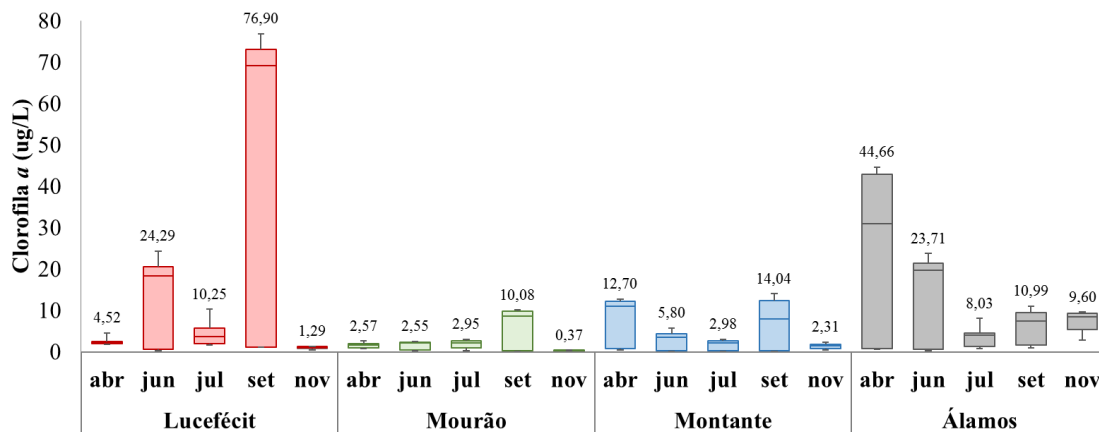
#### 4.2.1.1 Diferenças entre plataformas e campanhas

Os valores das medianas, mínimos e máximos atingidos durante as campanhas de amostragem, nas diferentes plataformas, estão apresentados na tabela 13.

**Tabela 13.** Valores de Clorofila *a* ( $\mu\text{g/L}$ ) [Mediana (mínimo - máximo)], nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem. ( $n=140$ ). Os valores a negrito representam os valores mais elevados.

	Lucefécit	Mourão	Montante	Álamos	Todas as plataformas
<b>Abril</b>	2,11 (1,77 - 4,52)	1,55 (0,89 - 2,57)	11,08 (0,42 - 12,70)	31,03 (0,59 - 44,66)	2,33 (0,42 - 44,66)
<b>Junho</b>	18,26 (0,18 - 24,29)	2,13 (0,30 - 2,55)	3,58 (0,09 - 5,80)	19,72 (0,27 - 23,71)	3,30 (0,09 - 24,29)
<b>Julho</b>	3,69 (1,66 - 10,25)	2,14 (0,28 - 2,95)	2,12 (0,09 - 2,98)	3,97 (0,78 - 8,03)	2,59 (0,09 - 10,25)
<b>Setembro</b>	<b>69,14 (1,11 - 76,90)</b>	8,64 (0,11 - 10,08)	7,85 (0,09 - 14,04)	7,48 (0,89 - 10,99)	8,42 (0,09 - 76,90)
<b>Novembro</b>	1,02 (0,44 - 1,29)	0,28 (0,16 - 0,37)	1,39 (0,44 - 2,31)	8,40 (2,88 - 9,60)	1,11 (0,16 - 9,60)
<b>Todas as campanhas</b>	2,55 (0,18 - 76,60)	1,55 (0,11 - 10,08)	2,49 (0,09 - 14,04)	8,03 (0,27 - 44,66)	-

Com base nos resultados obtidos observou-se que os valores máximos de Clorofila *a* foram atingidos na plataforma de Lucefécit no mês de Setembro. Mourão foi a plataforma com os valores inferiores (tabela 13/Figura 5).



**Figura 5.** Concentração de Clorofila *a* ( $\mu\text{g/L}$ ), nas várias campanhas de amostragem, nas diferentes plataformas. Caixa = intervalo interquartil, Traço = mediana, Bigodes = máximos e mínimos.

O Kruskal-Wallis test comprova que de uma forma geral existem diferenças significativas entre as Plataformas ao longo das campanhas ( $p=0,0025$ ). Observa-se que a plataforma de Lucefécit apresentou maior variabilidade e valores máximos superiores às restantes plataformas, exceto na campanha de Abril, quando valores superiores foram registados nas plataformas de Montante e Álamos.

Registou-se em Lucefécit (tabela 13) uma grande diferença entre os valores mínimos e máximos ( $0,18 - 76,90 \mu\text{g/L}$ ). Como antes citado, o mês de Setembro foi o que teve maior variação dos valores de Clorofila *a* registados, porém também se verifica que no mês de Abril teve valores elevados, mantendo-se o mês de Junho e Julho com medianas semelhantes. Os valores mais baixos de Clorofila *a* foram detetados no mês de Novembro com valor máximo de  $9,60 \mu\text{g/L}$ , detetado em Álamos (tabela 13).

Nesse sentido tendo em conta o valor guia estabelecido para a fronteira Bom/Razoável pela agência Portuguesa do Ambiente no Plano de Gestão de Região hidrográfica 2016/2021, podemos referir que no mês de Novembro, de uma forma geral, todas as plataformas registaram valores de clorofila *a* abaixo do valor limite para o Bom Potencial ecológico que é de  $9,5 \mu\text{g/L}$ , com exceção de Álamos que ultrapassou um pouco o valor de referência.

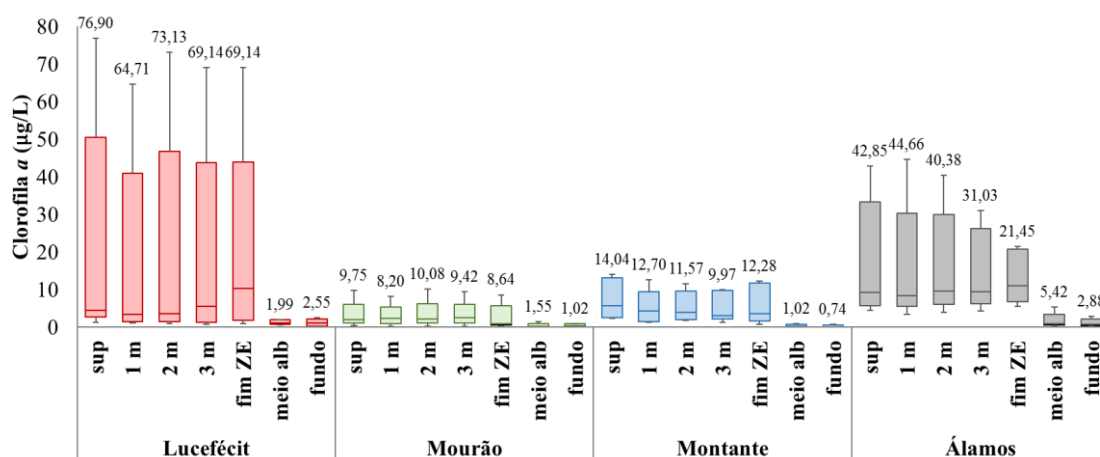
### 4.2.1.2 Diferenças entre plataformas e profundidades

Os valores das medianas, mínimos e máximos atingidos ao longo da coluna de água, nas diferentes plataformas, estão apresentados na tabela 14.

**Tabela 14.** Valores de Clorofila *a* ( $\mu\text{g/L}$ ) [mediana (mínimo - máximo)] nas diferentes plataformas por profundidade na coluna de água. ( $n=140$ ). Os valores a negrito representam os valores mais elevados.

	Luçefécit	Mourão	Montante	Álamos	Todas as plataformas
<b>Superfície</b>	<b>4,52 (1,29 - 76,90)</b>	<b>1,98 (0,37 - 9,75)</b>	<b>5,80 (2,31 - 14,04)</b>	<b>9,33 (4,54 - 42,85)</b>	5,17 (0,37 - 76,90)
<b>1 m</b>	<b>3,42 (1,20 - 64,71)</b>	<b>2,33 (0,28 - 8,20)</b>	<b>4,34 (1,39 - 12,70)</b>	<b>8,40 (3,51 - 44,66)</b>	3,93 (0,28 - 64,71)
<b>2 m</b>	<b>3,69 (0,92 - 73,13)</b>	<b>2,14 (0,32 - 10,08)</b>	<b>3,99 (1,85 - 11,57)</b>	<b>9,60 (3,97 - 40,38)</b>	3,98 (0,32 - 73,3)
<b>3 m</b>	<b>5,63 (0,74 - 69,14)</b>	<b>2,57 (0,16 - 9,42)</b>	<b>3,02 (1,39 - 9,97)</b>	<b>9,38 (4,25 - 31,03)</b>	4,94 (0,16 - 69,14)
<b>Fim Z.E.</b>	<b>10,25 (1,02 - 69,14)</b>	<b>0,89 (0,32 - 8,64)</b>	<b>3,58 (0,83 - 12,28)</b>	<b>10,99 (5,54 - 21,45)</b>	6,79 (0,32 - 69,14)
<b>Meio</b>	1,20 (0,53 - 1,99)	0,30 (0,18 - 1,55)	0,28 (0,18 - 1,02)	0,89 (0,62 - 5,42)	0,68 (0,18 - 5,42)
<b>Fundo</b>	1,11 (0,18 - 2,55)	0,35 (0,11 - 1,02)	0,09 (0,09 - 0,74)	0,78 (0,27 - 2,88)	0,52 (0,09 - 2,88)
<b>Todas as profundidades</b>	2,55 (0,18 - 76,90)	1,55 (0,11 - 10,08)	2,49 (0,09 - 14,04)	8,03 (0,27 - 44,66)	

Verifica-se que as maiores concentrações de Clorofila *a* como mostram a tabela 14 e Figura 6, foram registadas até ao fim da zona eufótica. A zona eufótica reflete a profundidade em que a radiação fotossintética é disponível (Lee et al. 2007).



**Figura 6.** Concentração de Clorofila *a* ( $\mu\text{g/L}$ ), nas várias profundidades amostradas, nas diferentes plataformas. Caixa = intervalo interquartil, Traço = mediana, Bigodes = máximos e mínimos.

Fato comprovado pelo Kruskal-Wallis test que demonstrou que de uma forma geral existe diferença de concentração de Clorofila *a* por profundidade ( $p=1.26 \times 10^{-10}$ ), entretanto o Pairwise Mann-Whitney tests mostrou que da superfície até ao fim da zona eufótica não teve diferença significativa ( $p=0.5792$ ), uma vez que os valores encontrados mostraram



---


grande variabilidade. Por outro lado, quando comparadas com os valores do meio e fundo existe uma diferença significativa ( $p=0.001$ ), pois as concentrações de Clorofila *a* encontradas a essas profundidades foram muito baixas comparadas às encontradas nos níveis superiores.

O teste de Kruskal-Wallis mostra que relativamente à profundidade, para os meses de Abril ( $p=0,078$ ) e Novembro ( $p=0,893$ ) não existem diferenças significativas nos valores de Clorofila *a* registados. Por outro lado, os meses de Junho, Julho e Setembro apresentaram diferenças significativas relativamente à profundidade com  $p=0,0074$ ;  $0,0063$ ; e  $0,0061$  respetivamente.

Esse facto pode estar relacionado com a estratificação da albufeira no período do verão, no qual, perante temperaturas elevadas ocorre aquecimento das águas superficiais que a torna menos densa, enquanto que as zonas mais profundas da albufeira a temperatura da água é baixa e por conseguinte mais densa, ocorrendo assim o fenómeno de estratificação térmica, onde há formação de diferentes camadas. Entretanto quando a temperatura da atmosfera começa a baixar, consequentemente há uma redução da temperatura da água, o que faz com que a densidade da água aumente também, o que faz com que a água à superfície comece a descer e assim se inicia o processo de *turnover*, onde se formam correntes de convecção e o que está acumulado no fundo vem até à superfície.

A Clorofila *a* é o pigmento mais utilizado para avaliar a biomassa fitoplanctónica, pois quando a quantidade de fitoplâncton aumenta a de Clorofila *a* também aumenta (Sriyasa et al. 2015), no entanto é muito influenciada pela disponibilidade de nutrientes. Porém em reservatórios eutróficos esse problema não se verifica, pois, os nutrientes encontram-se distribuídos ao longo da coluna de água, no entanto a intensidade de luz diminui com a profundidade (Rocha-Júnior 2018), isso justifica o facto das maiores concentrações de Clorofila *a* serem encontradas nas profundidades onde há incidência da luz solar.

Nas camadas mais profundas dos reservatórios, a intensidade da luz é menor porque os fotões geralmente são absorvidos pela água ou pelas espécies fitoplanctónicas que



---

quando presentes na superfície impedem a penetração da luz solar nas camadas mais profundas (Sriyasak et al. 2015).

---

## 4.2.2 Ficobiliproteínas

Uma grande variedade de pigmentos compõe as espécies fitoplanctónicas, e as suas quantidades são utilizadas inúmeras vezes a fim de definir a biomassa fitoplanctónica. Desses pigmentos destacam-se 3 grupos responsáveis pela captação da luz e pela fotoproteção que são as Clorofilas, Carotenoides e Ficobiliproteínas (Ismail & Osman 2016).

A Ficobiliproteína é o principal pigmento fotossintético das Cianobactérias, responsável por cerca de 50 % da captura de luz desse grupo. Assim sendo a sua determinação oferece informações da quantidade de Cianobactérias presente em uma determinada amostra em estudo.

### 4.2.2.1 Diferenças entre plataformas e campanhas

Observa-se que os valores máximos de Ficobiliproteínas (tabela 15) foram registadas no mês de Setembro para todas as Plataformas, sendo a mais elevada em Luceférit, seguido de Mourão, Montante e Álamos. O Kruskal-Wallis test que demonstrou que de uma forma geral existe diferença de concentração de Ficobiliproteína por campanha ( $p= 0,001482$ ).

Das 4 plataformas, observa-se que a que teve maior concentração de ficobiliproteína foi a que se localiza mais a montante do paredão da albufeira (Figura 7). Acredita-se que a variação hidrodinâmica tenha interferido nesse resultado.

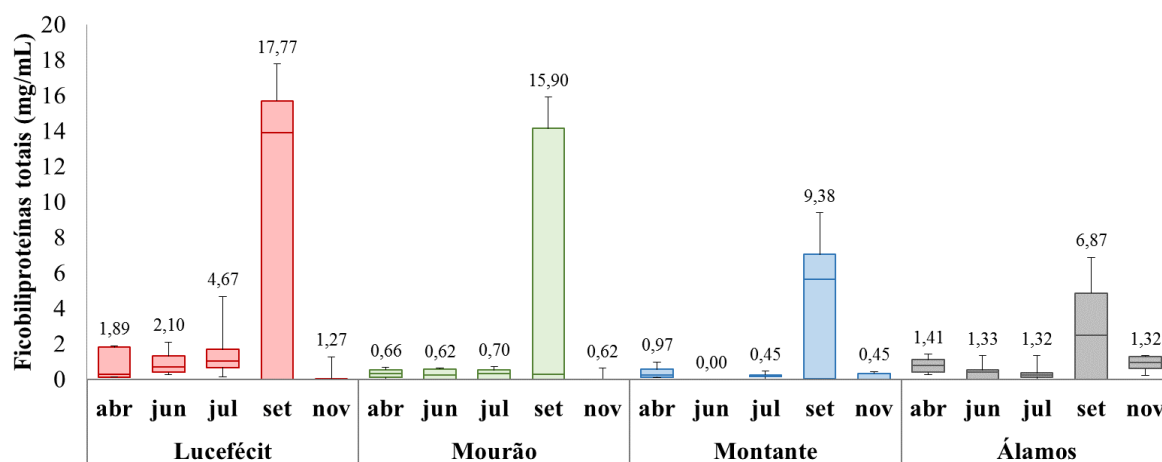
Esse resultado era esperado pois estudos indicam que em Portugal os *blooms* de Cianobactérias ocorrem, geralmente, desde a primavera até o princípio do outono (Bellém 2012). Outro estudo realizado afirmou que as Cianobactérias são dominantes entre os meses de Junho a Setembro (Morais et al. 2018), que são os meses de Verão, quando as temperaturas são mais elevadas.

As Cianobactérias têm um aumento de crescimento e desenvolvimento no verão, pois temperaturas elevadas é um fator determinante no domínio e crescimento de suas florações, nessas condições conseguem assimilar melhor os nutrientes, facilitando o seu crescimento (Wejnerowski et al. 2018).

**Tabela 15.** Valores de Ficobiliproteínas totais (mg/mL) [Mediana (mínimo- máximo)] nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem. (n=140). Os valores a negrito representam os valores mais elevados.

	Lucefécit	Mourão	Montante	Álamos	Todas as plataformas
<b>Abril</b>	0,30 (0,12 - 1,89)	0,32 (0,00 - 0,66)	0,24 (0,10 - 0,97)	0,76 (0,26 - 1,41)	<i>0,33 (0,00 - 1,89)</i>
<b>Junho</b>	0,71 (0,27 - 2,10)	0,24 (0,00 - 0,62)	0,00 (0,00 - 0,00)	0,39 (0,00 - 1,33)	<i>0,26 (0,00 - 2,1)</i>
<b>Julho</b>	1,03 (0,12 - 4,67)	0,34 (0,00 - 0,70)	0,16 (0,00 - 0,45)	0,24 (0,00 - 1,32)	<i>0,26 (0,00 - 4,67)</i>
<b>Setembro</b>	<b>13,92 (0,00 - 17,77)</b>	<b>0,27 (0,00 - 15,90)</b>	<b>5,63 (0,00 - 9,38)</b>	<b>2,49 (0,00 - 6,87)</b>	<i>3,02 (0,00 - 17,77)</i>
<b>Novembro</b>	0,00 (0,00 - 1,27)	0,00 (0,00 - 0,62)	0,00 (0,00 - 0,45)	0,95 (0,20 - 1,32)	<i>0,00 (0,00 - 1,32)</i>
<b>Todas as campanhas</b>	<i>0,60 (0,00 - 17,77)</i>	<i>0,23 (0,00 - 15,90)</i>	<i>0,16 (0,00 - 9,38)</i>	<i>0,52 (0,00 - 6,87)</i>	

Em contrapartida o mês de Novembro (Figura 7) foi onde se determinou menor concentração de Ficobiliproteínas, isso pode ser explicado devido ao facto desse pigmento ser característico das Cianobactérias, que por conseguinte sofrem variações com as alterações climáticas, e no inverno com a diminuição da temperatura há menos ocorrência de Cianobactérias e consequentemente das Ficobiliproteínas (Wejnerowski et al. 2018)



**Figura 7.** Concentração de Ficobiliproteínas totais (mg/mL), nas várias campanhas de amostragem, nas diferentes plataformas. Caixa = intervalo interquartil, Traço = mediana, Bigodes = máximos e mínimos.

#### 4.2.2.2 Diferenças entre plataformas e profundidades

Semelhante à Clorofila *a*, as maiores concentrações de Ficobiliproteínas (tabela 16/Figura 8) foram determinadas até ao nível de incidência de luz solar - zona eufótica, sendo que neste caso a diferença é menos visível comparada com a da Clorofila *a*. No meio e no fundo a concentração de Ficobiliproteínas determinada foi muito baixa.

As Cianobactérias possuem a capacidade de regular a sua posição na coluna da água, comumente são encontradas na superfície aquática, no entanto estudos indicam que podem formar florações na coluna de água em diferentes profundidades (Rapala et al.1997). Posto isso, justifica-se o facto de serem determinadas concentrações, ainda que baixas, de Ficobiliproteínas em zonas mais profundas (meio e fundo).

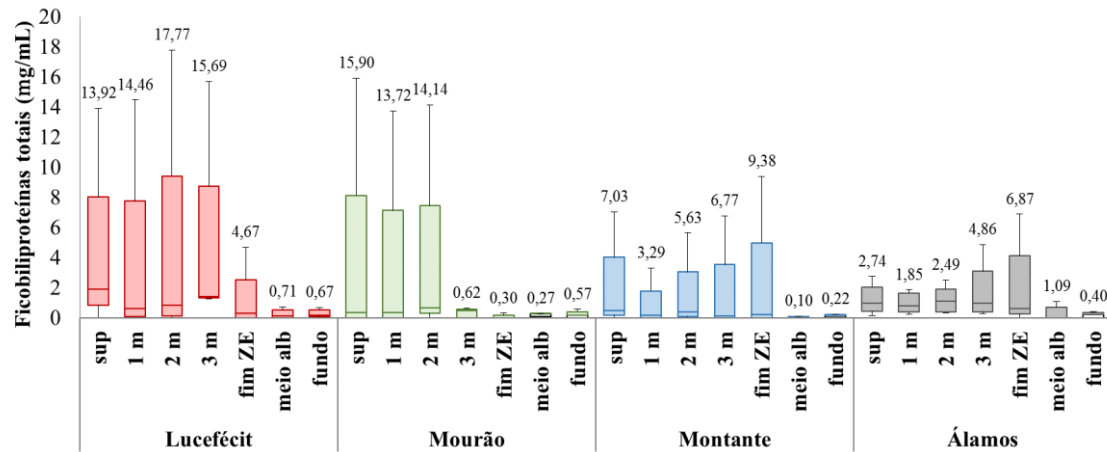
**Tabela 16.** Valores de Ficobiliproteínas totais (mg/mL) [mediana (mínimo - máximo)] nas diferentes plataformas por profundidade na coluna de água.(n=140). Os valores a negrito representam os valores mais elevados.

	Lucefécit	Mourão	Montante	Álamos	Todas as plataformas
<b>Superfície</b>	<b>1,89 (0,00 - 13,92)</b>	<b>0,32 (0,00 - 15,90)</b>	<b>0,45 (0,00 - 7,03)</b>	<b>0,95 (0,12 - 2,74)</b>	0,85 (0,00 - 15,9)
<b>1 m</b>	<b>0,60 (0,00 - 14,46)</b>	<b>0,33 (0,00 - 13,72)</b>	<b>0,16 (0,00 - 3,29)</b>	<b>0,77 (0,24 - 1,85)</b>	0,40 (0,00 - 14,46)
<b>2 m</b>	<b>0,84 (0,00 - 17,77)</b>	<b>0,66 (0,00 - 14,14)</b>	<b>0,39 (0,00 - 5,63)</b>	<b>1,11 (0,36 - 2,49)</b>	0,64 (0,00 - 17,77)
<b>3 m</b>	<b>1,42 (1,27 - 15,69)</b>	<b>0,48 (0,00 - 0,62)</b>	<b>0,13 (0,00 - 6,77)</b>	<b>0,95 (0,25 - 4,86)</b>	0,57 (0,00 - 15,69)
<b>Fim Z.E.</b>	0,27 (0,00 - 4,67)	0,00 (0,00 - 0,30)	0,20 (0,00 - 9,38)	0,60 (0,00 - 6,87)	0,24 (0,00 - 9,38)
<b>Meio</b>	0,12 (0,00 - 0,71)	0,23 (0,00 - 0,27)	0,00 (0,00 - 0,10)	0,00 (0,00 - 1,09)	0,05 (0,00 - 1,09)
<b>Fundo</b>	0,14 (0,01 - 0,67)	0,16 (0,00 - 0,57)	0,16 (0,00 - 0,22)	0,20 (0,00 - 0,40)	0,16 (0,00 - 0,67)

De acordo com a tabela 16 observou-se que as concentrações mais elevadas de Ficobiliproteínas foram encontradas em Lucefécit com um máximo de 17,77mg/mL (2m), 15.69mg/mL (3m), seguido de Mourão (15,90 mg/mL, superfície). Os valores mínimos das medianas das concentrações de Ficobiliproteínas (tabela 16) foram registados no meio (0.05mg/mL) e no fundo da albufeira (0.16mg/mL) para todas as plataformas. É visível uma grande diminuição de concentração de Ficobiliproteínas determinadas nessas profundidades em todas as plataformas. Estudos indicam que alguns géneros de Cianobactérias são capazes de alterar a sua flutuabilidade, permitindo-lhes sobreviver em águas mais profundas (Paerl & Paul 2012).

O Kruskal-wallis test demonstrou que de uma forma geral, existem diferenças significativas na concentração de Ficobiliproteínas por profundidade com valor de ( $p=$

0.001). Entretanto analisando separadamente os meses não existe diferença significativa das concentrações de Ficobiliproteínas por profundidade com valores de  $p=0,091$ ;  $0,831$ ;  $0,263$ ;  $0,69$  respectivamente para os meses de Abril, Junho, Julho e Novembro, porém para o mês de Setembro observou-se diferença significativa com  $p=0,036$ .



**Figura 8.** Concentração de Ficobiliproteínas totais (mg/mL), nas várias profundidades amostradas, nas diferentes plataformas, Caixa = intervalo interquartil, Traço = mediana, Bigodes = máximos e mínimos.

Estudos indicam que as espécies fitoplanctónicas dos ecossistemas aquáticos são influenciadas pelo espaço-tempo, pelas variações da dinâmica do curso de água, parâmetros hidroquímicos, assim como pela pelas atividades desenvolvidas pelo homem (Bianchi et al. 2015). Cardoso & Marques (2004) ao avaliar a influência hidrodinâmica na variação fitoplanctónica afirmaram que a variação hidrodinâmica interfere na dinâmica dos pigmentos.

### 4.2.3 Relação entre concentração de diferentes pigmentos fotossintéticos

Para a monitorização da qualidade da água em sistemas fortemente modificados utiliza-se, entre outros parâmetros, a Clorofila *a* e a densidade de Cianobactérias. Assim sendo acredita-se que existe uma correlação entre esses dois parâmetros, pois a Clorofila *a* encontra-se presente nas Cianobactérias, e assim um aumento no valor da Clorofila *a* poderá ser indício de um aumento na densidade de Cianobactérias e consequentemente das Ficobiliproteínas (Marino 2017).

Para o teste de correlação escolheu-se os seguintes valores limites: correlação superior ou igual a 0.7 é forte,  $\geq 0,5$  moderada e  $\geq 0,3$  fraca. O teste de correlação de Pearson, tal como vemos na tabela 17, mostra que existe uma correlação forte entre as Ficobiliproteínas totais e as diferentes subclasses (Ficocianina, Ficoeritrina e Aloficocianina). Observa-se que existe, como se esperava, uma correlação moderada positiva entre as Ficobiliproteínas totais e a Clorofila *a* ( $R=0.5870$ ), a correlação entre a Clorofila *a* e as diferentes subclasses de Ficobiliproteínas também é moderada porém um pouco mais fraca do que com as ficobiliproteínas totais (Ficocianina 0.528\*; Ficoeritrina 0.487\*; Aloficocianina 0.440\*), no entanto significativa.

Parece que para algumas subclasses de Ficobiliproteínas (Ficocianina e Aloficocianina) existe uma correlação negativa fraca com a Clorofila *b*. Este facto é espetável, uma vez que o único tipo de Clorofila presente nas Cianobactérias é a Clorofila *a*.

**Tabela 17.** Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos \*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito. Geral para todas as Plataformas, ( $n=140$ ).

Pigmento	Fico. totais	PC	PE	APC	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila <i>c</i>
PC	<b>0.812*</b>						
PE	<b>0.8630*</b>	<b>0.579*</b>					
APC	<b>0.8310*</b>	<b>0.076*</b>	<b>0.693*</b>				
Clorofila <i>a</i>	<b>0.5870*</b>	<b>0.528*</b>	<b>0.487*</b>	<b>0.440*</b>			
Clorofila <i>b</i>	-0.120	<b>-0.282*</b>	-0.015	<b>-0.227*</b>	-0.150		
Clorofila <i>c</i>	0.0404	0.132	0.012	0.076	0.163	<b>-0.542*</b>	
Feopigmentos	0.0121	0,003	0.064	0.060	0.155	-0.139	<b>0.451*</b>

## 4.2.4 Parâmetros Físico-químicos

É reconhecido que as atividades antropogênicas têm acelerado o processo de eutrofização, pois são responsáveis pelo aumento da entrada de sedimentos e nutrientes nas reservas hídricas (Mudroch 2017). A Diretiva Quadro Água (DQA, Directiva 2000/60/CE) estabeleceu um quadro de ação comunitária sobre a política hídrica para implementar a avaliação ecológica como contribuinte essencial da análise da água (Baptista & Santos 2016).

A distribuição e abundância das Cianobactérias são afetadas pelas interações de várias condições ambientais, como luz, temperatura, nutrientes, salinidade e pH (Baldia et al. 2003). A avaliação dos parâmetros físico-químicos nesse contexto é importante, pois são usados como elementos de suporte para complementar as informações dos elementos biológicos, que por sua vez são utilizados na avaliação ecológica da água.

### 4.2.4.1 Diferenças entre plataformas

As maiores diferenças observadas nos parâmetros físico-químicos, entre as diferentes plataformas (tabela 18), foram na temperatura, turbidez, nitratos, nitritos e azoto total, que na sua maioria foram superiores na plataforma de Lucefécit.

Estudos indicam que níveis elevados de nitratos e fósforo podem estar relacionados com a aplicação de fertilizantes, como sulfato de amônio, cloreto de potássio, carbonato de potássio e outros compostos de fósforo (Soveral Dias 1999).

*Tabela 18. Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo - máximo)], nas diferentes plataformas ao longo das campanhas de amostragem, assim como valores de p resultantes do teste Kruskal-Wallis para as diferenças entre plataformas (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ ). Os valores a negrito nos resultados representam os valores medianos mais elevados e, na coluna das Diferenças entre plataformas, as diferenças significativas. (n=140)*

Parâmetro (unidades)	Lucefécit	Mourão	Montante	Álamos	Diferenças entre plataformas
Temperatura (°C)	<b>20,5 (14,5 - 29,0)</b>	15,0 (12,0 - 28,6)	16,7 (12,5 - 26,6)	16,8 (12,5 - 27,7)	<b>1,6E-02*</b>
pH (Sorensen)	8,1 (7,3 - 10,2)	8,3 (7,5 - 9,1)	8,5 (7,4 - 9,4)	8,7 (7,4 - 9,1)	9,5E-01
Condutividade (uS/cm)	471 (392 - 575)	450 (434 - 580)	443 (400 - 543)	433 (369 - 563)	6,7E-02
Turbidez (NTU)	1,9 (0,8 - 49,1)	1,3 (0,4 - 57,3)	1,3 (0,1 - 4,7)	<b>2,0 (0,8 - 7,0)</b>	<b>1,3E-08***</b>
Oxigênio Dissolvido (%sat O <sub>2</sub> )	69,6 (0,0 - 172,8)	62,7 (0,0 - 117,6)	72,7 (0,0 - 125)	89,5 (0,0 - 119,1)	4,3E-01
Nitratos (mg N/L)	<b>0,255 (0,000 - 0,482)</b>	0,195 (0,000 - 0,291)	0,103 (0,003 - 0,258)	0,064 (0,003 - 0,174)	<b>6,9E-04***</b>
Nitritos (mg N/L)	<b>0,048 (0,000 - 0,101)</b>	0,007 (0,000 - 0,028)	0,004 (0,000 - 0,029)	0,002 (0,000 - 0,074)	<b>9,7E-04***</b>
Azoto total (mg N/L)	<b>1,21 (0,49 - 2,5)</b>	0,91 (0,39 - 1,7)	0,83 (0,45 - 3,23)	0,73 (0,37 - 1,27)	<b>1,8E-04***</b>
Fosfatos (mg P/L)	<b>0,030 (0,000 - 0,268)</b>	0,017 (0,000 - 0,197)	0,007 (0,000 - 0,396)	0,013 (0,000 - 0,339)	5,2E-02
Fósforo total (mg P/L)	0,33 (0,04 - 0,89)	0,30 (0,06 - 1,15)	0,36 (0,11 - 1,29)	<b>0,41 (0,07 - 1,23)</b>	2,4E-01



#### 4.2.4.2 Diferenças entre campanhas

A análise dos parâmetros físico-químicos (tabela 19) mostra que os valores máximos dos parâmetros *in situ* (temperatura, pH, condutividade e oxigénio dissolvido) foram registados em Setembro. É de recordar que as maiores concentrações de Clorofila *a* e Ficobiliproteínas também foram registadas no mês de Setembro, o que sugere que esses fatores possam ter contribuído para o aumento da densidade de Cianobactérias nesse mês.

Os valores de temperatura da água registados estão dentro da faixa para o ótimo crescimento das cianobactérias. Ahn et al. (2011) afirmam que a temperatura é um dos fatores que mais influencia as florações de Cianobactérias em reservatórios eutróficos.

É comum usar esses produtos químicos nas vinhas. Os nitratos não são muito estáveis e podem variar sazonalmente (Glavan et al. 2013), o que justifica o facto de haver menos quantidade de nitratos nos meses mais secos, nomeadamente, julho e setembro. O ião nitrato é muito solúvel em água e é absorvido pelo solo, sendo facilmente lixiviado pela percolação da água até a zona saturada (Ribeiro 2009). Os meses de chuva fazem aumentar os níveis de nitratos na água, pois o facto do ião nitrato ser muito solúvel, faz com este seja arrastado até à água do reservatório, aumentando assim a sua concentração (Dao et al. 2016).

**Tabela 19.** Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo - máximo)], nas diferentes campanhas de amostragem, assim como valores de *p* resultantes do teste Kruskal-Wallis para as diferenças entre campanhas (\*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  e \*\*\*  $p < 0,001$ ). Os valores a negrito nos resultados representam os valores medianos mais elevados e, na coluna das Diferenças entre campanhas, as diferenças significativas. ( $n=140$ )

Parâmetro (unidades)	Abril	Maio	Julho	Setembro	Novembro	Diferenças entre Campanhas
Temperatura (°C)	13,8 (12,0 - 15,9)	18,5 (12,5 - 20,5)	25,6 (13,2 - 29,0)	<b>26,6 (14,2 - 28,6)</b>	16,4 (14,7 - 16,8)	<b>1,3E-14***</b>
pH (Sorensen)	8,4 (7,9 - 8,9)	8,5 (7,7 - 10,2)	8,8 (7,4 - 9,2)	<b>9,0 (7,5 - 9,4)</b>	7,8 (7,3 - 8,4)	<b>7,3E-09***</b>
Condutividade (uS/cm)	410 (369 - 460)	407 (395 - 451)	496 (472 - 529)	<b>541 (421 - 581)</b>	443 (431 - 514)	<b>1,9E-19***</b>
Turbidez (NTU)	1,5 (0,4 - 7,0)	1,6 (0,5 - 3,6)	1,6 (0,8 - 5,0)	2,5 (0,4 - 49,1)	1,4 (0,1 - 57,3)	1,4E-01
Oxigénio Dissolvido (%sat O <sub>2</sub> )	84,2 (59 - 116)	60,9 (24 - 109)	98,4 (0,2 - 119,1)	<b>111,6 (0,0 - 172,8)</b>	58,3 (5,3 - 79,4)	<b>1,1E-05***</b>
Nitratos (mg N/L)	0,134 (0,079 - 0,479)	<b>0,211 (0,017 - 0,482)</b>	0,040 (0,000 - 0,286)	0,005 (0,000 - 0,123)	0,210 (0,084 - 0,337)	<b>2,5E-15***</b>
Nitritos (mg N/L)	0,011 (0,001 - 0,05)	<b>0,014 (0,000 - 0,074)</b>	0,001 (0,000 - 0,016)	0,001 (0,000 - 0,029)	<b>0,014 (0,000 - 0,101)</b>	<b>3,3E-10***</b>
Azoto total (mg N/L)	1,08 (0,72 - 2,5)	<b>1,10 (0,68 - 2,41)</b>	0,75 (0,39 - 1,51)	0,66 (0,37 - 3,23)	0,73 (0,47 - 1,32)	<b>2,7E-09***</b>
Fosfatos (mg P/L)	0,000 (0,000 - 0,031)	0,030 (0,000 - 0,396)	<b>0,060 (0,000 - 0,339)</b>	0,000 (0,000 - 0,268)	0,038 (0,005 - 0,254)	<b>8,0E-09***</b>
Fósforo total (mg P/L)	0,35 (0,22 - 0,6)	0,46 (0,30 - 1,29)	0,16 (0,04 - 0,57)	0,12 (0,06 - 1,15)	<b>0,86 (0,42 - 1,03)</b>	<b>1,5E-18***</b>

---

O plano de Gestão de Região Hidrográfica 2016/2021 estabelece para as albufeiras do Sul os limites para um bom potencial ecológico tendo como base as condições dos elementos físico-químicos. Assim, estabelece uma taxa de saturação de Oxigénio entre os 60 e 140%, pelo que se observa que no mês de Setembro os valores registados ultrapassaram o valor de referência, sugere-se que esteja relacionado com a atividade fotossintética das Cianobactérias na albufeira (Jardim et al. 2014). O potencial Hidrogeniónico (pH) deve estar entre 6 e 9, e observa-se que os valores de pH das amostras rondaram 7 e 9, logo encontra-se dentro do esperado para um bom potencial ecológico.

Estudos indicam que a abundância das Cianobactérias depende em parte da relação entre o Azoto total e o Fósforo total, com aumento de dominância de Cianobactérias quando a relação Azoto:Fósforo for baixa (Harris et al. 2016).

As Cianobactérias presentes nos reservatórios de água doce são particularmente adaptadas ao aumento de cargas de Azoto:Fósforo, pois desenvolveram adaptações fisiológicas para resistir a baixas concentrações de Fósforo total (Erratt et al. 2018).

Quanto ao Fósforo total o valor de referência é estipulado em  $\leq 0,07$  mg P/L e observa-se que para todas as plataformas os valores de Fósforo ultrapassaram os valores de referência. Observa-se que relativamente aos Nítritos e Fósforo total, os valores máximos foram registados no mês de Novembro. A estratificação faz com que, nos meses de verão, haja anóxia no fundo da albufeira e o fósforo que está no fundo passa para a coluna de água quando se dá o *turnover*. Quando a temperatura da atmosfera começa a baixar, conseqüentemente há uma redução da temperatura da água, o que faz com que a densidade da água aumente também, o que faz com que a água à superfície comece a descer e assim se inicia o processo de *turnover*, onde se formam correntes de convecção e o que está acumulado no fundo vem até à superfície.

Relativamente aos fosfatos, estudos indicam que as Cianobactérias possuem capacidade de armazená-los como corpos de polifosfatos, demonstrando que esse nutriente é consumido como forma de obter energia para o crescimento.

Quanto ao azoto os valores máximos foram registados em Maio (tabela 19) e a mediana mais baixa foi registada em Setembro. A disponibilidade de Azoto desempenha um papel importante na biomassa das Cianobactérias, porém há relatos de que a forma dominante

de Azoto disponível nas bacias hidrográficas pode ser fundamental para estruturar comunidades de algas, resultando na potencial dominância de grupos em relação a outros. Sendo assim, faz sentido observar menor concentração de nitrato no mês de Setembro, é de recordar que foi o mês com maior concentração de Ficobiliproteínas, leva a crer que as Cianobactérias consumiram os nitratos como forma de absorverem Azoto para os seus processos metabólicos.


#### 4.2.4.3 Diferenças entre profundidades

As únicas diferenças significativas observadas foram nos valores de temperatura, pH e oxigénio dissolvido (tabela 20), sendo estes valores sempre superiores na superfície e inferiores no fundo. Este facto pode dar indicação de que a albufeira se encontra maioritariamente estratificada. A estratificação é devida a diferenças entre densidade da água. Na superfície a água mais quente é menos densa ao contrário do que acontece no fundo.

**Tabela 20.** Resultados dos parâmetros físico-químicos [Mediana (mínimo - máximo)], nas diferentes profundidades, assim como valores de p resultantes do teste Kruskal-Wallis para as diferenças entre as mesmas (\* p<0,05, \*\* p<0,01 e \*\*\* p<0,001). Os valores a negrito nos resultados representam os valores medianos mais elevados e, na coluna das Diferenças entre profundidades, as diferenças significativas. (n=140).

Parâmetro (unidades)	Superfície	1 metro	2 metros	3 metros	fim Z.E.	Meio albufeira	Fundo albufeira	Diferenças entre Profundidades
Temperatura (°C)	<b>19,5</b> (13,8 - 29,0)	19,5 (14,0 - 29,0)	19,5 (13,0 - 29,0)	19,5 (13,0 - 28,5)	17,9 (12,0 - 27,0)	16,2 (12,0 - 22,9)	14,5 (12,0 - 19,0)	<b>7,6E-06***</b>
pH (Sorensen)	<b>8,8</b> (7,6 - 9,4)	<b>8,8</b> (7,6 - 10,2)	8,7 (7,5 - 9,2)	<b>8,8</b> (7,6 - 9,1)	8,3 (7,6 - 9,2)	7,9 (7,3 - 8,6)	7,9 (7,3 - 9,4)	<b>2,2E-07***</b>
Condutividade (uS/cm)	448 (370 - 581)	447 (371 - 569)	446 (370 - 568)	446 (370 - 575)	448 (369 - 561)	449 (395 - 519)	443 (395 - 539)	1,0E+00
Turbidez (NTU)	1,7 (0,5 - 2,4)	1,7 (0,4 - 18,2)	1,8 (0,5 - 20,5)	1,7 (0,4 - 12,4)	1,7 (0,5 - 5)	1,0 (0,4 - 3,6)	1,7 (0,1 - 57,3)	2,5E-01
Oxigénio Dissolvido (%sat O <sub>2</sub> )	<b>94,4</b> (49 - 172,8)	95,2 (46,4 - 148,3)	89,9 (44,9 - 138,4)	84,2 (40,7 - 125)	66,8 (16,1 - 114,6)	35,6 (0,0 - 84,0)	24,4 (0,0 - 84,0)	<b>7,4E-11***</b>
Nitratos (mg N/L)	<b>0,098</b> (0,003 - 0,386)	0,091 (0,000 - 0,437)	0,083 (0,000 - 0,468)	0,09 (0,000 - 0,449)	0,128 (0,000 - 0,479)	0,152 (0,000 - 0,482)	0,129 (0,000 - 0,439)	4,1E-01
Nitritos (mg N/L)	0,006 (0,000 - 0,100)	0,006 (0,000 - 0,099)	<b>0,007</b> (0,000 - 0,101)	<b>0,007</b> (0,000 - 0,100)	0,005 (0,000 - 0,094)	0,003 (0,000 - 0,094)	<b>0,007</b> (0,000 - 0,074)	9,6E-01
Azoto total (mg N/L)	0,90 (0,42 - 2,28)	<b>0,95</b> (0,39 - 3,23)	0,73 (0,37 - 2,3)	0,82 (0,41 - 2,29)	0,79 (0,45 - 2,50)	0,79 (0,41 - 2,28)	<b>0,95</b> (0,47 - 2,41)	4,9E-01
Fosfatos (mg P/L)	0,018 (0,000 - 0,111)	0,023 (0,000 - 0,396)	0,003 (0,000 - 0,106)	0,022 (0,000 - 0,204)	0,015 (0,000 - 0,128)	0,018 (0,000 - 0,118)	<b>0,045</b> (0,000 - 0,339)	9,5E-02
Fósforo total (mg P/L)	0,28 (0,06 - 1,23)	0,34 (0,04 - 1,08)	0,30 (0,07 - 0,99)	0,32 (0,08 - 0,97)	0,33 (0,08 - 1,29)	0,36 (0,08 - 1,07)	<b>0,50</b> (0,11 - 1,15)	5,1E-01

Pode-se observar que houve uma variabilidade do pH nas amostras de meio e fundo apresentando o valor de mediana (tabela 20) relativamente mais baixo das restantes profundidades. O pH, assim como outros parâmetros, é influenciado por flutuações



---

saazonais, essa flutuação nas camadas mais profundas é menor (Hinnners et al. 2015). O pH tende a ser superior à superfície devido à maior atividade fotossintética (Hendriks et al. 2014)

Quanto ao oxigênio dissolvido, pode-se observar na tabela 20, que foi superior nas camadas superficiais, talvez relacionado com a produção fotossintética das Cianobactérias na albufeira e pode ser também devido à estratificação que faz com que, nos meses de verão, haja anoxia no fundo da albufeira devido à maior respiração no fundo (Jardim et al. 2014).

De uma forma geral, a solubilidade do oxigênio na água aumenta com a diminuição da temperatura. Portanto, as águas frias retêm mais oxigênio que as águas mais quentes (Beutel & Horne 1999). No entanto, neste caso, o aumento da temperatura à superfície está relacionado com o aumento de *blooms* de microalgas, nomeadamente, Cianobactérias, que por sua vez, aumenta a taxa de fotossíntese, logo o aumento da concentração de oxigênio dissolvido nas camadas mais superficiais.

#### 4.2.5 Relação com os parâmetros físico-químicos

**Tabela 21.** Coeficientes de correlação de Pearson entre as Ficobiliproteínas totais e Clorofila *a*, por plataforma, com os parâmetros físico-químicos\*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito, ( $n=140$ ).

Plataforma	Pigmento	Temp. (°C)	pH	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (FNU)	Oxigênio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Nitritos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Lucefécit	Fico	<b>0,56*</b>	<b>0,49*</b>	<b>0,68*</b>	<b>0,43*</b>	<b>0,80*</b>	<b>-0,48*</b>	<b>-0,45*</b>	-0,27	<b>-0,40*</b>	<b>-0,46*</b>
	Chl <i>a</i>	<b>0,51*</b>	<b>0,43*</b>	<b>0,55*</b>	0,33	<b>0,63*</b>	<b>-0,46*</b>	<b>-0,44*</b>	-0,27	<b>-0,42*</b>	<b>-0,47*</b>
Mourão	Fico	<b>0,51*</b>	<b>0,50*</b>	<b>0,63*</b>	-0,04	<b>0,42*</b>	<b>-0,53*</b>	-0,33	-0,29	-0,23	<b>-0,41*</b>
	Chl <i>a</i>	<b>0,74*</b>	<b>0,73*</b>	<b>0,82*</b>	-0,11	<b>0,62*</b>	<b>-0,70*</b>	-0,27	<b>-0,35*</b>	-0,33	<b>-0,57*</b>
Montante	Fico	<b>0,62*</b>	<b>0,42*</b>	<b>0,71*</b>	<b>0,76*</b>	<b>0,57*</b>	<b>-0,54*</b>	<b>-0,34*</b>	0,09	-0,21	-0,32
	Chl <i>a</i>	0,26	<b>0,44*</b>	0,12	<b>0,52*</b>	<b>0,6*</b>	<b>-0,39*</b>	-0,18	0,17	-0,21	-0,3
Álamos	Fico	0,33	0,00	<b>0,37*</b>	-0,05	-0,11	-0,31	-0,19	<b>-0,35*</b>	-0,30	-0,32
	Chl <i>a</i>	-0,32	0,30	<b>-0,60*</b>	0,14	0,20	0,07	-0,11	<b>0,53*</b>	-0,32	0,04

Fico – Ficobiliproteínas totais; Chl *a* – Clorofila *a*

**Tabela 22.** Coeficientes de correlação de Pearson entre as Ficobiliproteínas totais e Clorofila *a*, nas diferentes campanhas, com os parâmetros físico-químicos\*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito. ( $n=140$ )

Meses	Pigmento	Temp. (°C)	pH	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (FNU)	Oxigênio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Nitritos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Abril	Fico	<b>0,70*</b>	0,27	<b>-0,47*</b>	0,14	0,36	0,03	0,20	0,22	0,10	-0,33
	Chl <i>a</i>	<b>0,84*</b>	<b>0,84*</b>	<b>-0,67*</b>	0,23	<b>0,65*</b>	<b>-0,46*</b>	-0,27	-0,22	-0,37	-0,23
Junho	Fico	0,20	0,37	-0,24	0,23	0,18	0,30	<b>0,39*</b>	0,15	-0,05	-0,14
	Chl <i>a</i>	0,23	<b>0,52*</b>	<b>-0,59*</b>	<b>0,62*</b>	0,37	-0,15	0,17	-0,13	-0,10	0,24
Julho	Fico	0,35	<b>0,38*</b>	0,12	<b>0,70*</b>	0,11	-0,33	-0,06	0,22	-0,26	-0,34
	Chl <i>a</i>	<b>0,41*</b>	<b>0,38*</b>	-0,25	<b>0,55*</b>	0,23	<b>-0,44*</b>	-0,18	-0,01	-0,10	-0,22
Setembro	Fico	<b>0,63*</b>	<b>0,50*</b>	<b>0,67*</b>	0,24	<b>0,65*</b>	-0,36	-0,30	-0,12	-0,35	<b>-0,44*</b>
	Chl <i>a</i>	<b>0,39*</b>	0,22	<b>0,46*</b>	<b>0,39*</b>	<b>0,39*</b>	-0,26	-0,22	-0,06	-0,20	-0,28
Novembro	Fico	0,34	0,08	-0,34	-0,17	<b>0,41*</b>	<b>-0,44*</b>	0,01	-0,35	-0,26	<b>0,42*</b>
	Chl <i>a</i>	<b>0,48*</b>	0,01	<b>-0,41*</b>	-0,17	<b>0,55*</b>	<b>-0,58*</b>	-0,05	<b>-0,41*</b>	-0,37	<b>0,55*</b>

Fico – Ficobiliproteínas totais; Chl *a* – Clorofila *a*

Observa-se que por campanha a temperatura teve uma correlação forte no mês de Abril e moderada no mês de Setembro tanto com as Ficobiliproteínas como com a Clorofila *a*. Relativamente ao pH observa-se que mostrou uma correlação forte com a Clorofila *a* em Abril, no mês de Julho uma correlação moderada com os dois pigmentos e em Setembro uma correlação moderada com as Ficobiliproteínas. Estudos experimentais demonstraram que a diminuição do pH afeta o crescimento das Cianobactérias (Hinners et al. 2015). Relativamente à condutividade, Hamed (2008) afirma em seu estudo que a condutividade exerce uma influência sobre a

distribuição das Cianobactérias, e a condutividade por sua vez é condicionado pelas condições geológicas e climáticas e pelo aumento dos iões Sódio e Cloro.

Observa-se que relativamente ao oxigénio teve uma correlação moderada nos meses de Setembro e Novembro, como anteriormente referido a concentração de oxigénio está intimamente ligada à atividade fotossintética das Cianobactérias na albufeira.


**Tabela 23.** Coeficientes de correlação de Pearson dos pigmentos por profundidade com os parâmetros físico-químicos\*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito. (n=140)

Profundidade	Pigmento	Temp. (°C)	pH	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (FNU)	Oxigénio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Nitritos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Superfície	Fico	0,12	<b>0,53*</b>	<b>0,67*</b>	<b>0,63*</b>	<b>0,63*</b>	-0,41	-0,25	-0,17	-0,35	-0,37
	Chl a	-0,06	<b>0,50*</b>	0,08	<b>0,86*</b>	<b>0,66*</b>	-0,28	-0,15	-0,04	-0,25	-0,08
1m	Fico	<b>0,48*</b>	0,33	<b>0,66*</b>	<b>0,71*</b>	<b>0,60*</b>	-0,44	-0,24	0,05	-0,26	-0,35
	Chl a	0,07	0,38	0,05	<b>0,81*</b>	<b>0,48*</b>	-0,28	-0,13	0,02	-0,26	-0,20
2m	Fico	<b>0,46*</b>	0,44	<b>0,68*</b>	<b>0,77*</b>	<b>0,59*</b>	-0,42	-0,25	-0,18	-0,23	-0,42
	Chl a	0,10	0,41	0,12	<b>0,87*</b>	0,44	-0,25	-0,13	0,19	-0,25	-0,21
3m	Fico	0,41	0,33	<b>0,59*</b>	<b>0,95*</b>	<b>0,46*</b>	-0,31	-0,15	-0,26	-0,22	-0,37
	Chl a	0,16	0,37	0,22	<b>0,90*</b>	0,29	-0,25	-0,16	-0,05	-0,26	-0,21
fim ze	Fico	0,04	0,26	0,39	0,27	0,16	<b>-0,47*</b>	-0,23	-0,24	-0,28	-0,40
	Chl a	-0,08	-0,03	0,16	0,05	-0,32	-0,35	-0,17	-0,03	-0,10	-0,17
meio	Fico	0,13	0,07	-0,26	-0,14	0,22	0,28	0,19	0,09	-0,24	0,16
	Chl a	0,21	0,01	-0,09	0,08	0,24	0,00	0,15	-0,09	0,07	0,46

fundo	Fico	-0,02	-0,14	-0,02	-0,22	-0,14	-0,01	-0,17	<b>0,50*</b>	-0,13	-0,16
	Chl <i>a</i>	0,15	-0,20	0,26	-0,21	0,21	0,11	0,25	0,07	-0,01	0,05
Fico- Ficobiliproteínas totais, Chl a- Clorofila <i>a</i> ; Z.E.- zona eufótica											

Em relação à correlação positiva dos pigmentos com a turbidez por profundidade é normal, na medida que estudos indicam que grandes populações de Cianobactérias podem aumentar a turbidez da água devido a altas concentrações de seus pigmentos presentes na superfície da água, reduzindo assim a intensidade de luz que penetra na água (Shi et al. 2017).





---

Diversos estudos indicam que a composição e a diversidade fitoplanctónica são fortemente relacionadas com variáveis espaciais, temporais ou ambientais como temperatura, pH, e concentração de nutrientes. Acredita-se que esses fatores estejam relacionados com a ocorrência de *blooms* de Cianobactérias, entretanto ainda existem incertezas pois há estudos que afirmam que a disponibilidade de nutrientes é o que mais está relacionado com a ocorrência de Cianobactérias. Por outro lado, existem estudos que afirmam que a temperatura seja o fator que tenha mais relação com o crescimento e dominância desse grupo fitoplanctónico (Cha et al.2017).

A ocorrência de *blooms* de Cianobactérias ao longo do tempo pode ser relacionada em parte com o aquecimento global, pois evidências indicam que água com temperatura mais elevadas e estratificadas são as preferenciais das Cianobactérias (Briand et al.2002), pelo que se justifica uma correlação positiva com a temperatura.

Acredita-se que a importância relativa de nutrientes e temperatura possa estar relacionado com fatores intrínsecos da bacia hidrográfica. Em caso de lagos, a concentração de nutrientes e temperaturas seriam os principais fatores, por outro lado nos rios, acredita-se que a dinâmica hidrológica pode influenciar na ocorrência de Cianobactérias (Zhao et al.2016; Cha et al. 2017). Dao et al. (2016) afirma que parâmetros como azoto, fósforo, turbidez sofrem alterações com mudanças sazonais.

## 4.3 Amostras de Cabo Verde

### 4.3.1 Ficobiliproteínas totais e Clorofila *a*

A construção de reservatórios em países com escassez de água tornou-se recorrente, como forma a fazer cobro a essa problemática. Entretanto muitas vezes esses reservatórios localizam-se em países que não têm muita facilidade em realizar um controlo periódico da qualidade de água desses reservatórios (Landim et al. 2018; Morais et al. 2018). E esse caso aplica-se a Cabo Verde, onde poucos estudos são direcionados à manutenção da qualidade de água presente em seus reservatórios.

Dos três reservatórios analisados observa-se que a maior concentração de Ficobiliproteínas foi encontrada na albufeira de Figueira Gorda, seguido pela de Flamengos, com grande diferença de valores encontrados. A albufeira do Poilão foi onde se obteve a menor concentração de Ficobiliproteínas. O mesmo padrão pode ser visto para os valores de concentração de Clorofila *a* (tabela 24).

**Tabela 24.** Concentração de Ficobiliproteínas totais e Clorofila *a*, nas diferentes albufeiras de Cabo Verde estudadas.

Local	Ficobiliproteínas totais (mg/mL)	Clorofila <i>a</i> (µg/L)
Flamengos	0,05	63,20
Figueira Gorda	0,80	72,40
Poilão	0,02	9,40

### 4.3.2 Identificação Fitoplanctónica - Cianobactérias

A análise da identificação fitoplanctónica (tabela 25) demonstra que existe uma dominância de Cianobactérias sobre os outros grupos fitoplanctónicos, nas albufeiras de Flamengos e Figueira Gorda, enquanto que na albufeira de Poilão o grupo das Clorófitas foi o dominante.

As Cianobactérias têm mostrado uma capacidade de dominância sobre outros grupos, devido à sua longa história evolutiva, que permitiu criar estratégias adaptativas às

mudanças geológicas, químicas e também antropogênicas, como excesso de nutrientes derivados de atividades humanas, desvios dos cursos de água e salinização (Fernandes et al. 2009).

**Tabela 25.** Abundância relativa dos diferentes grupos fitoplanctônicos - albufeiras de Cabo Verde.


Local	Abundância Relativa (%)						
	Bacilariófitas	Carófitas	Cianobactérias	Clorófitas	Criptófitas	Euglenófitas	Pirrófitas
Flamengos	0,02	0,00	<b>98,45</b>	1,46	0,06	0,00	0,00
Figueira Gorda	0,00	0,00	<b>99,95</b>	0,02	0,04	0,00	0,00
Poilão	5,42	0,03	0,03	<b>91,18</b>	0,00	0,00	3,34

Essas adaptações fazem com que elas consigam crescer mesmo a temperaturas muito elevadas, pelo que o problema de aquecimento global tem favorecido o seu crescimento, expansão e permanência. Assim sendo muitas vezes as suas florações tornam-se prejudiciais a outras espécies do Fitoplâncton com as quais competem por nutrientes (Paerl & Otten 2013).

**Tabela 26.** Lista das principais Cianobactérias nas albufeiras de Cabo Verde

Local	Espécies de Cianobactérias	Nº de células/mL
Flamengos	<i>Anabaenopsis elenkinii</i> V.V. Mill.	920
	<i>Aphanizomenon</i> sp. Flahault	330
	<i>Coelosphaerium kuetzingianum</i> Nägeli	576827
	<i>Gloeocapsa</i> sp. Kütz.	36
	<i>Merismopedia tenuissima</i> Lemmerm.	893
	<i>Planktolyngbya limnetica</i> Lemmerm.	47136
Figueira Gorda	<i>Aphanizomenon manguinii</i> Bourr.	83 086
	<i>Leptolyngbya</i> sp. Anagnostidis et Komárek	33 120
Poilão	<i>Geitlerinema</i> sp. (Anagnostidis et Komárek) Anagn.	9

Observa-se que relativamente à abundância relativa (tabela 25) dos diferentes grupos fitoplanctônicos houve dominância das Cianobactérias, sendo mais expressivo na albufeira de Figueira Gorda com cerca de 99.95%. Porém a análise das espécies de Cianobactérias presentes nas albufeiras (tabela 26) demonstra que Flamengos apresentou densidade superior comparativamente a Figueira Gorda e Poilão.



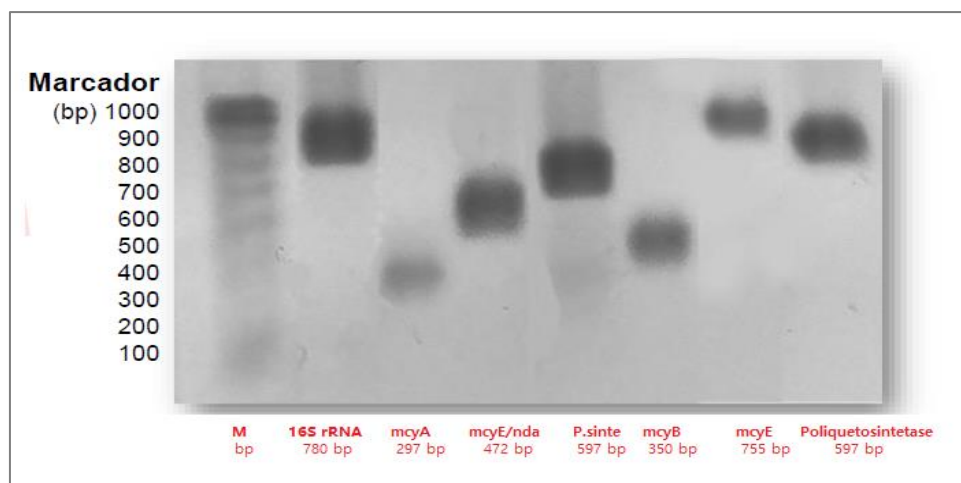
---

Esse facto pode ser justificado com base na morfologia das células, pois na observação microscópica foi possível observar que a espécie dominante (*Coelosphaerium kuetzingianum*) encontrada em Flamengos morfométricamente é muito mais pequena do que as espécies presentes em Figueira Gorda (*Aphanizomenon manguinii* e *Leptolyngbya* sp.), pelo que essa característica possa interferir no conteúdo de Ficobiliproteínas nela presente.

### 4.3.3 Detecção de Cianobactérias potencialmente tóxicas, por Biologia Molecular PCR em tempo real

Reconhece-se que a identificação de Cianobactérias por microscopia ótica é demorada e é necessário um grande conhecimento taxonómico, devido a essa limitação os testes moleculares vêm sendo utilizados nesse tipo de estudos (Koker et al. 2017).

Um dos testes moleculares mais utilizados nesse âmbito é o PCR (Reação de Cadeia de Polimerase). No PCR em tempo real, ao longo da corrida, observa-se as curvas de amplificação em tempo real. Com o término da corrida pode-se observar as curvas de temperatura de Melting, que são específicas de cada produto esperado. Desta forma nas próximas corridas usando os mesmos *primers*, os picos obtidos serão os correspondentes ao produto esperado, e nesse caso recorreu-se à eletroforese em gel de agarose como técnica auxiliadora para confirmar (Figura 9). Baseia-se no princípio de que a molécula de DNA possui carga negativa, e quando submerso num gel de agarose (atua como peneira) sob efeito de corrente elétrica, migra em direção ao polo positivo formando bandas, essa migração é dependente do tamanho da molécula, por isso moléculas diferentes encontram-se em diferentes pontos do gel, que podem ser visualizadas com auxílio de luz ultravioleta (Videira 2001; Westermeier 2016).

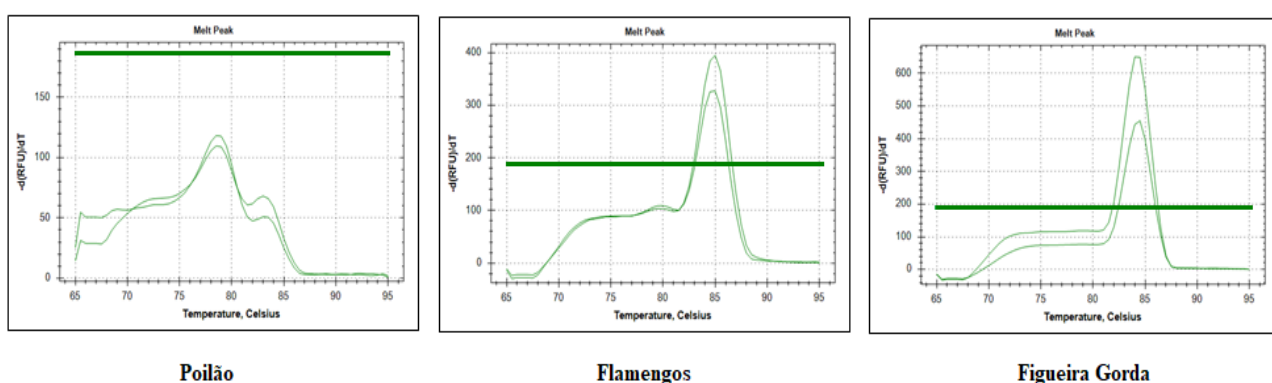


**Figura 9.** Eletroforese de gel de agarose do resultado de PCR em tempo real sobre teste de detecção de Cianobactérias e genes responsáveis pela produção de toxinas em amostras das Albufeiras de Cabo Verde.

O gel de eletroforese demonstrou bandas dos seguintes genes: 16S rRNA, mcyA, mcyB, mcyE/nda, mcyE, Peptido sintetase e Poliquote Sintetase.

#### 4.3.3.1 Gene que identifica a presença de Cianobactérias (16S rRNA)

Segundo Koker et al. (2017), o gene 16S rRNA é o mais utilizado para determinar presença, ou não de Cianobactérias numa determinada amostra ambiental, devido à natureza conservada que o gene apresenta.



**Figura 10.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene 16SrRNA de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Observa-se que o gene identificativo da presença de Cianobactérias está presente nas amostras provenientes de duas albufeiras, a de Flamengos e de Figueira Gorda pois, os valores da curva temperatura de Melting para as duas albufeiras estão acima da *baseline*, com maior quantidade atribuída à da Figueira Gorda. Além de saber se existem ou não espécies de Cianobactérias em um determinado reservatório, o estudo da dinâmica da distribuição de Cianobactérias produtoras de toxinas é importante, e geralmente faz-se com base em genes específicos (Koker et al. 2017).

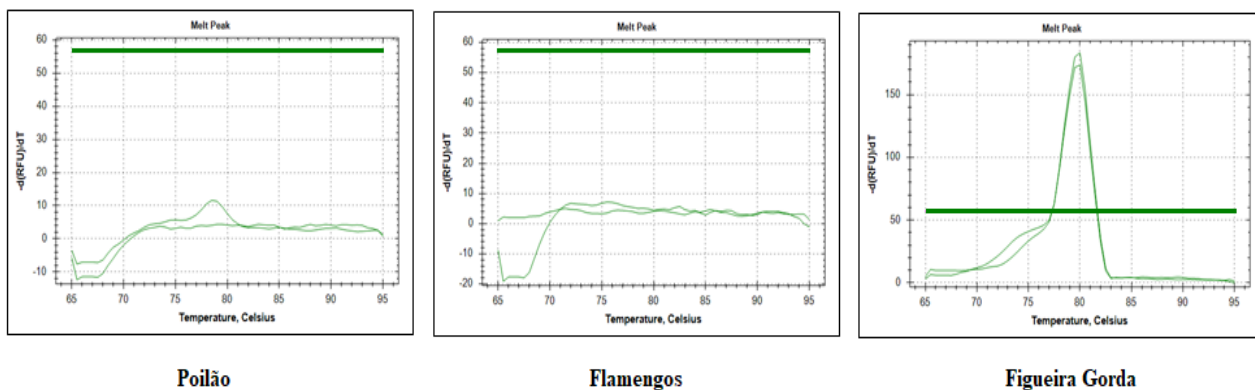
### 4.3.3.2 Genes que codificam a produção de Toxinas

- **Microcistinas**

Alguns géneros de Cianobactérias têm sido relatados como principais responsáveis pela ocorrência de cianotoxinas, dos quais se destacam *Microcystis*, *Nodularia*, *Aphanizomenon*, *Planktothrix*, *Anabaena* e *Cylindrospermopsis*. O grupo mais estudado de cianotoxinas são os péptidos cíclicos que incluem as Microcistinas e Nodularinas. Esses dois grupos são estruturalmente semelhantes, entretanto a Nodularina foi isolada de uma única espécie de Cianobactéria (*Nodularia spumigena*) enquanto a microcistina pode ser encontrada em vários géneros de Cianobactérias, com destaque para *Microcystis* e *Planktothrix*. É de realçar que já se identificou cerca de mais de 100 variantes de Microcistinas e mais de 10 variantes de Nodularinas (Koker et al. 2017).

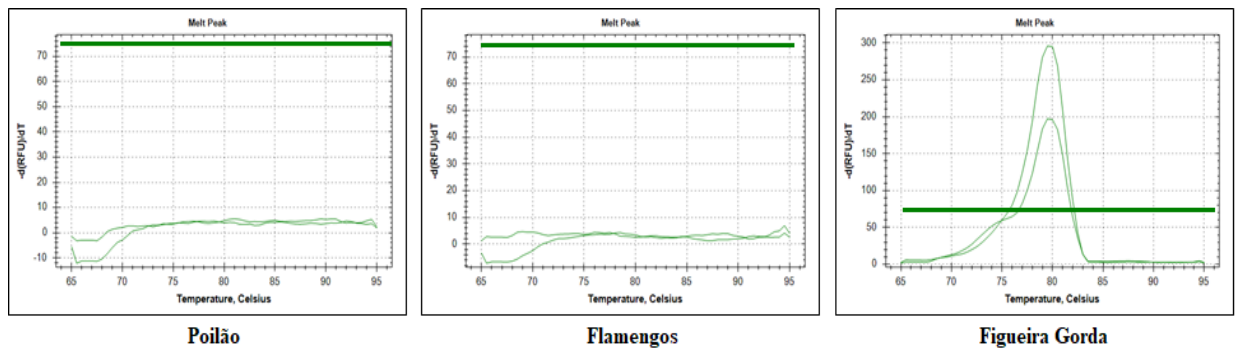
O *cluster* de gene encarregue pela produção de microcistinas (*mcy*) tem 10 subespécies (*open reading frames* - ORFs) *mcy a-c* e *mcy d-j* que se encontram organizados de forma bidirecional. As microcistinas e nodularinas apresentam praticamente o mesmo modo de ação, atuando sobre os hepatócitos, ou seja, essas toxinas têm ação hepatotóxica (Ufelmann et al. 2012; Cordeiro 2015).

Esse *cluster* de gene é muito utilizado, pois é considerada uma região muito conservada e encontra-se presente em praticamente todas as estirpes de Cianobactérias produtoras de microcistinas (Neilan et al. 1999; Tanabe et al 2004).



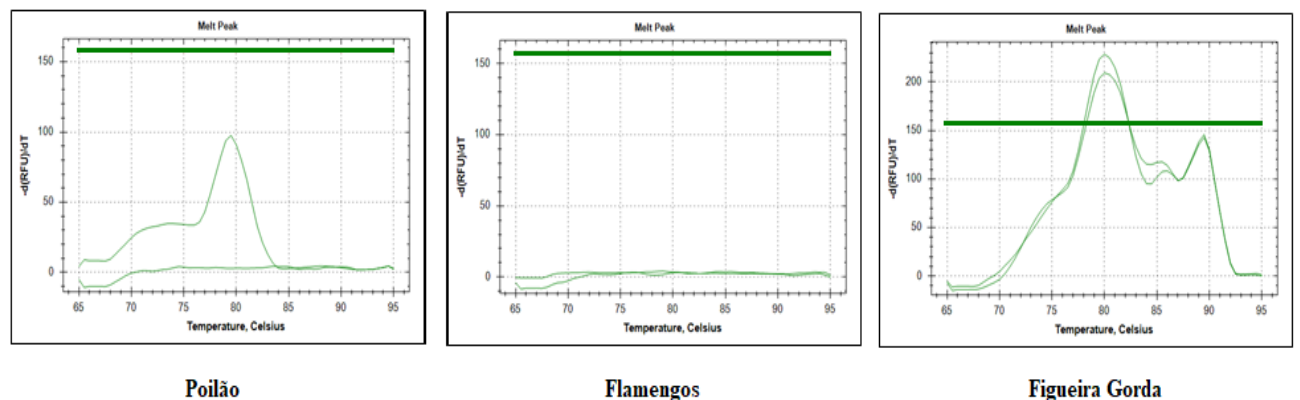
**Figura 11.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene *mcyA* de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Observa-se que o gene que codifica a produção de microcistina A (mcy A) só se encontra presente na albufeira de Figueira Gorda, pois é a única que a curva de temperatura de Melting esteve acima da *baseline*.



**Figura 12.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene *mcyB* de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

O gene de microcistina B (mcy B) só foi encontrada na albufeira de Figueira Gorda.

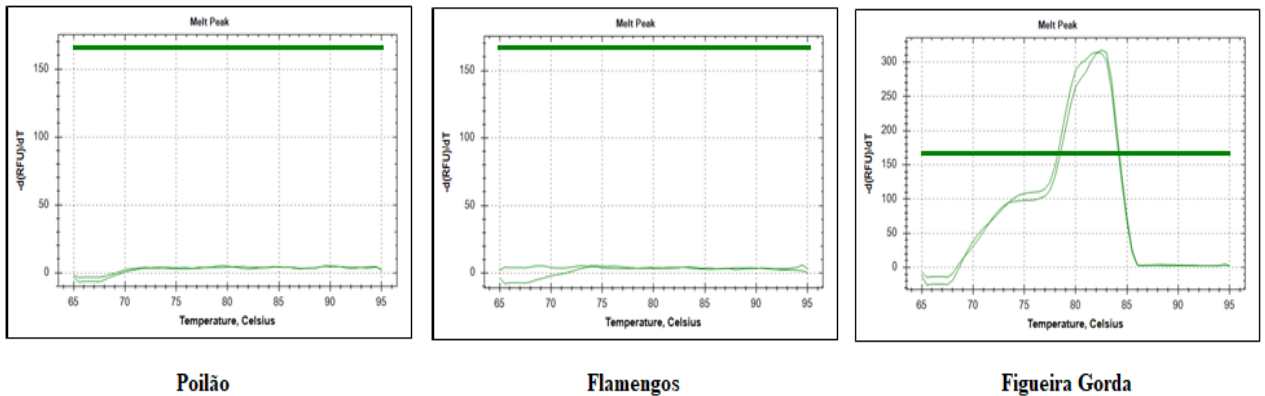


**Figura 13.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene *mcyE* de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Presença de gene de microcistina E (mcy E) na amostra da albufeira de Figueira Gorda.



- **Microcistinas e Nodularinas: mcyE/nda**

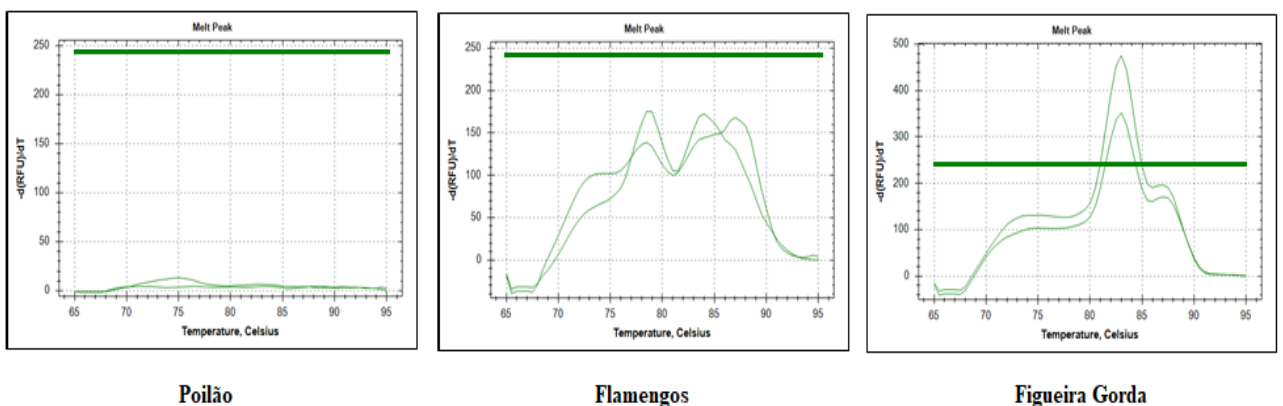


**Figura 14.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene *mcyE/nda* de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Presença de gene codifica a Microcistina e Nodularina apenas na amostra da Albufeira de Figueira Gorda.

- **Cilindrospermopsina: Péptido sintetase**

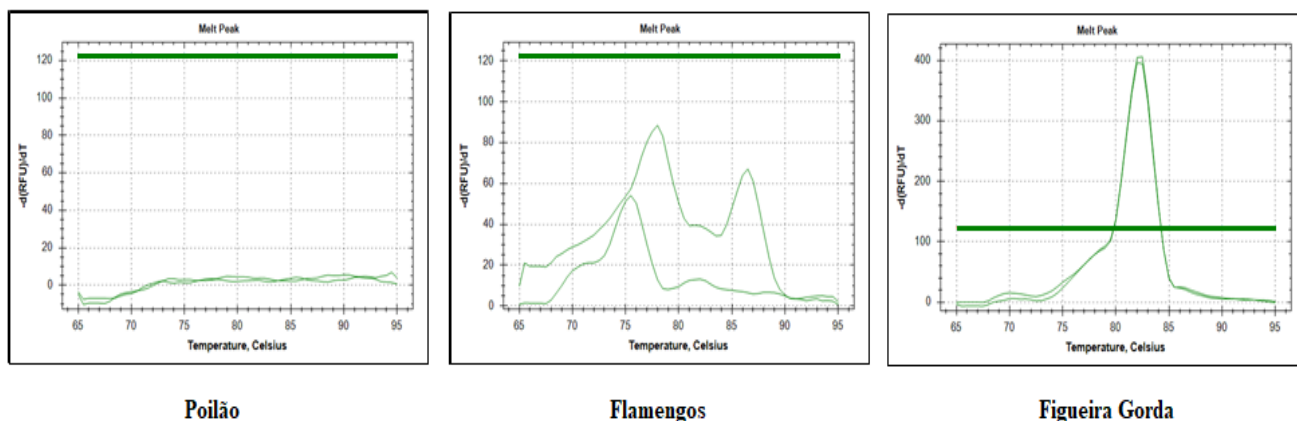
A cilindrospermopsina é uma das cianotoxinas que tem despertado muito interesse em termos de saúde pública e da qualidade ambiental. Pode ser produzida por vários géneros de Cianobactérias dos quais destaca o *Aphanizomenon*. Estudos realizados com tecidos de peixes em lagos demonstraram que essa toxina é capaz de causar alterações histopatológicas em diversos órgãos dos peixes, pelo que despertou uma atenção no que diz respeito à segurança alimentar (Guzmán - Guillén et al. 2013).



**Figura 15.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene *Peptido sintetase* de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Observa-se na figura 15 a presença de gene que codifica Cilindrospermopsina apenas na amostra da albufeira de Figueira Gorda.

- **Cilindrospermopsina: Poliquetido sintetase**



**Figura 16.** Curvas de temperatura de desnaturação (temperatura de Melting) correspondentes ao gene Poliquetido sintetase de Cianobactérias nas diferentes albufeiras de Cabo Verde.

Presença de gene que codifica de Cilindrospermopsina (Figura 16) encontrada apenas nas amostras da albufeira de Figueira Gorda.

Talvez a presença dos genes péptido sintetase (Figura 15) e poliquetido sintetase (Figura 16) na albufeira de Figueira Gorda deve-se ao facto da identificação fitoplanctónica ter-se observado a presença de espécies do género *Aphanizomenon*, pois Guzmán-Guillén et al. (2013) afirma que espécies do género *Aphanizomenon* são das principais produtoras de Cilindrospermopsina.

Com base na identificação por Biologia molecular, tendo como base a técnica de PCR em tempo real observa-se que na albufeira do Poilão não foi possível detetar Cianobactérias, entretanto acredita-se que esse resultado foi condicionado pela quantidade reduzida de amostra para realizar esse teste. Pois num estudo anterior realizado por Landim et al. (2018) sobre a caracterização físico-química e biológica de cinco albufeiras da ilha de Santiago Cabo Verde, afirma que a análise fitoplactónica demonstrou que das 5 albufeiras analisadas (Faveta, Flamengos, Figueira Gorda, Poilão e Saquinho) todas apresentaram presença de cianobactéria com potencial capacidade de produzir toxinas.

---

Nas amostras de Flamengos observou-se a presença de Cianobactérias, porém não são espécies potencialmente tóxicas, por outro lado nas amostras de Figueira Gorda observou-se presença de Cianobactérias e com potencial toxicológico, destacando as Microcistinas, Nodularinas e Cilindrospepsinas.

É de referir que das 3 albufeiras estudadas a de Figueira Gorda é a maior, com a capacidade de armazenar o triplo da água armazenada na albufeira de Poilão, pelo que a dimensão da albufeira de alguma forma possa influenciar os resultados. A água armazenada nessas albufeiras é exclusiva das precipitações, que devido às características vulcânicas do arquipélago contribui para o escoamento para a bacia hidrográfica (Gominho 2010).


Estudo realizado por Landim et al. (2018) afirma que Cabo Verde dispõe de alguns fatores que propiciem as florações de Cianobactérias nas suas albufeiras, pois apresenta valores elevados de temperaturas que ronda uma média anual de 25°C (Hernández 2008), salinidade, pH, e disponibilidade de nutrientes.

Das espécies de Cianobactérias encontradas na identificação Fitoplanctónica encontramos espécies que são potenciais produtoras de toxinas assim como aquelas que não têm capacidade toxicológicas (tabela 26).

De entre as que apresentam grande capacidade de produzir toxinas temos o *Anabaenopsis elenkinii* que é uma espécie comumente encontrada em África, Ásia, México, Filipinas (Ballot et al. 2008) e tem preferência para Lagos alcalinos (Santos et al. 2011) e produzem alcaloides com atividade hepatotóxicos e neurotóxicos (Marsálek et al. 2000) outra espécie produtora de cianotoxinas é a *Aphanizomenon* sp. (Menezes et al. 2016; Koker et al. 2017).

Por outro lado, as espécies como *Coelosphaerium* sp., *Gloeocapsa* sp., *Merismopedia tenuissima*, *Planktolyngbya limnetica*, *Leptolyngbya* sp., *Geitlerinema* sp. não são consideradas produtoras de toxinas (Bowling et al. 2016; Liyanage et al. 2016).

Dessa forma, podemos afirmar que os resultados da deteção de Cianobactérias e seus possíveis genes que codificam a produção de cianotoxinas vão de encontro aos resultados da identificação fitoplanctónica, uma vez que segundo a tabela 26 observa-se que a



---

albufeira de Flamengos é a que tem mais espécies de Cianobactérias, entretanto a espécie dominante (*Coelosphaerium* sp.) não é potencialmente tóxica, encontrando também espécies tóxicas (*Anabaenopsis elenkinii* e *Aphanizomenon* sp.) em pequena quantidade.

Facto esse que talvez justifique não se ter encontrado presença de genes tóxicos nessa albufeira. Por outro lado, na albufeira de Figueira Gorda apesar do número de espécies na identificação fitoplanctónica ter sido inferior, observou-se grande número de uma espécie potencialmente produtora de toxinas (*Aphanizomenon manguinii*), facto que veio a ser confirmado pela técnica de Biologia molecular.

#### 4.3.4 Parâmetros físico-químico das Albufeiras de Cabo Verde

*Tabela 27. Parâmetros físico-químicos analisados nas amostras das albufeiras de Cabo Verde.*


Local	Temp. (°C)	pH	Oxigénio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Flamengos	29,2	8,9	89,3	0,008	0,61	1,451	1,45
Figueira Gorda	30,0	9,4	95,3	0,001	1,59	0,685	0,69
Poilão	30,0	9,3	98,5	0,060	2,46	1,014	1,01

Ao analisar os parâmetros físico-químicos das amostras das albufeiras de Cabo Verde, observa-se que a temperatura rondou os 30 graus, temperatura considerada elevada, entretanto para a realidade de Cabo Verde (tabela 27).

Quanto ao pH, observam-se valores ligeiramente básicos, estes valores podem ser considerados normais, tendo em conta o ambiente vulcânico e pela influência do clima árido associado a baixa precipitação registada no País. Observa-se que a albufeira da Figueira Gorda foi a que teve o valor de pH mais elevado

A concentração de nitratos foi superior na Albufeira de Poilão, de uma forma geral sugere-se que essa concentração seja de origem alóctone procedente da bacia de drenagem. Os valores do Fósforo foram elevados em todas as albufeiras, registando valores superiores em Poilão e Flamengos. De todas as formas os valores de fósforo foram superiores a 0,035 mg/L – que é o valor limite de classificação de um sistema como sendo eutrófico (Morais et al. 2018)

Em relação ao Oxigénio dissolvido observa-se que rondou os 89 e 100%, esse parâmetro é muito importante na dinâmica do fitoplâncton, pois está relacionada com a densidade das espécies. A quantidade de Oxigénio dissolvido correlaciona-se com a quantidade de Clorofila *a* que na maioria dos casos resulta da biomassa fitoplanctónica (Kunlasak et al. 2013). De uma forma geral pode-se dizer que as atividades metabólicas das espécies fitoplanctónicas leva ao aumento da concentração do Oxigénio Dissolvido (Adloff et al. 2018).



---

Pode-se dizer que os fatores físico-químicos de Cabo verde (temperatura elevada, pH, e concentração elevada de fosfatos e fósforos) estão intimamente ligados à densidade de Cianobactérias em seus reservatórios.

---

## V. Conclusão

Em suma, conseguiu-se otimizar um protocolo para determinação da concentração das Ficobiliproteínas totais, assim como para cada um dos grupos das Ficobiliproteínas individualmente.

Devido à forte correlação entre as Ficobiliproteínas totais e a Clorofila *a*, pode-se concluir que as Ficobiliproteínas podem ser utilizadas como potencial indicador da qualidade da água, juntamente com a Clorofila *a*, nas massas de água fortemente modificadas. E porque as Ficobiliproteínas são um pigmento específico das Cianobactérias, possivelmente seria considerado um bioindicador mais viável que a Clorofila *a*, para a avaliação da qualidade da água. Este facto foi verificado no mês de Abril, na plataforma dos Álamos, onde se observou um valor de concentração de Clorofila *a* elevado, mas não da concentração de Ficobiliproteínas totais, indicando assim que o *bloom* que estávamos perante não seria de Cianobactérias, mas sim de outro grupo de Microalgas. A plataforma mais a montante do rio (Luceférit) apresentou valores superiores de Clorofila *a* e Ficobiliproteínas, e as concentrações mais elevadas dos pigmentos estudados foram encontradas na zona até onde há incidência de luz solar, ao longo da coluna da água.

Os fatores físico-químicos têm uma relação intrínseca com a ocorrência de Cianobactérias e conseqüentemente com concentração dos pigmentos (Clorofila *a* e Ficobiliproteínas), das quais destaca-se a temperatura que é um fator muito relevante.

Nos estudos das albufeiras de Cabo Verde, podemos referir a presença de espécies de Cianobactérias potencialmente tóxicas, e que essa ocorrência está relacionada com os fatores ambientais, que são propícios à formação de blooms de Cianobactérias. Pelo que se recomenda a aposta em medidas de gestão que visem melhorar a qualidade de água.

O uso das técnicas de biologia molecular pode ser um recurso rápido para a deteção de Cianobactérias e respetivas toxinas, que não conseguimos identificar pela técnica de microscopia ótica.

## VI. Bibliografia

- ADLOFF, C.T; Bem, C.C; Reichert, G; Azevedo, J.C.R (2018). **Analysis of the phytoplankton community emphasizing cyanobacteria in four cascade reservoirs system of the Iguazu River, Paraná, Brazil**, *Brazilian Journal of Water Resources*, doi.org/10.1590/2318-0331.0318170050
- AHN, C.Y; Oh, H.M; Park, Y.S (2011). *Evaluation of environmental factors on cyanobacterial bloom in eutrophic reservoir using artificial neural networks*, *Journal of Phycology*, doi.org/10.1111/j.1529-8817.2011.00990.x
- AL-TEBRINEH, J; Pearson, L. A; Yasar, S.A; Neilan, B.A(2012). *A multiplex qPCR targeting hepato- and neurotoxic cyanobacteria of global significance*, *Harmful Algae*, doi.org/10.1016/j.hal.2011.11.001
- ARVELA, A.F.S (2013). *Alterações da paisagem decorrentes da construção da barragem do Alqueva: cenários para 2025, 2050 e 2100*- Universidade do Algarve faculdade de Ciências e Tecnologia Dissertação realizada para obtenção do grau de mestre em arquitetura paisagista.
- AZEVEDO, S.V.V (1998). *Toxinas de Cianobactérias: Causas e conseqüências para a Saúde Pública* – Medicina online, letc.biof.ufrj.br
- BALDIA, S.F; Conaco, M.C.G; Nishijima, T; Imanish, S; Harada, K.I (2003). *Microcystin production during algal bloom occurrence in Laguna de Bay, the Philippines* , *Fisheries Science* 69: 110–116 doi.org/10.1046/j.1444-2906.2003.00594.x
- BARRETO, A. D. (2015). *Contribuição para o estudo de um sistema integrado de abastecimento de água e tratamento de água residual doméstica. Caso de estudo: Cidade da Praia*. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia do Ambiente, perfil Engenharia Sanitária. Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia - Universidade Nova de Lisboa.
- BELLÉM, F; Nunes, S; Morais, M; Fonseca, R (2012). *Cianobactérias e Toxicidade: Impacte na Saúde Pública em Portugal e no Brasil*. *Revista Brasileira de Geografia Física*.;6:1374–1389.
- BENNETT ,A; Bogorad, L (1973). *Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga* *J Cell Biol*.58(2):419-35, doi: 10.1083/jcb.58.2.419
- BEUTEL, M. W. & Horne, A. J (1999). *A Review of the Effects of Hypolimnetic Oxygenation on Lake and Reservoir Water Quality, Lake and Reservoir Management*, 15:4, 285-297, DOI: 10.1080/07438149909354124
- BIANCHI, V; Salles, T; Ghinassi, M; Billi,P; Dallanave, E; Duclaux, G (2015). *Numerical modeling of tectonically driven river dynamics and deposition in an upland incised valley*, *Geomorphology*, https://doi.org/10.1016/j.geomorph.2015.04.007
- BORTOLI, S & Ernani P (2015). *Cianotoxinas: Características gerais, Histórico, Legislação e Métodos de Análises*, Pompêo et al. (Orgs.) *Ecologia de reservatórios e interfaces*, São Paulo : Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, 201.
- BOWLING, L. C; Zamyadi, A; Hendersonc, R.K (2016). *Assessment of in situ fluorometry to measure cyanobacterial presence in water bodies with diverse cyanobacterial populations*, *Water Research Volume 105*: 22-33, https://doi.org/10.1016/j.watres.08.051



- BRIAND, J.F; Robillot, C; Quiblier-Llobéras, C; Humbert, J.F; Couté, A; Bernard, C(2002) *Environmental context of *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) blooms in a shallow pond in France*, **Water Research** [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(02\)00016-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(02)00016-7)
- BURATTI, F. M; Manganelli, M; Vichi, S; Stefanelli, M; Scardala, S; Testai, E; Funari, E (2017). *Cyanotoxins: producing organisms, occurrence, toxicity, mechanism of action and human health toxicological risk evaluation*, *Archives of Toxicology*, doi 10.1007/s00204-016-1913-6.
- CARDOSO, L.S; Marques, D.M (2004). *The influence of hydrodynamics on the spatial and temporal variation of phytoplankton pigments in a large, sub-tropical coastal lake (Brazil)*, *Braz. arch. biol. technol.* vol.47 no.4 Curitiba doi.org/10.1590/S1516-89132004000400013
- CARMICHAEL, W.W (1992). *Cyanobacteria Secondary Metabolites-the Cyanotoxins*. *Journal of Applied Bacteriology* 72 (6): 445–59. doi.org/10.1111/j.1365 2672.1992.tb01858.x.
- CARMICHAEL, W.W; Azevedo, S.M; Na, J.S; Molica, R.J; Jochimsen, E.M; Lau, S; Rinehart, K.L; Shaw, G.R; Eaglesham, G.K (2001). *Human Fatalities from Cyanobacteria: Chemical and Biological Evidence for Cyanotoxins* *Wayne, Environmental Health Perspectives*, doi.org/10.1289/ehp.01109663
- CHA, Y.K; Cho, K.H; Lee, H; Kang, T; Kim, J.H (2017). *The relative importance of water temperature and residence time in predicting cyanobacteria abundance in regulated rivers*, *Water Research* doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.040
- CHISTI, Y (2018). *“Phycobiliproteins.”* *Biotechnology Advances* 36 (5): 1557. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.06.007.
- CHORUS, I & Bartram, J (1999). *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*.
- CORREIA, F.V; Brito, E. A; Soares, E. F; Moniz, C.A; Pile, E; Morais, L. E; Carvalho, M.L(2010). *Segunda comunicação Nacional de Cabo Verde sobre as Mudanças Climáticas*. Ministério do Ambiente, do Desenvolvimento Rural e dos Recursos Marinhos.
- COSTA, Z. B. (2013). *Avaliação das Práticas Agrícolas nas Culturas de Regadio, Ilha de Santiago - Cabo Verde*. Universidade de Cabo Verde.
- DAO, T.S; Nimptsch, J; Wiegand, C (2016). *Dynamics of cyanobacteria and cyanobacterial toxins and their correlation with environmental parameters in Tri An Reservoir, Vietnam* *J Water Health* 14 (4): 699-712, doi.org/10.2166/wh.2016.257
- DAVIS, T.W; Berry,D.L; Boyer, G.L; Gobler C. J(2009). *The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms*, *Harmful Algae*, doi.org/10.1016/j.hal.2009.02.004
- DIAS, E; Sérgio, P; Pereira, P (2011). *“Cyanotoxins: From Poisoning to Healing –a Possible Pathway?”* 29 (2): 159–72. doi.org/10.23818/limn.34.13.

- DIAS-SARDINHA, I; Ross, D; Gomes, A.C (2018). *The clustering conditions for managing creative tourism destinations: the Alqueva region case, Portugal* Journal of Environmental Planning and Management, 61:4, 635-655, doi: 10.1080/09640568.2017.1327846.
- DORTCH, Q; Roberts, T.L; Clayton, J.R; Ahmed, S.I (1983). *RNA/DNA ratios and DNA concentrations as indicators of growth rate and biomass in planktonic marine organisms*, MARINE ECOLOGY - PROGRESS SERIES Mar. Ecol. hog.Ser
- ERRATT, K.J; Creed, I.F; Trick, C.G (2018) **Comparative effects of ammonium, nitrate and urea on growth and photosynthetic efficiency of three bloom-forming cyanobacteria** , Freshwater Biology, doi: 10.1111/fwb.13099.
- FERREIRA, V.A.D.S(2016). *Barragi sta finkadu ma nós nu fika disariadu: spaces of confrontati on between the impass es of the present and the un certainties of the future in Boaventura community, Figueira Gorda, Santiago Island , Cape Verde*, dossi ê - Periodicos UFMA
- FERNANDES, V.O; Cavati, B; Oliveira, L.B; Souza, B.D (2009). *Ecology of Cyanobacteria: Causes and Consequences of Blooms*, revistas.ufrj.br.
- FIGUEIREDO, D.R; Reboleira, A.S.S.P; Antunes, S.C; Abrantes, N; Azeiteiro,U; Gonçalves, F; Pereira, M.J (2006). *The effect of environmental parameters and cyanobacterial blooms on phytoplankton dynamics of a Portuguese temperate Lake*, Hydrobiologia 568:145–157ÓSpringer doi 10.1007/s10750-006-0196-y
- FUNARI, E; Testai, E (2008). *Human Health Risk Assessment Related to Cyanotoxins Exposure*, Journal Critical Reviews in Toxicology volume 38, doi.org/10.1080/10408440701749454.
- GLAVAN, M; Mili, V; Pintar, M (2013). *Finding options to improve catchment water quality- Lessons learned from historical land use situations in a Mediterranean catchment in Slovenia*. Ecol. Modell. 261-262, 58–73. doi:10.1016/j.ecolmodel.2013.04.004.
- Gominho, M.F.A (2010). *Gestão dos recursos hídricos no processo de desenvolvimento sustentável de cabo verde: uma proposta* Portal de conhecimento de Cabo verde.
- GRAHAM, J.L; Dubrovsky, N.M; Eberts, S.M (2008) “Livro” *Cyanobacterial Harmful Algal Blooms and U.S. Geological Survey Science Capabilities*, USGS Science for a changing World.
- GUZMÁN GUILLÉN, R; Risalde, M.A; Prieto, A.I.O; Vázquez C.A.C; Moyano, M.R; Blanco, A.R; Cameán, A.M.F (2013). *Papel preventivo de la L-CARNITINA frente a las alteraciones histopatológicas producidas por cilindrospermopsina en tilapias (Oreochromis niloticus)*, XX Congreso Español de Toxicología y IV Iberoamericano.
- HAMED, A.F (2008). *Biodiversity and Distribution of Blue-Green Algae/Cyanobacteria and Diatoms in Some of the Egyptian Water Habitats in Relation to Conductivity*, Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(1): 1-21, 2008ISSN 1991-8178
- HAMILTON, D.P; Salmaso, N; Paerl, H.W (2016). *Mitigating harmful cyanobacterial blooms: strategies for control of nitrogen and phosphorus loads*, Aquat Ecol 50:351–366 doi 10.1007/s10452-016-9594-

- HARRIS, T.D; Smith, V.H; Graham, J.L; Van de Waal, D.B; Tedesco, L.P. & Clercin, N (2016). *Combined effects of nitrogen to phosphorus and nitrate to ammonia ratios on cyanobacterial metabolite concentrations in eutrophic Midwestern USA reservoirs* Inland Waters, doi.org/10.5268/IW-6.2.938.
- HARVEY, E.T; Kratzer, S; Philipson, P (2015). *Satellite-based water quality monitoring for improved spatial and temporal retrieval of chlorophyll-a in coastal waters*, Remote Sensing of Environment doi.org/10.1016/j.rse.2014.11.017.
- HELLWEGER, F.L; Schlosser, P; Lall, U; Weissel, J.K (2004). *Use of satellite imagery for water quality studies in New York Harbor Estuarine*, Coastal and Shelf Science 61 437–448.
- HERNÁNDEZ, R.V.A (2008). *Caracterização dos solos da ilha de Santiago (Cabo Verde) numa perspectiva de sustentabilidade ambiental*, Universidade de Aveiro, Portal de conhecimento de Cabo verde, <http://hdl.handle.net/10961/1657>
- HENDRIKS, I. E; Olsen, Y. S; Ramajo, L; Basso, L; Steckbauer, A; Moore, T. S; Howard, J; Duarte, C. M(2014). *Photosynthetic activity buffers ocean acidification in seagrass meadows*, Biogeosciences, 11, 333-346, doi:10.5194/bg-11-333-2014.
- HINNERS, J; Hofmeister, R; Hense, I (2015). *Modeling the Role of pH on Baltic Sea Cyanobacteria*, *Life* 5(2), 1204-1217; doi.org/10.3390/life5021204
- HIRATA, T; Mikiya, T; Masaki, O; Tepei, T; Morihiko, S (2000). “*Antioxidant Activities of Phycocyanobilin Prepared from Spirulina Platensis.*” *Journal of Applied Phycology*. Vol. 12.
- HOEK, C.V.D; Mann, D.G; Jahns, H. M (1995). *Algae. An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge, European Journal of Phycology, 32(2), 203-205.
- HORVÁTH, H; Attila, W.K; Caitlin, R; Mátyás, P (2013). *Extraction Methods for Phycocyanin Determination in Freshwater Filamentous Cyanobacteria and Their Application in a Shallow Lake*. European Journal of Phycology 48 (3): 278–86. doi.org/10.1080/09670262.2013.821525.
- INAG, I.P. (2009). *Manual para a avaliação da qualidade biológica da água. Protocolo de amostragem e análise para o Fitoplâncton*. Ministério do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional. Instituto da Água, I.P.
- INE (2018). Instituto nacional de estatística de Cabo Verde, <http://ine.cv/>
- ISMAIL, M.M; Osman M.E.H (2016). *Seasonal fluctuation of photosynthetic pigments of most common red seaweeds species collected from AbuQir, Alexandria, Egypt*. Rev. biol. mar. oceanogr. vol.51 no.3 Valparaíso dic.doi.org/10.4067/S0718-19572016000300004
- JARDIM, F. A; Sperling, E.V; Jardim, B.F.M; Almeida, K.C.B (2014). *Fatores determinantes das florações de Cianobactérias na água do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil*, Artigo Técnico doi: 10.1590/S1413-41522014019000001026
- JOHNSON, E.M; Kanhaiya, K; Debabrata, D (2014). “*Physicochemical Parameters Optimization, and Purification of Phycobiliproteins from the Isolated Nostoc Sp.*” *Bioresource Technology* 166 (August): 541–47. doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2014.05.097.
- JONES, R.A; Lee, G.F (1982). *Chlorophyll—a raw water quality parameter*, Journal American Water Works Association 74(9):490-494, doi: 10.1002/j.1551-8833.1982.tb04979.x

- KHATOON,H; Leong, L; Rahman, N.A; Mian, S; Begum,H; Banerjee, S; Endut, A(2018). *Effects of different light source and media on growth and production of phycobiliprotein from freshwater cyanobacteria*, *Bioresource Technology*, doi.org/10.1016/j.biortech.2017.10.052
- KÖKER, L.A.R ; Albay, M; Neilan, B.A (2017). *Molecular detection of hepatotoxic cyanobacteria in inland water bodies of the Marmara Region, Turkey*, *Advances in Oceanography and Limnology*, 8(1): 52-60 doi: 10.4081/aiol.2017.6394
- KUMARI, N; Srivastava, A.K; Bhargava, P; Rai, L.C (2009). *Molecular approaches towards assessment of cyanobacterial biodiversity*, *African Journal of Biotechnology* Vol. 8 (18), pp. 4284-4298- India.
- KUNLASAK, K; Chitmanat, C; Whangchai, N; Promya, J; Lebel,L (2013). *Relationships of Dissolved Oxygen with Chlorophyll-a and Phytoplankton Composition in Tilapia Ponds*, *International Journal of Geosciences*, 2013, 4, 46-53, doi.org/10.4236/ijg.2013.45B008 P
- KUO, Y.M ; Yang,J; Liu, W.W; Zhao, E; Li, R; Yao, L (2018). *Using generalized additive models to investigate factors influencing cyanobacterial abundance through phycocyanin fluorescence in East Lake, China* *Environmental Monitoring and Assessment*, 190:599.
- LAGE-YUSTY,M.A; Caramés-Adán, P; López-Hernández, J (2013). *Determination of phycobiliproteins by constant-wavelength synchronous spectrofluorimetry method in red algae*, *CyTA - Journal of Food*, 11:3, 243-247, doi: 10.1080/19476337.2012.728629
- LANDIM, L; António, F; Silva, S.V; Morales, E.A; Novais, M.H; Penha, A; Morais,M (2018). *Caracterização físico-química e biológica de cinco albufeiras da ilha de Santiago, Cabo Verde*, *Repositório da Universidade de Évora*.
- LAUCERI, R; Bresciani, M; Lami, A; Morabito, G (2017). *Chlorophyll a interference in phycocyanin and allophycocyanin spectrophotometric quantification*, *J. Limnol.*, 2018; 77(1): 169-177 NOTE, doi: 10.4081/jlimnol.2017.1691
- LAWRENZ, E; Fedewa, E.J; Richardson, T.L (2011). *“Extraction Protocols for the Quantification of Phycobilins in Aqueous Phytoplankton Extracts.”* *Journal of Applied Phycology* 23 (5): 865–71. doi.org/10.1007/s10811-010-9600-0.
- LEE, Z.P; Weidemann, A; Kindle, J; Arnone, R; Carder, K.L; Davis, C (2007). *Euphotic zone depth: Its derivation and implication to ocean-color remote sensing*, *JOURNAL OF GEOPHYSICAL RESEARCH*, VOL. 112, C03009, doi:10.1029/2006JC003802
- LI, W; Su, H.N; Pu, Y; Chen, J; Liu, L.N; Liu, Q; Qin, S (2019). *Phycobiliproteins: Molecular structure, production, applications, and Prospects*, *Biotechnology Advances* 37 (2019) 340–353
- LIMA, H. S (2014). *Perfil Epidemiológico e Factores associados às Enteroparasitoses entre Crianças de Ecolas do Ensino Básico da Ilha de Santiago, Cabo Verde. Praia*: Universidade de Cabo Verde. Universidade Estadual Paulista “ Júlio de Mesquita Filho”.
- LIYANAGE, H.M; Arachchi1, D.M.N; Chandrasekaran, N.V (2016). *Genetic divergence among toxic and non-toxic cyanobacteria of the dry zone of Sri Lanka*, *SpringerPlus* (2016) 5:2026 doi 10.1186/s40064-016-3680-5
- MACÁRIO, I.P.E; Castro, B.B; Nunes, M.I.S; Antunes, S.C; Pizarro, C; Coelho, C; Gonçalves, F; Figueiredo, D.R (2015). *“New Insights towards the Establishment of Phycocyanin Concentration Thresholds Considering Species-Specific Variability of Bloom-Forming*

*Cyanobacteria.*” *Hydrobiologia* 757 (1): 155–65. doi.org/10.1007/s10750-015-2248-7.

- MACCOLL, R; Guard-Friar, D (2018).”Livro” *Phycobiliproteins*, eBook Published, CRC Press; doi.org/10.1201/9781351075565
- MARINO, L (2017) *Relação entre Clorofila-a e Cianobactérias no estado de São Paulo*. revista DAE, São Paulo.
- MARKL, E; Grünbichler, H; Lackner, M (2018) *Cyanobacteria for PHB Bioplastics Production: A Review - Algae, 2018 - intechopen.com*
- MARŠÁLEK, B; Bláha, L; Hindák, F (2000). *Review of toxicity of cyanobacteria in Slovakia*, a. *Biologia* 55(6): 645-652.
- MATOS, M.C.G.A (2016) *Estudo do Efeito na Saúde dos Pigmentos Fotossintéticos, Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz*, trabalho submetido por para a obtenção do grau de mestre em ciências farmacêuticas.
- MENEZES, C; Martins, O; Dias, E (2016). *Treatment of water for human consumption: a case of cyanobacterial survival*, Repositório Científico do Instituto Nacional de Saúde Departamento de Saúde Ambiental DSA - Artigos em revistas nacionais.
- MEREL, S; Walker, D; Chicana, R; Snyder, S; Baurès, E; Thomas, O (2013) *State of knowledge and concerns on cyanobacterial blooms and cyanotoxins*, *Environment International* 59 303–327, Elsevier Ltd. All rights reserved.
- MONTEIRO, R.D (2013). *Avaliação de recursos hídricos e viabilidade da recarga artificial de aquíferos na bacia hidrográfica dos engenhos na ilha de Santiago-Cabo Verde*, Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia e Gestão da Água, Universidade Nova de Lisboa.
- MORAIS, M.M; Silva, S.V; Lobo de Pina, A; Morales, E.A; Nunes, S; Novais, M.H; Penha, M. A; Fortes, A; Landim, L (2018). *Estudo preliminar do fitoplâncton em reservatórios na ilha de Santiago, Cabo Verde*, Repositório da Universidade de Évora.
- MOREIRA, E.C.G (2018). *A (Re) Configuração do espaço social com a “Mãe Água”: uma etnografia a partir da Barragem de Figueira Gorda – Santiago – Cabo Verde*. Tesis, Pelotas, v. 6, n. 1, p. 128-138, jan./jun.
- MUDROCH, A (2017). *Manual of Physico-Chemical Analysis of Aquatic Sediments*, Taylorfrancis, doi.org/10.1201/9780203748176
- NEILAN, B.A; Dittmann, E; Rouhiainen, L; Bass, R.A; Schaub, V; Sivonen, K; Börner, T (1999). *Nonribosomal Peptide Synthesis and Toxicity of Cyanobacteria*, *Journal of Bacteriology*.
- NOBRE, C.A.S (2015). *Isolamento, Purificação e Caracterização parcial da estrutura primária de uma Ficobiliproteína da alga marinha vermelha Hypnea musciformis(wulfen) Lamouroux*, Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Universidade Federal do Ceará Centro de Ciências Agrárias Departamento de Engenharia de Pesca Programa de pós-graduação em Engenharia de Pesca.
- PAERL, H.W; Paul, V. J(2012). *Climate change: Links to global expansion of harmful cyanobacteria*, *Water Research*, doi.org/10.1016/j.watres.2011.08.002

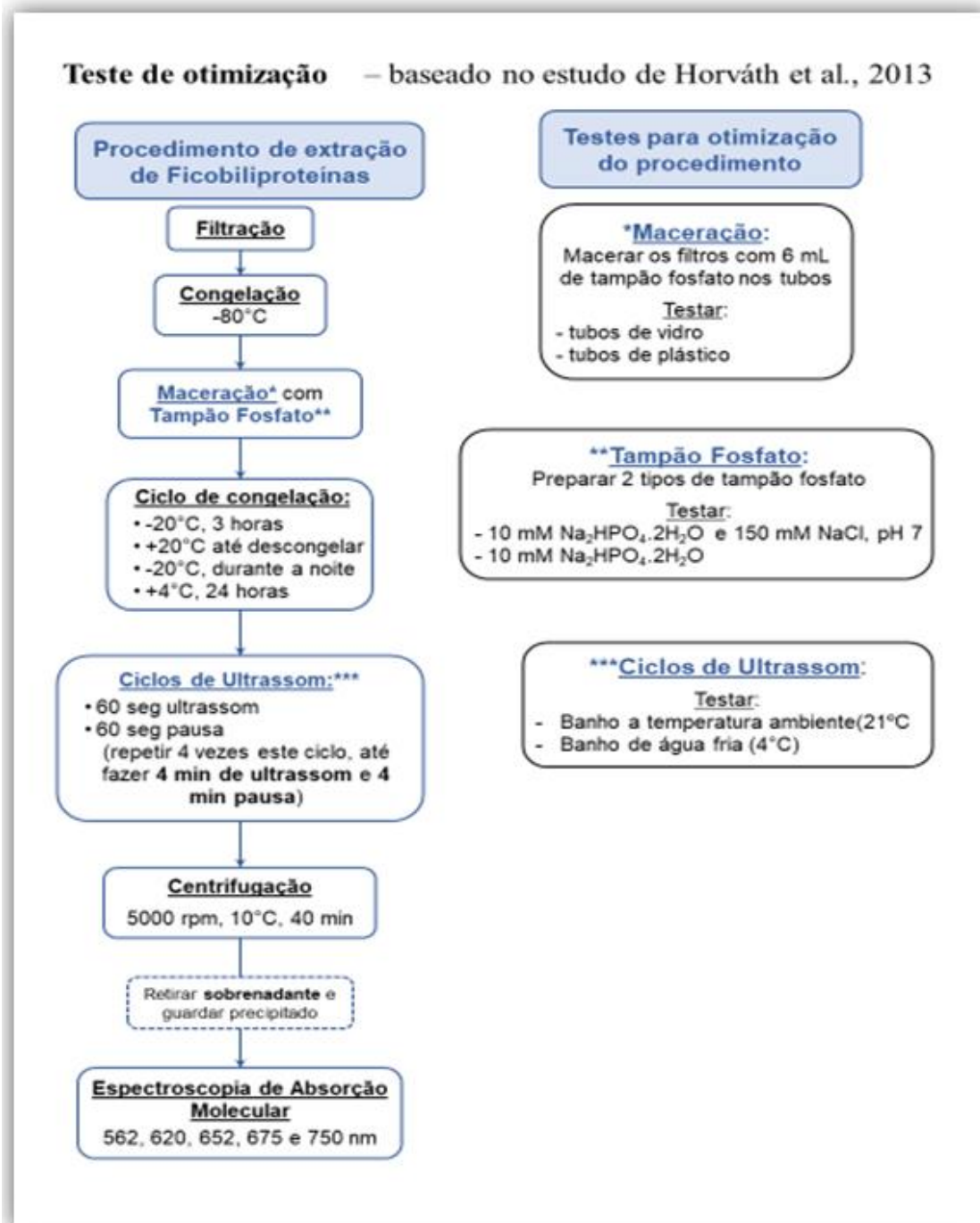
- PAGELS, A.C.G.F, Amaro, H.M; Kijjoo, A; Vasconcelos,V (2019). “*Phycobiliproteins from Cyanobacteria: Chemistry and Biotechnological Applications.*” *Biotechnology Advances* 37 (3): 422–43. doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.010.
- PANTELIĆ, D; Svirčev, Z;Simeunović, J; Vidović, M;Trajković, I (2013) *Cyanotoxins: Characteristics, production and degradation routes in drinking water treatment with reference to the situation in Serbia*, *Chemosphere* Volume 91, Issue 4, April 2013.
- PAZ, V.P.S; Teodoro, R.E.F; Mendonça, F.C (2000) *Recursos Hídricos, Agricultura irrigada e meio ambiente, comunicado técnico*, Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.4, n.3, p.465-473,
- PEARSON, L.A; Neilan, B.A (2008). *The molecular genetics of cyanobacterial toxicity as a basis for monitoring water quality and public health risk*, *Curr Opin Biotechnol.* 2008 Jun;19(3):281-8. doi: 10.1016/j.copbio.2008.03.002.
- PILON, Shinjini; Zastepa, A; Zofia, T; Gregory-Eaves, I; Racine, M; Blais, J.M; Poulain, A.J; Pick, F.R (2019). “*Lake and Reservoir Management Contrasting Histories of Microcystin-Producing Cyanobacteria in Two Temperate Lakes as Inferred from Quantitative Sediment DNA Analyses.*” doi.org/10.1080/10402381.2018.1549625.
- RANTALA, A; Rizzi, E; Castiglioni, B; Bellis, G; Sivonen, K (2008). *Identification of hepatotoxin-producing cyanobacteria by DNA-chip*, *Environmental Microbiology* 10(3), 653–664,doi:10.1111/j.1462-2920.2007.01488.x
- RAPALA, A; Sivonen, K; Lyra, C; Niemela, S (1997). *Variation of Microcystins, Cyanobacterial Hepatotoxins, in Anabaena spp. as a Function of Growth Stimuli*, Department of Applied Chemistry and Microbiology, University of Helsinki, FIN-00014 Helsinki University, Finland, Applied and environmental microbiology.
- RASTOGI, R.P; Madamwar, D; Incharoensakdi, A (2015). *Bloom Dynamics of Cyanobacteria and Their Toxins: Environmental Health Impacts and Mitigation Strategies*. *Front. Microbiol.* 6:1254. doi: 10.3389/fmicb.2015.01254
- REIS, A; Mendes, A; Lobo-Fernandes H; Empis, J. A; Novais, J.M (1998) *Production, Extraction and Purification of Phycobiliproteins from Nostoc sp.* *Bioresource Technology* 66 (1998) 181 – 187.
- RIBEIRO, L (2009). *Águas Subterrâneas, in: Pereira, H., Domingos, T., Vicente, L., Proença, V. (Eds.), Ecossistemas E Bem-Estar Humano Em Portugal*, Avaliação Para Portugal Do Millennium Ecosystem Assessment. Escolar Editora, Lisbon, pp. 381–411.
- RIZZO, F.R; Santos, B.N.C; Castro, G.F.P.S; Passos, T.S; Nascimento, M.A; Guerra, H.D; Silva, C.G; Dias, D.S; Domingues, J.R; Lima-Araújo, K.G. (2014). *Production of phycobiliproteins by Arthrospira platensis under different light conditions for application in food products* “*Food Science and Technology*, doi.org/10.1590/1678-457X.6463.
- ROCHA JÚNIOR, C.A.N (2018). *Efeitos da variação de volume e disponibilidade de luz a sobre a dinâmica temporal da biomassa fitoplanctônica em um reservatório tropical semiárido*, Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

- RODRIGUES, J.D (2014): *Mobilização de água superficial em Cabo Verde - Impacto da construção das barragens*, Laboratório de engenharia civil/ Ministério de infraestruturas e economia marítima, Maputo.
- RODRIGUES, L.C.P.M.A (2016) *A Construção da Paisagem através da Ruína: Olhar o Alqueva* Universidade de Évora Escola de Artes Departamento de Arquitetura Trabalho de Projeto- dspace.uevora.pt/rdpc/handle/10174/22486
- SANTOS, A. M. (2015). *Avaliação da Procura, Disponibilidade e Uso de Águas Residuais na Rega em Ribeira de Vinha - São Vicente*. Universidade de Cabo Verde.
- SANTOS, E.A.T (2013). *As barragens em Cabo Verde: Avaliação dos impactes ambientais, socioeconómicos e culturais Caso de estudo “A Barragem do Poilão”*, Faculdade de Ciências Sociais e Humanas, Universidade Nova de Lisboa, Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Gestão do Território, área de especialização em Ambiente e Recursos Naturais.
- SANTOS, K.R.S; Jacinavicius, F.R; Sant’Anna, C.L (2011). *Effects of the pH on growth and morphology of Anabaenopsis elenkinii Miller (Cyanobacteria) isolated from the alkaline shallow lake of the Brazilian Pantanal*, Fottea 11(1): 119–126, 2011
- SARADA, R; Pillai, M.G; Ravishankar, G.A (1998). *Phycocyanin from Spirulina sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin*, Process Biochemistry 34 (1999) 795–801.
- SCHIRRMESTER, B.E; Sanchez-Baracaldo, P; Wacey, D (2016). *Cyanobacterial evolution during thePrecambrian*, International Journal of Astrobiology15 (3): 187–204 doi:10.1017/S1473550415000579
- SHAHIDIAN, S; Serralheiro, R.P; Serrano, J; Sousa, A (2014). *O desafio dos recursos hídricos em Cabo Verde- Portal do conhecimento de Cabo Verde*
- SOBIECHOWSKA-SASIM, M; Stoń-Egiert, J; Kosakowska, A (2014). *Quantitative analysis of extracted phycobilin pigments in cyanobacteria—an assessment of spectrophotometric and spectrofluorometric methods*, Journal of Applied Phycology, Volume 26, Issue 5, pp 2065–2074
- SONANI, R.R; Rastogi, R.P; Patel, R; Madamwar, D (2016). *Recent advances in production, purification and applications of phycobiliproteins*. World J Biol Chem 7(1): 100-109 Available from: URL: http://www.wjgnet.com/1949-8454/full/v7/i1/100.htm doi.org/10.4331/wjbc.v7.i1.100
- SOO, R.M; Hemp, J; Parks, D.H; Fischer, W.W; Hugenholtz, P(2017) *On the origins of oxygenic photosynthesis and aerobic respiration in Cyanobacteria* , www.sciencemag.org/content/355/6332/1436/suppl/DC1, doi: 10.1126/science.aal3794
- SOVERAL DIAS, J. (1999). Código de Boas Práticas Agrícolas. Laboratório Químico-Agrícola Rebelo da Silva.
- SRIYASAK, P; Chitmanat, C; Whangchai, N; Promya, J; Lebel, L (2015). *Effect of water de-stratification on dissolved oxygen and ammonia in tilapia ponds in Northern Thailand*, Int Aquat Res (2015) 7:287–299 doi 10.1007/s40071-015-0113-y

- STEWART, D.E; Farmer, F.H (1984). *Extraction, identification, and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton* Limnol. Oceanogr., 29(2), 392-397 0 1984, by the American Society of Limnology and Oceanography, Inc, doi.org/10.4319/lo.1984.29.2.0392
- TANABE, Y; Kaya, K; Watanabe, M.M (2004). *Evidence for Recombination in the Microcystin Synthetase (mcy) Genes of Toxic Cyanobacteria Microcystis spp.* J Mol Evol (2004) 58:633–641 doi: 10.1007/s00239-004-2583-1
- UFEIMANNA, H; Krügerb, T; Luckasb, B; Schrenk, D (2012). *Human and rat hepatocytotoxicity and protein phosphatase 1 and 2A inhibitory activity of naturally occurring desmethyl-microcystins and nodularins*, Toxicology 293 59–67, doi.org/10.1016/j.tox.2011.12.011
- VARELA, L.H (2016). *Desafios ao Direito Humano à Água e à Sustentabilidade dos Serviços em Santa Cruz, Cabo Verde. Ambiente & Sociedade, XIX*, 209-228.
- VEAL, C.J; Neelamraju, C; Wolff, T; Watkinson, A; Shillito, D.C.A(2017). *Managing cyanobacterial toxin risks to recreational users: a case study of inland lakes in South East Queensland*, Water Supply (2017) 18 (5): 1719-1726.doi.org/10.2166/ws.2017.23
- VIDEIRA, A (2001). “Livro” *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações, Lidel – edições técnicas. Lda.*
- VISKARI, P.J; Colyer, C.L (2003) **Rapid extraction of phycobiliproteins from cultured cyanobacteria samples**, Analytical Biochemistry 319 263–271
- WEJNEROWSKI, Ł; Rzymiski, P; Kokociński, M; Meriluoto, J (2018) *The structure and toxicity of winter cyanobacterial bloom in a eutrophic lake of the temperate zone*, Ecotoxicology. 2018; 27(6): 752–760, doi: 10.1007/s10646-018-1957-x
- WESTERMEIER, R (2016). **Book Electrophoresis in practice: A guide to methods and applications of DNA and protein separations**, Accessed: 2019-06-05
- ZHAO, D; Shen, F; Zeng, J; Huang, R; Yu, Z; Wuc, Q.L (2016). *Network analysis reveals seasonal variation of co-occurrence correlations between Cyanobacteria and other bacterioplankton*, Science of the Total Environment, doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.08.150
- ZURAWELL, R.W; Chen, H; Burke, J.M; Prepas, E.E (2005). *“Hepatotoxic Cyanobacteria: A Review of the Biological Importance of Microcystins in Freshwater Environments.” Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 8 (1): 1–37. doi.org/10.1080/10937400590889412.



## ANEXO 1- Teste de otimização



## ANEXO 2- Cálculo do Rácio da qualidade ecológica

**Tabela A 1** Cálculo do Rácio da qualidade ecológica (RQE), destacados a negrito\*.

Local	Profundidade	$C_8$	$C_9$	$C_{10}$	$C_{11}$	$C_{12}$
		Abril	Junho	Julho	Setembro	Novembro
Álamos	sup	26,78	14,82	2,84	4,27	5,83
	1 m	27,91	9,92	2,19	4,68	5,25
	2 m	25,24	12,33	2,48	5,02	6,00
	3 m	19,39	13,41	2,66	5,86	5,26
	fim ZE	12,64	13,41	5,02	6,87	3,46
	meio alb	0,46	0,39	0,81	0,55	3,39
	fundo	0,37	<b>0,17*</b>	0,49	0,97	1,80
Montante	sup	7,62	3,62	1,67	8,77	1,44
	1 m	7,94	2,72	1,10	3,92	0,87
	2 m	7,23	2,49	1,33	4,91	1,15
	3 m	6,23	1,89	1,86	6,00	0,87
	fim ZE	6,93	2,24	1,56	7,68	0,52
	meio alb	0,26	<b>0,17*</b>	<b>0,12*</b>	<b>0,17*</b>	0,64
	fundo	0,46	<b>0,06*</b>	<b>0,06*</b>	<b>0,06*</b>	0,28
Mourão	sup	1,20	1,59	1,24	6,09	0,23
	1 m	0,97	1,45	1,50	5,13	<b>0,17*</b>
	2 m	1,27	1,45	1,34	6,30	0,20
	3 m	1,61	1,33	1,67	5,89	0,10
	fim ZE	0,55	0,55	1,85	5,40	0,20
	meio alb	0,97	0,19	<b>0,17*</b>	0,21	<b>0,12*</b>
	fundo	0,62	0,22	0,64	<b>0,07*</b>	<b>0,10*</b>
Lucefécit	sup	2,83	15,18	2,59	48,06	0,81
	1 m	1,18	10,69	2,14	40,45	0,75
	2 m	1,32	12,80	2,31	45,71	0,58
	3 m	1,11	11,41	3,52	43,22	0,46
	fim ZE	1,59	11,64	6,41	43,22	0,64
	meio alb	1,25	0,33	1,18	0,69	0,75
	fundo	1,59	<b>0,11*</b>	1,04	0,69	0,28

Sup- superfície; Z.E- zona eufótica; meio alb- meio albufeira

## ANEXO 3- Teste de Correlação por Plataforma

**Tabela A 2.** Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Montante \*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito  $n = 35$

Montante							
	Ficobiliproteínas totais	PC	PE	APC	Chl a	Chl b	Chl c
Ficobiliproteína							
PC	<b>0.976*</b>						
PE	<b>0.922*</b>	<b>0.876*</b>					
APC	<b>0.802*</b>	<b>0.749*</b>	<b>0.759*</b>				
Clorofila a	<b>0.578*</b>	<b>0.600*</b>	<b>0.585*</b>	<b>0.545*</b>			
Clorofila b	<b>-0.615*</b>	<b>-0.573*</b>	<b>-0.591*</b>	<b>-0.632*</b>	<b>-0.353*</b>		
Clorofila c	0.282	0.271	0.235	<b>0.336*</b>	<b>0.536*</b>	<b>-0.445*</b>	
Feo -pigmentos	-0.070	-0.094	-0.030	0.020	<b>0.399*</b>	0.004	<b>0.678*</b>

**Tabela A 3.** Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Mourão \*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito  $n = 35$

Mourão							
	Ficobiliproteínas totais	PC	PE	APC	Chl a	Chl b	Chl c
Ficobiliproteína							
PC	<b>0.509*</b>						
PE	<b>0.938*</b>	<b>0.322*</b>					
APC	<b>0.740*</b>	<b>0.531*</b>	<b>0.704*</b>				
Clorofila a	<b>0.321*</b>	0.042	0.257	0.018			
Clorofila b	-0.228	0.164	-0.247	-0.076	-0.313		
Clorofila c	0.108	0.035	0.051	-0.145	0.321	-0.165	
Feo -pigmentos	-0.0009	0.145	-0.045	-0.009	<b>0.454*</b>	-0.191	0.248

**Tabela A 4.** Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Álamos \*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito(  $n = 35$ )

Álamos							
	Ficobiliproteínas totais	PC	PE	APC	Chl a	Chl b	Chl c
Ficobiliproteína							
PC	<b>0.869*</b>						
PE	<b>0.597*</b>	0.249					
APC	<b>0.807*</b>	<b>0.848*</b>	<b>0.349*</b>				
Clorofila a	<b>0.572*</b>	0.305	<b>0.615*</b>	<b>0.346*</b>			
Clorofila b	-0.240	0.193	<b>0.349*</b>	0.023	-0.220		
Clorofila c	-0.009	-0.085	0.122	-0.024	0.097	<b>-0.747*</b>	
Feo -pigmentos	-0.063	-0.121	0.092	-0.184	0.212	<b>-0.496*</b>	<b>0.681*</b>

**Tabela A 5.** Coeficientes de correlação de Pearson entre diferentes pigmentos relativos a Lucefécit \*  $p < 0,05$ . Correlações significativas são destacadas em negrito (  $n = 35$ )

Lucefécit							
	Ficobiliproteínas totais	PC	PE	APC	Chl a	Chl b	Chl c
Ficobiliproteína							
PC	<b>0.920*</b>						
PE	<b>0.940*</b>	<b>0.801*</b>					
APC	<b>0.948*</b>	<b>0.865*</b>	<b>0.885*</b>				
Clorofila a	<b>0.606*</b>	<b>0.682*</b>	<b>0.507*</b>	<b>0.665*</b>			
Clorofila b	-0.002	-0.057	-0.049	-0.0006	-0.040		
Clorofila c	-0.070	-0.0003	-0.019	-0.063	-0.024	<b>-0.562*</b>	
Feo -pigmentos	-0.096	-0.043	-0.112	-0.135	0.013	0.241	0.108

## ANEXO 4- Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos

**Tabela A 6.** Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos ao longo das campanhas de amostragem. Os valores representados são as medianas (mínimos-máximos), (n=140).

Plataforma	Campanha	Temperatura (°C)	pH (Sorensen)	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (FNU)	Oxigênio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Nitritos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Lucefécit	Abril	-	8,1 (7,9- 8,4)	392 (392-392)	2,0 (1,6-4,8)	84,0 (83,0-88,3)	0,440 (0,380-0,470)	0,040 (0,040-0,050)	2,28 (2,12-2,5)	0,027 (0,026-0,030)	0,36 (0,29 - 0,59)
	Junho	20,5 (14,5-20,5)	8,9 (7,9-10,2)	408 (405-423)	1,9 (1,6-2,4)	66,0 (24,0-69,9)	0,290 (0,230-0,480)	0,600 (0,020-0,060)	1,63 (1,09-2,40)	0,037 (0,027-0,072)	0,33 (0,31-0,46)
	Julho	28,5 (19,0-29,0)	9,1 (7,6-9,2)	511 (486-517)	1,7 (1,6-5,0)	80,8 (7,8-99,0)	0,004 (0,000-0,110)	9e-4 (3e-4-0)	0,75 (0,59-1,51)	0,010 (0,000-0,110)	0,08 (0,04-0,26)
	Setembro	26,9 (17,8-27,9)	9,1 (7,6-9,4)	562 (468-574)	19,4 (0,8-49,1)	128,0 (0,0-173,0)	0,004 (0,000-0,010)	6e-4 (6e-4-0)	0,85 (0,61-1,79)	0,003 (0,000-0,260)	0,14 (0,09-0,62)
	Novembro	16,3 (16,1-16,4)	7,6 (7,3-7,6)	471 (470-514)	1,7 (1,5-16,7)	44,5 (22,7-49,0)	0,300 (0,200-0,340)	0,090 (0,070-0,100)	0,84 (0,49-1,32)	0,050 (0,020-0,060)	0,68 (0,65-0,89)
Mourão	Abril	13,0 (12,0-15,0)	8,3 (8,2-8,4)	450 (448-460)	0,5 (0,4-1,4)	89,5 (84,0-95,0)	0,160 (0,110-0,220)	0,010 (0,000-0,020)	1,07 (0,71-1,29)	0,000 (0,000-0,017)	0,30 (0,23-0,54)
	Junho	19,5 (14,0-19,5)	8,4 (7,9-8,6)	436 (434-451)	0,6 (0,5-0,8)	60,0 (38,2-62,0)	0,230 (0,210-0,290)	0,020 (0,000-0,030)	1,36 (1,10-1,70)	0,030 (0,010-0,030)	0,37 (0,29-0,41)
	Julho	27,8 (13,9-27,8)	8,8 (7,5-8,8)	507 (505-529)	1,4 (0,9-2,1)	113,0 (0,2-115,0)	0,100 (0,080-0,290)	0,010 (0,000-0,020)	0,89 (0,38-1,30)	0,000 (0,000-0,190)	0,210 (0,10-0,32)
	Setembro	27,1 (15,2-28,6)	9,0 (7,9-9,1)	561 (442-580)	1,7 (0,3-2,0)	114,0 (0,0-118,0)	0,003 (0,000-0,070)	6e-4 (3e-4-1e-2)	0,52 (0,40-0,84)	0,000 (0,000-0,130)	0,11 (0,05-1,14)
	Novembro	14,7 (14,7-14,7)	8,1 (7,8-8,2)	442 (441-445)	1,9 (1,3-57,3)	61,7 (35,8-65,0)	0,210 (0,190-0,280)	0,000 (0,000-0,010)	0,70 (0,66-0,92)	0,040 (0,010-0,090)	0,45 (0,42-0,61)
Montante	Abril	13,8 (12,5-14,2)	8,5 (8,3-8,6)	411 (410-450)	1,2 (0,5-1,3)	83,0 (72,7-86,0)	0,120 (0,100-0,130)	0,000 (0,000-0,010)	0,97 (0,76-1,09)	0,000 (0,000-0,000)	0,32 (0,22-0,41)
	Junho	19,5 (13,5-19,5)	8,5 (7,8-8,7)	402 (400-435)	1,2 (0,9-1,9)	56,6 (35,9-74,0)	0,100 (0,060-0,170)	0,010 (0,000-0,010)	0,87 (0,67-1,04)	0,013 (0,000-0,396)	0,63 (0,51-1,28)
	Julho	25,4 (13,2-25,6)	8,9 (7,4-8,9)	478 (478-513)	1,3 (0,8-1,6)	110,0 (14,8-111,0)	0,030 (0,003-0,170)	0,000 (0,000-0,000)	0,77 (0,58-1,21)	0,090 (0,000-0,128)	0,15 (0,15-0,19)
	Setembro	26,3 (14,2-26,6)	8,9 (8,6-9,3)	536 (432-543)	3,1 (0,3-4,6)	115,0 (0,0-125,0)	0,006 (0,002-0,120)	6 e-4 (3e-4-3e-2)	0,71 (0,44-3,22)	0,000 (0,000-0,000)	0,13 (0,11-0,73)
	Novembro	16,6 (15,7-16,8)	7,8 (7,6-8,4)	443 (439-444)	0,9 (0,1-1,1)	58,0 (5,3-58,0)	0,170 (0,080-0,260)	0,000 (0,000-0,010)	0,66 (0,49-1,01)	0,040 (0,010-0,250)	0,90 (0,86-1,00)
Álamos	Abril	15,0 (12,8-15,9)	8,8 (8,1-8,9)	370 (369-431)	2,8 (2,8-6,9)	92,0 (59,0-116,0)	0,090 (0,070-0,140)	0,000 (0,000-0,010)	1,05 (0,82-1,26)	0,000 (0,000-0,000)	0,40 (0,22-0,55)
	Junho	17,0 (12,5-18,5)	8,7 (7,7-8,8)	397 (395-400)	2,0 (1,7-3,6)	76,9 (35,7-109,0)	0,040 (0,016-0,150)	0,000 (0,000-0,070)	0,82 (0,69-0,95)	0,020 (0,000-0,060)	1,01 (0,69-1,23)
	Julho	25,8 (14,6-25,8)	8,8 (7,4-8,8)	477 (472-477)	1,7 (1,4-3,6)	119,0 (0,2-119,0)	0,020 (0,006-0,120)	0,000 (0,000-0,000)	0,72 (0,55-1,11)	0,100 (0,005-0,330)	0,19 (0,11-0,56)
	Setembro	26,5 (17,8-27,7)	9,0 (7,5-9,1)	538 (420-562)	2,8 (0,8-3,6)	107,0 (0,0-111,0)	0,005 (0,002-0,033)	0,000 (0,000-0,000)	0,61 (0,36-0,94)	0,000 (0,000-0,110)	0,12 (0,06-0,32)
	Novembro	16,5 (16,2-16,6)	8,0 (7,5-8,1)	433 (431-433)	1,2 (0,9-3,4)	70,7 (60,0-79,4)	0,120 (0,090-0,170)	0,020 (0,020-0,020)	0,57 (0,47-0,74)	0,015 (0,004-0,028)	0,97 (0,80-1,03)

**Tabela A 7.** Tabela descritiva dos parâmetros físico-químicos por diferentes profundidades. Os valores representados são as medianas (mínimos-máximos), (n=140).

Plataforma	Profundidade	Temperatura (°C)	pH (Sorensen)	Condutividade (µS/cm)	Turbidez (FNU)	Oxigênio dissolvido (%sat)	Nitratos (mg/L N)	Nitritos (mg/L N)	Azoto total (mg/L N)	Fosfatos (mg/L P)	Fósforo total (mg/L)
Lucefécit	Superfície	24,1 (16,4-29,0)	8,9 (7,6-9,4)	471 (392-559)	1,9 (1,6-42,0)	84,0 (49,0-172,8)	0,260 (0,000-0,380)	0,040 (0,000-0,100)	1,13 (0,73-2,28)	0,020 (0,000-0,030)	0,29 (0,07-0,89)
	1 m	23,8 (16,4-29,0)	9,1 (7,6-10,2)	471 (392-566)	1,9 (1,6-18,2)	84,4 (46,4-148,3)	0,200 (0,004-0,430)	0,040 (0,000-0,090)	1,20 (0,75-2,30)	0,020 (0,000-0,050)	0,31 (0,04-0,79)
	2 m	23,8 (16,4-29,0)	9,0 (7,5-9,2)	471 (392-568)	1,9 (1,7-20,5)	83 (44,9-138,4)	0,260 (0,000-0,460)	0,040 (0,000-0,100)	0,93 (0,49-2,30)	0,020 (0,000-0,050)	0,32 (0,10-0,68)
	3 m	23,7 (16,3-28,5)	8,9 (7,6-9,1)	471 (393-575)	1,7 (1,6-12,3)	80,3 (44,6-119,6)	0,240 (0,000-0,440)	0,050 (0,000-0,090)	0,84 (0,59-2,28)	0,030 (0,000-0,060)	0,32 (0,08-0,66)
	Fim Z.E.	20,5 (16,35-27)	8,4 (7,6-9,2)	440 (392-503)	2,2 (1,7-5,0)	72,2 (43,5-87,0)	0,290 (0,000-0,470)	0,050 (0,000-0,090)	1,64 (1,00-2,50)	0,020 (0,010-0,060)	0,32 (0,08-0,68)
	Meio	18,8 (16,3-22,9)	7,7 (7,3-8,1)	471 (395-519)	1,6 (0,8-2,2)	24,0 (0,8-84,0)	0,240 (0,000-0,480)	0,040 (0,000-0,090)	0,77 (0,71-2,27)	0,050 (0,020-0,110)	0,40 (0,13-0,65)
Mourão	Fundo	17,0 (14,5-19,0)	7,9 (7,28-8,1)	468 (395-514)	3,1 (1,7-49,1)	22,7 (0,0-84,0)	0,290 (0,000-0,430)	0,020 (0,000-0,070)	1,79 (1,32-2,40)	0,070 (0,020-0,260)	0,59 (0,26-0,87)
	Superfície	19,5 (14,7-28,6)	8,6 (8,2-9,1)	450 (439-581)	1,2 (0,5-2,0)	91,0 (62,3-117,6)	0,170 (0,000-0,270)	0,010 (0,000-0,020)	1,00 (0,52-1,52)	0,000 (0,000-0,040)	0,23 (0,05-0,42)
	1 m	19,5 (14,0-28,0)	8,5 (8,1-9,1)	450 (435-569)	1,7 (0,4-2,1)	91,5 (61,1-117,2)	0,110 (0,000-0,290)	0,010 (0,000-0,020)	0,84 (0,38-1,34)	0,020 (0,000-0,040)	0,27 (0,06-0,42)
	2 m	19,5 (13,0-27,8)	8,5 (8,1-9,0)	448 (436-565)	1,4 (0,5-2,0)	95,0 (60,9-116,6)	0,200 (0,000-0,210)	0,010 (0,000-0,020)	1,17 (0,43-1,70)	0,000 (0,000-0,070)	0,26 (0,07-0,59)
	3 m	19,5 (13,0-27,8)	8,4 (8,1-9)	448 (434-562)	1,5 (0,4-2,0)	88,0 (60,0-114,6)	0,120 (0,000-0,270)	0,010 (0,000-0,020)	0,84 (0,40-1,36)	0,010 (0,000-0,070)	0,30 (0,15-0,42)
	Fim Z.E.	17,0 (12,0-26,8)	8,2 (7,6-8,9)	454 (435-561)	1,7 (0,5-1,9)	55,2 (16,1-110,0)	0,170 (0,000-0,210)	0,000 (0,000-0,010)	0,68 (0,66-1,41)	0,010 (0,000-0,020)	0,40 (0,11-0,61)
Montante	Meio	14,7 (12,0-17,6)	7,9 (7,5-8,3)	453 (443-519)	0,5 (0,4-1,3)	45,5 (0,0-84,0)	0,190 (0,000-0,280)	0,000 (0,000-0,010)	1,07 (0,43-1,30)	0,000 (0,000-0,080)	0,29 (0,10-0,48)
	Fundo	14,0 (12,0-15,2)	7,9 (7,5-8,4)	451 (443-529)	0,9 (0,4-57,3)	35,8 (0,0-84,0)	0,190 (0,070-0,280)	0,000 (0,000-0,010)	0,91 (0,60-1,14)	0,090 (0,010-0,190)	0,38 (0,27-1,14)
	Superfície	19,5 (13,8-26,6)	8,7 (7,7-9,0)	444 (400-543)	1,3 (0,9-3,1)	83,0 (58,5-115,0)	0,090 (0,000-0,240)	0,000 (0,000-0,010)	0,95 (0,64-1,23)	0,000 (0,000-0,110)	0,39 (0,12-0,94)
	1 m	19,5 (14,2-26,6)	8,6 (7,8-9,0)	443 (401-541)	1,2 (0,9-4,7)	85,9 (58,2-119,2)	0,100 (0,000-0,230)	0,000 (0,000-0,010)	1,01 (0,90-3,22)	0,090 (0,000-0,390)	0,59 (0,15-0,86)
	2 m	19,5 (13,9-26,4)	8,5 (7,8-9,1)	444 (400-536)	1,3 (0,9-3,9)	84,2 (58,1-123,3)	0,060 (0,000-0,130)	0,000 (0,000-0,010)	0,63 (0,49-0,94)	0,000 (0,000-0,050)	0,41 (0,15-0,91)
	3 m	19,5 (14-26,3)	8,2 (7,7-9,0)	443 (402-537)	1,3 (0,9-3,7)	77,6 (56,6-125,0)	0,060 (0,000-0,140)	0,000 (0,000-0,010)	0,87 (0,71-1,03)	0,000 (0,000-0,100)	0,30 (0,10-0,90)
Álamos	Fim Z.E.	18,5 (13,8-26,0)	8,3 (7,6-8,8)	442 (404-532)	1,3 (0,5-2,5)	65,0 (51,6-114,6)	0,110 (0,000-0,170)	0,000 (0,000-0,000)	0,67 (0,44-0,88)	0,010 (0,000-0,120)	0,22 (0,16-1,28)
	Meio	14,3 (12,6-16,2)	8,3 (7,6-8,6)	440 (427-502)	0,8 (0,4-1,1)	35,5 (0,5-72,7)	0,150 (0,080-0,250)	0,000 (0,000-0,000)	0,80 (0,76-0,96)	0,000 (0,000-0,020)	0,32 (0,13-0,93)
	Fundo	13,5 (12,5-15,7)	8,3 (7,4-9,4)	440 (435-513)	0,5 (0,1-1,9)	14,8 (0,0-81,8)	0,120 (0,080-0,170)	0,000 (0,000-0,020)	0,83 (0,62-1,21)	0,010 (0,000-0,110)	0,25 (0,10-1,00)
	Superfície	18,5 (15,9-27,7)	8,8 (8,1-9,1)	434 (370-563)	2,1 (1,3-2,8)	111,6 (79,4-119,1)	0,030 (0,000-0,170)	0,000 (0,000-0,020)	0,74 (0,41-1,03)	0,020 (0,000-0,090)	0,25 (0,06-1,23)
	1 m	18,5 (15,7-27,7)	8,8 (8,0-9,1)	434(371-562)	1,7 (1,2-2,9)	109,0 (77,4-119,1)	0,040 (0,000-0,090)	0,000 (0,000-0,020)	0,69 (0,57-1,05)	0,010 (0,000-0,100)	0,22 (0,16-1,08)
	2 m	21,4 (16,6-27,3)	8,73 (8,0-9,1)	455 (396-544)	1,9 (1,3-2,8)	106,7 (76,1-119,1)	0,020 (0,010-0,150)	0,000 (0,000-0,020)	0,66 (0,36-0,81)	0,000 (0,000-0,100)	0,56 (0,07-0,99)
Álamos	3 m	17,0 (15,0-26,6)	8,8 (7,8-9,0)	432 (370-538)	2,2 (1,2-3,6)	92,0 (40,7-119,1)	0,020 (0,000-0,110)	0,000 (0,000-0,020)	0,68 (0,52-1,26)	0,020 (0,000-0,200)	0,41 (0,18-0,97)
	Fim Z.E.	20,5 (14,8-26,3)	8,6 (7,9-9,0)	453 (369-537)	2,2 (1,1-2,9)	94,6 (66,8-104,7)	0,050 (0,000-0,110)	0,000 (0,000-0,020)	0,85 (0,51-1,11)	0,000 (0,000-0,010)	0,33 (0,11-0,80)
	Meio	16,3 (12,8-22,2)	7,6 (7,5-8,2)	431 (399-477)	1,4 (0,8-3,6)	35,7 (1,3-66,0)	0,120 (0,000-0,150)	0,000 (0,000-0,020)	0,73 (0,41-0,91)	0,010 (0,000-0,060)	0,45 (0,07-1,07)
	Fundo	14,6 (12,5-17,8)	8,1 (7,4-8,2)	431 (400-472)	3,4 (0,8-6,7)	51,3 (0,0-60,0)	0,120 (0,000-0,120)	0,000 (0,000-0,070)	0,93 (0,47-0,95)	0,040 (0,000-0,330)	0,56 (0,32-1,03)