

Avaliação da variabilidade espectral do coeficiente de absorção específico dos pigmentos fitoplancônicos no reservatório de Barra Bonita, Rio Tietê, SP

Fernanda Sayuri Yoshino Watanabe¹
Enner Herenio de Alcântara²
Thanan Walesza Pequeno Rodrigues¹
Nariane Marselhe Ribeiro Bernardo¹
Luiz Henrique da Silva Rotta¹
Nilton Nobuhiro Imai¹

¹ Universidade Estadual Paulista - UNESP/FCT – Departamento de Cartografia
Rua Roberto Simonsen, 305 – 19060-900 – Presidente Prudente - SP, Brasil
{fernandasyw, twalesza, narianebernardo, luizhrotta}@gmail.com, nnimai@fct.unesp.br

² Universidade Estadual Paulista – UNESP/ICT – Departamento de Engenharia Ambiental
Rodovia Presidente Dutra, km 137,8 - 12247-004 - São José dos Campos - SP, Brasil
enner.alcantara@ict.unesp.br

Abstract. In this work, we investigated the spectral variability of the specific phytoplankton absorption coefficient, a_{φ}^* , collected in two field campaigns carried out in a eutrophic reservoir. Such study is important in order to understand the phytoplankton growth dynamic considering the spatial and seasonal aspects, photosynthesis process in different phytoplankton group and primary production. The goal was to find spectral features associated with the chlorophyll-*a* and other accessory pigments present in different phytoplankton species. Measurements of absorption coefficient of phytoplankton, a_{φ} , and chlorophyll-*a* concentration were determined in laboratory to obtain a_{φ}^* spectrum. The outcome showed that there is a variability of phytoplankton species due to the different spectral features obtained in the sampling stations distributed along the reservoir. Basically, all the a_{φ}^* spectra exhibited a peak at approximately 630 nm, related to phycocyanin pigment present in cyanobacteria. Couple of spectra showed a peak around 460 nm associated with chlorophyll-*b* and *c*. Carotenoids features at about 490 nm and 540 nm were also found in curves acquired in May. Such spectral features are found in phytoplankton groups already identified in the study area such as Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Cyanophyceae, Conjugatophyceae, Chrysophyceae, among others. The findings of this work may assist in future researches about phytoplankton identification from remotely sensed data.

Palavras-chave: inherent optical properties, inland waters, propiedades ópticas inerentes, águas continentais,

1. Introdução

As águas naturais são compostas por materiais dissolvidos e particulados que alteram a coloração da água, chamadas de constituintes opticamente significativos (COSs) (Morel e Prieur 1977). Os COAs podem ser pigmentos presentes em fitoplânctons (φ), partículas não-algais (NAP – *nonalgal particles*) e matéria-orgânica dissolvida colorida (CDOM – *colored dissolved organic matter*) (Babin et al. 2003). Os diferentes COSs e suas concentrações alteram as propriedades ópticas inerentes (POIs) da água, ou seja, os coeficientes de absorção e espalhamento (a e b , respectivamente) (Mobley 1994). O conhecimento sobre as POIs dos diferentes COAs presentes na coluna d'água é essencial para o sensoriamento remoto da cor da água, uma vez que a e b são os principais responsáveis por modular a reflectância (Gordon et al. 1988). Enquanto os coeficientes de absorção da CDOM (a_{CDOM}) e NAP (a_{NAP}) apresentam basicamente um formato exponencial (variando de acordo com o coeficiente de decaimento), o coeficiente de absorção dos pigmentos (a_{φ}) apresenta feições de pico, ombros e domos que variam consideravelmente ao longo do espectro. Essa variação depende basicamente das espécies que compõem a comunidade de fitoplânctons, que determina os tipos de pigmentos presentes e suas respectivas concentrações (Mobley 1994). Em águas naturais há uma mistura de grupos de comunidades de fitoplânctons (Mobley 1994), podendo haver predominância de uma determinada espécie (Dellamano-Oliveira et al. 2008). O

coeficiente de absorção específico do fitoplâncton, a^*_φ , auxilia no entendimento do ambiente aquático, em termos de composição da comunidade fitoplanctônica, dinâmica da produção primária, processos fotossintéticos, entre outros. A partir das curvas de a^*_φ é possível identificar feições associadas com a clorofila-*a* e outros pigmentos acessórios (Le et al. 2009). Neste sentido, o objetivo desse trabalho foi investigar a variabilidade espectral de a^*_φ em um reservatório eutrófico. Entre os objetivos específicos estão: (1) identificar diferenças sazonais e espaciais em relação às feições espectrais nas curvas de a^*_φ ; e (2) relacionar as feições de absorção dos diferentes pigmentos com os grupos de fitoplânctons historicamente encontrados na área de estudo. Espera-se que os resultados apresentados possam ser úteis para pesquisas voltadas a identificação de grupos fitoplanctônicos por meio de dados de sensoriamento remoto.

2. Materiais e Métodos

2.1 Área de Estudo e Amostragem

O trabalho foi realizado no reservatório da hidrelétrica de Barra Bonita (RHBB), localizada no médio curso do Rio Tietê, Estado de São Paulo (Figura 1). O reservatório é o primeiro do sistema de cascata no Rio Tietê e possui um histórico de eutrofização e emissão de gases estufa (Abe et al. 2003). A alta descarga de efluentes, vinda das regiões metropolitana de São Paulo e de Piracicaba, e fontes não-pontuais de poluentes são os principais responsáveis pelo elevado nível trófico.

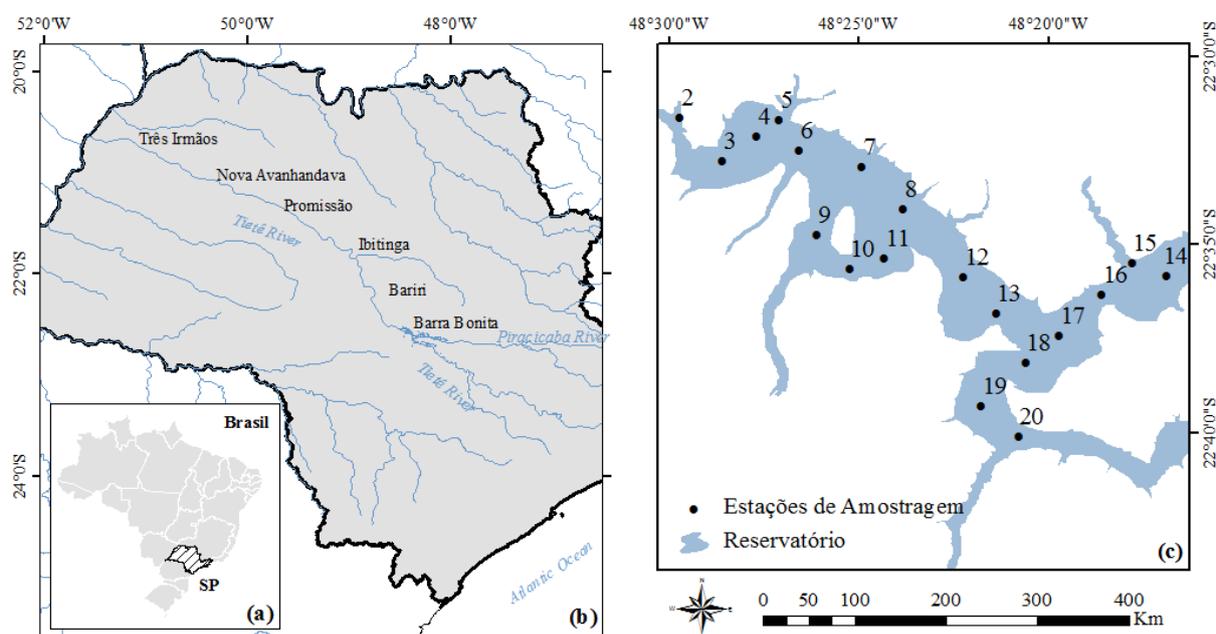


Figura 1. Reservatório da hidrelétrica de Barra Bonita (22°31'10" S e 48°32'3" W). A ilustração mostra a localização do reservatório (a) no Brasil, Estado de São Paulo (listrado) e (b) na cascata de reservatórios do Rio Tietê. (c) Estações de amostragem distribuídas ao longo do reservatório.

Duas campanhas de campo foram realizadas em RHBB, de 5-9 de maio de 2014 (após estação chuvosa) e 13-16 de outubro de 2014 (após estação seca), quando foram coletadas 20 amostras (Figura 2c) de água em cada campo para determinação da concentração de clorofila-*a*, sólidos suspensos totais (SST) e das propriedades de absorção de cada COS. As amostras foram acondicionadas em garrafas estéreis de 5 litros, refrigeradas e protegidas da luz até

filtração. Outras medidas ópticas de qualidade da água também foram coletadas *in situ*, como turbidez e profundidade de disco de Secchi.

2.2 Concentração de clorofila-*a* e SST

Para determinação da concentração de clorofila-*a*, amostras de água foram filtradas no mesmo dia da coleta por meio de filtros de fibra de vidro Whatman GF/F (GE Healthcare, Little Chalfont, UK), com 0,7 µm de porosidade e 47 mm de diâmetro. A extração da clorofila-*a* foi feita de acordo com o método proposto por Golterman (1975), usando solução de acetona a 90%. Leituras de absorbância foram adquiridas nos comprimentos de onda de 663 nm e 750 nm por meio de um espectrofotômetro. A concentração de SST também foi determinada a partir da filtragem de amostras de água em filtro de vidro Whatman GF/F, sendo adotado o protocolo proposto pela APHA (1998). Antes da filtração, os filtros são preparados e pesados para definir a massa inicial. Após a filtragem, os filtros com material retido são congelados e armazenados protegidos da luz até a análise para evitar degradação. Posteriormente, os filtros foram secados em uma estufa à temperatura de aproximadamente 100°C por 12h. Em seguida, os filtros são resfriados em um dessecador e pesados novamente para determinar a massa final (filtro mais o material retido). A subtração da massa final pela inicial corresponde à massa do SST. A divisão da massa do SST pelo volume filtrado é igual a concentração do SST.

2.3 Coeficiente de absorção

Amostras de água também foram filtradas em filtros de fibra de vidro Whatman GF/F para determinação dos coeficientes de absorção do material particulado total (a_p), a_{NAP} e a_ϕ . Os filtros com material retido foram armazenados em recipientes estéreis, congelados e protegidos da luz, a fim de evitar degradação das amostras. O método adotado foi de “Transmitância-Reflectância” proposto por Tassan e Ferrari (1995). As medições foram feitas utilizando um espectrofotômetro, modelo UV-2600 (Shimadzu, Kyoto, Japan), e módulo com feixe duplo e esfera integradora. As medidas foram adquiridas no intervalo de 280 – 800 nm, com resolução espectral de 1 nm. Um filtro Whatman GF/F limpo foi utilizado como referência branca para corrigir os efeitos de múltiplo espalhamento causado pelo próprio filtro (Cleveland e Weidemann, 1993). A densidade óptica do material retido (OD_p) no filtro foi estimada a partir de relações empíricas com base nas medidas de transmitância e reflectância. Por meio de oxidação dos pigmentos do fitoplâncton nas amostras, a densidade óptica do NAP (OD_{NAP}) foi determinada. Assim, a_p e a_{NAP} foram estimados a partir da Equação 1.

$$a_{p,NAP}(\lambda) = \frac{2.3 OD_{p,NAP}(\lambda)}{X} \quad (1)$$

onde X é a razão do volume filtrado para área do filtro (Tassan et al. 1995). A subtração de a_p por a_{NAP} corresponde a a_ϕ . A divisão de a_ϕ pela concentração de pigmentos deriva o coeficiente de absorção específico do fitoplâncton, a_ϕ^* .

3. Resultados e Discussões

A Figura 2 ilustra a variação das medidas de clorofila-*a*, SST, turbidez e profundidade de disco de Secchi. É notável a diferença entre os valores obtidos nos dois levantamentos de campo, com um aumento significativo da concentração de COSs (SST e clorofila-*a*) e da atenuação da luz (turbidez e disco de Secchi). A concentração de clorofila-*a* variou de 17,7 mg m⁻³ a 279,9 mg m⁻³ com média de 120,4 mg m⁻³ em maio, enquanto uma variação bem maior, de 263,2 mg m⁻³ a 797,8 mg m⁻³ e média de 428,7 mg m⁻³, foi obtida em outubro. Tais concentrações fazem do reservatório um ambiente meso-hipereutrófico, considerando a

classificação de nível trófico adotado pela Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Houve também um aumento considerável na concentração de SST, com intervalo de $3,6 \text{ g m}^{-3}$ a $16,3 \text{ g m}^{-3}$ em maio e de $10,8 \text{ g m}^{-3}$ a $44,0 \text{ g m}^{-3}$, em outubro. Watanabe et al. (2016) mostraram que o SST está fortemente associado com a biomassa do fitoplâncton em RHBB, assim como a turbidez, que também apresentou uma elevação, com média de 5,2 NTU em maio e 18,6 NTU em outubro. Por outro lado, como esperado, a transparência de disco de Secchi diminuiu, devido ao aumento da atenuação pelos COSs.

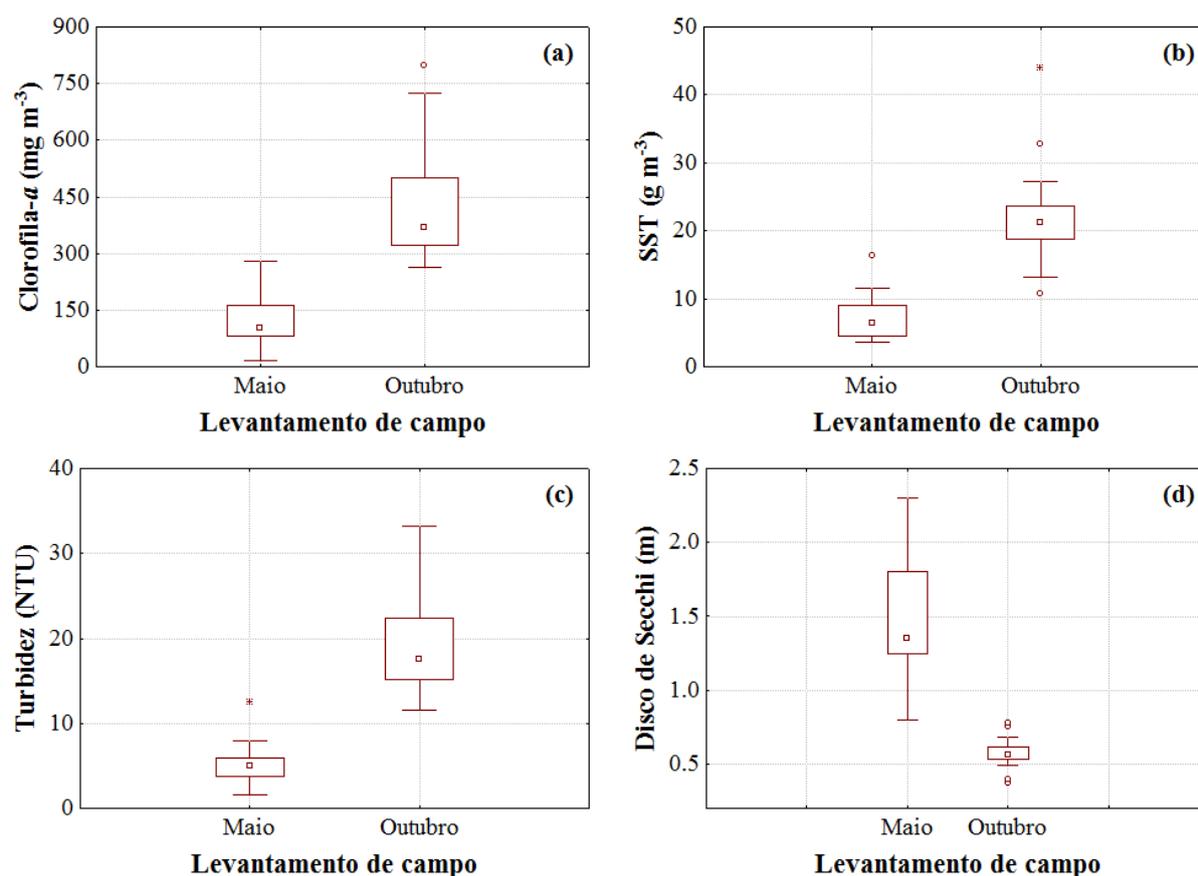


Figura 2. *Box-plot* de medidas de (a) clorofila-*a*, (b) SST, (c) turbidez e (d) profundidade de disco de Secchi para os dados coletados em maio e outubro de 2014.

Os resultados apontam uma forte contribuição do fitoplâncton sobre as características bio-ópticas de RHBB. Além da alta concentração de clorofila-*a*, medidas de a_{ϕ}^* indicam uma variação de espécies e/ou mistura de grupos de fitoplânctons, como pode ser observado na Figura 3. Dellamano-Oliveira et al. (2008) mostrou que o reservatório apresenta uma alta riqueza de espécies de fitoplânctons, com abundância de cianobactérias e diatomáceas nas estações secas e chuvosas. Os espectros de a_{ϕ}^* exibem diferentes picos associados com absorção pela clorofila-*a* e por outros pigmentos acessórios.

Os espectros de a_{ϕ}^* apontam a possível existência de uma variedade de espécies de fitoplânctons, devido às diferentes feições espectrais identificadas. Com exceção das feições de clorofila-*a*, presente em todas as espécies, a feição mais encontrada foi o pico em aproximadamente 630 nm, relacionada ao pigmento ficocianina presente em cianobactérias, chamadas também de algas azuis ou cianofíceas (Simis et al. 2005). Essa feição aparece com diferentes magnitudes, indicando variações na composição de pigmentos intracelular, mas também mistura de espécies. Algumas curvas também exibiram um pico em aproximadamente 460 nm, associado com os pigmentos clorofila-*b* e *c* (Lohrenz et al. 2003).

A clorofila-*b* é geralmente encontrada em algas verdes como Chlorophyceae, Conjugatophyceae e Euglenophyta, encontradas em RHBB (Dellamano-Oliveira et al. 2008), enquanto a clorofila-*c* pode estar presente em algas marrons (Crysophyceae) e dinoflagelados (Dinophyceae) (Richardson 1996), também já identificadas no reservatório (Dellamano-Oliveira et al. 2008). Feições de carotenóides em 490 nm e 540 nm (Lohrenz et al. 2003) foram também identificadas em algumas curvas adquiridas em maio. Carotenóides estão presentes na maior parte das espécies de fitoplâncton (Richardson 1996). Em especial, o pigmento fucoxantina é encontrado em diatomáceas (Bacillariophyceae), presentes em RHBB (Dellamano-Oliveira et al. 2008; Tundisi et al. 2010). Em geral, as medidas de a_{ϕ}^* foram mais homogêneas em maio do que em outubro, no entanto, as curvas de maio apresentaram uma maior quantidade de feições espectrais associadas a diferentes pigmentos acessórios.

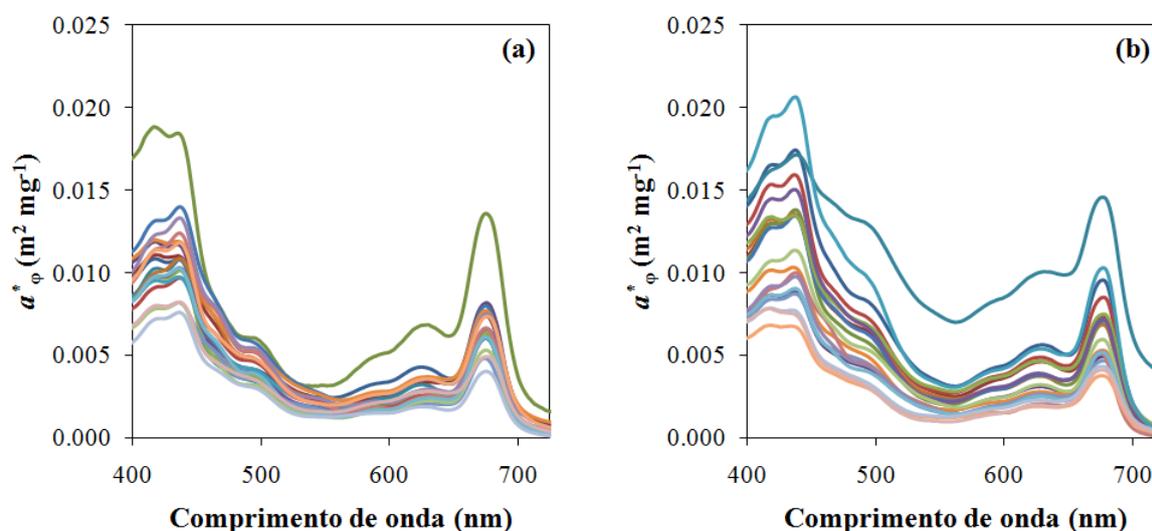


Figure 3. Coeficiente de absorção específico dos pigmentos fitoplanctônicos medidos em (a) Maio e (b) Outubro de 2014.

Lohrenz et al. (2003) mostrou que a razão $a_{\phi}(440): a_{\phi}(675)$ apresentava uma relação direta com a proporção de pigmentos acessórios em relação à clorofila-*a*. Em maio, essa razão variou de 1,30 a 1,83 com média de 1,58, enquanto que em outubro, a variação foi de 1,17 a 2,07 com média de 1,83. Em geral, os menores valores de $a_{\phi}(440): a_{\phi}(675)$ foram verificados nos pontos mais próximos à barragem (P1 ao P4), em maio. Por outro lado, em outubro, maiores valores de $a_{\phi}(440): a_{\phi}(675)$ foram obtidos, indicando troca na comunidade de fitoplâncton e/ou alteração da espécie predominante.

A Figura 4 apresenta alguns espectros normalizados [$a_{\phi}^*: a_{\phi}^*(440)$] representativos de variabilidade do a_{ϕ}^* , adquiridos em quatro pontos amostrais. As variações identificadas são determinadas pelas diferenças na composição de pigmentos acessórios (Lohrenz et al. 2003; Le et al. 2009). O ponto 3 (P3) exibiu feições bem definidas de clorofila-*a* (em aproximadamente 410 nm, 440 nm e 675 nm), ficocianina (630 nm) e carotenóides (490 nm). A principal diferença observada entre as curvas de maio e outubro é o aumento da a_{ϕ}^* por pigmentos acessórios na região espectral do azul, enquanto que a_{ϕ}^* na região do vermelho decresceu.

Os espectros do ponto 5 (P5) foram os mais diferentes obtidos em ambos os levantamentos de campo, com feições de clorofila-*a* bem definidas, mas sem nenhuma feição que possa ser associada a presença de clorofila-*b* e *c*. Apesar disso, assim como todas as demais curvas, aquelas medidas em P5 apresentam picos relacionados a presença de carotenóides e ficocianina. Além disso, P5 exibiu a maior diferença sazonal entre os espectros

coletados de um campo para o outro. A curva obtida em outubro apresenta, em geral, um achatamento e uma maior a^*_ϕ na região espectral da luz verde (Figura 3). O efeito de achatamento das curvas é associado ao efeito de empacotamento dos pigmentos, que geralmente ocorre quando há um aumento da biomassa fitoplanctônica (Bricaud et al. 1995; Alcântara et al. 2016a). Outra característica observada na curva P5 de outubro é o pico pouco definido em 410 nm, embora a^*_ϕ seja alta nesse comprimento de onda.

No ponto 14, as curvas de a^*_ϕ obtidas em maio e outubro parecem muito similares, no entanto, apresentam nítidas diferenças entre a composição de pigmentos acessórios na região do espectro azul. Enquanto em maio, as feições associadas à clorofila-*b* e *c* estão bem definidas, formando degraus ao longo do espectro azul, elas não aparecem nas curvas medidas em outubro. Uma característica comum em ambas as curvas é a baixa a^*_ϕ em 410 nm em comparação a 440 nm, semelhante ao visto no ponto P5, em outubro.

No ponto 20, as curvas adquiridas em maio (Figura 4d) apresentaram um dos padrões mais comuns encontrados em ambos os levantamentos de campo, com maior a^*_ϕ em 440 nm do que em 410 nm e feições mais suavizadas por todo o espectro, em outras palavras, feições menos acentuadas dos pigmentos acessórios. Por outro lado, os espectros coletados em outubro exibiram uma absorção maior no comprimento de onda de 410 nm do que em 440 nm. Esse padrão foi identificado em todos os espectros amostrados no trecho do Rio Tietê antes da confluência com o Rio Piracicaba. Alcântara et al. (2016b) registrou nessa região uma maior concentração de carbono orgânico dissolvido e valores mais altos de a_{CDOM} do que no restante do reservatório, indicando que tais variáveis podem ter afetado de forma particular o desenvolvimento das comunidades de fitoplâncton.

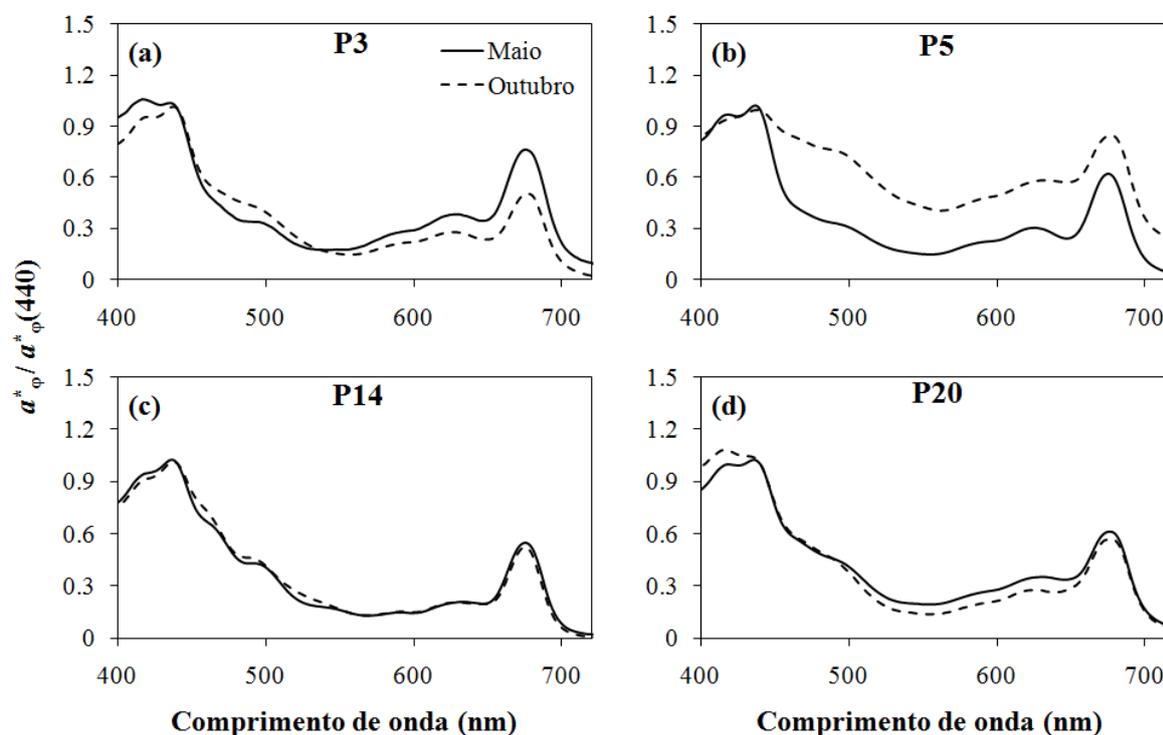


Figura 4. Espectros de coeficientes de absorção normalizados para o comprimento de onda de 440 nm.

Como visto, as alterações sazonais observadas são um indicativo de mudanças nas comunidades de fitoplâncton. Essas alterações, como podem ser observadas na Figura 4, também ocorreram de forma espacial, embora as maiores mudanças tenham ocorrido na zona lacustre, onde características como maior tempo de retenção e possível estratificação térmica

podem tornar o ambiente mais sensível à troca de grupos de fitoplânctons. P5 é um bom exemplo de como a dinâmica do reservatório pode influenciar fortemente a variação de a_{ϕ}^* . Além de estar localizada mais próxima a barragem, a proximidade com condomínios de veraneio pode levar ao crescimento de espécies diferentes. Por outro lado, a variabilidade de a_{ϕ}^* foi diminuindo nas regiões de transição (P4, ver Figura c) e antes da confluência entre os rios, em especial no Rio Tietê, como pode ser visto nas curvas P20 (Figura 4d).

4. Considerações finais

A partir das feições espectrais encontradas neste trabalho é possível concluir que RHBB apresenta uma grande variabilidade da a_{ϕ}^* tanto sazonal quanto espacial. Este é um forte indicativo de que há consideráveis alterações das comunidades de fitoplânctons de um período para o outro. Foram encontradas diferentes feições espectrais associadas com diferentes pigmentos acessórios, como clorofila-*b* e *c*, carotenóides e ficocianina, apontando para a existência de muitos grupos de fitoplânctons. Apesar dos diferentes picos e ombros associados a diferentes grupos, o pico em 630 nm está presente em todas as curvas de a_{ϕ}^* . Portanto, pode-se afirmar a presença de cianobactérias nos dois períodos amostrados, uma vez que este pigmento é exclusivo desse grupo. As cianobactérias produzem toxinas que podem causar desde pequenas irritações cutâneas até a morte. Por isso, o monitoramento desse grupo de algas é importante para o gerenciamento do uso do reservatório, como abastecimento, lazer e pesca. Por isso, mais estudos sobre as características bio-ópticas de reservatórios devem ser realizadas e espera-se que os resultados apresentados neste trabalho possam contribuir de modo a apontar direções para mais pesquisas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Pesquisa de São Paulo – FAPESP (Processos N. 2012/19821-1, 2013/09045-7, 2015/18525-8 e 2015/21586-9) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processos N. 400881/2013-6, 482605/2013-8 e 472131/2012-5) pelo suporte financeiro.

Referências

Alcântara, E.; Watanabe, F.; Rodrigues, T.; Bernardo, N. An investigation into the phytoplankton package effect on the chlorophyll-*a* specific absorption coefficient in Barra Bonita reservoir, Brazil. **Remote Sensing Letters**, v. 7, n. 8, p. 761-770, 2016a.

Alcântara, E.; Bernardo, N.; Watanabe, F.; Rodrigues, T.; Rotta, L.; Carmo, A.; Shimabukuro, M.; Gonçalves, S.; Imai, N. Estimating the CDOM absorption coefficient in tropical inland waters using OLI/Landsat-8 images. **Remote Remote Letters**, v. 7, n. 7, p. 661-670, 2016b.

APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association), WEF (Water Environmental Federation). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC, USA: APHA, AWWA, WEF, 2005.

Babin, M.; Stramski, D.; Ferrari, G.M.; Claustre, H.; Bricaud, A.; Obolensky, G.; Hoepffner, N. Variations in the light absorption coefficients of phytoplankton, nonalgal particles, and dissolved organic matter in coastal waters around Europe. **Journal of Geophysical Research**, v. 108, n. C7, 3211, 2003.

Bricaud, A.; Babin, M.; Morel, A.; Claustre, H. Variability in the chlorophyll-specific absorption coefficients of natural phytoplankton: analysis and parametrization. **Journal of Geophysical Research**, v. 100, n. C7, p. 13321-13332, 1995.

Cleveland, J.S.; Weidemann, A.D. Quantifying absorption by aquatic particles: a multiple scattering correction for glass-fiber filters. **Limnology and Oceanography**, v. 38, n. 6, p. 1321-1327, 1993.

Dellamano-Oliveira, M.J.; Vieira, A.A.H.; Rocha, O.; Colombo, V.; Sant'Anna, C.L. Phytoplankton taxonomic composition and temporal changes in a tropical reservoir. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 171, n. 1, p. 27-38, 2008.

Golterman, H.L. **Developments in water science 2** – Physiological limnology: an approach to the physiology of lake ecosystems. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 1975.

Gordon, H.R.; Brown, O.B.; Evans, R.H.; Brown, J.W.; Smith, R.C.; Baker, K.S.; Clark, D.K. A semianalytical radiance model of ocean color. *Journal of Geophysical Research*, v. 93, n. D9, p. 10909-10924, 1988.

Le, G.; Li, Y.; Zha, Y.; Sun, D. Specific absorption coefficient and the phytoplankton package effect in Lake Taihu, China. **Hydrobiologia**, v. 619, p. 27-27, 2009.

Lohrenz, S.E.; Weidemann, A.D.; Tuel, M. Phytoplankton spectral absorption as influenced by community size structure and pigment composition. **Journal of Plankton Research**, v. 25, n. 1, p. 35-61, 2003.

Mobley, C.D. **Light and water: radiative transfer in natural water**. San Diego: Academic Press, 1994.

Morel, A.; Prieur, L. Analysis of variations in ocean color. **Limnology and Oceanography**, v. 22, n. 4, p. 709-722, 1977.

Richardson, L.L. Remote Sensing of algal bloom dynamics: a new research fuses remote sensing of aquatic ecosystems with algal accessory pigment analysis. **Bioscience**, v. 46, n. 7, p. 492-501, 1996.

Simis, S.G.H.; Peters, S.W.M.; Gons, H.J. Remote sensing of the cyanobacterial pigment phycocyanin in turbid inland water. **Limnology and Oceanography**, v. 50, n. 1, p. 237-245, 2005.

Tassan, S.; Ferrari, G. An alternative approach to absorption measurements of aquatic particles retained on filters. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 8, p. 1358-1368, 1995.

Tundisi, J.G.; Matsumura-Tundisi, T.; Pereira, K.C.; Luiza, A.P.; Passerini, M.D.; Chiba, W.A.C.; Morais, M.A.; Sebastien, N.Y. Cold fronts and reservoir limnology: an integrated approach towards the ecological dynamics of freshwater ecosystem. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, n. 3, p. 815-824, 2010.

Watanabe, F.; Mishra, D.R.; Astuti, I.; Rodrigues, T.; Alcântara, E.; Imai, N.N.; Barbosa, C. Parametrization and calibration of a quase-analytical algorithm for tropical eutrophic waters. **ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing**, v. 121, p. 28-47, 2016.