**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**
CAMPUS DE PRESIDENTE PRUDENTE
**FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA**
*Programa de Pós-Graduação em Ciências Cartográficas*

**REJANE ENNES CICERELLI**

# ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS NO RESERVATÓRIO DE NOVA AVANHANDAVA-SP POR MEIO DA INFERÊNCIA DO PIGMENTO FICOCIANINA

**Presidente Prudente**
2013

**REJANE ENNES CICERELLI**

# ESTUDO DA OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS NO RESERVATÓRIO DE NOVA AVANHANDAVA-SP POR MEIO DA INFERÊNCIA DO PIGMENTO FICOCIANINA

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Cartográficas da Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Campus de Presidente Prudente, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Ciências Cartográficas. Orientadora: Profª. Drª. Maria de Lourdes B. T. Galo

Ennes Cicerelli, Rejane.
E49e Estudo da ocorrência de cianobactérias no reservatório de Nova Avanhandava-SP por meio da inferência do pigmento ficocianina / Rejane Ennes Cicerelli. - Presidente Prudente : [s.n], 2013
174 f.

Orientadora: Maria de Lourdes Bueno Trindade Galo
Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia
Inclui bibliografia

1. Sensoriamento Remoto da Água. 2. Cianobactérias. 3. Ficocianina. 4. Fluorescência. 5. Reflectância Espectral. I. Galo, Maria de Lourdes Bueno Trindade. II. Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências e Tecnologia. III. Título.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Presidente Prudente

**BANCA EXAMINADORA**

**PROFA. DRA. MARIA DE LOURDES BUENO TRINDADE GALO**
ORIENTADOR

**PROF. DR. NILTON NOBUHIRO IMAI**
(FCT/UNESP)

**PROF. DR. ENNER HERENIO DE ALCANTARA**
(FCT/UNESP)

**PROF. DR. WATERLOO PEREIRA FILHO**
(UFSM/RS)

**PROFA. DRA. LUCIANA DE RESENDE LONDE**
(MCTI)

**REJANE ENNES CICERELLI**

Presidente Prudente (SP), 14 de novembro de 2013.

Resultado: APROVADA

Faculdade de Ciências e Tecnologia
Seção Técnica de Pós-Graduação
Rua Roberto Simonsen, 305 CEP 19060-900 Presidente Prudente SP
Tel 18 3229-5318 fax 18 3223-4519 posgrad@fct.unesp.br

*À Deus e Nossa Senhora Aparecida.*

*Ao meu amado marido Marcelo, por todo carinho, amor, apoio e paciência.*

*Aos meus queridos pais Inês e Jose Ennes, por todos os momentos de companheirismo e amor incondicional.*

*Às minhas irmãs Angela e Raquel pela amizade e carinho.*

## AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa envolveu a contribuição de muitas pessoas que foram fundamentais para a consolidação deste documento. Primeiramente agradeço a Deus e Nossa Senhora Aparecida, por me protegerem e intercederem por mim em todos os momentos.

Agradeço imensamente ao meu amado marido e amigo Marcelo pelo seu apoio e parceria, que foram cruciais em todos os anos em que me envolvi com essa pesquisa. Também agradeço à minha Mãe e meu Pai que sabiamente me disseram as palavras certas nos momentos em que mais precisei. Minhas amigas e irmãs Angela e Raquel pela ajuda em muitos momentos.

A minha melhor amiga Priscila Midori que mesmo longe, soube me aconselhar e me manter forte para enfrentar os desafios da vida.

A minha orientadora Maria de Lourdes que apesar de todos os obstáculos não desistiu de me orientar e soube ter muita paciência durante todos estes anos. Se não fosse o apoio dela, sei que nada disso seria possível.

Aos meus amigos do Ministério do Meio Ambiente (MMA), Nazaré Soares, Mauro Pires, Alexandre Tofeti, Taiguara Alencar, Aline Menke e Dora Cabanillha. Graças a vocês foi possível a difícil conciliação do trabalho com as atividades do doutorado.

Á maravilhosa e eficiente equipe de campo que me acompanhou na execução dos levantamentos de campo, debaixo de sol e chuva. Tenho uma dívida eterna com vocês amigos de todas as horas, Monique, Pôneis, Luiz Henrique, Fernanda Watanabe, Dalberto (barqueiro), Chiquinho (motorista), Erikinha, George e Ricardo.

À equipe do INPE, que prestou apoio em diversos momentos, em especial ao meu amigo Rafael Damiatti, Professor Claudio Barbosa e a Professora Evlyn Novo.

Ao professor Geraldo Resende, do departamento de Departamento de Geoquímica e Recursos Minerais, do Instituto de Geociências da Universidade Federal de Brasília (UNB) pelo auxilio na finalização de meu período de estágio docência. Também a professora Renata Ribeiro Araújo que nos apoiou com a disponibilização de equipamentos e nas análises das variáveis limnológicas.

Aos professores Tomaselli e Luciana Londe que participaram de meu exame de qualificação e trouxeram muitas contribuições. Também agradeço os momentos de conversa sobre a tese que me permitiram ter maior clareza no tema.

Ao professor Mauro Ishikawa pelas longas conversas e conselhos muito construtivos.

Também agradeço aos amigos do PPGCC, em especial aqueles com quem convivi em diversos momentos: Fernanda Watanabe, Adilson, Erikinha, Guilherme, George, Pôneis, Monique, Thiaguinho, Fernanda Puga, Lauriana, Ana Paula, Aninha, Paulista, Letícia, Fernanda, Luiz, e Marcelo Gaúcho. Obrigada pela companhia e pelas várias risadas!

Aos membros da Seção Técnica de Pós Graduação, Erinat, Ivonete, André e Marcia que sempre prestaram um atendimento cheio de gentilezas, eficiência e paciência.

Ao Thiago de Botucatu que teve dedicação em nos ensinar a manusear o fluorômetro e fazer viagens para compartilhamento do equipamento.

Aos queridos amigos Isabela, Junior (Doce), Monique, Paulo, Lauriana, Erikinha, Fernanda, e Alexandre, pelo companheirismo, pelos momentos em que aguentaram meus desabafos ou pelos momentos de descontração.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos concedida, ao Programa de Pós Graduação em Ciências Cartográficas da UNESP (PPGCC/UNESP) pela infraestrutura, financiamento das campanhas de campo e participação em eventos.

À Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP (FCA/UNESP) e ao Departamento de Cartografia da FCT/UNESP pela disponibilização de equipamentos.

A empresa Santiago e Cintra Geotecnologias que permitiu a utilização de cenas RapidEye para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Ministério do Meio Ambiente, pelos anos de experiência na área ambiental.

Serei eternamente grata pelo apoio de todos.

“Não é o mais forte que sobrevive. Nem o mais inteligente. Mas o que melhor se adapta às mudanças”

Charles Darwin

## RESUMO

Florações de cianobactérias são frequentemente relacionadas a condições eutróficas que comprometem os usos múltiplos dos ambientes aquáticos, implicando em riscos a saúde humana e a biota aquática. Para a compreensão da dinâmica do fitoplâncton (abundância, taxonomia, produtividade e fisiologia), com melhor resolução espacial e temporal, e com custo reduzido, os métodos tradicionais de monitoramento do fitoplâncton estão sendo complementados por abordagens que utilizam as propriedades ópticas dos pigmentos fitoplanctônicos. No caso das cianobactérias, a presença exclusiva do pigmento ficocianina, tem propiciado o desenvolvimento de pesquisas com enfoque na discriminação de cianobactérias a partir de suas respostas espectrais peculiares. Assim, com o propósito de analisar o comportamento sazonal de cianobactérias por meio da inferência do pigmento ficocianina foram adquiridos em quatro levantamentos de campo dados multifonte: imagens multiespectrais MODIS e RapidEye, curvas de reflectância espectral e dados fluorimétricos. Os dados originais e seus derivados resultantes de aplicação de técnicas como razão de bandas, análise derivativa, remoção do contínuo foram relacionados com a concentração de ficocianina e em alguns casos com clorofila *a*. Os resultados mostraram que dados multifonte mesmo em diferentes níveis de aquisição, permitem inferir a presença de cianobactérias, por meio do pigmento fitoplanctônico ficocianina, contudo a detecção em baixas concentrações só foi possível por meio da fluorescência. Pela análise das variáveis limnológicas tradicionais, verifica-se que o segundo levantamento de campo, realizado em fevereiro de 2012 foi o mais representativo de uma região eutrofizada, com concentrações médias de 7,12 µg/L e 47,54 µg/L para ficocianina e clorofila *a*, respectivamente. Já os primeiro (dezembro/2011), terceiro (março/2012) e quarto (setembro/2012) levantamentos caracterizaram-se por concentrações mais baixadas de pigmentos fitoplanctônicos. Pela análise por medidas fluorimétricas da concentração do pigmento ficocianina, percebe-se que sua distribuição é variável espacial e temporalmente ao longo do reservatório. Os métodos de análise espectral por derivadas e razão de bandas mostram ser efetivos para extração de informações relacionadas à ficocianina em curvas de reflectância, principalmente na região espectral de 620 e 650 nm e da razão em 654/617nm. As análises por imagens multiespectrais RapidEye e MODIS obtiveram resultados satisfatórios apenas para detecção de clorofila *a*.



**Palavras-chave:** Sensoriamento Remoto da Água. Cianobactérias. Ficocianina. Reflectância Fluorescência.

## ABSTRACT

Cyanobacterial blooms are often related to eutrophic conditions that jeopardize the multiple uses of aquatic environment, which can endanger both human and aquatic health. In order to understand the dynamics of phytoplankton (abundance, taxonomy, physiology and productivity) with a better spatial and temporal resolution and low cost, traditional monitoring methods phytoplankton are being complemented by approaches based in optical properties of phytoplankton pigments. Concerning cyanobacteria, the singular presence of phycocyanin has allowed the development of researches about of cyanobacteria discrimination based upon their spectral response characteristics. Thus, for the purpose of examine the seasonal behavior of cyanobacteria through inference of the phycocyanin pigment were acquired in four field surveys some multisource data: MODIS and RapidEye multispectral images, spectral reflectance curves and fluorimetric data. The original data and their derivatives (band ratio, derivative analysis, continuous removal) were related with concentration of phycocyanin and in some cases with chlorophyll a. The results have shown that remote sensing multisource data, even at different levels of acquisition could detect the presence of cyanobacteria by means of its phycocyanin pigment. However, the detection by the spectral response of this pigment is conditioned to its occurence in minimal concentrations. Thus, in the order to monitor the seasonal behavior of the occurrence of cyanobacteria, the detection through fluorescence are complementary, given the fluorimetry performance at low concentrations. Compared to traditional limnologic data, the second field survey data conducted in February 2012 was the most representative of a eutrophic area with a meaningful concentration of 7.12 mg / L to 47.54 mg / L phycocyanin and chlorophyll a, respectively. On the other hand, the first (December/2011), the third (March/2012) and the fourth (September/2012) surveys were characterized by low concentrations of phytoplankton pigments. For the analysis through concentration phycocyanin pigment through fluorimetry that its distribution it can be noticed varies along the reservoir, not considering of concentration. According to the results, seasonal behavior depends on climatic factors that provide ideal conditions for the proliferation and dispersion throughout the reservoir. The methods of spectral analysis have shown to be effective for the acquisition of information related to phycocyanin by reflectance curves, especially in the spectral region of 620 and 650 nm. RapidEye and MODIS analyses achieved good results only for detection of chlorophyll *a*.



**Keywords:** Remote Sensing of Water. Cyanobacteria. Phycocyanin. Reflectance. Fluorescence.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Processos de interação da radiação eletromagnética com o corpo d'água. ..... 37
Figura 2 - Curva de Absorção e Espalhamento da luz na água pura. ..... 42
Figura 3 - Comportamento espectral da água pura e da água na presença do fitoplâncton, sedimentos em suspensão e matéria orgânica dissolvida.. ..... 43
Figura 4 - Modelo estrutural hemisférico de ficobilissomos ..... 49
Figura 5- a) Absorção espectral das clorofilas *a* e *b*; b) Absorção espectral para clorofilas *c1* e *c2*. ..... 50
Figura 6 - a) Espectro de absorbância do β-caroteno; b): Espectros de absorbância de biliproteínas de cianobactérias do grupo de cianofíceas. ..... 50
Figura 7 - (a) Curvas de reflectância e (b) absorbância de culturas com cianobactérias (cyano), clorofitas (chloro) e diatomáceas (diatom). ..... 53
Figura 8 – Curvas espectrais mostrando características das feições de ficocianina e de clorofila *a* ..... 54
Figura 9 – Princípios básicos do fenômeno de excitação e emissão e as diferenças entre a excitação espectral (absorção) e emissão espectral (fluorescência) da luz absorvida por moléculas de pigmentos da clorofila *a.* ..... 57
Figura 10 - Espectros de absorção (excitação) e emissão da Clorofila a (Chl a), Feofitina (Pheo a) e Clorofila b (Chl b). ..... 58
Figura 11 - Espectros de absorção (excitação) (a) e fluorescência (b) de ficobilinas ..... 59
Figura 12 - (a) Curva de excitação com janela de emissão configurada para 680 nm (clorofila *a*) e 659 nm (ficocianina) (b) Curva de emissão com excitação em 440 nm (clorofila *a*) e 629 nm (ficocianina) para colônias de cianobactérias *Microcystis.* ..... 60
Figura 13 - Principais componentes de um fluorímetro ou espectrofluorímetro ..... 63
Figura 14 - Ilustração do Reservatório de Nova avanhandava, Baixo Rio Tiête/SP ..... 70
Figura 15 - Dados meteorológicos da estação meteorológica de Catanduva de 2009 até 2013; a) Precipitação mensal (mm); b) Temperatura média mensal (°C); c) Velocidade dos ventos (km/h). ..... 71
Figura 16 - Configuração do fluorômetro para a detecção de clorofila a. ..... 72
Figura 17 - Ilustração da instalação do Fluorômetro 10-AU no barco para as atividades de campo. ..... 73
Figura 18 - Configuração do fluorômetro para a detecção de ficocianina (PC). ..... 73
Figura 19 – a) Fluorômetro Unilux; b) Fluorômetro submersível conectado ao computador por cabo USB ..... 74
Figura 20 - Fluxograma com as Atividades desenvolvidas na pesquisa. As cores das caixas do fluxograma são relacionadas com os objetivos específicos descritos no item 1.2: azul - objetivo 5, verde - objetivo 3, lilás – objetivo 1 e vermelho – objetivos 2 e 4 ..... 79
Figura 21 - Curvas espectrais obtidas em fevereiro de 2011 em região próxima á área selecionada para a realização da pesquisa ..... 83
Figura 22 - Delimitação da Subárea de Estudo. ..... 84
Figura 23 – Delimitação da área de estudo para distribuição dos elementos amostrais, considerando a similaridade da média e desvio padrão das células analisadas. As regiões destacadas em negrito representam maior similaridade. ..... 86
Figura 24 - Imagem sintética formada pela razão entre as bandas verde (520 – 590 ) e vermelho limítrofe (690 – 730 nm) da imagem RapidEye de fevereiro de 2011, sobreposta a imagem RapidEye de fevereiro de 2011, indicando a distribuição dos elementos amostrais utilizados nos levantamentos de campo ..... 87

Figura 25 - Composição colorida nas bandas 1, 2 e 7 (RGB) do produto MOD 09A1 do sensor MODIS do Reservatório de Nova Avanhandava, com a localização de ponto da extração de informações espectrais. ..... 88
Figura 26 – Variação sazonal de reflectância nas bandas 3, 1 e 4 para os meses analisados. . 89
Figura 27 – Localização espacial dos pontos coletados nos quatro levantamentos de campo; a) Primeiro levantamento (11 pontos); b) Segundo levantamento (30 pontos); c) Terceiro levantamento (27 pontos); d) Quarto Levantamento (22 pontos). Os sinais de "x" representam os pontos em que efetivamente houve as coletas. ..... 91
Figura 28 - Curvas de calibração para a estimativa de Clorofila *a* a partir de valores relativos obtidos com o fluorômetro Turner 10-AU ..... 93
Figura 29 - Aplicação do contínuo removido e a apresentação de alguns parâmetros ..... 101
Figura 30- Espectro de reflectância (exemplo sobre o ponto 36 do segundo levantamento) com os limites dos intervalos e visualização dos intervalos: 1: 590-610 nm; 2: 610-645nm..... 102
Figura 31- Visualização dos pontos coletados em campo passíveis de extração de informações espectrais na imagem MODIS (R7G2B1). ..... 105
Figura 32 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 1° levantamento, para o Ponto 47 110
Figura 33 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 1° levantamento, para o Ponto 15 110
Figura 34 – Ocorrência do fitoplâncton na zona pelágica nas margens do reservatório. ..... 111
Figura 35 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 2° levantamento. para o Ponto 47 113
Figura 36 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 2° levantamento, para o Ponto 15 114
Figura 37 – Aparência da água no reservatório no terceiro levantamento de campo. ..... 115
Figura 38 - Boxplot dos dados de Ficocianina coletados nos quatro levantamentos de campo. ..... 121
Figura 39 - Boxplot dos dados de clorofila *a* coletados nos quatro levantamentos de campo. ..... 122
Figura 40 - Representação quantitativa por área da concentração de Ficocianina (.1) e Clorofila *a* (.2)..... 123
Figura 41- Equações de regressão linear entre ficocianina e clorofila *a* para os quatro levantamentos de campo. a) 1° levantamento de campo; b) 2° levantamento de campo; c) 3° levantamento de campo; d) 4° levantamento de campo..... 125
Figura 42 - Curvas espectrais suavizadas obtidas nos Primeiro (a – 11 pontos), Segundo (b - 30 pontos) Terceiro (c - 27 pontos) e Quarto (d – 18 pontos) levantamentos. As linhas tracejadas representam a localização no espectro eletromagnético das feições diagnósticas de ficocianina (linhas mais escuras) e clorofila a (linhas mais claras). ..... 127
Figura 43 - Curvas espectrais do segundo levantamento de campo representativas da variação espectral relacionada com a variação na concentração de ficocianina (setas vermelhas) e Clorofila *a* (setas verdes). ..... 129
Figura 44 – Correlogramas obtidos entre valores de reflectância e ficocianina, clorofila *a*, profundidade do disco de secchi e turbidez, para o primeiro (a) (6 pontos para clorofila *a* e 11 pontos para as outras variáveis, segundo (b) (30 pontos), terceiro (c) (27 pontos) e quarto (d) (18 pontos) levantamentos ..... 130
Figura 45 - Curvas de análise derivativa dos primeiro e segundo levantamentos de campo. As linhas tracejadas cobrem as feições posicionadas em 600, 630 e 650 nm relacionadas à ficocianina. ..... 133
Figura 46 - Curvas de análise derivativa aplicadas nas curvas de reflectância obtidas nos terceiro e quarto levantamentos de campo. As linhas tracejadas cobrem as feições posicionadas em 600, 630 e 650 nm relacionadas à ficocianina. ..... 134
Figura 47 - Correlogramas das curvas obtidas por meio da análise derivativa e concentração de ficocianina ..... 136

Figura 48 - Superfícies representativas do coeficiente de correlação de Pearson, *r*, entre as possíveis razões espectrais definidas no intervalo entre 600 e 700 nm e ficocianina. ..... 139
Figura 49- (a) Intervalos das 1° e 2° feições de absorção e (b) exemplo de espectro de reflectância (2° levantamento-Ponto 36) com a representação da 1° e 2° feições. ..... 141
Figura 50 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 1° levantamento de campo ..... 141
Figura 51 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 2° levantamento de campo ..... 142
Figura 52 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 3° levantamento de campo ..... 142
Figura 53 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 4° Levantamento..... 143
Figura 54 - Coeficientes de Correlação entre os parâmetros das curvas do contínuo removido com a concentração de ficocianina para a 1° feição de absorção (590 a 690nm). ..... 145
Figura 55 - Coeficientes de Correlação entre os parâmetros das curvas do contínuo removido com a concentração de ficocianina para a 2° feição de absorção (610 a 645 nm). ..... 145
Figura 56 - recorte das imagens RapidEye adquiridas em épocas próximas a três dos levantamentos de campo..... 147
Figura 57 - Largura das bandas espectrais das imagens multiespectrais RapidEye (B1: 440 – 510 μm; B2: 520 – 590 μm; B3: 630 – 685 μm; B4: 690 - 730 μm; B5: 760 – 850) sobre uma curva de reflectância espectral de um corpo d'água com presença de ficocianina e clorofila *a*, do ponto 36 do segundo levantamento. ..... 148
Figura 58 - Curvas espectrais extraídas das imagens RapidEye nos pixels representativos dos pontos de amostragem de campo. ..... 148
Figura 59 - Largura das bandas espectrais das imagens multiespectrais MODIS (B3: 459 – 479 μm; B4: 545 – 565 μm; B1: 620 – 670 μm; B2: 841 - 876 μm) sobre uma curva de reflectância espectral de um corpo d'água com presença de ficocianina e clorofila *a*, do ponto 36 do segundo levantamento. ..... 150
Figura 60 - Aparência das imagens MODIS adquiridas em épocas próximas aos levantamentos de campo (Composição colorida R (B1) G (B2) B (B7).. ..... 151
Figura 61 - Valores médios reflectância espectral do sensor MODIS obtidas para os quatro levantamentos de campo. Para cada levantamento de campo foram consideradas as médias de 13 pixels que sobrepuseram o elementos amostrais do esquema de amostragem de levantamento de campo. ..... 152
Figura 62- Correlação entre bandas extraídas do produto MOD09 e concentração de clorofila *a* e ficocianina, considerando os quatro levantamentos de campo realizados. ..... 153
Figura 63 - Dados meteorológicos bimestrais da estação meteorológica de Catanduva de 2009 até 2012; a) Precipitação média mensal (mm); b) temperatura média do ar (°C); c) velocidade dos ventos (Km/h) confrontados com os valores de reflectância da banda 4 do sensor MOD09A1. As linhas verticais representam épocas próximas aos levantamentos de campo realizados na pesquisa. ..... 157

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Classificação dos corpos d'água e padrões para água doce para concentração de clorofila *a*, cianobactérias e fósforo total ..... 27
Tabela 2 – Resposta do fitoplâncton em diversas condições do clima ..... 35
Tabela 3: Distribuição de pigmentos nos diferentes grupos de organismos que fazem fotossíntese. ..... 47
Tabela 4 - Feições de absorção dos principais pigmentos acessórios ..... 52
Tabela 5 - Bandas espectrais utilizadas dos produtos MOD 09 e MYD09, adequadas para estudos dos sistemas aquáticos continentais. ..... 76
Tabela 6 - Características gerais do Sistema RapidEye ..... 78
Tabela 7 – Resumo das variáveis obtidas em campo e número de pontos levantados. ..... 82
Tabela 8 - Datas de aquisição das cenas MODIS 09A1 ..... 88
Tabela 9 - Levantamentos de campo realizados ..... 90
Tabela 10 - Razões espectrais utilizadas na estimativa do pigmento fotossintetizante ficocianina ..... 98
Tabela 11- Feições de absorção e comprimento de onda ( $\lambda$ ) central de cada banda de absorção considerada ..... 101
Tabela 12 - Datas dos levantamentos de campo e aquisição das imagens RapidEye ..... 103
Tabela 13 - Datas dos levantamentos de campo e da aquisição das imagens MODIS ..... 105
Tabela 14 - Valores de correlação significativos, considerando o número de elementos amostrais utilizados. ..... 107
Tabela 15 - Variáveis meteorológicas no dia do 1° levantamento de campo (12/12/2012). . 108
Tabela 16 - Variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no primeiro levantamento de campo (12/12/2011) ..... 109
Tabela 17 - Condições meteorológicas no dia do 2° levantamento de campo (16/02/2012). 112
Tabela 18 - Variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no segundo levantamento de campo (16/02/2012). ..... 112
Tabela 19 - Variáveis meteorológicasno dia do 3° levantamento de campo (28/03/2012). .. 115
Tabela 20 - Resumo das variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no terceiro levantamento de campo (28/03/2012)..... 115
Tabela 21 - Tabela resumida das variáveis físico-químicas medidas no reservatório no quarto levantamento de campo (18/09/2012). ..... 116
Tabela 22 - Variáveis meteorológicasdo 4° levantamento de campo. ..... 117
Tabela 23 –Variáveis limnológicas medidas nos quatro levantamentos de campo. ..... 118
Tabela 24 – Valores obtidos para concentração de Ficocianina e Clorofila *a* nos levantamentos de campo com algumas análises estatísticas ..... 120
Tabela 25- Coeficientes de Correlação Linear de Pearson (*r*) entre ficocianina e clorofila *a* nos quatro levantamentos de campo ..... 125
Tabela 26 - Valores do coeficiente de correlação de Pearson para diferentes relações entre razões espectrais e a concentração de ficocianina. ..... 138
Tabela 27 - Valores do coeficiente de correlação para diferentes relações entre razões espectrais e a concentração de ficocianina. ..... 140
Tabela 28 - Parâmetros das bandas de absorção do contínuo removido para a 1° feição..... 144
Tabela 29 - Parâmetros das bandas de absorção do contínuo removido para a 2° feição..... 144
Tabela 30- Valores de correlação entre valores espectrais obtidos pela imagem RapidEye e concentração de ficocianina e clorofila *a*. ..... 149
Tabela 31 - Relações entre medidas de laboratório e fluorescência ..... 154
Tabela 32 - Relações com as características espectrais para ficocianina..... 155

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| CETESB | Companhia Ambiental do Estado de São Paulo |
| IVF | Fluorescência *in vivo* |
| MODIS | MODerate Resolution Imagin Spectrometer |
| MERIS | MEdium Resolution Imaging Spectroradiometer |
| COAs | Constituintes Opticamente Ativos |
| CDOM | Matéria Orgânica Dissolvida |
| TSS | Total de Sólidos Suspensos |
| REM | Radiação Eletromagnética |
| LMA | Limites Máximos Admissíveis |
| WHO | Organização Mundial de Saúde (*World Health Organization)* |
| POIs | Propriedades Ópticas Inerentes |
| POAs | Propriedades Ópticas Aparentes |
| HPLC | Cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography*) |
| chemtax | chemical taxonomy software |
| FLH | Fluorescence Line Height |
| FLEX | Fluorescence Explorer |
| FRHC | Fator de Reflectância Hemisférico Cônico |
| CZCS | Coastal Zone Color Scanner |
| AOCI | *Airborne Ocean Color Imager* |
| SeaWiFS | *Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor* |
| AISA | Airborne Imaging Spectrometer |
| TBBA | Algoritmo de Linha de Base |
| LIDAR | Light Detecting and Ranging System |
| SRTM | Shutter Radar Topography Mission |
| AVHRR | Advanced Very High Resolution Radiometer |

## SUMÁRIO


**1. INTRODUÇÃO ..... 17**

1.1. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA ..... 17
1.2. OBJETIVOS ..... 20
1.3. JUSTIFICATIVA ..... 21
1.4. ESTRUTURA DO TRABALHO ..... 24

**2. AMBIENTES AQUATICOS INTERIORES ..... 25**

2.1. CARACTERIZAÇÃO DE RESERVATÓRIOS CONTINENTAIS E A OCORRÊNCIA DE CIANOBACTÉRIAS ..... 25
2.2. FITOPLÂNCTON: CIANOBACTÉRIAS ..... 28
*2.2.1. Influência da luz e temperatura no desenvolvimento de cianobactérias ..... 30*
*2.2.2. Fatores intrínsecos do corpo d'água que limitam a produção de cianobactérias .. 32*
*2.2.3. Fatores ambientais que condicionam o desenvolvimento de cianobactérias ..... 34*

**3. SENSORIAMENTO REMOTO EM SISTEMAS AQUÁTICOS ..... 37**

3.1. PROPRIEDADES ÓPTICAS INERENTES E APARENTES DA ÁGUA E DE SEUS CONSTITUINTES ..... 39
3.2. COMPONENTES OPTICAMENTE ATIVOS (COAS) ..... 41
*3.2.1. Pigmentos fotossintetizantes presentes nos fitoplânctons ..... 46*
*3.2.2. Propriedades ópticas dos pigmentos fotossintetizantes ..... 49*
*3.2.3. Comportamento fluorescente de pigmentos fotossintetizantes ..... 55*
3.3. INSTRUMENTOS PARA OBTENÇÃO DE MEDIDAS DE FICOCIANINA POR MEIO DA FLUORESCÊNCIA E DE SUAS PROPRIEDADES ESPECTRAIS ..... 61

**4. DESENVOLVIMENTO GERAL DA PESQUISA ..... 69**

4.1. CARACTERIZAÇÃO DO AMBIENTE AQUÁTICO EM ESTUDO ..... 69
4.2. MATERIAIS ..... 71
4.3. ABORDAGEM METODOLÓGICA ..... 78
*4.3.1. Definição da subárea de Estudo ..... 82*
*4.3.2. Delineamento amostral e levantamentos de campo ..... 84*
*4.3.3. Coleta de variáveis limnológicas ..... 91*
*4.3.4. Aquisição de medidas fluorimétricas ..... 92*
*4.3.5. Medidas espectrais ..... 94*
*4.3.6. Detecção da ficocianina por Sensoriamento Remoto orbital ..... 102*
*4.3.7. Análise de correlação ..... 106*

**5. RESULTADOS E DISCUSSÃO ..... 108**

5.1. CONDIÇÕES METEOROLÓGICAS E VARIÁVEIS LIMNOLÓGICAS NOS LEVANTAMENTOS DE CAMPO ..... 108
5.2. OCORRÊNCIA SAZONAL E ESPACIAL DE CIANOBACTÉRIAS COM BASE EM DADOS FLUORIMÉTRICOS ..... 119
5.3. CARACTERIZAÇÃO ESPECTRAL DA FICOCIANINA NOS QUATRO LEVANTAMENTOS DE CAMPO ..... 126
5.4. DETECÇÃO DA FICOCIANINA POR MEIO DAS IMAGENS ORBITAIS MULTIESPECTRAIS ..... 146
5.5. DADOS MULTIFONTE NA CARACTERIZAÇÃO SAZONAL DE CIANOBACTÉRIAS ..... 153

**6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES ..... 159**

**7. REFERÊNCIAS ..... 162**

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Caracterização do problema

O monitoramento da qualidade da água é uma atividade fundamental para avaliar as consequências das ações antrópicas sobre os sistemas aquáticos, com a finalidade de preservar e recuperar ambientes já degradados. No caso de águas continentais, a busca por informações vem crescendo constantemente, pelo fato desses ambientes serem altamente sujeitos ao aporte de sedimentos, nutrientes e poluentes de origem difusa e/ou pontual. Tais ocorrências, associadas a outros fatores, acarretam a aceleração da reação da fotossíntese, podendo ocorrer à proliferação de fitoplânctons e macrófitas aquáticas (ESTEVES, 1998; TUNDISI e TUNDISI, 2008).

Como resultado de um manejo inadequado, a presença em alta concentração de alguns tipos de fitoplânctons provoca o comprometimento da qualidade da água, causando restrições no abastecimento para o consumo humano. As florações de fitoplânctons vêm se configurando em um problema cada vez mais sério, pois muitas delas produzem substâncias tóxicas que causam impactos diretos na saúde humana, turismo e economia pesqueira, sendo catastróficas para o ecossistema (CETESB, 2013).

Exemplos da ocorrência de grupos fitoplanctônicos tóxicos já foram observados em países como Austrália, Inglaterra, China e África do Sul (FALCONER, 1994). Algumas regiões do sudoeste da China apresentaram uma média superior de câncer no fígado em humanos associados à presença de toxinas de cianobactérias encontradas na água consumida (UENO et al., 1996). Em nosso país, o trabalho de Teixeira et al. (1993) descreve uma forte correlação entre a ocorrência de florações de cianobactérias, no reservatório de Itaparica no Estado da Bahia e a morte de 88 pessoas, dentre as 2000 intoxicadas pelo consumo de água do reservatório construído entre março e abril de 1988.

Ainda no Brasil, o primeiro caso confirmado de mortes humanas causadas por cianotoxinas ocorreu no início de 1996, quando 130 pacientes renais crônicos passaram a apresentar um quadro clínico compatível com uma grave hepatotoxicose, após sessões de hemodiálise em uma clínica da cidade de Caruaru (PE). Nesse episódio, 60 pacientes vieram a falecer após o início dos sintomas. As análises confirmaram a presença de microcistinas e cilindrospermopsina no carvão ativado utilizado no sistema de purificação de água da clínica e de microcistinas em amostras de sangue e fígado dos pacientes intoxicados (FUNASA, 2003).

Em termos globais, os relatos clínicos de danos para a população humana causados pelo consumo oral de toxinas de cianobactérias em águas de abastecimento indicam que esses

incidentes ocorrem como consequência de acidentes, desconhecimento ou deficiência na operação dos sistemas de tratamento da água. Como resultado, esses relatos tornam-se suposições e as circunstâncias originais são frequentemente de difícil definição (FUNASA, 2003). Ainda, os fitoplânctons, mesmo os não tóxicas, se presentes em altas concentrações podem causar outros tipos de problemas, tais como limitações nos usos múltiplos, mortandade de plantas e de animais aquáticos (METSAMA, 2009).

O aumento da frequência e intensidade das florações é comumente atribuído a mudanças antrópicas (ANDERSON et al., 2002). Mais recentemente, esses eventos, juntamente com a dominância de cianobactérias nas comunidades fitoplanctônicas, passaram também a ser associados às mudanças climáticas e consequente aumento nas taxas de $CO_2$ na atmosfera (CAREY, 2012; MOOIJ et al., 2005).

No Brasil, existe a preocupação no controle do florescimento de cianobactérias, que repercutiram na forma de portarias do Ministério da Saúde n° 2914/2011 e do Ministério do Meio Ambiente n° 357/2005. A Cetesb (Companhia Ambiental do Estado de São Paulo), por exemplo, lançou no ano de 2013 um manual operacional para o monitoramento de cianobactérias planctônicas. Contudo, o manual evidencia deficiências nas ações de prevenção da proliferação.

Em São Paulo, segundo o relatório da Cetesb (2013), é calculado bimestralmente o ICF (Índice de Comunidade Fitoplanctônica) por meio de uma rede de amostragem de 44 pontos, no qual é feita a contagem manual dos grupos de organismos fitoplanctônicos. Esses 44 pontos representam aproximadamente 1 ponto para cada 6000 km² do estado, distribuídos em 22 (vinte e duas) Unidades de Gerenciamento de Recursos Hídricos. Embora os métodos analíticos empregados sejam precisos, essa cobertura é insuficiente para representar a verdadeira situação dos corpos d'água, tanto espacial quanto temporalmente. Além disso, amostragens pontuais *in situ* em grandes extensões territoriais, são morosas e onerosas e também requerem uma disponibilidade de tempo incompatível com um monitoramento ambiental adequado.

Diante disso, o Sensoriamento Remoto mostra-se uma alternativa eficaz para o estudo dos sistemas aquáticos, pois permite a aquisição de dados sinópticos sobre grandes áreas da superfície terrestre, os quais fornecem uma visão do sistema aquático integrado à sua bacia de drenagem. Além dessa prerrogativa, os dados de Sensoriamento Remoto também podem ser adquiridos em diferentes épocas do ano, permitindo não apenas uma integração espacial das conexões entre uso da terra e funcionamento do sistema aquático, mas também em análises de

transformações resultantes de mudanças nas funções de força hidrológicas, climáticas e econômicas (NOVO et al., 2007).

O fitoplâncton é composto por organismos perceptíveis por Sensoriamento Remoto em virtude das propriedades ópticas de seus pigmentos (MOBLEY, 1994; KIRK, 1994). Em se tratando das cianobactérias, a presença exclusiva do pigmento ficocianina, tem permitido o desenvolvimento de pesquisas com base nas suas propriedades ópticas (SEPPALA, 2009; WEAVER WRIGLEY, 1994; SCHALLES e YACOBI, 2000; AGHA et al., 2012; DUAN et al., 2012; RUIZ VERDÚ et al., 2008). A vantagem do Sensoriamento Remoto na detecção de cianobactérias em ambientes aquáticos é a possibilidade de aliar a definição de assinaturas espectrais próprias com a espacialização da informação que, no caso do fitoplâncton, possuí uma distribuição espacial desigual, dependendo de fatores hidrodinâmicos (movimento horizontal), ecológicos (propriedades dos fitoplânctons, nutrientes, luz e temperatura) e do vento (KALLIO et al., 2003; KONDRATYEV e FILATOV, 1999).

A abordagem por fluorescência *in vivo*, que representa o espalhamento inelástico específico provocado por pigmentos fotossintetizantes constitui outro método de detecção importante. Quando um pigmento absorve um quantum de luz, um elétron é elevado de seu estado fundamental ($S_0$) para altos níveis ($S_1$, $S_2$,...), ao retornar ao estado fundamental de $S_1$ para $S_0$, em aproximadamente $10^{-12}$ segundos, ocorre à emissão de fluorescência (SEPPALA, 2009). Pigmentos fotossintetizantes são altamente fluorescentes, o que torna essa característica útil em diversas aplicações de Sensoriamento Remoto (MOBLEY, 1994), de modo que o monitoramento por meio da fluorescência dos pigmentos contidos em organismos fotossintetizantes têm se mostrado uma técnica particularmente interessante, já que a fluorescência é percebida externamente ao organismo de forma não destrutiva, permitindo uma melhor estimativa da concentração dos pigmentos (SEPPALA, 2009). Por meio das feições específicas de absorção e emissão dos pigmentos fitoplanctônicos, os fluorômetros permitem a qualificação e quantificação destes pigmentos com potencial superior aos métodos tradicionais mais utilizados (TURNER DESIGNS, 2004).

Apesar dos avanços nos estudos das propriedades ópticas dos organismos fitoplanctônicos, é fato que a radiância da superfície da água incorpora respostas espectrais de outros Componentes Opticamente Ativos (COAs) presentes na coluna d'água e que esses camuflam as feições diagnósticas sutis dos pigmentos fitoplanctônicos (MOBLEY, 1994). Em ambientes aquáticos continentais, o desafio é ainda maior, pois ao contrário dos ambientes oceânicos onde, com exceção de regiões costeiras, existe menor quantidade de material particulado em suspensão, os ambientes aquáticos continentais apresentam alta complexidade

no que se refere à determinação do fitoplâncton por Sensoriamento Remoto (GITELSON et al., 2007). Quando se trata da detecção do pigmento fitoplanctônico ficocianina, diagnóstico da presença de cianobactérias, o processo é ainda mais complexo, pois ainda existem interferências provocadas pelas condições iluminação do ambiente, estresse de nutrientes, presença de outros COAs como a presença de CDOM, clorofilas *b, c1 e c2*, e composição das espécies fitoplanctônicas (LE et al., 2011; SEPPALA, 2009; KIEFER, 1973).

Assim, considerando que as feições diagnósticas sutis dos pigmentos fitoplancônicos são camufladas pelos componentes ópticamente ativos presentes na coluna d'água, coloca-se como hipótese a possibilidade de detectar a ocorrência de clorofila *a* e ficocianina, assim como o comportamento sazonal de cianobactérias, por meio de dados multifonte obtidos por sensores hiperespectrais, multiespectrais e fluorimétricos.

Para avaliar a hipótese anterior, definiu-se um estudo de caso localizado no médio curso do rio Tiête, especificamente em uma seção do Reservatório de Nova Avanhandava-SP, ambiente aquático no qual a Cetesb não realiza o monitoramento da qualidade da água, mas onde se observou, em trabalhos anteriores, a ocorrência de floração de cianobactérias (WATANABE et al., 2013).

## 1.2. Objetivos

O objetivo geral desta pesquisa é analisar o comportamento sazonal de cianobactérias por meio da inferência do pigmento ficocianina, utilizando dados multifonte. Como objetivos específicos têm-se:

1) Analisar medidas de variáveis limnológicas tradicionais, obtidas em campo, como indicadoras da ocorrência de cianobactérias;
2) Avaliar a ocorrência sazonal de cianobactérias na área de estudo por meio da propriedade fluorescente da ficocianina;
3) Testar a eficiência de métodos de análise espectral de curvas de reflectância na extração de informações relacionadas à ficocianina;
4) Averiguar a relação entre a ocorrência de ficocianina e clorofila *a*, obtidas por fluorescência, na área de estudo;
5) Avaliar o potencial de imagens multiespectrais na detecção do pigmento ficocianina.

## 1.3. Justificativa

O Brasil tem desenvolvido uma grande capacidade de utilização dos recursos hídricos superficiais por meio da construção de barragens. Os reservatórios formados possuem uma hidrodinâmica diferenciada em função da localização, da morfometria e das variações de nível da água, que são definidos pela precipitação que estabelecem os diferentes tempos de residência da água no sistema. Porém, a construção destes reservatórios artificiais aliado ao aumento do despejo de poluentes nos corpos d'água em função da formação de aglomerados urbanos e da produção agrícola e industrial, tem provocado um desequilíbrio no sistema aquático. Os principais impactos negativos são a redução da biodiversidade aquática, aumento da incidência de florações de microalgas e cianobactérias e a limitação de uso múltiplo das atividades humanas (TUNDISI e TUNDISI, 2008; AZEVEDO, 1994).

O florescimento de cianobactérias é um fenômeno natural que ocorre nos oceanos e em águas interiores, contudo desde 1960, existem registros do aumento excessivo de ocorrências no mundo, não somente em frequência, mas também em biomassa, duração e distribuição (CAREY et al., 2012; ANDERSON et al., 2002). Sobre sua ocorrência, há a preocupação com a proliferação em mananciais de abastecimento de água, devido ao fato desses micro-organismos serem capazes de produzir e liberar ao meio, toxinas (cianotoxinas) que podem afetar a saúde humana (FUNASA, 2003). Além disso, muitas cianobactérias produzem odores e sabores na água e seus compostos também podem ser absorvidos a partir da água, através de guelras de peixes e depositados nos tecidos adiposos, trazendo ao peixe sabores indesejáveis (MISHRA et al., 2013)

Atualmente, o monitoramento de cianobactérias é feito por métodos limnológicos tradicionais de laboratório que envolve a identificação de espécies potencialmente tóxicas e o acompanhamento de suas densidades, por meio de contagem. Esses métodos nem sempre são eficientes, pelo fato das resoluções temporal e espacial de amostragem convencional não permitirem a detecção em mudanças na biomassa do fitoplâncton, principalmente durante condições de florescimento (CALIJURI et al., 2006; AGHA et al., 2012). Portanto, não são capazes de predizer fenômenos para a prevenção de ocorrências e em muitos casos as ações de controle são tomadas depois que o ambiente encontra-se totalmente infestado (CETESB,2013). Ademais, como essas medidas são de alto custo e extremamente complexas, esse monitoramento dificilmente é adotado por instituições governamentais, impossibilitando a representação da dinâmica temporal e espacial da qualidade da água, a qual seja adequada para avaliação e manejo de corpos d'água (FUNASA, 2003).

Nessa vertente, pesquisadores têm trabalhado em soluções mais adequadas para monitoramento da qualidade da água, que sejam capazes de conciliar baixo custo com a alta efetividade na coleta da informação. Uma das abordagens é o estudo das propriedades ópticas do fitoplâncton para obtenção de informações qualitativas e quantitativas desses organismos, baseado em autores clássicos como Bukata (2005), Mobley (1994) e Kirk (1994). Esses autores utilizam o conhecimento de que o fitoplâncton no corpo d'água aproveita os fótons de energia provenientes do Sol e do céu para iniciar complexos processos de absorção e espalhamento dentro do corpo d'água (MOBLEY, 1994).

O fato é que ao penetrar na coluna d'água a radiação eletromagnética sofre alterações, que depende das interações com as propriedades físicas, químicas e biológicas dos corpos d'água. E neste sentido, a presença do fitoplâncton, provoca uma resposta espectral diagnóstica, de acordo com os pigmentos fotossintetizantes presentes, que podem auxiliar na detecção do fitoplâncton (KIRK, 1994). Entretanto a extração da informação individual do fitoplâncton não é trivial pelo fato de envolver a interação simultânea de vários efeitos de absorção e espalhamento provocados inclusive por outros COAs, que torna complexa a interpretação da reflectância ascendente do corpo d'água (BARBOSA, 2005).

Em se tratando de cianobactérias, em sua estrutura existe um pigmento fitoplanctônico singular, denominado ficocianina, que possui propriedades ópticas peculiares, inclusive fluorescentes (SEPPALA, 2009; AGHA et al., 2012; MISHRA et al., 2013). Estas propriedades são objeto de várias pesquisas para obter informações que possam definir um protocolo de monitoramento sobre a proliferação de cianobactérias a partir da detecção do pigmento ficocianina (AGHA et al., 2012). Os estudos ainda são iniciais, pois a maior parte dos trabalhos se limita à investigação da ocorrência de clorofila *a*, presente em todos os organismos fitoplanctônicos, a qual permite estimar o total de biomassa fitoplanctônica (GÓMEZ et al., 2009; KUTSER, 2004; JUPP, 1994; HOGE e SWIFT, 1986).

A utilização direta da reflectância espectral que deixa a superfície da água após interagir com os seus constituintes definindo diferentes padrões de absorção e espalhamento, quando da ocorrência de cianobactérias foram investigados por Vincent et al. (2004), Kirk (1994), Richardson (1996), Londe, (2008), Weaver e Wrigley (1994), entre outros. As mencionadas pesquisas pretendem auxiliar na configuração de sensores capazes de separar florescimentos de cianobactérias e outros fitoplânctons (VINCENT et al., 2004, LONDE, 2008, WEAVER e WRIGLEY, 1994).

A viabilidade na utilização de imagens de Sensoriamento Remoto garantirá a obtenção da distribuição temporal e espacial das cianobactérias, para o monitoramento de

extensas áreas e permitirá o diagnóstico preventivo sobre a proliferação de cianobactérias, fornecendo uma visão sinóptica real da sua distribuição espacial heterogênea (VICENT et al., 2004; AGHA et al., 2012; SENGPIEL, 2007).

Ainda, considerando os diversos processos radioativos que definem a resposta espectral dos constituintes da água, está o processo inelástico da fluorescência. A fluorescência ocorre quando uma molécula absorve um fóton incidente e logo em seguida emite um fóton em um comprimento de onda maior. Este processo requer um tempo de aproximadamente $10^{-12}$ a $10^{-8}$ segundos, por isso muitos pesquisadores descrevem a fluorescência como uma absorção seguida de emissão, em vez de um processo instantâneo de espalhamento (MOBLEY, 1994). Os pigmentos fitoplanctônicos são altamente fluorescentes e essa propriedade é explorada pelo seu potencial de responder em regiões específicas do espectro eletromagnético e permitir identificação de uma substância, pela intensidade da radiação emitida em comprimentos de onda específicos (SEPPALA, 2009).

Pesquisas de décadas atrás, como a de Lorenzen (1966), sobre as propriedades fluorescentes do fitoplâncton previam a estimativa da biomassa fitoplanctônica por meio da análise laboratorial. Essa abordagem exige a utilização da tecnologia *in vitro*, no qual é necessária a extração química do pigmento, que nem sempre garante resultados eficientes, sem que haja a deterioração do fitoplâncton.

Recentemente, estão sendo desenvolvidos equipamentos de campo, que utilizam o principio da fluorescência *in vivo* (IVF), no qual a fluorescência é percebida externamente ao organismo de forma não destrutiva, permitindo uma melhor estimativa da concentração dos pigmentos. Além disso, o método realizado em campo possibilita coletar um maior número de elementos amostrais, bem como a obtenção de dados em fluxo contínuo (TURNER DESIGNS, 2004). A técnica mostra-se eficiente mesmo em baixas concentrações ou com amplitude de variação reduzida (SEPPALA, 2009; TURNER DESIGNS, 2004; SONG et al., 2003) .

Nesse contexto, a pesquisa se justifica pelo fato de o comportamento espacial e sazonal das cianobactérias terem sido pouco explorados em ambientes aquáticos continentais, principalmente com a utilização de características espectrais específicas da ficocianina. Contudo é importante ressaltar que nesta pesquisa não serão utilizados modelos bio-ópticos, que resultaria na resposta espectral independente da ficocianina.

Assim almeja-se extrair informações sobre o comportamento temporal e espacial das cianobactérias com base em dados obtidos por fluorescência, por reflectância espectral de campo, além da utilização de imagens orbitais multiespectrais.

## 1.4. Estrutura do trabalho

No primeiro capítulo deste documento, apresenta-se uma introdução sobre o tema proposto, a partir da caracterização do problema, dos objetivos, da justificativa e da estrutura do trabalho.

O segundo capítulo apresenta um estudo sobre ambientes aquáticos interiores com enfoque na ocorrência de cianobactérias. Faz-se uma caracterização dos reservatórios artificiais, bem como uma descrição genérica sobre as regras estabelecidas na legislação vigente para ocorrência de cianobactérias. São apresentadas as características do objeto de estudo, ou seja, o fitoplâncton e, em especial, as cianobactérias, detalhando algumas de suas características fisiológicas, bem como fatores controladores e limitadores para seu crescimento e sucessão.

No terceiro capítulo realiza-se uma revisão sobre conceitos básicos do Sensoriamento Remoto na água, destacando o comportamento espectral dos principais componentes opticamente ativos, com uma descrição das propriedades ópticas dos pigmentos fotossintetizantes, em especial para a ficocianina. Também são discutidas as características fluorescentes dos pigmentos. Em seguida, apresenta-se o funcionamento dos instrumentos para obtenção de medidas de ficocianina por meio de suas propriedades espectrais, incluindo a fluorescência.

O desenvolvimento metodológico da pesquisa é apresentado no quarto capitulo no qual se fez uma caracterização da área de estudo e se apresenta os materiais e o método proposto e utilizado. Logo após é apresentada a abordagem metodológica, no qual se explica o procedimento adotado em cada etapa do trabalho.

No quinto capítulo são apresentados os resultados e discussões. São apresentadas análises sobre as variáveis limnológicas tradicionais, aos dados obtidos por fluorescência e aos dados de reflectância obtidos em campo e por imagens multiespectrais. Em seguida, têm-se as conclusões e são sugeridas propostas para futuros trabalhos.

# 2. AMBIENTES AQUATICOS INTERIORES

## 2.1. Caracterização de reservatórios continentais e a ocorrência de cianobactérias

O volume e a diversidade dos recursos de águas interiores no Brasil são extremamente elevados. Esse conjunto de recursos hídricos tem uma grande importância ecológica, econômica e social, além de contribuir para o incremento do conhecimento de limnologia tropical (TUNDISI et al. 2006).

As principais bacias hidrográficas no Brasil foram reguladas pela construção de reservatórios os quais, isoladamente ou em cascata, constituem um aspecto qualitativo e quantitativo nos principais ecossistemas de águas interiores. São inúmeras as suas finalidades, sejam reservatórios de grande ou pequeno porte, as principais são: reserva de água para irrigação, reserva de água potável, produção de biomassa (cultivo de peixes e pesca intensiva), transporte (hidrovias), recreação, turismo e geração de energia (TUNDISI et al., 2006).

O estudo desses ambientes tem mostrado que são sistemas complexos, multicompartimentais e de usos múltiplos, geralmente não planejados. As represas são um dos componentes de três subsistemas ecológicos fundamentais: a bacia hidrográfica e sua rede hídrica; o reservatório propriamente dito; e as descargas do sistema a jusante. Pelo fato dos subsistemas serem interligados, as represas acabam incorporando, em seus componentes biológicos, populações e comunidades, as consequências dos impactos negativos de todos os subsistemas (NOGUEIRA et al., 2006).

Naime (2012) e Nogueira et al. (2006) citam alguns dos impactos negativos causados pela formação de reservatórios em bacias hidrográficas. Dentre os quais se destacam:

- acidificação da água quando não ocorre desmatamento prévio em escala adequada;
- perdas da flora e fauna nativas que geralmente são muito afetadas na fase de enchimento dos reservatórios;
- eutrofização produzida pela lixiviação de fertilizantes de áreas agricultáveis adjacentes e pelo despejo de esgotos de centros urbanos próximos;
- alterações nas condições físicas e químicas das águas pela retenção de fósforo e exportação de nitrogênio, favorecendo alguns tipos de organismos e prejudicando a outros;
- mudança no regime hidrológico superficial do próprio rio, devido à regulação do fluxo e do nível de água, alterando os regimes de inundação e tempo de

permanência nas áreas alagadas, o que reflete em alterações na flora, fauna e usos múltiplos;

- retenção física de sedimentos à montante do reservatório, que acentua a capacidade de gerar fenômenos erosivos pelo fluxo de água à jusante do reservatório, interferindo também nos ciclos biogeoquímicos;
- implantação de barreira física para migrações sazonais de espécies da fauna, perturbando o equilíbrio do ecossistema;
- aumento do material em suspensão durante precipitações pluviométricas de maior intensidade, reduzindo a transparência na coluna d'água e alterando a produção primária fitoplanctônica e de macrófitas.

A intensidade desses impactos também depende da estrutura espacial dos reservatórios, que possuem diferenças em suas circulações vertical e horizontal e uma hidrodinâmica com grande variabilidade, relacionada com a morfometria dos influxos dos tributários e dos efeitos das condições climatológicas e hidrológicas. Essas condições físicas provocam consequências biogeoquímicas, influem na distribuição, na sucessão de organismos e na produtividade de biomassa das comunidades (TUNDISI et al., 2006). Além disso, a composição de espécies do fitoplâncton nos reservatórios depende das inter-relações de fatores físicos, como temperatura e circulação; fatores químicos, como concentração de nutrientes e distribuição relativa dos diferentes íons dissolvidos na água; e fatores biológicos, como a interação das espécies, efeitos de predação e parasitismo (TUNDISI et al., 2006).

Além disso, a ocupação humana e suas atividades desordenadas no entorno de reservatórios é um problema que merece atenção em virtude do crescente enriquecimento artificial por nutrientes como nitrogênio e fósforo, advindos da utilização de fertilizantes na agricultura, da descarga de esgotos industriais e domésticos. Uma das consequências alarmantes é a incidência de florações de fitoplânctons potencialmente produtoras de toxinas, tais como as cianobactérias (CETESB, 2013).

Ademais, ainda existem reservatórios com características peculiares, como os do rio Tietê-SP, no qual a distribuição de reservatórios em cascata funciona como filtros, onde é retida boa parte de diferentes compostos, promovendo um efeito autodepurativo ao longo da sequência dos reservatórios em cascata. O padrão de retenção dos nutrientes nos primeiros reservatórios, com a consequente redução dos diferentes nutrientes ao longo da cascata de reservatórios, em decorrência da maior distância das fontes poluidoras permite inferir sobre um possível efeito de melhoria da qualidade da água (TUNDISI et al., 1999; MINILLO, 2005).

No Brasil, a Portaria do Ministério da Saúde n.º 2914/2011 estabelece normas para o monitoramento dos sistemas de abastecimento público de água de acordo com o número de cianobactérias. As normas definem que um monitoramento mensal deve ser realizado quando o número de cianobactérias for menor que 10.000 células/ mL no ponto de captação da água do manancial. Quando esse valor ultrapassar 10.000 células/mL o monitoramento deve ser semanal. Também estabelece que, sempre que o número de cianobactérias no ponto de captação exceder a 20.000 células/mL deve ser realizado uma análise semanal de cianotoxinas. Nesse caso, é exigida a análise de microcistinas e saxitoxinas, devido ao seu efeito agudo carginogênico.

Os limites máximos admissíveis (LMA) de cianotoxinas nas águas de abastecimento têm sido os adotados pela Organização Mundial de Saúde-OMS (*World Health Organization* - WHO), de acordo com Portaria do Ministério da Saúde n.º 2914/20011 (WHO, 1999). Porém, a literatura mais recente tem reavaliado esses valores para a adoção de limites considerados mais seguros.

Quanto à manutenção da integridade dos sistemas aquáticos a Resolução CONAMA n° 357/2005 do Ministério do Meio Ambiente dispõe sobre os padrões máximos estabelecidos para as classes de uso (Tabela 1).

Tabela 1- Classificação dos corpos d'água e padrões para água doce para concentração de clorofila *a*, cianobactérias e fósforo total

| **Classes (Uso Destinado)** | **Clorofila *a* (µg/L)** | **Cianobactérias (cels/mL ou $mm^3$/L)** | **Fósforo Total (mg/L)** |
|---|---|---|---|
| **1** Abastecimento após tratamento simplificado, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças cosumidas cruas; | 10 | 20.000 ou 2 | 0,020 (lêntico)<br>0,025 (intermediário)<br>0,1 (lótico) |
| **2** Abastecimento após tratamento convencional, recreação de contato primário, irrigação de hortaliças e frutíferas, aquicultura e pesca; | 30 | 50.000 ou 5 | 0,030 (lêntico)<br>0,050 (intermediário)<br>0,1 (lótico) |
| **3** Abastecimento após tratamento convencional ou avançado, recreação de contato secundário, dessedentação de animais; | 60 | 100.000 ou 100<br>50.000 ou 5<br>(dessedentação de animais) | 0,05 (lêntico)<br>0,075 (intermediário)<br>0,15 (lótico) |

Fonte: Resolução CONAMA n°357/2005, Cetesb (2013)

Apesar da Resolução CONAMA n°357/2005 (Tabela 1) estipular análises do número de células de cianobactérias e por clorofila *a*, não há ocorrências da implantação de pontos de monitoramento sistemático, nem da frequência a ser adotada para avaliar a concentração de

clorofila *a* e contagem de cianobactérias no território brasileiro, exceto no Estado de São Paulo, pela Cetesb.

Para fins recreacionais, a resolução CONAMA n°357/2005 não contempla valores orientadores para florações de cianobactérias, fazendo apenas menção para possibilidade de interdição em caso da formação de nata decorrente de florações de fitoplânctons, o que pode estar expondo a população a riscos (CETESB, 2013).

### 2.2. Fitoplâncton: Cianobactérias

No século passado, um fisiologista alemão, ao filtrar água do mar com uma rede, descobriu um grupo constituído por pequenos animais e plantas, denominado como comunidade de "plâncton". Primeiramente, esses elementos foram classificados como sendo um conjunto de organismos sem movimentos próprios, mas posteriormente observou-se que muitos destes organismos têm movimento próprio e podem se deslocar muitos metros por dia, tanto horizontal quanto verticalmente (ESTEVES, 1998; CALIJURI et al., 2006).

O plâncton é constituído pelo fitoplâncton (algas ou microalgas), zooplâncton (pequenos animais) e bacterioplanctôn. No fitoplâncton é possível encontrar organismos de diferentes grupos, tais como as cianobactérias (reino *Monera*), euglenas (reino *Protozoa*), diatomáceas (reino *Chromista*) e clorofíceas (reino *Plantae*). São formados por diversas assembleias de quase todos os grupos taxonômicos, com diferentes necessidades fisiológicas (BUKATA, 2005; CALIJURI et al., 2006).

Quando o fitoplâncton é fotoautotrófo sua função é captar a energia eletromagnética e transformá-la em energia química, por meio da fotossíntese. Esses organismos têm a função de sumidouro de dióxido do carbono da atmosfera e da água, pois produzem oxigênio e utilizam dióxido de carbono como fonte de carbono (TUNDISI e TUNDISI, 2008; CALIJURI et al., 2006).

As populações fitoplanctônicas mudam não somente espacialmente (vertical e horizontal), mas também sazonalmente com a mudança das condições físicas, químicas e biológicas do corpo d'água. Em geral o padrão de sucessão sazonal do fitoplâncton tem sido correlacionado com fatores ambientais do ambiente aquático, embora não se conheça a razão de muitas dessas mudanças (WETZEL, 2001).

Em se tratando de cianobactérias, sua origem em águas interiores foi estimada em cerca de 3,5 bilhões de anos, sendo provavelmente os primeiros seres produtores primários (TUNDISI e TUNDISI, 2008). Em decorrência das adaptações morfológicas, bioquímicas e

fisiológicas adquiridas ao longo da história, as cianobactérias ou cianofíceas costumam ser predominantes em condições ambientais adversas. Estes organismos foram classificados como fitoplâncton, mas na verdade são bactérias com uma estrutura celular procariótica, que é caracterizada por não possuir certas estruturas membranosas, incluindo uma membrana nuclear, mitocôndrias e cloroplastos. Contudo, diferentemente de outras bactérias, as cianobactérias possuem pigmentos fotossintetizantes e enzimas que permitem a realização de fotossíntese em baixas concentrações de oxigênio (WETZEL, 2001).

As cianobactérias ocorrem como células individuais, filamentos e colônias (WETZEL, 2001). Existem três formas de aparência de cianobactérias no ambiente aquático, sendo estas: (i) "tapete", formando biofilmes em rochas, sedimentos, e plantas submersas; (ii) florações ("*blooms*"), apresentando distribuição ao longo da coluna d'água pela capacidade de flutuabilidade das cianobactérias e pelos processos de mistura da água; (iii) "espumas", localizadas sobre a superfície d'água devido ao rápido aumento de cianobactérias na coluna d'água e baixa velocidade das águas (CODD et al., 2005).

São inúmeras as estratégias das cianobactérias para dominar os ambientes lacustres eutróficos, tais como: a capacidade de produção de pigmentos acessórios necessários à absorção mais eficiente da luz em qualquer habitat, habilidade de estocar nutrientes, e capacidade de fixar nitrogênio atmosférico para acumular gás em vesículas que permitem movimento e ajuste de posição na coluna d'água (CALIJURI et al., 2006; LEITE, 2008; METSAMA, 2009). Sua taxa de reprodução, porém, é mais baixa do que muitas espécies de algas, de modo que, para que haja um florescimento é necessário um tempo de retenção da água relativamente alto (MUR et al., 1999).

Algumas espécies de cianobactérias têm a capacidade de produzir metabólitos secundários que dão gosto e odor desagradáveis à água, além de poderosas toxinas. O processo de eutrofização tem favorecido a proliferação e a predominância dessas espécies, acarretando a elevação dos custos de tratamento da água para o abastecimento público e consequências, principalmente, à saúde da população (LEITE, 2008; CALIJURI et al., 2006). Além disso, representam um sério problema para as estações de tratamento d'água, pois podem causar perda da carga de filtros (CETESB, 2013).

Agha (2012) e Codd et al. (2005) destacam os gêneros de cianobactérias tóxicas *Microcystis, Anabaena, Anabaenopsis, Planktothrx, Aphanizomenon, Cylindrospermops, Raphidiopsis, and Nodularia.*como os mais frequentes em florações. No Brasil, entre os gêneros potencialmente nocivos, destacam-se *Microcystis, Dolichospermum (*Antiga *Anabaena), Cylindrospermopsis, Oscillatoria, Planktothrix e Aphanizomenon*. Ao todo, vinte (20) gêneros

e mais de quarenta (40) espécies de cianobactérias são conhecidos por seu potencial tóxico (LEITE, 2008; CETESB, 2013).

As cianotoxinas são classificadas de acordo com sua estrutura química e seus impactos patogênicos, por exemplo, dermatotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas e neurotoxinas. A exposição à hepatotoxinas (microcistinas e cilindrospermopsinas) tem sido diagnosticada ao acarretar problemas de saúde, dependendo do modo de exposição, a quantidade absorvida e a toxicidade da cepa de cianobactérias. Quantidades inferiores podem causar distúrbios menores (cefaléia, náuseas, diarréias), que podem até levar à deterioração das funções hepáticas. Alguns estudos mostram que a exposição crônica a baixas concentrações pode causar câncer (PHILIPPE, 2007).

### *2.2.1. Influência da luz e temperatura no desenvolvimento de cianobactérias*

Nos últimos anos, um grande número de experimentos sobre a produtividade primária fitoplanctônica foi realizado em lagos, represas e oceanos. Também foram obtidas medidas de variáveis físicas, químicas e biológicas, o que permitiu o conhecimento sobre fatores que determinam, controlam e limitam a produtividade primária do fitoplâncton (TUNDISI E TUNDISI, 2008).

De acordo com os experimentos, os fatores abióticos que têm maior influência sobre a produção de fitoplâncton são: a radiação dentro do lago (radiação subaquática), a temperatura e a concentração de nutrientes (WETZEL, 2001). A desconformidade desses fatores, normalmente causada por atividades antrópicas, pode prejudicar o equilíbrio natural do ambiente e provocar o excesso, a deficiência ou até mesmo a extinção de certos organismos fotossintetizantes. Esse desequilíbrio, naturalmente provoca condições irreversíveis e prejudiciais para o ecossistema e consequentemente para a saúde pública (ESTEVES, 1998).

A radiação é a fonte fundamental de energia para os sistemas aquáticos. Um dos principais fatores que interferem na fisiologia, no crescimento e na reprodução dos organismos aquáticos são a qualidade e a quantidade de luz, as quais variam de acordo com o clima e características das massas de água (TUNDISI E TUNDISI, 2008). Um aspecto que limita a eficiência na utilização da luz incidente em sistemas aquáticos é a atenuação de grande parte da energia de luz através do meio aquático (KIRK, 1994). A profundidade na qual ocorrem as taxas máximas de fotossíntese varia com a transparência de água, que é regulada pela concentração de matéria orgânica dissolvida e de partículas abióticas, que caracterizam a turbidez da água. Quando a densidade de fitoplâncton, isto é, a turbidez biogênica, é elevada, o

efeito de sombreamento pode reduzir significativamente a penetração da luz e da zona fótica. Em alguns casos, as populações de algas se adaptam a baixas intensidades de luz e são capazes de se desenvolver em camadas mais profundas com taxas fotossintéticas mais altas que no epilímnio (WETZEL, 2001).

Por outro lado, a alta intensidade de luz pode ser prejudicial para muitas algas e reduzir as taxas de fotossíntese. A inibição ocorre quando a luz excede a saturação fisiológica do fitoplâncton e resulta em um excesso de fótons que não são dissipados pela fixação de carbono na fotossíntese, ou na fluorescência (WETZEL, 2001). A inibição dos mecanismos fotoquímicos da fotossíntese pode ser visualizada, em reservatórios com alta transparência e em dias de alta radiação solar, onde a taxa máxima de fotossíntese se encontra a uma profundidade que proporciona 30% até 50% de atenuação da radiação subaquática à superfície. Quando a radiação solar diminui, como no inverno, a taxa máxima de fotossíntese ocorre mais próxima da superfície. (TUNDISI E TUNDISI, 2008).

Quanto maior for à exposição à luz intensa maior será o tempo de recuperação das comunidades fitoplanctônicas. Estudos em um lago no País de Gales, com populações de diatomáceas (*Asterionella*), mostraram que após duas horas de exposição à luz intensa foram necessárias quatro horas de fraca intensidade de luz para completa recuperação, sendo que após seis horas de exposição a altas intensidades luminosas esse tempo de recuperação subiu para vinte horas (KIRK, 1994). As cianobactérias, por exemplo, que formam florações na superfície possuem tolerância à alta intensidade de luz devido a maior concentração dos carotenoides, que protegem as células a partir da foto-oxidação (WHO, 1999).

Outra variável relacionada com a radiação solar é a temperatura, pois existem inter-relacionamentos entre o metabolismo do fitoplâncton e a saturação da luz. A intensidade da luz requerida no instante de realização da fotossíntese pela alga aumenta conforme se aumenta a temperatura da água, o que resulta em vários perfis verticais de concentração do fitoplâncton, em função da definição de zonas de estratificação. Teoricamente, o desenvolvimento destes organismos segue a Lei Geral Q10, na qual os processos metabólicos dobram a cada aumento da temperatura em 10º C (TUNDISI E TUNDISI, 2008).

Para as cianobactérias, as maiores taxas de crescimento, geralmente são observadas em temperaturas elevadas, maior que 25°C, embora existam exceções para baixas temperaturas (ELIOTT, 2012). Normalmente o início da fotossíntese ocorre em altas temperaturas, enquanto que para outros fitoplânctons, tais como as diatomáceas, a temperatura crítica é por volta de 5°C e para outras algas esse valor é de 15 °C. Além disso, as cianobactérias são as únicas algas termofílicas que apresentam crescimento em temperaturas acima de 45°C (WETZEL, 2001).

### *2.2.2. Fatores intrínsecos do corpo d'água que limitam a produção de cianobactérias*

Além da radiação e da temperatura, existem outros fatores que também influenciam na organização, distribuição espacial e sucessão das comunidades fitoplanctônicas. A capacidade da água de movimentar e transportar materiais suspensos são considerados fatores controladores, pois o grau de turbulência da água é crítico na regulação da periodicidade e produção do fitoplâncton e normalmente depende da morfometria do corpo d'água (WETZEL, 2001).

Além disso, o fitoplâncton também possui movimento próprio, que permite a entrada e a saída da zona eufótica. Este potencial de flutuação depende da densidade dos organismos fitoplanctônicos (ligeiramente maior que o da água), do tamanho e da forma dos organismos (cilíndrico, esférico ou discoide), da presença de mucilagem (mucopolissacaríde - que absorve água), da presença de vesículas de gás, do acumulo de hidrocarbonetos, da capacidade de regulação iônica e da utilização de flagelos para mobilidade (TUNDISI E TUNDISI, 2008, WETZEL, 2001, KIRK, 1994).

A carga de nutrientes é uma das principais causas de florações de cianobactérias (fontes pontuais e difusas), destacando-se o carbono, o fósforo e o nitrogênio. Quando a concentração de nutrientes é baixa, não há aumento de biomassa. Em contrapartida, quando a concentração de nutrientes aumenta, devido ao escoamento superficial em locais onde há agricultura ou despejo de efluentes, a população do fitoplâncton começa a crescer e, portanto, aumenta-se o total de fotossíntese (KIRK, 1994).

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo de sistemas aquáticos, pela sua participação na formação de proteínas, um dos componentes básicos da biomassa. A fixação de nitrogênio molecular pelas algas é um processo que requer muita energia, assim como no processo de fotossíntese, o que explica a sua grande dependência da radiação solar. Um estudo realizado na Nova Zelândia mostra que espécies de cianobactérias evitam a concorrência, fazendo com que o processo de fotossíntese ocorra preferencialmente na parte da manhã e de fixação de nitrogênio à tarde (ESTEVES, 1998).

Algumas espécies de cianobactérias, tais como *Dolichospermum (*Antiga *Anabaena)*, *Aphanizomenon ssp* e *Cylindropermopsis* tem a vantagem de fixar nitrogênio atmosférico, o que permite seu crescimento em regiões com deficiência de nitrogênio, como nas regiões semiáridas (TUNDISI E TUNDISI, 2008). Além disso, algumas pesquisas descritas

pelo mesmo autor observaram a fixação de nitrogênio por cianobactérias em presença de nitrato e amônia, que são compostos inorgânicos nitrogenados.

Em relação ao fósforo, sua presença em corpos naturais, quer na forma iônica quer na forma complexada, encontra-se sob a forma de fosfato. A absorção de fosfato é uma condição indispensável ao crescimento das algas, pois faz parte da composição de importantes compostos celulares. De modo geral, está ligada a produção de energia por meio de reações que são ativadas pela luz, o que pode explicar a estreita relação entre a absorção de fosfato e a atividade fotossintética fitoplanctônica (ESTEVES, 1998).

As cianobactérias, assim como vários outros organismos fitoplanctônicos, têm mecanismos para armazenamento intracelular de fósforo. Isto permite o acúmulo de fosfato suficiente para se multiplicar sem requerer nova absorção do elemento. Portanto, a biomassa pode aumentar 10 vezes ou mais, mesmo quando o fosfato dissolvido já tenha sido completamente exaurido do meio externo (WHO, 1999; FUNASA, 2003).

Como o florescimento de cianobactérias ocorre geralmente em ambientes eutrofizados, assumiu-se originalmente que elas necessitavam de altas concentrações de fósforo e nitrogênio. Porém, constatou-se, por meio de dados experimentais, que as cianobactérias podem crescer em baixas concentrações de nutrientes pelo fato de haver um maior aproveitamento do nitrogênio ou o fósforo, se comparado com outros organismos fotossintéticos. Além disso, existe a maior capacidade de armazenamento, sendo menos dependentes de alimentação externa durante períodos de escassez. Isto significa que as cianobactérias podem ter vantagens competitivas sobre outros grupos fitoplanctônicos mesmo sob condições de limitação da concentração de nitrogênio e fósforo (WHO, 1999; SENGPIEL, 2007; HUNTER et al., 2008).

Para o carbono, a maioria das algas são fotoautótrofas, de modo que as células de carbono são obtidas pela transformação de dióxido de carbono em carboidratos por meio da fotossíntese. Porém, mesmo sendo dependentes de luz, os fitoplânctons possuem a capacidade de utilizar componentes orgânicos dissolvidos como fonte de carbono e energia, ou seja, mesmo em baixa intensidade de luz, o aumento da concentração de dióxido de carbono leva a um aumento na taxa fotossintética (WETZEL, 2001). Existem algas que mesmo no escuro podem persistir por meses ou anos em condições naturais. Em temperatura elevada (40°C) associada, pequena concentração de dióxido de carbono e condições de pH alto ou baixo, foram observadas hidrólises lentas, sendo necessário aproximadamente 10 semanas em pH 1 e mais de 12 semanas em pH 9 para a degradação de cerca de 90% da concentração total. Este incrível

potencial de resistência em condições adversas pode ser um dos fatores que contribuem para a dominância de cianobactérias em lagos eutróficos (KIRK, 1994; FUNASA, 2003).

Em se tratando de reservatórios artificiais, que possuem a dinâmica de um lago e funções biológicas de um rio, observa-se que a turbidez é reduzida com consequente aumento da zona eufótica. Desse modo, a produtividade primária da área aumenta como resultado da maior penetração da luz. Além disso, cianobactérias desenvolvem mais intensamente quando o tempo de residência da água é maior, diferente das algas verdes que são dominantes em períodos de residência menor. Como resultado, as comunidades fitoplanctônicas em reservatórios são alteradas frequentemente, o que leva ao desenvolvimento de espécies estrategistas, cujo crescimento, sequências e sucessões podem ser constantemente redefinidos (WETZEL, 2001).

### *2.2.3. Fatores ambientais que condicionam o desenvolvimento de cianobactérias*

Estudos limnológicos recentes tratam o desenvolvimento de cianobactérias relacionado com mudanças climáticas, que provocam a estratificação e variação do comportamento de variáveis físicas, químicas e biológicas em reservatórios. Evidências sobre o impacto do clima no funcionamento dos reservatórios no sudeste brasileiro foram tratadas por Branco et al. (2009), no qual as interações do clima (vento, temperatura do ar e precipitação) foram relacionadas com a estrutura térmica, química e biológica da coluna de água no reservatório de Lages (Brasil).

Nessa pesquisa e em outras apresentadas por Tundisi et al. (2004, 2007 e 2010) as conclusões foram que quando frentes frias (ventos, precipitação e diminuição da temperatura do ar) estão operando no ambiente, o resfriamento das águas superficiais e as mudanças provocadas pelas misturas verticais alteram a estrutura térmica dos reservatórios, que passam a possuir perfis homogêneos de temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica e de nutrientes, como fósforo e nitrogênio. Em um estudo na represa Carlos Botelho (Lobo-Broa), Tundisi et al. (2004) mostraram que o reservatório apresentou estratificação térmica, química e biológica na coluna d'água em períodos de calmaria. Porém, durante a passagem de sistemas frontais, com ventos com velocidade maior que 6 m/s, a coluna sofria uma mistura completa aumentando a distribuição de nutrientes, devido ao revolvimento no fundo do reservatório induzido pela turbulência na superfície. A resposta do fitoplâncton nessas condições é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2 – Resposta do fitoplâncton em diversas condições do clima

| Frentes Frias | Situação do Ambiente | Resposta do fitoplâncton |
|---|---|---|
| (1) Nenhuma frente fria | Nenhuma mistura vertical ou horizontal; nutrientes disponíveis somente por meio da regeneração. | Florações de cianobactérias |
| (2) Misturas verticais moderadas prévias às frentes frias | Períodos alternados de estabilidade e mistura | Florações de cianobactérias começam a dissipar; presença de clorofíceas e pequenas diatomáceas. |
| (3) Frente fria | Mudanças na iluminação do ambiente; reposição contínua de nutrientes; intensas misturas vertical e horizontal. | Presença predominante de diatomáceas e clorofíceas |
| (4) Dissipação da frente fria | Inicia um novo ciclo de estabilidade; aumento da luz e nutrientes e camadas de estratificação. | Início do crescimento de cianobactérias; condições iniciais de florações. |

Adaptado de Tundisi et al. (2010).

A Tabela 2, representa um modelo de sucessão do fitoplâncton para lagos e reservatórios com base nas mudanças na coluna d'água na ausência ou na presença da frente fria. É possível observar pela tabela que a presença de frentes frias é um fator determinante na composição de espécies de fitoplânctons em reservatórios. Sem a presença de frentes frias a ocorrência de zonas de estratificação facilita a dominância de cianobactérias. Por outro lado, a homogeneidade dos ambientes aquáticos, provocada pela ação dos ventos, acarreta na inibição nos efeitos dominantes das cianobactérias.

Segundo Tundisi et al. (2010), deve-se considerar também as consequências do impacto das chuvas, no qual há aumento da descarga de nutrientes pela drenagem ou pelo revolvimento do fundo do corpo d´água, o que auxilia no processo de crescimento do fitoplâncton. Conforme Reichwaldt e Ghadouani (2012) em curto prazo, as chuvas intensas podem levar a condições desfavoráveis para as cianobactérias devido à diluição, contudo, em longo prazo, esse efeito pode ser compensado pela entrada de nutrientes e pelo aumento de volume do escoamento superficial e provocando a ocorrência de florações. Além disso, a ocorrência de várias precipitações rápidas associadas a dias úmidos podem levar a proliferação de cianobactérias, pela sua capacidade de utilizar os nutrientes que são adicionados, especialmente se a estratificação permanecer inalterada. Adicionalmente, longos períodos de seca (estabilidade da coluna d'água, altas temperaturas e aumento da eutrofização) favorecem a proliferação de muitas espécies de cianobactérias tóxicas devido à menor ocorrência de chuvas.

Tundisi et al. (2010) relata que acompanhar a ocorrência de frentes frias deve ser prioridade nos estudos de florescimento do fitoplancton, um vez que esse fenômeno modifica as condições físicas do ambiente e consequentemente a qualidade da água.

O controle das florações de cianobactérias em ambientes eutrofizados ainda é pouco conhecido. O crescimento e produção desses organismos têm sido equilibrados pela sedimentação fora da zona eufótica, provocada pelo parasitismo de fungos e do zooplâncton. As doenças causadas por vírus, por exemplo, podem causar a quebra de diferentes tipos de algas e cianobactérias, entretanto, o controle de florações por este método tem se mostrado pouco efetivo em decorrência do desenvolvimento sucessional de espécies competidoras (WETZEL, 2001).

# 3. SENSORIAMENTO REMOTO EM SISTEMAS AQUÁTICOS

Técnicas avançadas de medições por Sensoriamento Remoto buscam extrair informações a partir da análise dos registros em imagens e gráficos, do sinal resultante das interações entre a energia eletromagnética e alvos da superfície terrestre. Para tanto, utiliza-se o princípio da conservação de energia, ou seja, a radiação eletromagnética, quando incide sobre a superfície de um material, será em parte refletida por essa superfície, em parte absorvida pelos átomos ou moléculas e, em parte, transmitida, caso a matéria possua alguma transparência no comprimento de onda da radiação em questão (JENSEN, 2000).

A energia refletida é a parte capturada por sensores remotos e contém informações úteis sobre a composição do meio aquático. Porém, essa radiação, que atinge o sensor possui componentes originários do espalhamento pela atmosfera, das reflexões especulares da radiação solar direta e difusa, e finalmente do alvo de interesse, que é o fluxo de radiação emergente da água. Quando sistemas aquáticos são estudados por Sensoriamento Remoto óptico, a diferenciação dessas componentes radiativas é fundamental, pois a energia proveniente dos sistemas aquáticos é relativamente mais baixa, em torno de 20%, o que resulta em baixos valores de radiância registrados pelo sensor (NOVO, 2007; BARBOSA, 2005).

De acordo com Jensen (2000) e Alföldi (1982), o total da radiância de um corpo d'água, registrada por um sensor aerotransportado ou orbital, é função da energia eletromagnética proveniente de quatro componentes, identificados na Figura 1.

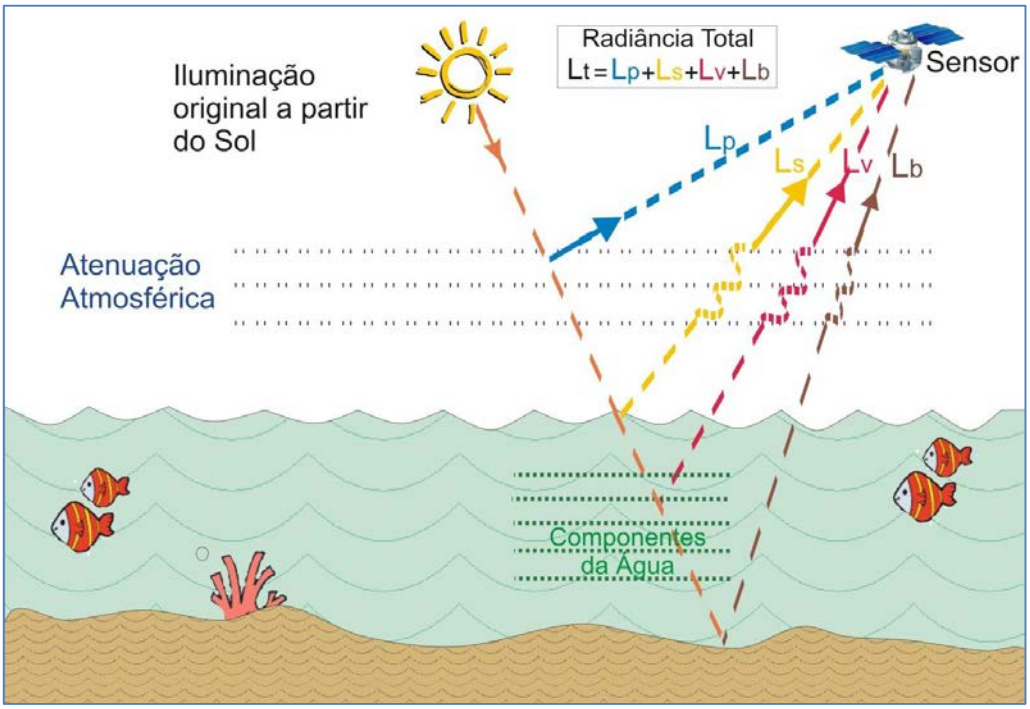



Figura 1 – Processos de interação da radiação eletromagnética com o corpo d'água. Adaptado de Alföldi (1982) e Jensen (2000)

De acordo com a Figura 1, os corpos d'água recebem a irradiância do Sol e da atmosfera, assim sendo a radiância total ascendente ($L_t$), saindo de um corpo d'água para um sensor remoto, é uma função da radiância de espalhamento atmosférico ($L_p$), da radiância de superfície da água ($L_s$), da radiância volumétrica de subsuperfície ($L_v$) e da radiância de fundo ($L_b$).

A componente $L_p$ é a porção de radiância registrada pelo sensor, que não atinge a superfície da água, resultante da irradiância direta do sol espalhada pelas nuvens e gases da atmosfera. A presença da atmosfera interfere seletivamente na radiação que atinge a superfície da água, influenciando, na qualidade da radiação que interage com os componentes da água. Esse componente refere-se também à radiação espalhada proveniente de alvos vizinhos ao elemento de interesse.

$L_s$ é parte da radiância registrada pelo sensor, proveniente do Sol e do céu, que atinge a superfície da água, mas penetra somente até os primeiros milímetros da coluna d'água, ou então é refletida diretamente pela superfície d'água. Esta energia refletida contém informação espectral sobre as características da superfície do corpo d'água, contudo, se o ângulo zenital solar e o ângulo de visada do sensor forem equivalentes, pode-se obter uma reflexão especular da superfície do corpo d'água, com pouco valor espectral.

$L_v$ é a radiância da radiação solar e atmosférica descendente que penetra na interface ar/água e interage com a água e seus constituintes orgânicos e inorgânicos, sem alcançar o fundo, cuja natureza é modificada pela absorção e espalhamento, denominada radiância volumétrica de subsuperfície.

$L_b$ é a parte da energia, que penetra na água, alcança o fundo e é propagado de volta para a superfície.

Quando há interesse na identificação de constituintes opticamente ativos (COAs) orgânicos e inorgânicos na coluna de água, tais como, fitoplâncton, material inorgânico suspenso e a matéria orgânica dissolvida, a componente que fornece informações úteis é a radiância volumétrica ($L_v$). Por meio dela, e da capacidade desses elementos de espalhar e absorver a radiação incidente distintivamente dependendo do comprimento de onda, é possível fazer uma inferência das variáveis relacionadas à qualidade da água por intermédio das feições espectrais da radiação solar refletida pelo volume da água, em sub-superfície (KIRK, 1994). Devido a esta complexidade da interação da radiação eletromagnética com o meio aquático, a modelagem existente é conhecida como tridimensional e envolve espalhamento múltiplo de diferentes ordens dentro do perfil do corpo d'água (MCCLUNEY, 1974).

Importante ressaltar que por definição, a radiância ($L_\lambda$) é a intensidade radiante por unidade de área-fonte projetada numa direção específica, medida em Watts por metro quadrado por esterradiano [$Wm^{-2}\ sr^{-1}$]. Em outras palavras é o fluxo radiante em certos comprimentos de onda ($\phi_\lambda$) deixando a área-fonte projetada (A) numa certa direção (cos θ) e num ângulo sólido (Ω) (Equação 1) (JENSEN, 2000).

$$L_\lambda = \frac{\frac{\phi_\lambda}{\Omega}}{A\ cos\theta} \quad (1)$$

A radiância é altamente dependente da intensidade de irradiância que atinge a superfície da água por unidade de área ($Wm^{-2}$). Entretanto, para obter informações das quantidades refletidas da REM (Radiação Eletromagnética) em determinadas faixas do espectro eletromagnético por um determinado objeto, segundo suas propriedades físico-químicas sem a interferência da variação da intensidade da REM se deve estimar a reflectância, compreendida pela relação do fluxo de radiação eletromagnética refletida pela superfície e o fluxo de irradiância incidente (NICODEMUS et al., 1977).

### 3.1. Propriedades ópticas inerentes e aparentes da água e de seus constituintes

As águas naturais são compostas por materiais dissolvidos e particulados em diferentes concentrações. Consequentemente, as propriedades ópticas de águas naturais também apresentam ampla variabilidade e raramente se assemelham a água pura por estarem intrinsecamente relacionadas às propriedades físico, químicas, biológicas e geológicas dos constituintes presentes no corpo d'água (MOBLEY, 1994).

Quando os fótons penetram num corpo d'água, apenas uma parte da energia do fóton é destinada para fotossíntese, o restante se transforma em calor ou é re-irradiada. Basicamente, esses processos são parte de dois fenômenos: a absorção e/ou o espalhamento seletivo da REM. O espalhamento espectral na coluna d'água causa a mudança na direção da radiação descendente e ascendente devido aos diferentes componentes presentes na coluna d'água (MOBLEY, 1994).

A quantificação dos processos de espalhamento e de absorção da luz na água torna possível inferir sobre os componentes presentes nos corpos d'água (BARBOSA, 2005). Morel e Prieur (1977), por exemplo, classificaram os corpos d'água em dois tipos, dependendo da relação entre a concentração de COAs e coeficientes de espalhamento. Águas do tipo I se caracterizam pela presença predominante do fitoplâncton, que é o elemento responsável pelas variações nas propriedades ópticas da água. Enquanto que no tipo II, as concentrações de

partículas orgânicas e inorgânicas passam a reger estas variações. As águas do tipo I são normalmente associadas aos ambientes oceânicos, enquanto as do tipo II a ambientes costeiros e continentais ou interiores, nos quais a extração de informação dos COAs é extremamente complexa.

As propriedades ópticas da água são convenientemente divididas em duas classes independentes: inerentes e aparentes. As propriedades ópticas inerentes (POIs) dependem apenas dos componentes que compõe o meio aquático e, portanto são independentes do campo de luz. Os coeficientes de absorção ($a$ [$m^{-1}$]), espalhamento ($b$ [$m^{-1}$]) e a função de espalhamento volumétrica ($\beta(\psi;\lambda)$) caracterizam os POIs e, por serem propriedades físicas do meio, esses coeficientes independem de mudanças na distribuição angular do fluxo radiante, ou seja, da estrutura geométrica do campo de luz ambiente (KIRK, 1994). É a partir dos efeitos decorrentes das propriedades ópticas inerentes, causadas por alterações nas concentrações dos constituintes opticamente ativos, que ocorrem mudanças na reflectância de subsuperfície e em outras medidas das condições ópticas subaquáticas. Por serem propriedades físicas bem definidas, as propriedades ópticas inerentes permitem aferir um conjunto de abordagens e definições sobre corpos d'água e a decomposição em propriedades comparáveis (BARBOSA, 2005).

As propriedades ópticas aparentes (POAs) são aquelas influenciadas tanto pelas substâncias que compõem o meio aquático quanto da estrutura geométrica (direcional) do campo de luz do ambiente e que mostram feições regulares e estabilidade suficientes para caracterizar um corpo d'água. Os POAs, diferentemente dos POIs, não podem ser medidos em amostras de água em laboratório por depender da distribuição da radiação em corpos d'água sob condições naturais. Contudo, é preciso contar com certa estabilidade do campo de luz no ambiente, evitando-se assim, variações de iluminação provocadas por rajadas de vento e presença de nuvens (MOBLEY, 1994).

O coeficiente de atenuação difusa espectral para a da irradiância plana descendente $K_d(\lambda)$, a reflectância de irradiância espectral $R(z;\lambda)$ e a reflectância de sensoriamento remoto são exemplos de propriedades ópticas aparentes (MOBLEY, 1994). O $K_d(\lambda)$ define a taxa de decréscimo da irradiância descendente $E_d(\lambda)$ com o aumento da profundidade Z, definida pela Equação 2 (DEKKER, 1993).

$$(z,\lambda) = -\frac{d \ln E_d(z;\lambda)}{dz} = -\frac{1}{E_d(z;\lambda)} \frac{dE_d(z;\lambda)}{dz} \quad (m^{-1}) \qquad (2)$$

A reflectância de sensoriamento remoto é definida pela a razão entre a radiância que deixa a superfície da água na direção do sistema sensor (L) e a irradiância descendente

(Equação 3). A reflectância de sensoriamento remoto ($R_{rs}$) é a quantidade da luz descendente que após incidir no corpo d'água retorna a superfície em direção ($\theta$, $\phi$), passível de ser detectado por um radiômetro apontado em direção oposta (MOBLEY, 1994).

$$R_{rs}(\theta,\phi,\lambda) = \frac{L(z=\alpha;\theta;\phi;\lambda)}{E_d(z=\alpha;\lambda)} \qquad (sr^{-1}) \qquad (3)$$

A reflectância de irradiância espectral $R(z;\lambda)$ é considerada um parâmetro fundamental pelo fato de ser independente das variações de iluminação, do ângulo de elevação solar e do estado da superfície da água e apenas levemente dependente das condições atmosféricas. A $R(z;\lambda)$ é definida como a razão entre a irradiância ascendente ($E_u(z, \lambda)$) e irradiância descendente ($E_d(z, \lambda)$) (Equação 4) (DEKKER, 1993).

$$R(z;\lambda) = \frac{E_u(z;\lambda)}{E_d(z;\lambda)} \qquad (4)$$

Deve-se considerar que as POAs são fundamentais em análises por Sensoriamento Remoto, pois essas propriedades permitem o conhecimento da variação da radiação que deixa a água para originar informações quantitativas dos tipos de substâncias presentes na água e suas concentrações (DEKKER, 1993).

### 3.2. Componentes Opticamente Ativos (COAs)

Essencialmente todas as alterações que ocorrem nas propriedades ópticas inerentes de um ecossistema aquático podem ser atribuídas a três componentes do ecossistema: a própria água, as substâncias húmicas dissolvidas, e ao material particulado em suspensão, denominado de TSS (total de sólidos em suspensão), decomposto em duas frações; matéria orgânica viva e matéria inorgânica e detritos (BARBOSA, 2005). Assim, para um estudo mais detalhado é importante compreender as propriedades e os processos ópticos que ocorrem no meio aquático.

A priori, deve-se distinguir o efeito de cada elemento, começando pelo conhecimento da influência da água pura na resposta espectral do corpo d'água. No estudo realizado por Bukata et al. (1995), foram obtidas curvas de absorção e de espalhamento para a água pura, no intervalo espectral de 250 a 800nm (Figura 2). Observando essa figura, percebe-se que o coeficiente de absorção é elevado na região da luz ultravioleta, em seguida decresce abruptamente com um mínimo na região entre 400 e 500 nm, aumentando rapidamente na região do infravermelho. Constata-se assim, que no intervalo entre 400 e 500 nm, a absorção pela água pura é desprezível e que praticamente toda energia que atravessa a interface ar/água penetra em quase totalidade nos primeiros metros. Para curva de espalhamento, verifica-se que

os valores são máximos na região do ultravioleta e decresce exponencialmente em direção ao infravermelho. A partir dessas considerações, pode-se dizer que a radiação refletida pelas moléculas da água pura é maior na região do azul (entre 400 - 500 nm), com um máximo entre 460 e 480 nm. Consequentemente, são nesses comprimentos de onda, entre violeta e azul, que há maior penetração da luz na coluna d'água. Desse modo, o espalhamento molecular no corpo d'água ocorre nos comprimentos de onda da luz violeta e azul (< 520 nm) e a absorção acontece nas faixas espectrais da luz verde, amarela, laranja e vermelha (520 – 700 nm) (JENSEN, 2000).

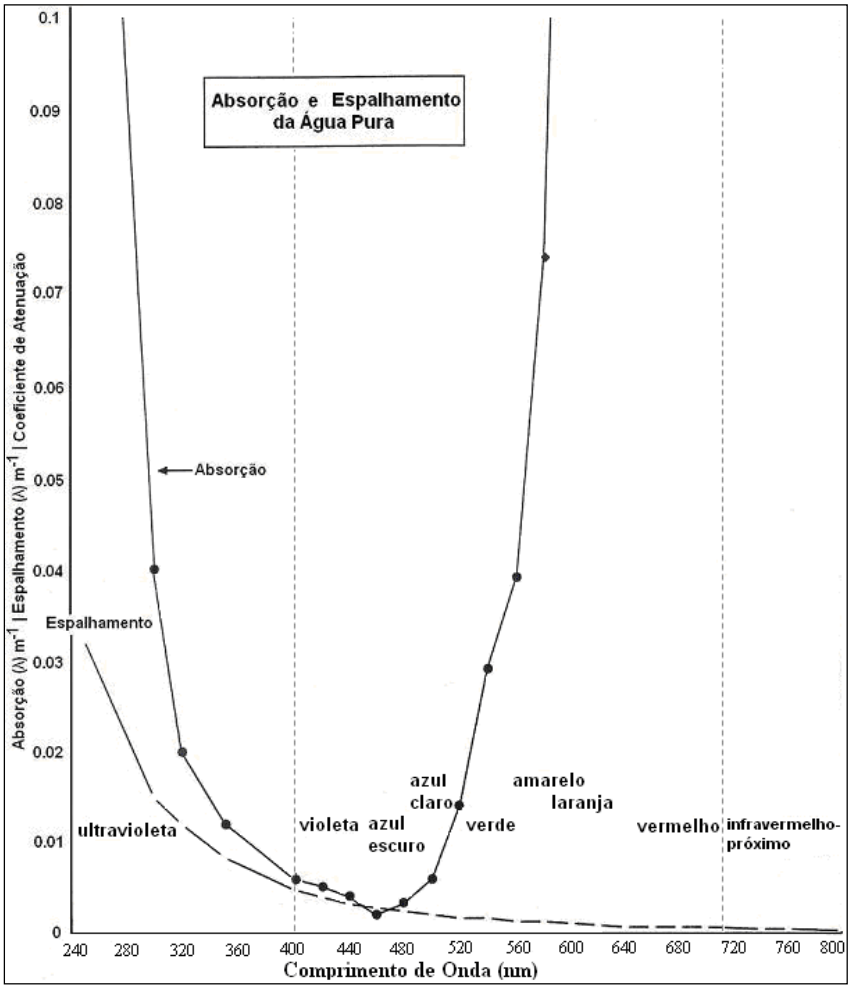



Figura 2 - Curva de Absorção e Espalhamento da luz na água pura.
Adaptado de Jensen (2000) e Bukata et al. (1995)

Estudos foram realizados para a determinação da resposta espectral de cada COA presente na água, na tentativa de se obter uma melhor compreensão de seus comportamentos espectrais para a definição de modelos que auxiliem na sua discriminação (GOODIN et al., 1993; KIRK, 1994; DEKKER, 1993; RUNDQUIST et al., 1996; JENSEN, 2002, BUKATA, 1995). As regiões de absorção e espalhamento dos componentes irão definir seletivamente a forma final da curva de reflectância da água, enquanto que suas concentrações serão

responsáveis pela magnitude das feições e pela magnitude da energia refletida na sub-superfície (KIRK, 1994). A Figura 3 apresenta corpos d'água com diferentes substâncias, no qual é possível constatar as diferenças significativas em seus espectros.

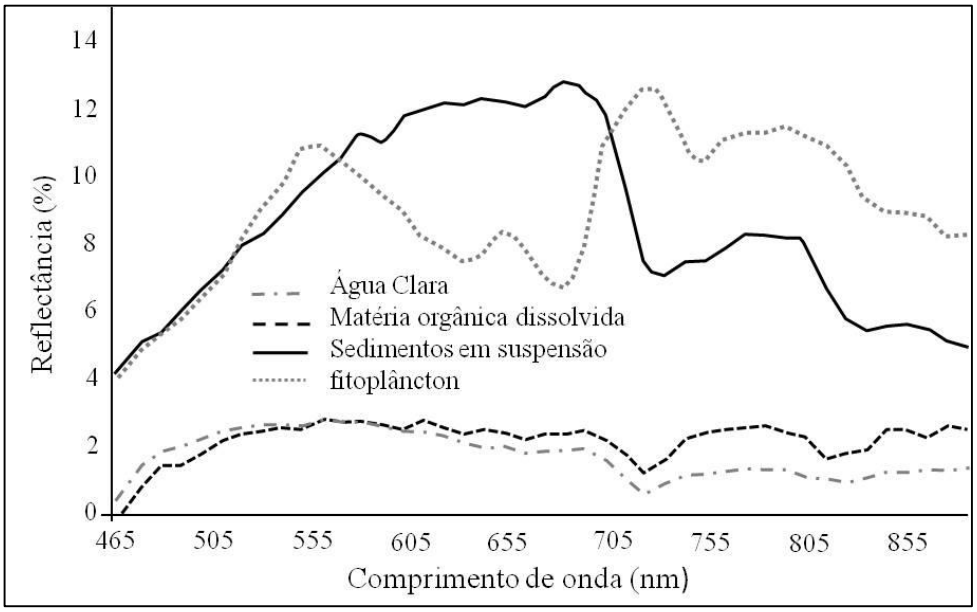



Figura 3 - Comportamento espectral da água pura e da água na presença do fitoplâncton, sedimentos em suspensão e matéria orgânica dissolvida. Fonte: Adaptado de Rudorff et al. (2006).

O material particulado inorgânico em suspensão ocorre devido à agricultura, desgaste do solo, erosão em regiões costeiras causadas por ondas naturais ou por barcos, intemperismo de rochas e erupções vulcânicas. Os sólidos em suspensão se concentram, principalmente, em corpos d'água continentais (rios, lagos, estuários, entre outros) e em regiões costeiras aos oceanos. Os sedimentos em suspensão são componentes que ocasionam, principalmente, o efeito de espalhamento da radiação na superfície dos corpos d'água. Quando a concentração de sólidos aumenta, a porcentagem de reflectância também aumenta ao longo de todo o espectro, proporcional ao grau de sólidos suspensos no corpo d'água (JENSEN, 2000).

Jensen (2000) relata que nos comprimentos de onda do visível entre 580 a 690 nm a resposta espectral pode fornecer informações sobre o tipo de sólidos em suspensão na superfície da água, enquanto que o infravermelho próximo (714 – 880 nm) pode ser usado para se determinar a quantidade de sólidos suspensos na superfície da água. Entretanto, essas relações podem não ser aplicadas universalmente, tendo em vista que, para cada tipo de sedimento em suspensão, devem ser investigadas as características espectrais de absorção e espalhamento da água e dos solos da área geográfica de interesse.

Com a presença de sedimentos em suspensão na água, o sinal do fitoplâncton pode ficar mascarado e, muitas vezes, as feições na curva espectral podem aparecer deslocadas (GITELSON, 1999).

A matéria orgânica dissolvida (CDOM) é formada durante o processo de decomposição de matéria orgânica por ação microbial, antes de se transformar em dióxido de carbono e formas inorgânicas de nitrogênio, enxofre e fósforo (KIRK, 1994). No ambiente aquático, a presença de CDOM tem a particularidade de provocar uma resposta espectral diferenciada, principalmente os primeiros comprimentos de onda. Estimativas de concentração de clorofila *a* podem ser afetadas pela presença de matéria orgânica dissolvida, pois ambas absorvem na mesma região do espectro, em aproximadamente 440nm (BUKATA et al., 1995).

Para os organismos fitoplanctônicos considera-se como feições diagnósticas de seus pigmentos: uma feição de absorção em 440 nm, em função da forte absorção da luz pelos pigmentos; pico de reflexão entre 565 a 570 nm, o mínimo de reflectância em torno de 630 nm, em decorrência da absorção provocada ficobiliproteínas (pigmentos acessórios); a absorção máxima em 685 nm e a reflexão máxima em torno de 700 nm, atribuída ao alto espalhamento e absorção mínima provocados pela presença de COAs (MOREL e PRIEUR, 1977; GITELSON, 1999; RUNDQUIST et al., 1996). As feições apresentadas são as feições mais comuns e decorrentes principalmente pela presença de clorofila *a*, porém, existem outros pigmentos fitoplanctônicos capazes de influenciar na resposta espectral com feições singulares que serão melhor explorados do item 3.2.2.

Apesar das COAs terem características espectrais bem definidas, a principal dificuldade do Sensoriamento Remoto em corpos d'água é a discriminação de componentes ópticos orgânicos e inorgânicos que se encontram no meio natural em uma mistura altamente complexa e que compõem a radiância volumétrica ($L_v$). Jensen (2000) mostra $L_v$ como uma função que considera a concentração de água pura (w), sólidos inorgânicos suspensos (SM), pigmentos fitoplanctônicos[1] (PF), material orgânico dissolvido (CDOM ou substâncias amareladas) e a quantidade total de absorção e espalhamento atenuado devido à presença destes constituintes (c (λ)) (Equação 5) (JENSEN, 2000).

$$L_v = f\,[w_{c(\lambda)}, SM_{c(\lambda)}, PF_{c(\lambda)}, CDOM_{c(\lambda)}], \qquad (5)$$

[1] Na fórmula original de Jensen (2000) o termo considera apenas clorofila *a* (Chl).

Para discriminação dos COAs expostos na Equação 5, a partir da radiância volumétrica de subsuperfície ($L_v$), bem como a extração de componentes indesejáveis que influenciam o sinal detectado, como a resposta de fundo e a atmosfera o ideal é a utilização de algoritmos fundamentados em métodos, selecionados de acordo com a finalidade da pesquisa (BUKATA et al., 1995; IOCCG, 2000).

Assim, esses algoritmos podem ter abordagens empírica, semi-analítica ou analítica. Nos modelos analíticos, os COAs são relacionados às POIs por meio das propriedades ópticas inerentes específicas (POIs*). As POIs da coluna d'água são então associadas às POAs e, posteriormente, à radiância no topo da atmosfera, conforme descrito pela teoria de transferência radiativa (GIARDINO et al., 2007; MOBLEY, 1994).

Os modelos semi-analíticos permitem recuperar os POIs e POAs baseados em modelos bio-ópticos que descrevem a relação entre os componentes da água e seus espectros de radiância e/ou reflectância. Essas relações são derivadas dos parâmetros de qualidade da água, do campo de luz subaquático e das medidas feitas por Sensoriamento Remoto. Também são utilizados modelos de transferência radiativa para simular a propagação da luz através da água e da atmosfera (IOCCG, 2000).

A modelagem semi-analítica possibilita gerar conjuntos de espectros simulados, acima da superfície da água ou no topo da atmosfera, para variadas concentrações de diferentes componentes da água e condições da atmosfera distintas (IOCCG, 2000). Tal informação é, então, utilizada para gerar modelos diretos ou inversos. Nos modelos diretos, os valores das propriedades ópticas inerentes e aparentes são utilizados para inferir o sinal registrado pelo sensor remoto. Nos modelos inversos, as concentrações dos constituintes opticamente ativos presentes na coluna d´água são inferidas a partir do sinal registrado pelo sensor (BARBOSA, 2005).

Embora seja muito utilizado, a modelagem semi-analítica é mais sensível a erros na correção atmosférica quando não se conhece todas as bandas espectrais necessárias para a adequada correção. Alguns algoritmos requerem intensos treinamentos e reparametrizações, usando medidas de POIs regionais específicas. Para águas continentais e litorâneas, ainda há efeitos adjacentes (espalhamento causado por alvos vizinhos), que podem constituir uma significativa fonte de erros em bandas do infravermelho próximo (MATTHEWS et al., 2010).

Outra concepção de modelagem é a abordagem empírica ou semi-empírica, que utiliza um conjunto de dados experimentais e técnicas de regressão estatística para gerar algoritmos empíricos que relacionam a reflectância ou radiância do corpo d'água em especificas

bandas com parâmetros da qualidade da água medidos *in situ* (MATTHEWS et al., 2010; ODERMATT et al., 2012).

A simplicidade dos métodos empíricos torna fácil a implementação, especialmente em casos em que dados em campo são regularmente coletados. Esses modelos envolvem relacionamentos por regressão que podem ser linear, exponencial ou polinomial, e já foram utilizados por diversos autores (GITELSON, 1999; DEKKER, 1993; YACOBI et al., 1995, KALLIO et al. 2001, MATTHEWS et al., 2010, VINCENT et al., 2004, PAN et al., 2013, SENGPIEL, 2007, DUAN et al., 2012). O grande número de estudos realizados com esse método comprova que algoritmos empíricos tem a capacidade de prover informações confiáveis mesmo em ambientes continentais e costeiros (MATTHEWS et al., 2011). Alguns dos autores têm proposto a transformação por logaritmo ou derivadas entre os constituintes da água e informações espectrais para obtenção de melhores resultados nos modelos (RUNDQUIST, 1996; SENGPIEL, 2007; KALLIO et al., 2001). Contudo, principal limitação é que a maioria dos algoritmos tem sua aplicação restrita às condições do conjunto de dados dos quais foram derivados, não sendo aplicados em todas as estações do ano ou regiões (MATTHEWS et al., 2010).

A seguir são apresentadas algumas características de pigmentos fotossintetizantes presentes em fitoplânctons, os quais possuem capacidade de interagir com a REM. Os processos de interação de absorção e espalhamento dentro do corpo d'água também abordados, inclusive sobre suas características fluorescentes.

### *3.2.1. Pigmentos fotossintetizantes presentes nos fitoplânctons*

A principal característica do fitoplâncton é a presença de pigmentos fotossintetizantes clorofilas, carotenoides e ficobiliproteínas (ou ficobilinas) (RICHARDSON, 1996; KIRK, 1994; WEAVER E WRIGLEY, 1994; JENSEN, 2000). A ampla variedade de pigmentos acessórios permite ao fitoplâncton ampliar as possibilidades de absorção da luz para a fotossíntese (SENGPIEL, 2007). A distribuição desses pigmentos entre alguns grupos de organismos está resumida na Tabela 3.

Tabela 3: Distribuição de pigmentos nos diferentes grupos de organismos que fazem fotossíntese.

| Grupo de algas | Clorofilas | Carotenoides além do β-caroteno | Ficobilinas | Cor predominante |
|---|---|---|---|---|
| Cyanophyta | a | Flavicina, Zeaxantina, Oxcilaxantina, Myxoxantofila | aloficocianina, ficocianina, ficoeritrina | verde-azul |
| Cryptophyceae | a,c | α-caroteno, e-caroteno | ficocianina e ficoeritrina | |
| Prochlorophyta | a,b | - | - | verde |
| Rhodophyta | a, d | α-caroteno | Aloficocianina, ficocianina, ficoeritrina | vermelha |
| Fucophyceae | a, c | Luteína | - | marrom |
| Bacillariophyceae | a, c | Fucoxantina | - | dourada |
| Dinophyta | a, c | Peridinina | - | marrom |
| Chlorophyta | a, b | Luteína, Sifonoxantina | - | verde |
| Euglenophyta | a, b | Sifonoxantina | - | verde |
| Plantas terrestres | a, b | - | - | verde |

Adaptado de Richardson, 1996; Londe, 2008; Wetzel, 2001.

As clorofilas e os carotenoides estão presentes em todas as espécies de algas. Os pigmentos clorofilados são divididos em grupos, diferenciados quimicamente, cujas denominações são clorofilas *a*, *b*, *c*, *d*, e *e,* sendo a clorofila *c*, dividida em várias subespécies. Todas as algas verdes contêm clorofila *a* e muitas contêm clorofila *b* e/ou *c e* raramente *d* (BUKATA et al., 1995; JENSEN, 2000; KIRK, 1994). A clorofila *b*, embora comum em plantas terrestres é somente encontrada em algas verdes e em grupos menores (WETZEL, 2001). A clorofila *e* foi encontrada em algas *Xantophyceae*, mas ainda é incerta a sua existência *in vivo*. A feofitina é um produto típico da degradação da clorofila *a* e também desempenha um papel na cadeia de transporte de elétrons na fotossíntese (WETZEL, 2001).

A clorofila *a*, por estar presente em todos os organismos fotossintetizantes e ser um dos principais responsáveis pela fotossíntese, têm sido utilizada para estimar a biomassa do fitoplâncton e inferir sobre a qualidade da água, e, consequentemente, na carga de nutrientes e nas condições gerais do ecossistema aquático. A relação da clorofila *a* com as propriedades químicas (ex: concentração de fósforo e nitrogênio) e ópticas (ex: transparência) têm auxiliado na caracterização dos níveis de trofia de um sistema e estimar a biomassa fitoplanctônica (TUNDISI e TUNDISI, 2008; PAN et al., 2013).

Os carotenoides são pigmentos geralmente dissolvidos em células gordurosas e apesar de suas funções não serem evidentes, supõe-se que sejam: (1) capazes de auxiliar na

coleta de luz para fotossíntese e (2) preventivos a destruição da clorofila pelo oxigênio na luz (ROWAN, 1989). Ainda que existam consideravelmente mais carotenoides do que clorofilas em águas naturais, o carotenoide dominante é o β-caroteno. Alguns carotenoides, tais como β-caroteno e Zeaxantina são amplamente distribuídos pelos grupos algais, enquanto outros, são encontrados em grupos individuais, por exemplo, a peridinina, somente ocorre em dinoflagelados e a fucoxantina está restrita às diatomáceas e crisófitas (RICHARDSON, 1996; WEAVER e WRIGLEY, 1994).

As ficobilinas ou ficobiliproteínas são classificadas pelos três principais pigmentos (Figura 4), dependendo da cor e das propriedades de absorbância: ficoeritrina (vermelho), ficocianina (azul brilhante) e aloficocianina (verde-azul). As ficobilinas, em sua maioria, são consideradas antenas de pigmentos coletores de luz, e apresentam elementos chamados de bilinas. Cada ficobilina apresenta diferentes propriedades espectrais, dependendo dos tipos de bilinas (LAKOWICZ, 2008; SILVA, 2008).

A ficocianina é predominantemente encontrada em águas doces, enquanto a ficoeritrina é um pigmento observado principalmente em ambientes marinhos (TURNER DESIGNS, 2004; WATRAS, BAKER, 1988).

Algumas classes algais, que não contêm ficobilinas, são altamente dependentes dos carotenoides para capturar luz. As cianobactérias e algas vermelhas possuem essa classe de pigmentos, ficobilinas, que funcionam como pigmentos acessórios (KIRK, 1994; ROWAN, 1989). Pode-se dizer que dentre as ficobilinas, a ficocianina é a mais abundante e importante, reportada pela primeira vez em 1928 por Lemberg (LAKOWICZ, 2008; SILVA, 2008).

Como a clorofila *a* é encontrada em todos os fitoplânctons, torna-se inviável sua utilização para determinar acuradamente à presença da cianobactérias. Em contrapartida a ficocianina está presente prioritariamente em cianobactérias, e assim é considerado um indicador útil para detecção, quantificação, e monitoramento dos níveis de cianobactérias (DUAN, 2012; TURNER DESIGNER, 2007). Segundo Randolph et al. (2008) a concentração de ficocianina revela-se eficaz para a determinação da abundância de cianobactérias, quando há grandes proporções de biomassa. A completa extração de ficobilinas é um dos passos cruciais para a identificação e quantificação desses pigmentos na cianobactéria. Sendo a ficocianina um produto intracelular, no qual em geral é necessário o rompimento da célula para a sua obtenção (SILVA, 2008).

As cianobactérias realizam a fotossíntese, similarmente às plantas superiores. Entretanto, em vez de cloroplastos, possuem uma estrutura membranosa chamada de tilacóides,

nos quais estão organizadas as ficobilinas (ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina). Essa estrutura é denominada ficobilissomos (Figura 4) (LAKOWICZ, 2008; SILVA, 2008).

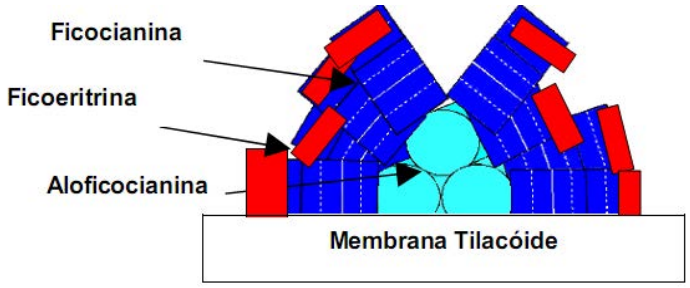



Figura 4 - Modelo estrutural hemisférico de ficobilissomos
FONTE: Adaptado de Schluchter, (1994) e Wetzel (2001)

### *3.2.2. Propriedades ópticas dos pigmentos fotossintetizantes*

A clorofila *a* é o principal pigmento fotossintetizante responsável pela absorção da REM, além de estar presente em todos os tipos de algas. Por esse motivo, o estudo de algas com o auxílio de técnicas de Sensoriamento Remoto teve início com tentativas de detecção de clorofila *a* (KIRK, 1994; BUKATA et al., 1995).

A partir disso, as pesquisas foram direcionadas para discriminação de pigmentos fotossintetizantes por meio do Sensoriamento Remoto, partindo da possibilidade de distinção de grupos fitoplanctônicos pela identificação dos pigmentos presentes em maior quantidade nos corpos d'água (LONDE, 2008; RICHARDSON, 1996). Inicialmente, para classificar os pigmentos foram definidas "bibliotecas espectrais" (conjunto de espectros de diferentes grupos de algas) para embasar teoricamente a etapa de identificação do fitoplâncton por satélite. Contudo, esse assunto foi pouco explorado em decorrência da alta diversidade de pigmentos existentes e da ocorrência de variações espectrais entre análises *in situ* e em laboratório (LONDE, 2008). Curvas de absorção já estudadas na literatura para alguns tipos de clorofilas são apresentadas, genericamente, na Figura 5.

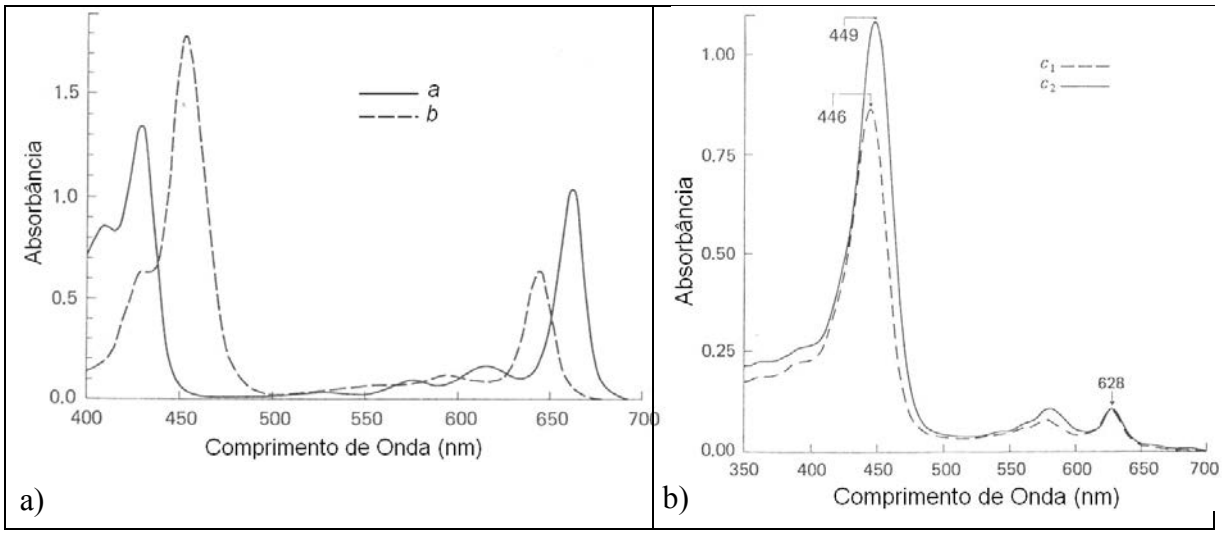



Figura 5- a) Absorção espectral das clorofilas *a* e *b*; b) Absorção espectral para clorofilas *c1* e *c2*. Fonte: (KIRK, 1994)

Analisando as curvas de absorbância para tipos de clorofila representadas na Figura 5, percebe-se que as clorofilas apresentam altos valores de absorbância em regiões específicas do espectro eletromagnético. Os picos de absorbância no azul das clorofilas *a* e *b* (Figura 5-a) diferem mais intensamente em suas posições espectrais, enquanto que para clorofilas $c_1$ e $c_2$ (Figura 5-b) a diferença torna-se mais sutil em torno de 3 a 8 nm. A clorofila *a* possui dois picos de absorção: um no azul (em 433 nm, chamado "Soret") e outro no vermelho (em 686 nm, chamado pico "alpha") (KIRK, 1994; RICHARDSON, 1996; LONDE, 2008). A clorofila *a* absorve fracamente entre 450 e 650 nm e a clorofila *b* tem o efeito de aumentar a absorção dentro desta janela, tanto para o lado dos comprimentos de onda mais longos quanto para os mais curtos (KIRK, 1994).

Algumas curvas de absorbância obtidas na literatura para carotenóides (a) e ficobilinas (b), são apresentadas na Figura 6.

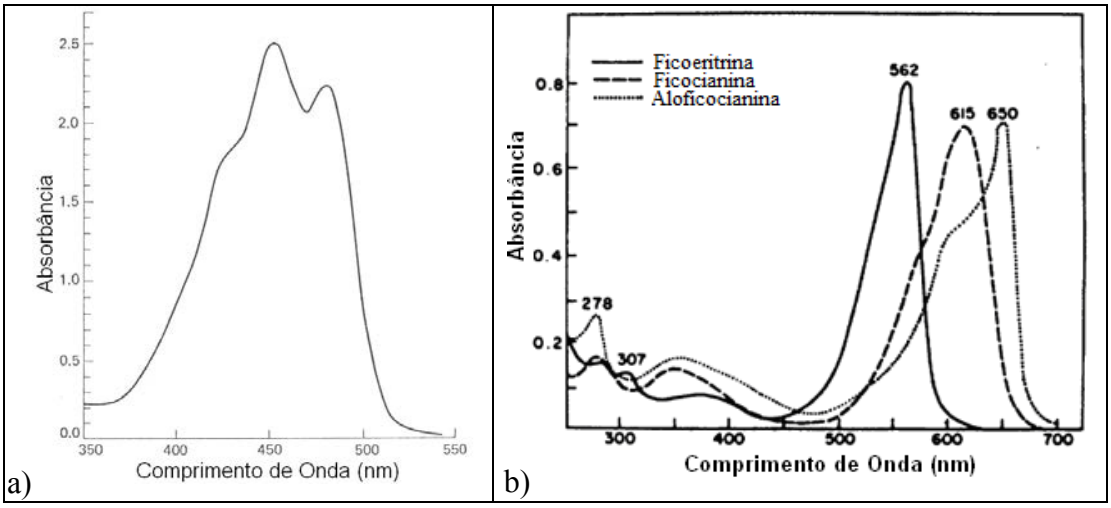



Figura 6 - a) Espectro de absorbância do β-caroteno; b): Espectros de absorbância de biliproteínas de cianobactérias do grupo de cianofíceas (Fonte: KIRK, 1994; WEAVER E WRIGLEY, 1994).

Na Figura 6-a, observa-se a curva de absorbância do carotenóide β-caroteno, que se caracteriza por possuir maior absorção entre a região do ultravioleta e azul, com um pico de absorção mais acentuado por volta de 450 nm. A absorbância máxima de todos os diferentes carotenóides (ultravioleta ao azul) cobrem a mesma área do espectro eletromagnético, mas as formas de cada feição são únicas (RICHARDSON, 1996; WEAVER e WRIGLEY, 1994).

Com relação às ficobiliproteínas ou ficobilinas, as curvas apresentadas na Figura 6-b foram obtidas a partir de cianobactérias e algas vermelhas, que possuem especificamente essa classe de pigmentos, responsável por distingui-las da maioria das algas. A subclasse de ficoeritrina é predominante em algas vermelhas, enquanto que a ficocianina em cianobactérias. A subclasse de aloficocianinas é menos abundante e não pode ser utilizada para distinguir nenhum tipo de fitoplâncton.

Pela Figura 6-b verifica-se que a absorbância máxima das ficobilinas fica entre 550 nm e 650 nm, normalmente com um único pico. Assim, as ficobilinas absorvem a luz na região do espectro eletromagnético entre as áreas de absorção dos carotenóides e clorofilas. Para os tipos de ficobilinas também é possível visualizar pequenas feições com formas e locais espectrais levemente diferentes na região espectral do ultravioleta.

A ficocianina possui a particularidade de absorver predominantemente na região espectral próxima a 615 nm, uma característica que tem possibilitado o desenvolvimento de estudos para a detecção de cianobactérias em corpos d'água (DEKKER, 1993; KUTSER et al., 2006; VICENT, 2004; WEAVER e WRIGLEY, 1994; RANDOLPH et al., 2008; RICHARDSON, 1996; DUAN et al. 2012; SUN et al., 2012). A Tabela 4 apresenta um resumo das principais feições observadas em curvas de absorbância dos pigmentos acessórios estudados nesse tópico.

Tabela 4 - Feições de absorção dos principais pigmentos acessórios

| Pigmento | Absorção (nm) | Tipo de Fitoplâncton |
|---|---|---|
| Clorofila *a* | 438, 676 | Todos os tipos |
| Clorofila *b* | 465, 645 | Prochlorophyta<br>Chlorophyta |
| Clorofila *c* | 449, 628 | Fucophyceae<br>Bacillariophyceae<br>Dinophyta |
| Hexa - Ficoxantina | 470 | cianobactérias |
| β-caroteno | 480, UV | Dinoflagelados, diatomáceas, crisófitas, cianomactérias |
| ficoeritrina | 562 | cianobactérias |
| ficocianina | 615 | cianobactérias |
| aloficocianina | 650 | cianobactérias |

Adaptado de Dekker (1993), Weaver e Wrigley (1994), Lobo (2009).

A Tabela 4 mostra que, no geral, os pigmentos fotossintetizantes utilizam a radiação da faixa do azul (400 a 500 nm) e do vermelho (600 a 700 nm) para o processo de absorção. Por isso apresentam maior absorção nessas faixas e maior reflexão na região espectral do verde (500 a 600 nm), tornando o aspecto da água rica em fitoplâncton na coloração verde (LOBO, 2009).

Quando as cianobactérias dominam o ambiente, a feição de absorção em 615 nm é facilmente identificada na curva de reflectância, como mostram os resultados de Ruiz-Verdú et al. (2008), representados na Figura 7-a. Isto ocorre de modo distinto em águas com dominância de outros grupos fitoplanctônicos, tais como as clorofitas e diatomáceas, que são predominantemente compostas pela classe de clorofilas. A Figura 7-b apresenta a resposta desses pigmentos em termos de absorbância.

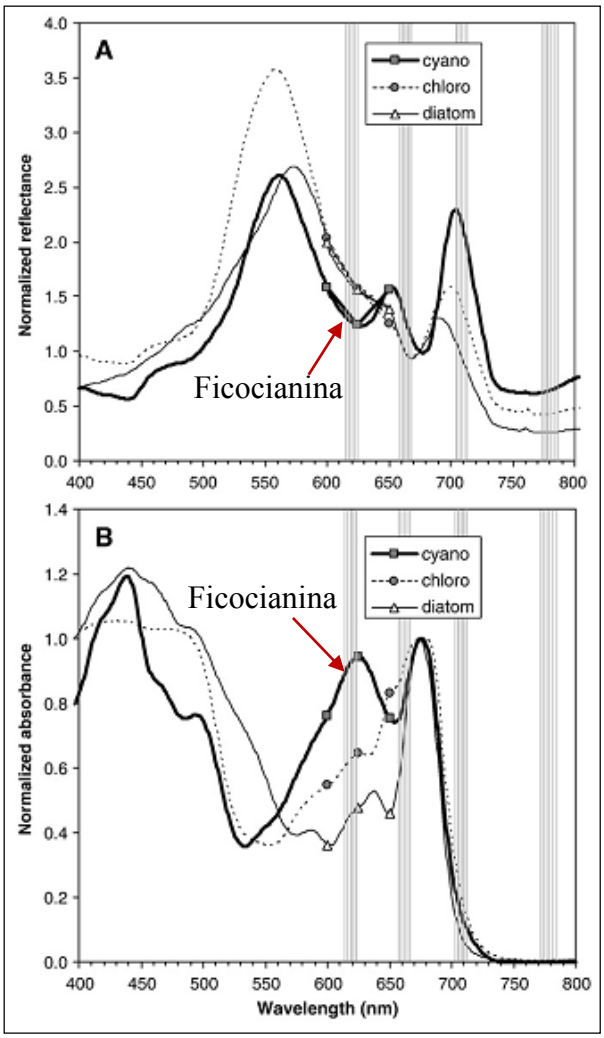
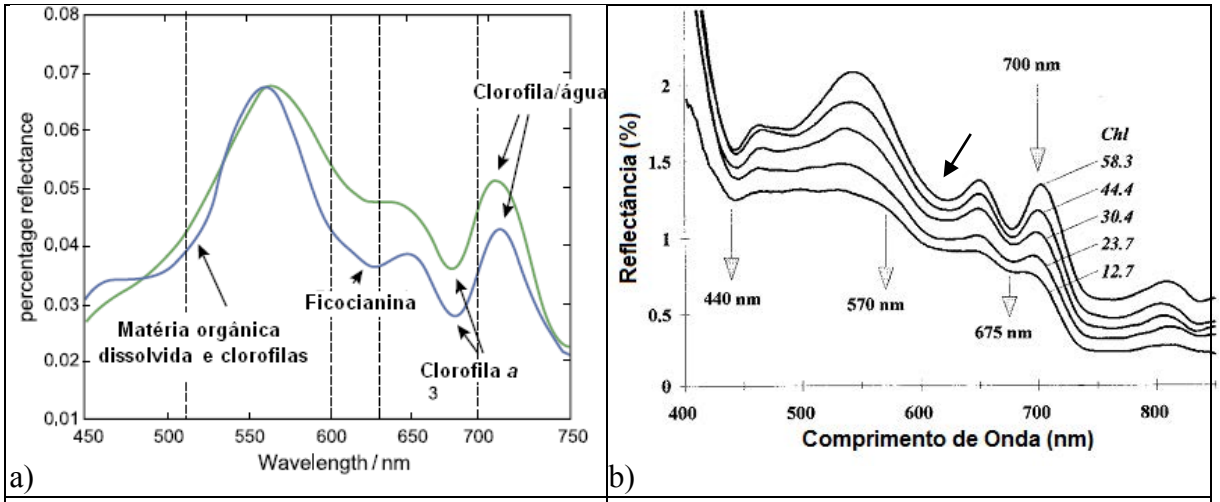



Figura 7 - (a) Curvas de reflectância e (b) absorbância de culturas com cianobactérias (cyano), clorofitas (chloro) e diatomáceas (diatom). Fonte: Ruiz-Verdú et al. (2008)

Com relação à feição característica da ficocianina, Vincent et al. (2004) apresentaram curvas espectrais da água contendo clorofila *a* (Figura 8-a: curva superior) e clorofila *a* e ficocianina (Figura 8-a: curva inferior). Gitelson et al. (1999) mostram o comportamento da feição de reflectância espectral característica da clorofila *a* (700 nm) com o aumento da concentração de algas do grupo de cianobactérias, no qual também foi diagnosticada a feição de absorção (em 615 nm) relacionada à ficocianina. A Figura 8-b, apresenta as curvas espectrais mencionadas.




| | |
|---|---|
| Curvas de reflectância de um lago contendo clorofila *a* (curva superior) e outro clorofila *a* e ficocianina (curva inferior)<br>Fonte: VINCENT et al., 2004 | Curvas de reflectância de Cyanophytas<br>Fonte: GITELSON et al., 1999 |

Figura 8 – Curvas espectrais mostrando características das feições de ficocianina e de clorofila *a*

Em relação à ficocianina, em todas as curvas de reflectância apresentadas como diagnósticas da presença de cianobactérias é evidente a presença de um pico de reflectância em 650 nm, que é apresentado na literatura como associado à resposta espectral da ficocianina (DEKKER, 1993; WEAVER E WRIGLEY, 1994; RUIZ-VERDÚ et al., 2008; MARION et al., 2012; SONG et al., 2012; LE et al., 2011, LONDE, 2008; METSAMAA et al. 2006). Segundo Schalles e Yacobi (2000), Dekker (1993) e Randolph (2007) o pico de reflectância em 650 nm é próprio da fluorescência da ficocianina e será melhor detalhado no item 3.2.3.

Ruiz-Verdú et al. (2008) utilizaram essa feição de reflexão em razões espectrais com 615 nm para estimativa de ficocianina. Dekker (1993) sugere, em sua pesquisa, estudos mais aprofundados para os comprimentos de onda em 615, 650 e 600 nm, associados à ocorrência do pigmento ficocianina.

Segundo Pan et al. (2013), existem algumas limitações na inferência da distribuição de cianobactérias pela ficocianina, utilizando dados de Sensoriamento Remoto. Primeiramente, a ficocianina não é necessariamente encontrada em todos os gêneros de cianobactérias, tais como nas proclorófitas, de modo que o valor exato da biomassa não pode ser definido apenas pela sua concentração. Além disso, a ficocianina não é encontrada em apenas cianobactérias, podendo ser identificados em outros micro-fitoplânctons, mesmo que pouco significativos quantitativamente. Importante ressaltar também que na revisão bibliográfica realizada por Matthews (2011), observou-se que a água, outros pigmentos fitoplanctônicos, o TSS e o CDOM podem ser significantes fontes de erro na feição de absorção em ≈615 nm.

Além disso, segundo Seppala et al. (2007), a falta de aplicações práticas de métodos analíticos para medição de concentração de ficobilinas dificulta sua interpretação por fluorescência.

Deve-se considerar também que, o comportamento espectral do fitoplâncton sofre influência não apenas dos pigmentos presentes, mas também de outros fatores, como a distribuição do fitoplâncton na coluna d'água, a densidade das células, a morfologia e fisiologia celular, o tamanho e estrutura do fitoplâncton e organização dos elementos (individual ou em colônias) (KUTSER et al., 2006; METSAMAA et al., 2006; SIMIS et al., 2005; CIOTTI et al., 2002; WETZEL, 2001; KIRK, 1994). Quanto maior o agrupamento em colônias de cianobactérias por volume d'água, maior o espalhamento múltiplo pelas células no Infravermelho próximo (IVP), visto que os fótons incidentes podem interagir com as células antes de interagir com a água nos primeiros centímetros da coluna de água (KIRK, 1994; LOBO, 2009). Segundo Ciotti et al. (2002) o tamanho das células dos fitoplânctons (pico, ultra, nano ou microplâncton), pode significar até 80% da variabilidade da absorção espectral entre 400 a 700 nm.

Kirk (1994) também enfatiza o efeito de empacotamento, no qual as moléculas dos pigmentos ficam no interior de "pacotes", ou seja, ou seja: dentro de cloroplastos, dentro de células ou dentro de células coloniais. Esta organização reduz a efetividade dos pigmentos em coletar luz no ambiente, havendo redução nos coeficientes de absorção.

Existe ainda a limitação provocada com aumento da presença do fitoplâncton. Em ambientes infestados há a diminuição de disponibilidade de luz e a migração do fitoplâncton à superfície em busca de condições ideais de luz, pois o aumento de densidade de células aumenta o sombreamento mútuo e também a disputa interna pela radiação disponível para a fotossíntese (KIRK, 1994).

### *3.2.3. Comportamento fluorescente de pigmentos fotossintetizantes*

Dentre os processos que ocorrem com a REM no corpo d'água, existem dois tipos de espalhamento provocados pelos pigmentos fotossintetizantes: o elástico e o inelástico. O espalhamento elástico afeta apenas a direção do fóton, enquanto que o espalhamento inelástico produz novos fótons em comprimentos de onda diferentes do fóton incidente, o que também aumenta o campo de luz de ressurgência (BUKATA, 2004; MOBLEY, 1994). Os processos inelásticos têm efeitos significativos no corpo d'água, dentre os quais, destaca-se o espalhamento inelástico por fluorescência (HUOT et al., 2007). Os pigmentos fotossintetizantes

são altamente fluorescentes o que torna a fluorescência útil em diversos estudos por meio do Sensoriamento Remoto (MOBLEY, 1994).

Assim, o monitoramento por fluorescência dos pigmentos contidos em organismos fotossintetizantes têm se mostrado uma técnica particularmente interessante pois a fluorescência é percebida externamente ao organismo e pode ser medida de forma não destrutiva, permitindo uma melhor estimativa da concentração dos pigmentos.

O fenômeno da fluorescência é regido pela estrutura e propriedades físico-químicas de uma molécula, quando ela absorve a radiação eletromagnética e define um comportamento específico quando retorna ao estado fundamental. Nesse retorno ao estado fundamental, podem acontecer três processos: perda de calor, transferência de energia para uma molécula adjacente, ou emissão de um fóton. Se essa emissão é de um estado singleto o processo é chamado de fluorescência e o grupo molecular que emite a radiação é chamado de fluoróforo (NAKAEMA E SANCHES, 1999).

Em outras palavras, quando um pigmento absorve um quantum de luz, um elétron é elevado de seu estado fundamental ($S_0$) para altos níveis ($S_1$, $S_2$,...), ao retornar ao estado fundamental, ou seja, de $S_1$ para $S_0$, ocorre à emissão de fluorescência. Esse espalhamento inelástico ocorre quando há captura de luz espalhada em energia diferente da luz monocromática que incide no objeto (HOLLER et al., 2009). A dispersão e direção desse espalhamento dependem do tamanho e estrutura da partícula e índice de refração (SEPPALA, 2009).

As moléculas fluorescentes geralmente possuem comprimentos de ondas específicos de maior absorção e fluorescência, de modo que estudos baseados na fluorescência utilizam o conhecimento do comprimento de onda ótimo de absorção de luz pela molécula e os comprimentos de onda das emissões posteriores. Esta singularidade do espectro de fluorescência para uma dada estrutura molecular torna possível sua identificação e composição, assim como a intensidade da radiação pode ser utilizada para quantificar sua concentração (GROSS, 1972). Muitas substâncias encontradas em águas naturais fluorescem, sendo que o elemento mais estudado é a clorofila *a*. Outros pigmentos fitoplanctônicos também têm comportamento fluorescente, assim como muitos dos compostos encontrados na matéria orgânica (MOBLEY et al., 2005).

A identificação de pigmentos fotossintetizantes por fluorescência se baseia na existência de aparatos fotossintéticos no fitoplâncton, que contém proteínas diretamente associadas à captura de fótons (pigmentos-antena) e dispõem de anéis de carbono que apresentam fluorescência. (SEPPALA, 2009). Ressalta-se, porém, que a quantidade de energia

reemitida por fluorescência é muito menor do que a inicialmente absorvida. A cada 100 fótons absorvidos pelo fitoplâncton, poucos são emitidos por fluorescência. Muitos deles são convertidos em calor, podendo ser transformados em energia consumida na fotossíntese. Isto dependerá das espécies fitoplanctônicas e do estado fisiológico, que é influenciado pela irradiância do ambiente, disponibilidade de nutrientes ou presença de poluentes (MOBLEY et al., 2005).

Especificamente para a clorofila *a*, a energia é absorvida em comprimentos de onda menores que 675 nm (453-440, 620-635 e 672-675 nm) e a reemissão ocorre por volta de 685 nm (SUGGETT et al., 2010; SEPPALA, 2009). Assim a fluorescência induzida por luz solar pode explicar as medidas espectrais ocorridas em 685 nm, em águas contendo fitoplâncton (MOBLEY et al., 2005). A Figura 9 apresenta o comportamento de absorção e fluorescência da clorofila *a* no corpo d'água. De acordo com essa figura, à absorção da luz pela molécula ocorre na região do azul, no qual o elétron passa para um alto estado de excitação ($S_2$), em seguida há perda de calor, reduzindo-o para um mais baixo estado de excitação ($S_1$). Ao retornar para o estado fundamental, ocorrem dois fenômenos: o de absorção da luz vermelha em 675 nm e de emissão por fluorescência em 685 nm.

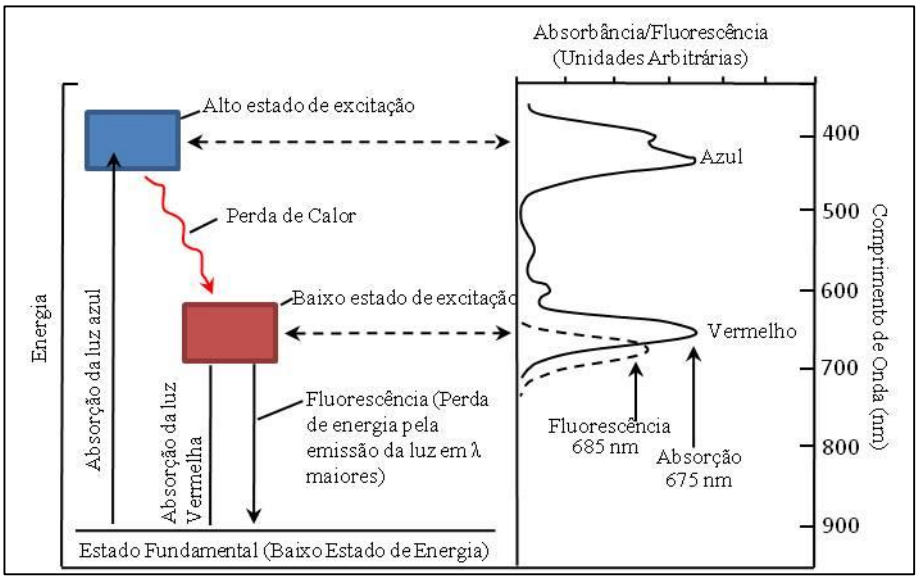



Figura 9 – Princípios básicos do fenômeno de excitação e emissão e as diferenças entre a excitação espectral (absorção) e emissão espectral (fluorescência) da luz absorvida por moléculas de pigmentos da clorofila *a*. Fonte: Adaptada de Papagiourgiou e Govindjee (2004) e Suggett et al. (2010)

A Figura 10 apresenta os espectros de absorção e emissão da clorofila *a*, bem como de outros tipos de clorofilas. Para facilitar o entendimento dessa figura deve-se ter ciência de que para registrar o espectro de absorção, é necessário variar o comprimento de onda de excitação, enquanto, o comprimento de onda de observação (ou emissão) é mantido constante.

Para registrar o espectro de emissão de um composto, irradia-se a amostra com um comprimento de onda de absorção fixo e mede-se a intensidade da luz reemitida, numa faixa espectral definida.

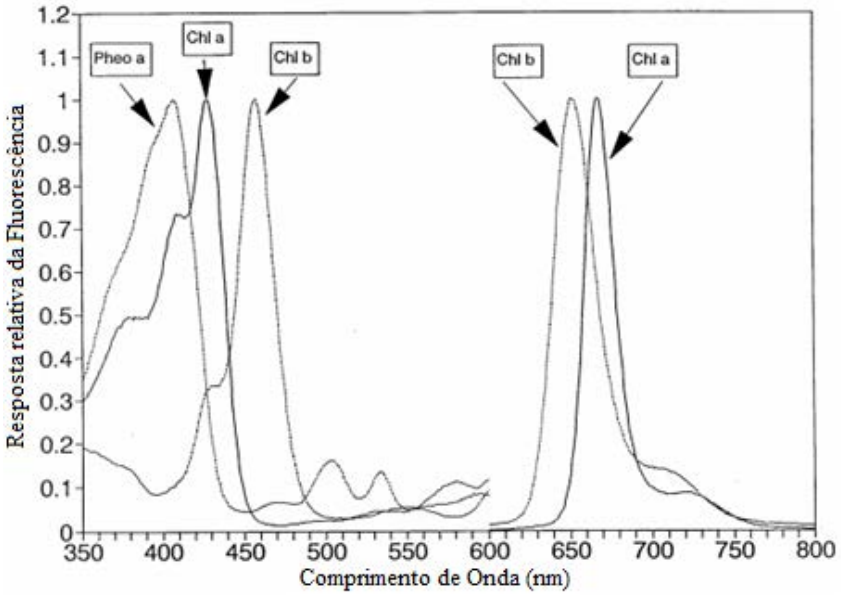



Figura 10 - Espectros de absorção (excitação) e emissão da Clorofila a (Chl a), Feofitina (Pheo a) e Clorofila b (Chl b). Fonte: Adaptado de Turner Designs (2004)

Todos os tipos de clorofilas e material degradado (feofitina) têm suas próprias regiões de excitação e emissão. Porém, seus espectros podem se sobrepor (Figura 10) com o espectro de clorofila *a*, devido a estrutura química similar das moléculas dos pigmentos. Essa sobreposição nos espectros pode resultar em uma interferência, proporcionando em uma super ou subestimação do pigmento em questão (TURNER DESIGNS, 2004).

As ficobilinas são altamente fluorescentes por conter proteínas de algas azuis, verdes e vermelhas, que absorvem energia em 470 nm a 660 nm, entre o intervalo de absorção do azul e vermelho, diferente da clorofila. Especificamente, as absorções máximas para ficocianina, ficoeritrina e aloficocianina estão entre 610-650 nm, 540-575 nm e 650-655 nm, respectivamente, conforme se mostra na Figura 11-a (SONI et al., 2006; LAKOWICZ, 2008; FRENCH et al.,1956).

As ficobilinas são consideradas antenas de pigmentos coletores de luz. Cada ficobilina apresenta diferentes propriedades espectrais e a literatura indica que a excitação e emissão para ficocianina (presente em cianobactérias como *Anabaena, Microcystis e Spirulina*) encontrada em água doce, ocorrem nas regiões espectrais de cerca de 630 nm e 660 nm, respectivamente (VINCENT, 1983; KATANO et al., 2004; STEWART, FARMER, 1984; WATRAS, BAKER, 1988; WATRAS, BAKER, 1987; LEE et al., 1994). Segundo Seppala et

al. (2007), para detecção de cianobactérias do tipo *Aphanizomenon sp*., os comprimentos máximos de excitação e emissão devem ser em 620 e 650 nm, respectivamente. Para outras duas espécies houve uma leve incompatibilidade dos comprimentos de onda de picos máximos de absorção e de emissão de fluorescência. Os equipamentos da Turner Designs (2004), por exemplo, fazem a indicação dos comprimentos de onda 600 nm e 640 nm para excitação e emissão, respectivamente. Seppala et al. (2007) afirma que o número e o tipo de diferentes ficobilinas presente em cada célula do fitoplâncton determina as propriedades espectrais e por isso as informações espectrais podem variar. A Figura 11 representa os espectros genéricos de absorção e fluorescência das ficobilinas.

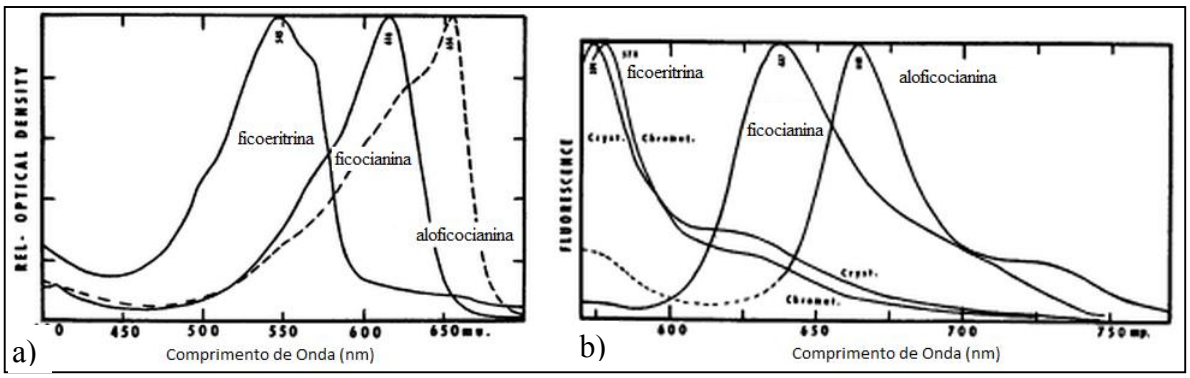



Figura 11 - Espectros de absorção (excitação) (a) e fluorescência (b) de ficobilinas
Fonte: French et al. (1956)

Especificamente para cianobactérias de água doce, a fluorescência da ficocianina é extremamente alta para a fluorescência *in vivo* (IVF), ou seja, com as células vivas (WATRAS, BAKER, 1988). Watras e Baker (1988) pesquisaram culturas isoladas de cianofíceas *Microcystis* e *Anaeba* (presença de ficocianina e clorofila *a*) e também de três fitoplânctons eucarióticos (com predominância de clorofila *a*), realizando testes de fluorescência com espectros de emissão ($E_m$) e excitação ($E_x$) em locais espectrais diagnósticos dos pigmentos ficocianina (Em=660 e Ex= 630) e clorofila (Em=680 e Ex= 440). Nas culturas de *Microcystis*, os autores verificaram um pico na curva de excitação em 627 nm, peculiar de ficocianina, independente do comprimento de onda configurado para a emissão ser próprio da clorofila *a* (680 nm) ou ficocianina (659 nm). Para a curva de emissão, observou-se um pico centrado em 659 nm (ficocianina), independentemente se a curva de emissão foi de ficocianina (660 nm) ou clorofila *a* (440nm). As curvas de fluorescência *in vivo* de colônias de *Microcystis* são apresentadas na Figura 12.

Já nas curvas de fluorescência apresentadas dos três fitoplânctons eucarióticos, com presença predominante de clorofilas, as respostas de maior excitação e emissão foram referentes às clorofilas. Esse estudo demonstrou que é possível discriminar cianobactérias de outros tipos

de fitoplâncton pela característica fluorescente específica da ficocianina. Como a *Microcystis* possui pouca clorofila *a* em sua composição, o que predominou nas curvas de fluorescência foi a informação da ficocianina.

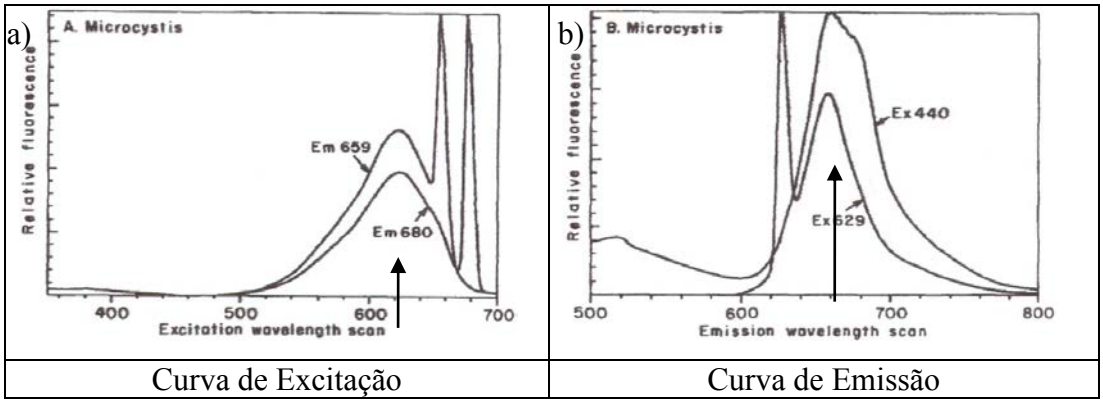



Figura 12 - (a) Curva de excitação com janela de emissão configurada para 680 nm (clorofila *a*) e 659 nm (ficocianina) (b) Curva de emissão com excitação em 440 nm (clorofila *a*) e 629 nm (ficocianina) para colônias de cianobactérias *Microcystis*.

Outro experimento feito pelos mesmos autores diz respeito à mistura de clorofila *a* com ficocianina, no qual se manteve constante a concentração de algas verdes e adicionou-se cianobactérias. A leitura fluorimétrica mostrou um valor constante de fluorescência da clorofila acompanhado por um aumento linear da fluorescência da ficocianina, quando do aumento da concentração de cianobactérias.

Muitos autores referem-se também à influência de outros parâmetros na resposta de absorção e fluorescência das ficobilinas. No manual da Turner Designs (2004) e em Seppala (2009) encontra-se menção de que a alta concentração de CDOM pode influenciar nas medidas efetuadas por fluorimetria. Condições iluminação, estresse de nutrientes, e composição das espécies fitoplanctônicas podem ser fatores limitantes para sua detecção (SEPPALA, 2009; KIEFER, 1973).

Chang et al. (2012) relatam que a presença de clorofila *a* e maior turbidez produzem falsas estimativas de cianobactérias. Uma característica adicional que pode afetar significativamente a detecção de clorofila *a* e ficocianina é o crescimento e a presença de cianobactérias na forma de colônias (CHANG et al., 2012). Gregor e Marsalek (2004) observaram que a fluorescência é adequada para utilização em massas de água com níveis mais baixos de clorofila *a*. No entanto, uma subestimação da concentração de clorofila *a* pode ocorrer se a concentração de fitoplâncton é alta, especialmente quando as espécies se encontram na forma de colônias.

Ainda existem indícios da influência da temperatura, pois cada grau de variação da temperatura da água implica em 1,4% de mudanças na fluorescência *in vivo* (IVF)

(LORENZEN, 1966; KIEFER, 1973). Kiefer (1973), em seu estudo sobre os parâmetros ecológicos que controlam a variabilidade da fluorescência do fitoplâncton, mostrou a existência do efeito de foto-inibição resultante da exposição do fitoplâncton à variação solar no período de um ciclo diurno.

### 3.3. Instrumentos para obtenção de medidas de ficocianina por meio da fluorescência e de suas propriedades espectrais

Considerando que o fitoplâncton presente no corpo d'água utiliza os fótons advindos do sol e do céu para iniciar complexos processos de absorção e espalhamento dentro do corpo d'água, o estudo da interação da REM com os seus pigmentos fotossintetizantes, inclusive utilizando suas características fluorescentes, passou a ser usado na tentativa de estimar sua concentração.

O método mais utilizado tem sido a identificação das espécies e o acompanhamento de suas densidades por meio de contagem, porém esse método tem se mostrado insuficiente, pois não permite o cálculo do biovolume fitoplanctônico, em decorrência da variação do tamanho e forma das células algais (RANDOLPH et al., 2008). Além disso, tal método não é capaz de fornecer subsídios ao monitoramento, em razão da extensa plasticidade fenotípica[2] de algumas espécies e devido sua característica intrapopulacional (CALIJURI et al., 2006).

Os métodos para a detecção de pigmentos fotossintetizantes utilizando técnicas de laboratório por espectrofotometria, fluorimetria, chemtax (*chemical taxonomy software*) e cromatografia líquida de alta precisão (HPLC- *High Performance Liquid Chromatography*) também podem ser considerados. O método espectrofotométrico é eficiente para estimativa da clorofila, e se fundamenta na absorção de luz em comprimentos de onda definidos. Esse método tem a desvantagem de não permitir a determinação de certos pigmentos acessórios, de requerer volumes relativamente grandes de amostras de água (principalmente em situações de baixa concentração de pigmentos) e necessitar de amostras altamente conservadas. O método HPLC, apesar de ser eficiente na determinação de pigmentos acessórios, ainda constitui uma modalidade extremamente onerosa pelo elevado tempo de análise e custos de instrumentação e manutenção (CALIJURI et al., 2006).

O chemtax (*chemical taxonomy software*) é um software que auxilia na determinação da contribuição dos principais grupos taxonômicos por meio de um processo interativo de fatorização matricial para otimizar a associação entre os diferentes pigmentos

[2] Plasticidade fenotípica: Mudança morfológica de um organismo, quando sujeito a distintos estímulos ambientais.

presentes e a composição dos grupos taxonômicos. Para garantir a alta qualidade de saída do software, é fundamental que os dados de entrada sejam de alta qualidade e que os parâmetros iniciais (isto é, grupos fitoplanctônicos) sejam realistas para a região de estudo (KOZLOWSKI, 2011).

A seguir apresenta-se o estado da arte sobre os instrumentos disponíveis para a obtenção de medidas de ficocianina por meio de suas propriedades de fluorescência e por espectrorradiometria.

- **Medidas de fluorescência da ficocianina**

Os estudos de ambientes aquáticos por meio da fluorescência têm utilizado da peculiaridade de singularidade do espectro de fluorescência para uma dada estrutura molecular, para auxiliar na identificação de substâncias (GROSS, 1972).

O sensor MODIS (*MODerate Resolution Imagin Spectrometer*), por exemplo, possui um produto que se fundamenta no algoritmo FLH (*fluorescence line height*) para discriminar a quantidade de radiação advinda dos oceanos resultante da fluorescência da clorofila *a*. O princípio é a construção de uma linha de base a partir do comprimento de onda próprio de emissão de clorofila *a* por fluorescência (683 nm). Após diversas correções para extrair a proporção de espalhamento elástico é possível estimar a quantidade de radiação associada à fluorescência da clorofila *a* e assim inferir em sua concentração (ABBOT e LETELIER, 1999).

Por outro lado, estudos recentes mencionam o sensor FLEX (*Fluorescence Explorer*), no qual o sinal de fluorescência é relacionado com a existência de clorofila na vegetação terrestre em escala global. A principal dificuldade dessas pesquisas é a extração do sinal de fluorescência a partir da radiância obtida pelo sensor (KRAFT et al., 2010).

Para os pigmentos fotossintetizantes pertencentes ao grupo das ficobilinas, a fluorescência da ficoeritrina foi observada em dados radiométricos obtidos por Curver (1996) e também por Sensoriamento Remoto ativo, a partir de dados LIDAR (*light detecting and ranging system*) (HOGE E SWIFT, 1986). Para ficocianina, autores mencionam a utilização da feição de fluorescência em 650 nm em curvas de reflectância espectral, porém sem a menção de tratamentos para a distinção do espalhamento elástico do inelástico (DEKKER, 1993; RANDOLPH, 2007).

Apesar dos avanços, as pesquisas ainda são incipientes ao se considerar a utilização remota da fluorescência para obtenção de informação de pigmentos fitoplanctônicos. Muito

embora, já existam equipamentos sofisticados que permitem a extração da informação do alvo de interesse com alta precisão e acurácia, tanto em campo como em laboratório.

Na prática, os equipamentos de campo e de laboratório para detecção fluorimétrica se baseiam no princípio da ótica de duplo feixe, no qual um feixe superior passa inicialmente por um monocromador para selecionar o comprimento de onda de excitação. Posteriormente, pela amostra ou no ambiente natural e, em seguida, passa por um segundo monocromador para isolar e analisar a emissão fluorescente proveniente da amostra em um determinado comprimento de onda, para, finalmente, passar por um fototransdutor, no qual a radiação isolada é convertida em um sinal elétrico de medida. O feixe inferior de referência é utilizado para produzir um espectro resultante para um único comprimento de onda, o que cancela o efeito das flutuações da intensidade da fonte (HOLLER et al., 2009). A Figura 13 mostra o esquema de funcionamento do fluorômetro.

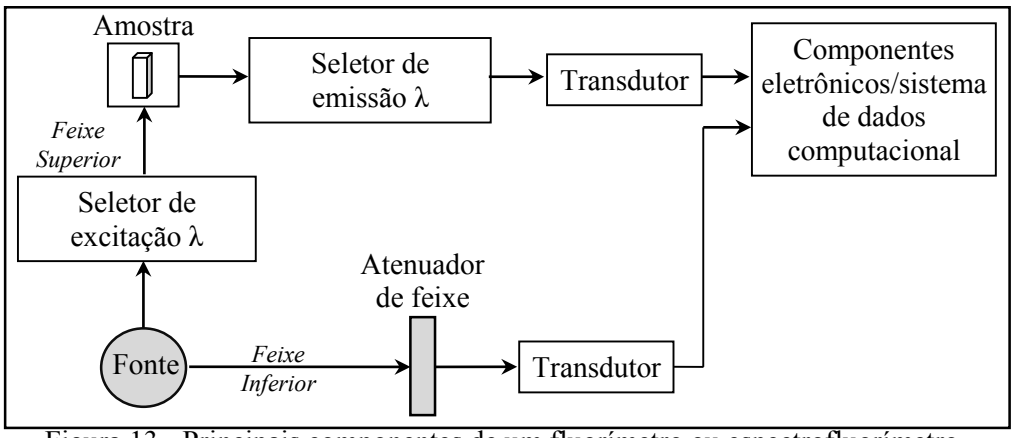



Figura 13 - Principais componentes de um fluorímetro ou espectrofluorímetro
Fonte: Holler et al. (2009)

Para registrar o espectro de emissão ($E_m$) de um composto, irradia-se a amostra com um comprimento de onda de excitação fixo e mede-se a intensidade da luz reemitida, em uma faixa espectral definida. Para registrar o espectro de excitação ($E_x$), faz-se variar o comprimento de onda de excitação, enquanto o comprimento de onda de observação (ou emissão) é mantido constante. O comprimento de onda de observação ideal é aquele que corresponde à posição do máximo do espectro de emissão do composto considerado. (HOLLER et al., 2009).

Para a qualificação e quantificação do pigmento fotossintetizante ficocianina a fluorimetria vem sendo avaliada e testada por diversos autores. Vicent et al. (2004) utilizaram a metodologia proposta por Watras e Baker (1988) para estimativa de ficocianina. Seppala et al. (2007) utilizaram dados de fluorescência para identificar gêneros de cianobactérias, a partir da detecção da ficocianina. Randolph et al. (2008), Simis et al. (2005) e Song et al. (2013)

utilizaram dados fluorimétricos de laboratório para quantificar ficocianina e validar seus modelos gerados a partir de dados espectrorradiométricos. Brient et al. (2008) avaliaram o desempenho de uma sonda submergível para medir a fluorescência específica da ficocianina, para a estimativa da biomassa de cianobactérias, com o objetivo de a sua aplicação para a gestão e monitoramento.

Segundo Brient et al. (2008) e Song et al. (2013) as medições em campo com sondas submergíveis podem fornecer informações quantitativas de cianobactérias de forma estática ou em fluxo contínuo, possibilitando a obtenção de informações antecipadas para a emissão de alertas sobre florações de cianobactérias. Atualmente o monitoramento é realizado mediante análise da concentração de ficocianina por amostragem em campo e contagem de células.

As principais vantagens da utilização da fluorescência para estudo de pigmentos fotossintetizantes é sua alta sensibilidade na detecção dos pigmentos em níveis naturais *in vivo*, sem a utilização de métodos de extração. Essa característica permite a obtenção das medidas com poucas alterações no ambiente natural, eliminando o problema de deterioração das amostras. Além disso, o poder de detecção por fluorescência é três vezes superior que a espectrometria de absorção, podendo ser utilizada quando as concentrações são baixas ou a sua amplitude de variação é reduzida. No mais, o método é realizado em campo e possibilita coletar um grande número de elementos amostrais, bem como a obtenção de dados em fluxo contínuo (TURNER DESINERS, 2004).

- **Medidas espectrorradiométricas da ficocianina**

Para a extração de informações sobre pigmentos fotossinteticamente ativos por meio de suas propriedades espectrais utilizam-se dispositivos capazes de detectar e registrar a radiação eletromagnética (REM) proveniente do ambiente aquático, gerando produtos passíveis de interpretação, seja na forma de imagem, gráfico ou numérica (MOREIRA, 2005).

Os sensores não imageadores, tais como espectrorradiômetros, fornecem medidas pontuais que integram a energia no tempo, no espaço e em comprimento de onda, para produzir uma curva espectral que caracteriza a potência eletromagnética emitida, refletida ou transmitida pelo alvo. O sistema de dispersão utilizado pelo espectrorradiômetro decompõe a radiação incidente em diferentes comprimentos de onda, de tal forma que se possa medir a resposta do alvo quase que de maneira contínua ao longo do espectro eletromagnético (NOVO, 1992).

Sensores imageadores são equipamentos que fornecem como resultado final uma imagem da área (cena) do terreno (SCHOWENGERDT, 2006). As características dos sistemas

imageadores, em geral, são definidas por quatro domínios de resolução: espectral, espacial, temporal e radiométrica, descritos em Mustard e Sunshine (1999). Com o avanço desses sistemas sensores e da computação, surgiram novas possibilidades de manipulação no domínio espectral por meio de imagens de Sensoriamento Remoto, inclusive com sensores de altíssima resolução espectral, que produzem para cada pixel (elemento de resolução espacial), medidas radiométricas em bandas estreitas e contínuas, com um detalhamento espectral mais próximo daquele verificado em espectrorradiômetros de campo ou de laboratório (CLARK, 1999).

Os dados de Sensoriamento Remoto imageadores são relevantes para o estudo dos sistemas aquáticos, pois permitem a aquisição de dados sinópticos sobre grandes áreas fornecendo uma visão do sistema aquático integrado a sua bacia de drenagem. Além dessa visão sinóptica, tais dados também podem ser adquiridos em diferentes épocas do ano, permitindo não apenas uma integração espacial das conexões entre o uso da terra e funcionamento do sistema aquático, mas também análises de transformações a que está sujeito como resultado de mudanças nas funções de força hidrológica, climáticas e econômicas (NOVO et al., 2007). Porém, para a extração de informações, o Sensoriamento Remoto na água pode ser particularmente complexo, pelo fato dos corpos d'água serem diferentes em termos de escala, ecologia, química da água e uso da terra na zona de contribuição da bacia hidrográfica. Assim, cada ambiente aquático apresenta desafios individuais que precisam ser corretamente modelados para o correto uso de dados de satélites (TEBBS et al., 2013).

Um dos fatores limitantes do Sensoriamento Remoto, seja orbital ou aerotransportado, é que a radiação solar deve passar através da atmosfera antes de ser coletada pelo sensor. Por isso, imagens adquiridas remotamente incluem informações sobre a atmosfera e da superfície da terra. Para os interessados em análises quantitativas da reflectância de superfície, a remoção da influência da atmosfera é um passo de pré-processamento crítico (ITT, 2009).

A detecção remota de pigmentos fotossinteticamente ativos teve início em ambientes aquáticos oceânicos, nos quais ainda é predominante. Um grupo de algas, que teve seus pigmentos estudados utilizando imagens do satélite CZCS (*Coastal Zone Color Scanner*) foi o dos dinoflagelados, responsáveis pelas marés vermelhas e marrons. Sua cor é causada por carotenóides específicos, tais como, a fucoxantina e há dominância de clorofila c3 (WEAVER e WRIGLEY, 1994).

Nos primeiros estudos direcionados para detecção de ficocianina, tais como o de Jupp et al. (1994), os valores de ficocianina foram estimados pela presença de cianobactérias, mas sem a quantificação da concentração do pigmento. A primeira tentativa de quantificar a

ficocianina a partir da reflectância espectral foi baseada em métodos semi-empíricos desenvolvido por Dekker (1993) e por razão de bandas de Schalles e Yacobi (2000). As conclusões desses estudos mencionam que a eficiência na discriminação de pigmentos fitoplanctônicos depende da concentração desses pigmentos na água, e, consequentemente, da densidade dos organismos, bem como da resolução espectral e espacial do sensor utilizado para detecção.

Vicent et. al (2004), por exemplo, avaliou dados do sensor TM/Landsat para detecção de ficocianina, no qual a partir de regressão linear múltipla de razão de bandas foi possível estabelecer correlações com ficocianina ($r^2 = 0.78$). A baixa resolução espectral desses dados possibilitou apenas mapear satisfatoriamente florações de cianobactérias no lago Erie, que se caracteriza pela alta concentração de organismos fitoplanctônicos. O principal problema identificado pelos autores é a lacuna existente entre as bandas do verde e vermelho (TM2 e TM3) do Landsat, onde se localiza a região favorável para a detecção de ficocianina em 620 nm (Figura 8-a).

Vicent et. al (2004) cita outros satélites que poderiam cobrir esta lacuna (CZCS, AOCI (*Airborne Ocean Color Imager*) e SeaWiFS (*Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor*)) mas diz que, por outro lado, o sensor TM apresenta como vantagem a resolução espacial de 28,5m, que é ideal para águas interiores e zonas costeiras, que são difíceis de serem pesquisadas utilizando uma resolução espacial de 1 km dos sensores CZCS e do SeaWiFS.

Simis et al. (2007) e Ruiz-Verdú et al. (2008) realizaram estudos determinísticos com a utilização do sensor multiespectral de média resolução MERIS (*MEdium Resolution Imaging Spectrometer*), que apresentam bandas espectrais em regiões mais específicas para detecção de pigmentos fotossintetizantes. Os resultados mostraram-se relevantes e animadores para continuidade de pesquisas nessa área.

Randolph et al. (2008), Duan et al. (2012) e Song et al. (2013) propuseram detectar ficocianina utilizando dados hiperespectrais. Os resultados foram otimistas, porém tais pesquisas se limitaram a medidas com espectrorradiômetro de campo, o que impossibilitou a obtenção do comportamento espacial da ficocianina. Já o trabalho realizado por Sengpiel (2007) foi realizado com dados hiperespectrais orbitais para predição de ficocianina e clorofila *a*. Os resultados mostraram que os dados do sensor AISA (*Airborne Imaging Spectrometer*) são capazes de estimar a presença de ficocianina e clorofila *a*, contudo seria necessário um melhor refinamento dos dados com uma correção atmosférica. Além disso, foi recomendada a utilização de outros instrumentos sensores com melhor relação sinal/ruído. Ainda, Sengpiel (2007) também sugere a realização de estudos avaliando a variação temporal, para compreensão

da variação espacial e temporal dos fenômenos. Nesse estudo, observou-se também que a resolução espacial utilizada, de 1 km, que é inadequada para pequenos e médios corpos d'água. Matthews (2011) relata que sensores com alta resolução espacial, baixa relação sinal/ruído e amplas bandas espectrais não são capazes de detectar ficocianina.

Metsamaa et al. (2006) realizaram análises com um modelo bio-óptico associado as propriedades ópticas de cianobactérias com resoluções espectrais diferenciadas. Segundo os autores, para águas do tipo II[3], as feições de reflexão e absorção de ficocianina se tornam detectáveis nos espectros de reflectância quando: a concentração de clorofila *a* é superior a 8 μg/L e a resolução espectral do sensor seja melhor que 10 nm, com razão sinal ruído melhor que 1000:1. Isso aponta para a dificuldade de distinguir florescimentos de cianobactérias em estágios iniciais, pois os espectros de reflectância da águas dominadas por cianobactérias seriam similares aos de águas dominadas por outros organismos fitoplanctônicos (LONDE, 2008).

Sobre os métodos utilizados para estimativa de ficocianina, Simis et al. (2005) propuseram a utilização de algoritmos semi-analíticos baseados em modelos bio-ópticos e propriedades ópticas inerentes. Esses métodos também foram validados por Randolph et al. (2008) e Ruiz-Verdú et al. (2008) para diferentes reservatórios, juntamente com os algoritmos existentes até 2008, no qual foram avaliados aspectos positivos e negativos, tais como facilidade no uso, disponibilidade de bandas espectrais e outras tendências tecnológicas. Hunter et al. (2008) trabalharam com índices de duas bandas; Le et al., 2011 com índices de quatro bandas, e Vicent et al. (2004) utilizaram outras combinações espectrais. Contudo uma importante fonte de erro na estimativa é a presença de outros pigmentos acessórios, como clorofilas *b*, *c1* e *c2*. A ocorrência de sedimentos em suspensão é outro fator limitante, especialmente em águas do tipo II (LE et al., 2011). Mishra et al. (2009) sugeriram a aplicação da informação espectral de 600 nm em um algoritmo de razão de bandas simples com a feição de absorção da ficocianina em 620 nm, em decorrência da influência da absorção da luz pela clorofila *a* ser menor em 600 nm do que em 620 nm. Contudo os pesquisadores alertam que esta região espectral pode sofrer interferências pela absorção do CDOM e ainda haver incerteza na estimativa em condições de alta turbidez.

Mishra et al. (2013b) desenvolveram um algoritmo semi-analítico para obtenção do coeficiente de absorção do fitoplâncton $a\phi(\lambda)$. Este estudo se baseou em um aprimoramento do modelo proposto por Lee et al. (2002), que faz a estimativa do coeficiente de absorção total

[3]Definição de Morel e Prieur (1977) para águas com altas as concentrações de partículas orgânicas e inorgânicas, comum em corpos d'água interiores e costeiros.

$a_t(\lambda)$. Mais recentemente Mishra et al. (2013a) desenvolveram outro algoritmo semi-analítico para estimar a concentração de cianobactérias em ambientes de alta turbidez, a partir da decomposição do $a\phi(\lambda)$, para obtenção do coeficiente de absorção da ficocianina. Contudo, destaca-se que a área de estudo dos trabalhos apresentaram medidas de clorofila *a* superiores a 1000 µg/L. Nas conclusões, os autores relatam que o modelo de estimativa de ficocianina tem baixa performance para concentrações menores que 150 µg/L.

Segundo Li et al. (2012), esses métodos não possuem resultados satisfatórios para predição de ficocianina em amostras d'água com concentração inferior a 50 µg/L. Além disso, esses algoritmos preveem a realização de otimizações para cada região no qual são aplicados.

Li et al. (2012) também propuseram uma aplicação semi-analítica combinando três índices de bandas e um algoritmo de linha de base (TBBA) para estimativa de concentração de ficocianina em três reservatórios na Índia. O método mostrou-se menos sensível à presença de CDOM e ao espalhamento de outros pigmentos na coluna d'água. A fim de otimizar os fatores de correção, é necessário medir as propriedades ópticas inerentes e aparentes dos constituintes da água e testar outros modelos empíricos, semi-analíticos e analíticos (LE et al., 2011; HUNTER et al., 2008).

Além do mais, para a maioria dos casos apresentados, a concentração de ficocianina, utilizada para a geração de modelos, foi estimada a partir de métodos limnológicos tradicionais de laboratório. Esses métodos são susceptíveis a erros de diversas fontes, que vão desde a fragilidade da conservação das amostras, até mesmo ao processo moroso de contagem manual dos elementos algais. No mais, a validação dos dados de Sensoriamento Remoto em todos os casos foi complicada em decorrência da diferença temporal entre as observações do satélite e coleta das amostras em campo (METSAMA, 2009).

# 4. DESENVOLVIMENTO GERAL DA PESQUISA

Nesse capítulo é apresentada uma breve descrição da área de estudos, os materiais utilizados no desenvolvimento da pesquisa e o método adotado. Posteriormente, no capitulo 5 são detalhados os processamentos aplicados e as ferramentas de análise utilizadas.

## 4.1. Caracterização do ambiente aquático em estudo

A área de estudos foi definida com base em critérios de localização do recurso hídrico e logística apropriada para realização de campanhas de campo, bem como o conhecimento prévio de atividade fitoplanctônica. Dentre os locais avaliados, aquele que atendeu adequadamente aos critérios colocados anteriormente foi uma área teste inserida no reservatório de Nova Avanhandava.

A área de estudo localiza-se no médio curso do Rio Tiête no município de Buritama-SP. A UHE de Nova Avanhandava entrou em operação em 1982, com área de cobertura do lago de 210 km², vazão média anual de 688m³/s e profundidade média de 13 m (AES TIETÊ, 2011). O tempo de residência da água varia de 32 a 119 dias e recebe a contribuição de quatro tributários principais: Rio dos Patos, ribeirão dos Ferreiros, ribeirão Bonito e ribeirão Lageado (CESP, 1998). A Figura 14 apresenta a localização do reservatório no contexto do território brasileiro e a configuração do reservatório em composição colorida RapidEye das bandas 3,2,1 associadas às cores vermelho, verde e azul, respectivamente.

Os reservatórios do médio e baixo curso do Rio Tietê se encontram em um sistema tipo cascata, com várias represas subsequentes, formando um conjunto que recebe e acumula materiais orgânicos e inorgânicos provenientes dos sistemas adjacentes. A bacia do Baixo Tietê foi intensamente desmatada a partir da década de 1930, provocando fortes processos erosivos, resultando em intensa degradação do solo e assoreamento dos corpos d'água. Em relação ao uso dos recursos hídricos, a Unidade de Gerenciamento do Recursos hídricos (UGRHI) 19 (Baixo Tietê) se encontra em estado crítico, pois a demanda por água superficial, para os diversos fins supera 46% da vazão mínima disponível (REPEA, 2005).

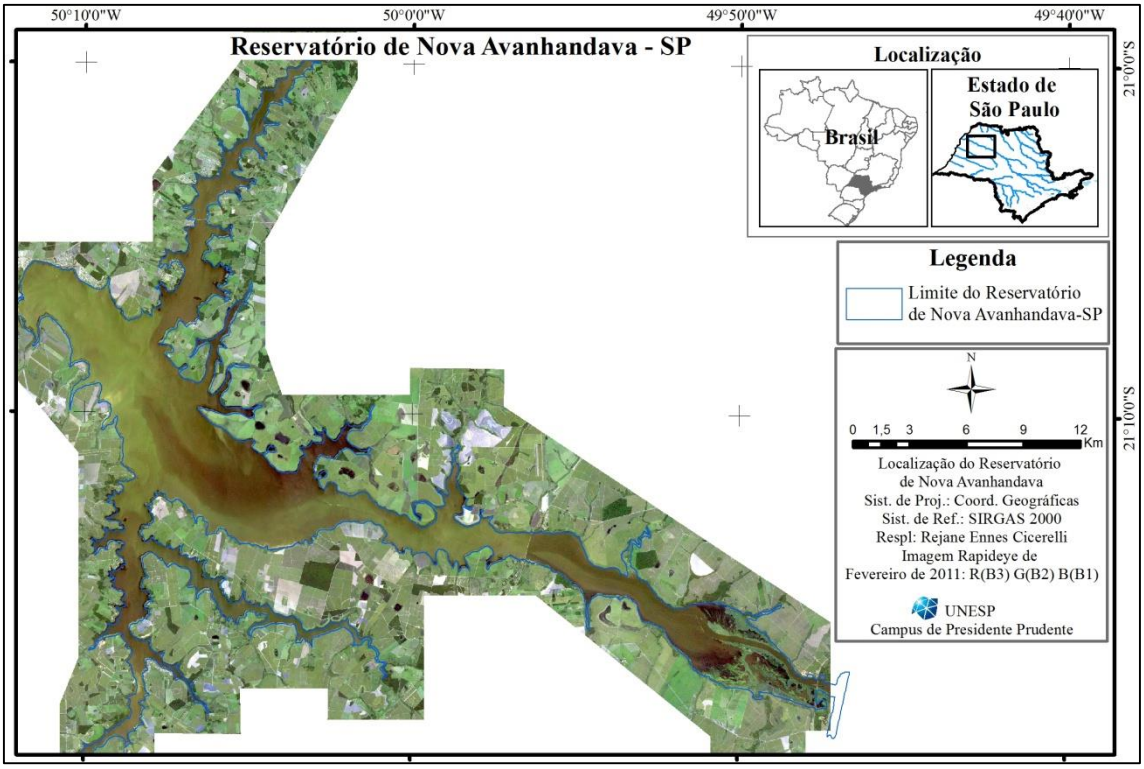



Figura 14 - Ilustração do Reservatório de Nova avanhandava, Baixo Rio Tiête/SP (Imagem: RapidEye - Composição colorida: 3R2G1B com corpo d'água delimitado por limite vetorial em azul

A bacia, atualmente, tem papel social e econômico expressivo em função da localização no centro de um importante sistema agrícola e industrial do país. Entretanto, o cultivo extensivo, a disposição de detritos urbanos, a carga orgânica industrial, devido, principalmente, ao setor sucroalcooleiro têm causado, nas últimas décadas, aumento no transporte de nitrogênio e fósforo do meio ambiente terrestre para o aquático, gerando uma série de impactos ambientais (TUNDISI e TUNDISI, 2008; RODGHER et al., 2002; SENDACZ et al.; 2006, REPEA, 2005).

Segundo dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), coletados da estação meteorológica de Catanduva, distante 120 km do reservatório de Nova Avanhandava, nos últimos três anos, o clima próximo ao reservatório foi tropical chuvoso com inverno seco e mês mais frio com temperatura média de 23ºC. O mês mais seco tem precipitação inferior a 50 mm, com período chuvoso iniciando em outubro. A Figura 15 apresenta gráficos mensais com dados de precipitação, velocidade do vento e temperatura do ar do ano de 2009 até 2013.

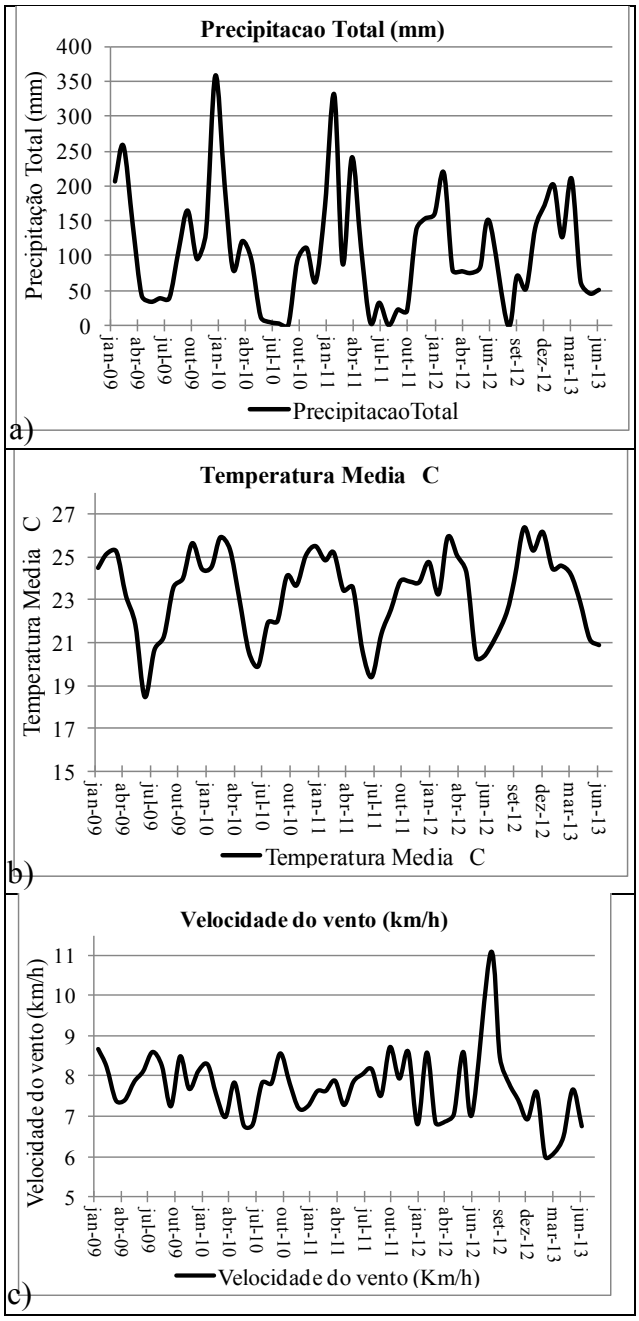



Figura 15 - Dados meteorológicos da estação meteorológica de Catanduva de 2009 até 2013; a) Precipitação mensal (mm); b) Temperatura média mensal (°C); c) Velocidade dos ventos (km/h).

## 4.2.Materiais

- **<u>Fluorômetro Turner 10-AU</u>**

O Fluorômetro da Turner Designs, modelo 10-AU-005-CE foi utilizado para a detecção de fluorescência *in vivo* (IVF) da clorofila *a*. Esse equipamento foi disponibilizado pela Faculdade de Ciências Agronômicas da Unesp/Campus de Botucatu-SP. Seu

funcionamento se fundamenta em medidas diretas de fluorescência de clorofila *a* e pigmentos fitoplanctônicos em células algais vivas (TURNER DESIGNS, 2004).

O fluorômetro 10-AU tem o comprimento de onda selecionado para excitação da clorofila *a* na região do azul. Para capturar a emissão de fluorescência esse instrumento possui o filtro localizado na região do vermelho. A radiação emitida por fluorescência é convertida em um sinal elétrico para sua quantificação (TURNER DESIGNS, 2004). A IVF fornece um valor "relativo" de concentração de pigmentos, por isso é necessário uma calibração do equipamento para determinação de valores absolutos de clorofila *a*, quando se trabalha com concentração de pigmentos fitoplanctônicos. A Figura 16 apresenta um esquema da configuração típica de um fluorômetro para detecção de clorofila *a*.

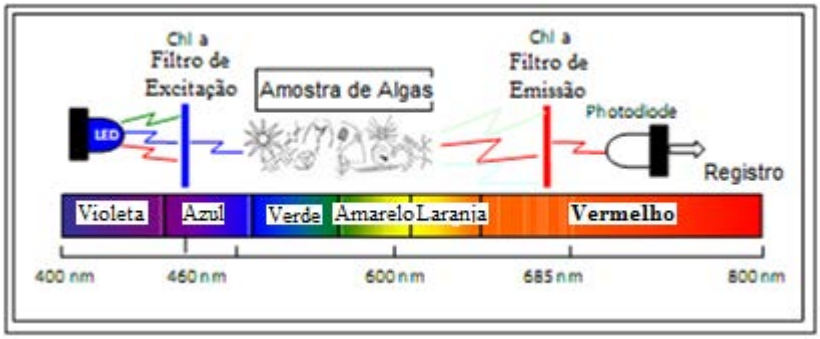



Figura 16 - Configuração do fluorômetro para a detecção de clorofila a.
FONTE: Adaptado de Turner Designs, 2004.

Conforme mostra a Figura 16, a excitação da amostra de água ocorre na região espectral de aproximadamente 440 nm e a emissão em 680 nm, posteriormente o equipamento registra a medida efetuada.

Nesta pesquisa, o equipamento foi configurado para obtenção de dados em modo de fluxo contínuo e conectado a uma bomba de sucção autoescorvante de 12 V (Figura 17-a e 17-b). A mangueira de coleta de água foi posicionada a uma profundidade fixa de 20 cm abaixo da superfície da água, no qual foi instalada uma rede fina na extremidade para evitar a entrada de plantas aquáticas. Essa profundidade foi definida a fim de evitar a entrada de bolhas de ar no sistema de sucção.

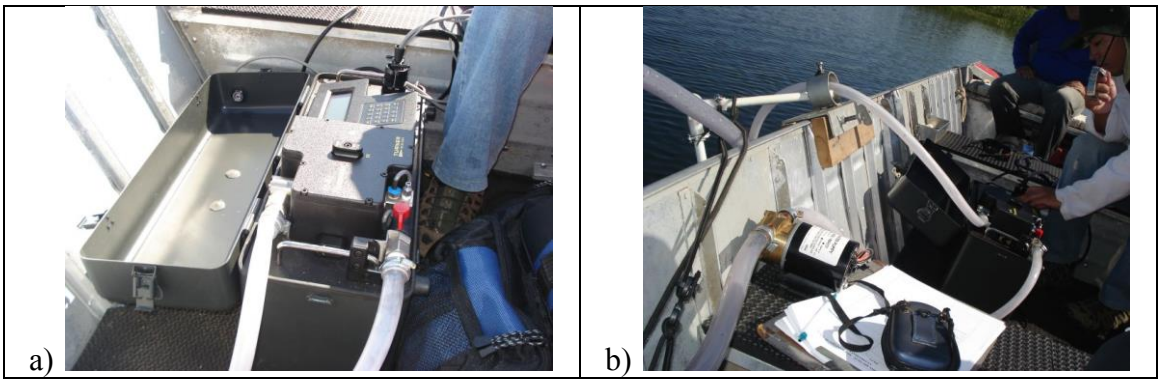


Figura 17 - Ilustração da instalação do Fluorômetro 10-AU no barco para as atividades de campo.

- **Fluorômetro Unilux**

O Fluorômetro Unilux, da Chelsea Technologies, é um dispositivo de tamanho reduzido, desenvolvido para o monitoramento da qualidade da água, capaz de detectar e quantificar, em baixas concentrações, o pigmento ficocianina presente em cianobactérias em fluxo contínuo. O equipamento possui um sensor óptico com filtro de excitação para ficocianina em 610 nm e detecção do comprimento da onda em 685 nm, conforme mostra a Figura 19. O intervalo de concentração detectável pelo instrumento está entre 0 a 100 µg/L, sendo a menor medida detectável de 0,01 µg/L (Unilux, 2009).

Conforme ilustra a Figura 19 o aparelho possui as dimensões de 26.5 mm de largura por 105 mm de altura e um cabo de aproximadamente 2 metros que é conectado a um computador. O equipamento foi utilizado à profundidade fixa de 20 cm abaixo da superfície da água. Os dados foram automaticamente registrados a cada segundo por intermédio do software de interface do usuário.

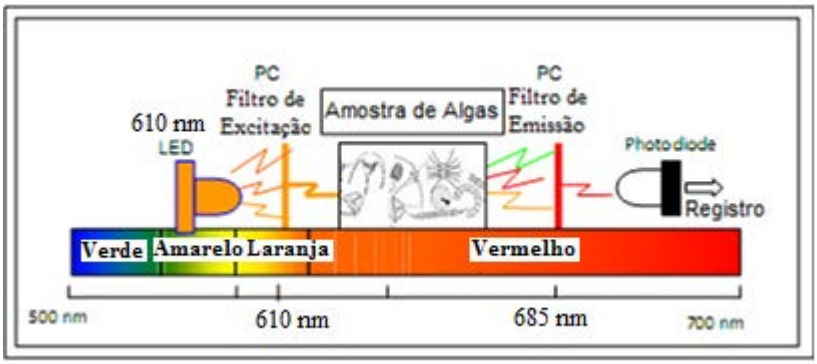



Figura 18 - Configuração do fluorômetro para a detecção de ficocianina (PC).
FONTE: Adaptado de Turner Designs, 2004.

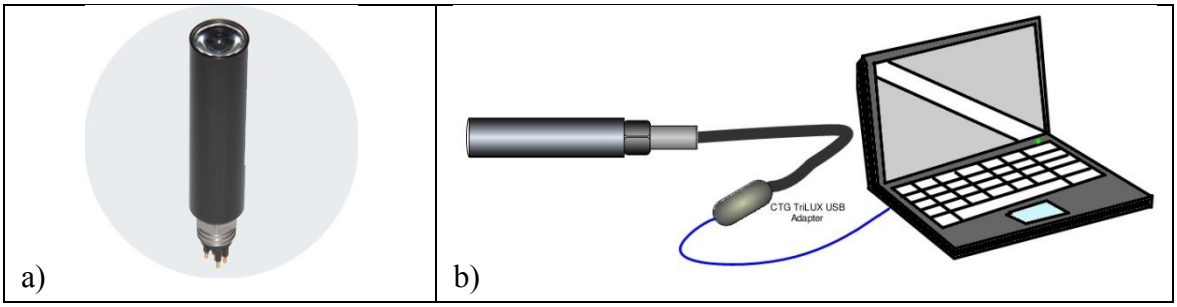



Figura 19 – a) Fluorômetro Unilux; b) Fluorômetro submersível conectado ao computador por cabo USB

- **Espectrorradiômetro FieldSpec HandHeld (325-1075nm)/A103000**

O espectrorradiômetro utilizado foi o ASD FieldSpec HandHeld, modelo UV/VNIR (325 – 1075 nm), que é um equipamento de campo portátil que opera com bateria de duração de seis horas. A coleta de espectros no domínio espectral leva menos tempo e os recursos de digitalização são mais eficientes, o que ajuda a minimizar os erros associados a mudanças nas condições ambientais (ASD Inc, 2003). O intervalo espectral de coleta é de 325 a 1075 nm, com intervalo amostral de 1,6 nm (ASD Inc, 2003). O campo de visada (*Field-of-View-FOV*) do espectrorradiômetro foi de 25°.

Neste trabalho foi medido o fator de reflectância hemisférico cônico (FRHC), que será expresso nas "Curvas de Reflectância" analisadas. O FRHC considera medidas com maiores ângulos de IFOV e iluminação ambiente e campo de visada instrumental constante. Maiores informações podem ser obtidas em Schaepman-Strub et al. (2006).

A Superfície de referência foi medida em uma placa de referência branca Spectralon®, na qual a energia incidente é refletida com a mesma intensidade em todas as direções. A medida de radiância da água foi feita alinhando o barco na direção do Sol e realizando a coleta em um ângulo perpendicular a essa direção, evitando desta forma o efeito da reflexão especular (ZIBORDI et al., 2002). Para ambas as medidas, o espectrorradiômetro foi posicionado sobre a embarcação a uma orientação de 90° de azimute solar e a uma inclinação de 45° do sensor em relação à vertical.

- **Variáveis Limnológicas**

Além das variáveis biológicas adquiridas por fluorescência para a compreensão do comportamento fitoplanctônico no reservatório, outras variáveis limnológicas também foram obtidas com o intuito de contribuir no entendimento do fenômeno. Dentre as variáveis coletadas, destacam-se a turbidez e profundidade de Secchi da coluna d'água, consideradas

auxiliares a medidas de componentes opticamente ativos. A variável transparência é medida pelo mergulho de um disco preto e branco de 20 a 30 cm na água, denominado disco de Secchi, em que é observada a profundidade de seu desaparecimento. A profundidade do disco de Secchi é inversamente proporcional à quantidade de compostos no percurso da luz e ao coeficiente de atenuação da irradiância (ESTEVES, 1988; CETESB, 2007).

Também foram consideradas algumas variáveis limnológicas não opticamente ativas como temperatura (°C), Potencial Hidrogeniônico (pH), condutividade elétrica (µS/cm) e oxigênio dissolvido (mg/L). A descrição detalhada de cada uma dessas variáveis é apresentada em Esteves (1988) e Cetesb (2007).

- **Equipamentos acessórios e aplicativos**

  - ✓ Embarcação aquática;
  - ✓ Receptores GNSS (*Global Navegation Satellite System*): para o posicionamento de pontos medidos *in situ*, utilizou-se receptores GNSS de navegação. São receptores que rastreiam apenas o código C/A e são destinados a levantamentos expeditos que requerem precisão horizontal da ordem de 10m (SEEBER, 2003). O emprego desses receptores foi adequado por se tratarem de instrumentos portáteis de fácil manuseio e que atendem aos requisitos básicos para a execução do trabalho;
  - ✓ Aplicativos de processamento digital de imagens e geração superfícies a partir da inferência geográfica, tais como Spring, ENVI, Idrisi Andes, ArcGIS. Além desses aplicativos, também foram utilizados softwares para o tratamento dos dados hiperespectrais e limnológicos, tais como o Matlab, Minitab e Origin usados em cálculos estatísticos e geração de gráficos e tabelas.

- **Dados Orbitais MODIS**

O MODIS (*MODerate-resolution Imaging Spectroradiometer*) foi construído para pesquisas em oceanos, atmosfera e terra. Sua configuração reúne características do sensor AVHRR (*Advanced Very High Resolution Radiometer*) e Landsat com 36 bandas espectrais com resoluções espaciais de 250 m, 500 m e 1 km. Algumas bandas espectrais foram configuradas para caracterização da atmosfera e nuvens com o objetivo de remover efeitos da atmosfera das observações. O Sistema de sensores MODIS é constituído pelas plataformas Terra e Aqua, cujas siglas de seus produtos são MOD e MYD para as plataformas Terra e Aqua,

respectivamente. Com essa configuração o sistema é capaz de adquirir aproximadamente 4 passagens diárias sobre uma mesma área (JUSTICE et al., 1998). Embora o sensor MODIS não tenha sido especificado para atender aplicações voltadas ao estudo dos sistemas aquáticos continentais, ele possui características que o tornam de grande utilidade para alguns tipos de usos, dentre os quais, destaca-se o monitoramento da abundância de fitoplâncton (NOVO et al., 2007).

Os produtos MOD09 e MYD09 são dados de reflectância de superfície, ou seja, os dados corrigidos para que as medidas sejam menos dependentes das condições atmosféricas e da geometria de iluminação (LIANG, 2002). O produto MOD09 e MYD09 são compostos pelas bandas de 1 a 7 com comprimentos de onda centrados em 0,648 μm, 0,858 μm, 0,470 μm, 0,555 μm, 1,240 μm, 1,640 μm e 2,130 μm, respectivamente (NOVO et al., 2007). O subproduto utilizado nesta pesquisa foi o MOD09A1, no qual é realizada uma seleção das melhores imagens para composição de cenas no intervalo de 8 dias, com resolução espacial de 500 metros para todas as bandas.

As bandas selecionadas para coleta de informações espectrais abrangem a região espectral em que a água e seus componentes interagem com a energia eletromagnética, ou seja, de 400 a 800 nm (KIRK, 1994). A

Tabela 5 apresenta as bandas espectrais comumente utilizadas em estudos dos sistemas aquáticos continentais usando o produto MOD09 ou MYD09, segundo Novo et al., 2007.

Tabela 5 - Bandas espectrais utilizadas dos produtos MOD 09 e MYD09, adequadas para estudos dos sistemas aquáticos continentais.

| Banda | Largura das Bandas (nm) | Aplicações em ambientes aquáticos continentais |
|---|---|---|
| 1 | 620 nm – 670 nm | Sensível a variações na concentração de partículas inorgânicas em suspensão |
| 2 | 841 nm – 876 nm | Permite delimitar a superfície de água livre dos lagos e auxilia mapear o limite entre água e vegetação |
| 3 | 459 nm – 479 nm | Sensível à presença de matéria orgânica dissolvida na água |
| 4 | 545 nm – 565 nm | Sensível ao espalhamento pelas células fitoplanctônicas |

Adaptado de Novo et al., 2007

A banda 4, sensível à presença de células fitoplanctônicas, foi a selecionada para o estudo. Para abrangência de todo o intervalo espectral de interesse selecionaram-se também as Bandas 1 e 3, em decorrência dessas regiões espectrais também estarem relacionadas à resposta

espectral de células fitoplanctônicas, de acordo com Dekker (1993), Kutser et al. (2004) e Kirk (1994).

- **Imagens orbitais do sistema RapidEye**

O sistema RapidEye é formado por uma constelação de cinco satélites, idênticos e posicionados em órbita síncrona com o Sol com igual espaçamento entre os satélites. Sua configuração permite produzir imagens de qualquer ponto do globo, com características descritas na Tabela 6. A faixa de abrangência de coleta de imagens é de 77 km de largura e 1500 km de extensão. Os satélites são equipados com um sensor multiespectral, que possui uma banda denominada vermelho limítrofe, concebida especificamente para o monitoramento da atividade fotossintética da vegetação e capacidade de medir a separação de espécies e monitoramento da saúde da vegetação (RAPIDEYE, 2009).

Além da disponibilização das imagens brutas, existem três níveis correção das imagens, sendo elas, Nível 1 (Nível-Sensor) que fornece imagens com correção radiométrica, Nível 2 (Geo-corrigido) com correção radiométrica e geométrica e Nível 3 (Ortorretificada) com correção radiométrica e geométrica a partir do DEM SRTM (*Shutter Radar Topography Mission*) (Nível 1 DTED), compatível com a escala 1:50.000.

As imagens utilizadas nesse trabalho pertencem ao nível 3A, que dentre as características principais destacam-se a utilização de imagens off-nadir, a modificação da resolução espacial para 5 metros, a resolução radiométrica de 16 bits, o uso do método de interpolação por convolução cúbica para reamostragem e o emprego do modelo digital do terreno SRTM para realização de correções.

Tabela 6 - Características gerais do Sistema RapidEye

| **Características gerais dos Sensores RapidEye** | |
|---|---|
| Número de Satélites | 5 |
| Altitude da Órbita | 630 Km |
| Largura da Imagem | 77 Km |
| Resolução Temporal | Diariamente (off-nadir); 5,5 dias (nadir) |
| Resolução Espacial (nadir) | 6,5 m |
| Tamanho do Pixel (ortorretificado) | 5 m |
| Resolução Radimétrica | 12 bits |
| **Bandas Espectrais** | |
| 440 – 510 µm | Azul |
| 520 – 590 µm | Verde |
| 630 – 685 µm | Vermelho |
| 690 - 730 µm | Vermelho Limítrofe |
| 760 – 850 µm | Infravermelho Próximo |

Adaptado de RapidEye, 2009

## 4.3.Abordagem metodológica

Considerando o objetivo geral da investigação, ou seja, analisar o comportamento sazonal de cianobactérias por meio da inferência espacial do pigmento ficocianina em um ambiente aquático, utilizando dados multifonte, foi definido um plano metodológico. A Figura 20 apresenta um fluxograma com as atividades realizadas na pesquisa. Este fluxograma foi subdividido em atividades de planejamento, aquisição de dados, processamentos e resultados. Em seguida é feito um detalhamento da proposta metodológica da pesquisa.

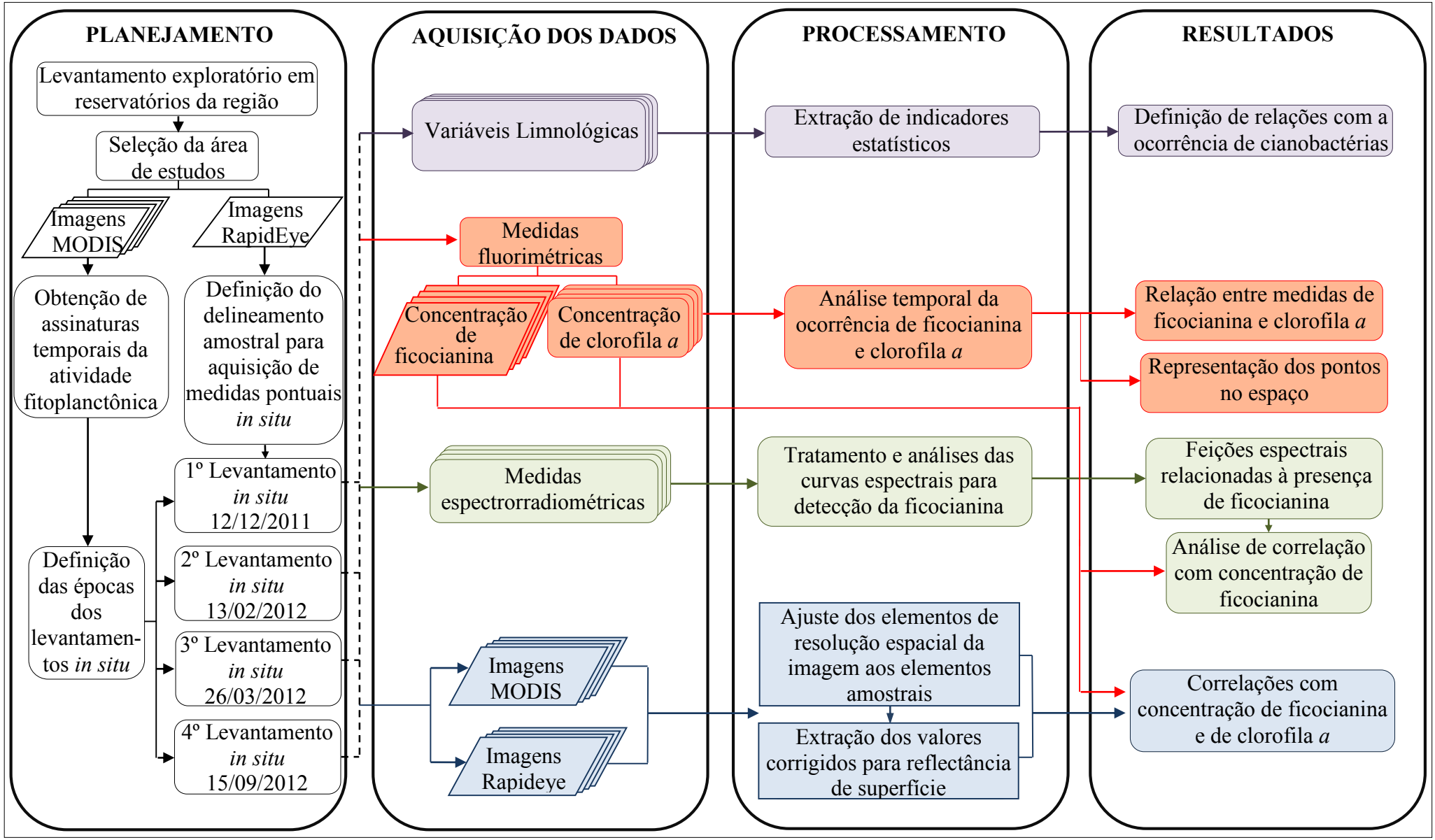



Figura 20 - Fluxograma com as Atividades desenvolvidas na pesquisa. As cores das caixas do fluxograma são relacionadas com os objetivos específicos descritos no item 1.2: azul - objetivo 5, verde - objetivo 3, lilás – objetivo 1 e vermelho – objetivos 2 e 4

Resumidamente, a pesquisa teve início com a seleção da área de estudo. Para tanto, foram realizados alguns levantamentos de campo prévios em corpos d'água próximos à Presidente Prudente-SP. O ambiente aquático que mostrou indicadores da ocorrência de cianobactérias foi o Reservatório de Nova Avanhandava, localizado no município de Barbosa-SP. A seleção foi fundamentada na análise de curvas espectrais obtidas com espectrorradiômetro em trechos do corpo d'água, as quais foram comparadas com curvas espectrais observadas na literatura com evidencias da presença de cianobactérias. Também houve a obtenção de variáveis limnológicas que poderiam apontar regiões eutrofizadas e, possivelmente maior ocorrência de cianobactérias.

A partir da definição da área de estudo, foi desenvolvida uma investigação sobre o perfil temporal da atividade fitoplanctônica no reservatório. Essa atividade foi importante para avaliar sazonalmente a dinâmica do crescimento do fitoplâncton e garantir que os trabalhos de campo fossem realizados em épocas distintas de atividade fitoplanctônica. O procedimento adotado foi embasado na geração de assinaturas temporais a partir de dados do sensor MODIS.

Concomitantemente à análise temporal, foi adquirida uma imagem multiespectral para auxiliar na definição do delineamento amostral. Essa etapa foi necessária para triagem de locais onde seriam coletados dados pontuais *in situ*, com ocorrência de águas espectralmente distintas. Pelo fato do reservatório ser extremamente extenso, optou-se por utilizar apenas um trecho desse corpo d'água, em que se observou maior atividade fitoplanctônica. A imagem multiespectral utilizada nessa atividade foi do mês de fevereiro de 2011, obtida pelo sistema orbital RapidEye. O delineamento amostral foi baseado nesta época pelo fato das imagens MODIS mostrarem ser o período de maior atividade fitoplanctônica.

Com o delineamento amostral e o padrão de variação temporal da atividade fitoplanctônica definidos, foi possível iniciar os levantamentos de campo. Ao todo foram realizadas quatro campanhas de campo nas quais foram obtidos dados espectrorradiométricos, fluorimétricos e limnológicos nos pontos selecionados.

Além disso, foram adquiridas imagens RapidEye tomadas em datas próximas à realização das campanhas de campo, o que permitiu avaliar seu potencial na detecção da ficocianina. Essas imagens foram pré-processadas para extração da reflectância de superfície. Além disso, também foram selecionadas, para as épocas do campo, cenas MODIS do produto MOD09, para avaliar se a reflectância obtida tem relação com a ocorrência da ficocianina ou mesmo com a atividade fitoplanctônica do reservatório.

Nas atividades de campo, as principais variáveis limnológicas medidas foram: oxigênio dissolvido, transparência, turbidez, temperatura, condutividade e pH. Essas variáveis auxiliaram na compreensão dos fenômenos observados na área de estudo.

Para avaliação do comportamento do fitoplâncton no reservatório, foram utilizados dados fluorimétricos. Na aquisição da variável limnológica ficocianina utilizou-se um fluorômetro de campo, que mede diretamente a concentração do pigmento. A estimativa de clorofila *a* foi feita pelo fluorômetro 10-AU que exige um processo de calibração para transformação dos dados relativos de clorofila *a*, para concentração absoluta.

Com estes dados foi possível realizar uma análise das relações espaciais e temporais entre a ocorrência do pigmento ficocianina e clorofila *a*, a partir da fluorimetria de campo. Para tanto foram produzidos mapas representando a espacialização das variáveis pontuais para as épocas dos levantamentos. Também foram observadas as relações existentes entre as concentrações de ficocianina e de clorofila *a*, por correlação de Pearson (*r*).

Às curvas espectrais coletadas pelo espectrorradiômetro foram aplicadas técnicas de análise espectral, tais como, análise derivativa, razão de bandas e remoção do contínuo, a fim de extrair informações espectrais associadas às feições de absorção e reflexão ocasionadas pela ficocianina. Após a aplicação das técnicas de análise espectral, os dados obtidos foram correlacionados com a concentração de ficocianina para evidenciar as feições espectrais relacionadas à ocorrência desse elemento.

Para os dados orbitais, no caso das imagens RapidEye, realizou-se um ajuste dos elementos de resolução espacial da imagem aos elementos amostrais do delineamento amostral. Posteriormente, extraíram-se valores de reflectância nos locais definidos no delineamento amostral e calculou-se sua correlação com a ficocianina. Para as imagens MODIS, foi obtida uma relação no tempo entre o valor médio de reflectância e as concentrações de ficocianina e de clorofila *a* por levantamento de campo.

Assim, por meio das diversas análises realizadas entre ficocianina, clorofila *a* e dados multifonte foi possível realizar uma análise do comportamento sazonal das cianobactérias no ambiente aquático em estudo. A seguir descrevem-se detalhadamente os experimentos realizados quanto à metodologia aplicada, apresentação e análise dos resultados obtidos. A Tabela 7 apresenta um resumo das variáveis obtidas nos quatro levantamentos de campo, juntamente com o número de pontos levantados.

Tabela 7 – Resumo das variáveis obtidas em campo e número de pontos levantados.

| Levantamentos de Campo | 1°Levantamento Dezembro/2011 | 2°Levantamento Fevereiro/2012 | 3° Levantamento Março/2012 | 4° Levantamento Setembro/2012 |
|---|---|---|---|---|
| **Dados limnológicos físicos/químicos e biológicos** | | | | |
| Temperatura da água(°C) | 11 | 30 | 27 | 18 |
| pH | 11 | - | - | - |
| Oxigênio Dissolvido (mg/L) | 11 | 30 | 27 | 18 |
| Turbidez (UNT) | 11 | 30 | 27 | 18 |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 11 | 23 | 20 | 18 |
| Condutividade µS/cm | - | 30 | 27 | 18 |
| **Variáveis meteorológicas** | | | | |
| Temperatura (°C) | X | X | X | X |
| Velocidade do vento | X | X | X | X |
| Vento Dir: | - | X | X | X |
| Umidade | - | X | X | X |
| Precipitação | - | X | X | X |
| **Variáveis biológicas** | | | | |
| Clorofila *a* | 6 | 30 | 27 | 18 |
| Ficocianina | 11 | | | |
| **Curvas espectrais** | | | | |
| Curvas de Reflectância | 11 | 18 | 27 | 18 |
| **Imagens de satélite** | | | | |
| RapidEye | - | X | X | - |
| Modis | - | X | X | - |

X – dado não quantitativo adquirido

### *4.3.1. Definição da subárea de Estudo*

Como já mencionado, o reservatório de Nova Avanhandava possui uma área de 210 km², uma região extensa para a realização de um estudo desse gênero, devido a questões financeiras e logísticas. Assim, em visita preliminar de campo, realizada em fevereiro de 2011, foram analisadas áreas menores com maior ocorrência de fitoplâncton para a definição da área de estudo, a partir de um deslocamento de barco em todo o reservatório. Nessa visita, pôde-se notar a presença de fitoplâncton em grandes extensões do reservatório, sendo que em algumas regiões havia maior concentração de algas, como em áreas próximas as margens.

Verificou-se também que no entorno do reservatório existem Áreas de Preservação Permanente (APP) ocupadas por culturas agrícolas, principalmente cana de açúcar, e grandes

áreas de pastagens. Esse tipo de ocupação favorece o despejo de sedimentos no reservatório, principalmente em épocas com maior volume de chuvas.

Com relação a algumas variáveis limnológicas obtidas, observou-se que a temperatura, em torno de 29°C, estava em uma faixa ótima para a fotossíntese e consequentemente aumento da biomassa. O pH apresentou valores entre 6,5 e 7,5, devido a maiores concentrações de dióxido de carbono na água, sendo outro parâmetro essencial para a fotossíntese. Em alguns locais, a profundidade do disco de Secchi foi inferior a 1 metro, ou seja, houve pouca penetração de luz na água, visivelmente em função da presença de algas.

Nesse levantamento de campo preliminar também foram realizados outros experimentos para a pesquisa descrita em Watanabe et al. (2013), na qual se constatou em curvas espectrais, a feição indicativa da presença de ficocianina da água, principalmente em 630 nm e 650 nm, em conformidade com Dekker (1993), Weaver e Wrigley (1994), Ruiz-Verdú et al. (2008), Marion et al. (2012), Song et al. (2012), Le et al. (2011) e Londe (2008), conforme expresso na Figura 21

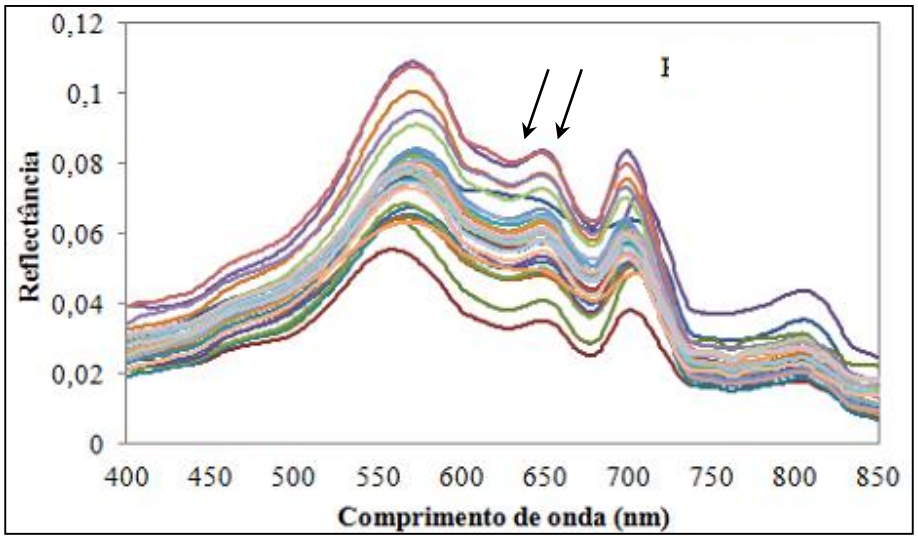



Figura 21 - Curvas espectrais obtidas em fevereiro de 2011 em região próxima á área selecionada para a realização da pesquisa (WATANABE et al., 2013).

Após as observações anteriores, selecionou-se uma área de estudo irregular de aproximadamente 8,4 km², extensão de 4,5 km e largura de 2,2 km. O centro da área de estudo apresenta coordenadas na projeção UTM, Fuso 22 S iguais a: E: 604.652,672 m e N: 7.652.591,09 m, de acordo com o sistema de referência SIRGAS 2000. A Figura 22 apresenta a localização do Reservatório de Nova Avanhandava, mostrada por uma imagem em composição colorida resultante da composição bandas espectrais 3 (vermelho), 2 (verde) e 1 (azul) obtida pelo sistema orbital RapidEye, indicando, em destaque, a demarcação da subárea em vermelho.

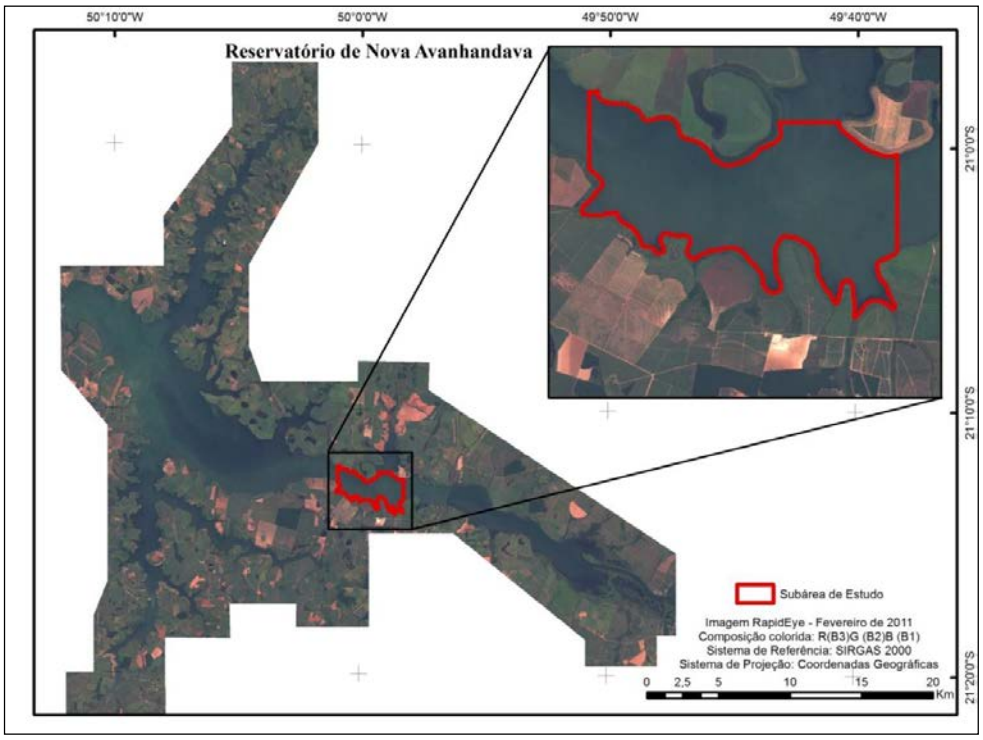



Figura 22 - Delimitação da Subárea de Estudo.

Na área de estudo destacada na Figura 22, a região norte é mais profunda com maior velocidade das águas, enquanto que a região sul possui águas mais calmas e rasas.

### *4.3.2.* Delineamento amostral e levantamentos de campo

A realização de levantamentos de campo é uma etapa fundamental para validação de métodos empíricos de Sensoriamento Remoto (GIARDINO et al. 2007). Trata-se de uma fase complexa, que envolve diversos fatores que propiciam o sucesso ou fracasso em sua execução, de modo que um planejamento minucioso de todas as atividades é fundamental para garantir a obtenção de dados com boa qualidade. A seguir serão apresentados os procedimentos adotados no delineamento amostral, seleção das épocas e dados coletados nos levantamentos de campo realizados.

- **Delineamento Amostral**

Embora as medidas limnológicas *in situ* forneçam informações de apenas um ponto no espaço e tempo e dificilmente caracterizem corpos d'água heterogêneos, algumas poucas medidas têm sido utilizadas para representar toda extensão do corpo d'água (GIARDINO et al. 2007, RITCHIE et al. 2003).

Para uma boa representatividade de um ambiente aquático, o número e a localização de elementos amostrais pontuais tem sido um assunto muito discutido na literatura. Normalmente, o número de elementos amostrais coletados fica em torno de 20 a 30, porém existem casos como os do estudo de Forster et al. (1993) que utilizaram apenas nove elementos para construção de um modelo. A definição do número de elementos amostrais ideal envolve, principalmente, a heterogeneidade da variável analisada, os recursos disponíveis para a pesquisa, além da avaliação da necessidade de simultaneidade entre a coleta *in situ* e os dados obtidos por Sensoriamento Remoto; pois o adensamento da rede de elementos amostrais envolve maior permanência no campo e consequente redução da sincronia entre os dados (LIU et al., 2003).

Nesta pesquisa, a etapa de definição do esquema de amostragem para a coleta e análise da água teve início com a seleção de imagens multiespectrais, adquiridas em período sazonal de maior ocorrência de atividade fitoplanctônica, pois se trata da época com características mais propícias da ocorrência de cianobactérias.

A partir da análise realizada nas imagens MODIS para definição das épocas de realização dos levantamentos de campo, optou-se pela época de fevereiro. Com o intuito de garantir uma boa distribuição dos pontos de amostragem, utilizou-se uma imagem RapidEye de fevereiro de 2011.

Para a identificação de águas espectralmente distintas, que necessitam de maior representatividade quanto ao número e posição dos elementos amostrais, aplicou-se uma máscara para a extração do entorno do reservatório. As bandas verde (520 – 590 ) e vermelho limítrofe (690 – 730 nm) foram utilizadas em uma razão de bandas espectrais (vermelho limítrofe/Verde), já que tais regiões espectrais representam variações espectrais relacionadas com a presença do fitoplâncton (KIRK, 1994).

Quanto à distribuição dos elementos amostrais, é importante se ter uma boa representatividade em áreas com maior variabilidade (HOLMES et al. 2006). Assim, foi construída uma grade de 45 células cobrindo toda a área de estudo na qual, para cada célula calculou-se a média e o desvio padrão. As células com média e desvio padrão similares foram agrupadas passando a formar um único elemento. Para os novos agrupamentos calculou-se novamente a média e desvio padrão, posteriormente, as células antigas e os novos agrupamentos foram novamente comparados, na tentativa de formar novos agrupamentos. A Figura 24 mostra esquematicamente a primeira delimitação da área de estudo para distribuição dos elementos amostrais, considerando a similaridade da média e desvio padrão das células analisadas.

Figura 23 – Delimitação da área de estudo para distribuição dos elementos amostrais, considerando a similaridade da média e desvio padrão das células analisadas. As regiões destacadas em negrito representam maior similaridade.

Após o processo identificação de áreas com valores similares de média e desvio padrão da imagem sintética formada pela razão entre as bandas verde (520 – 590 ) e vermelho limítrofe (690 – 730 nm) da imagem RapidEye de fevereiro de 2011, procurou-se manter um número de trinta (30) elementos amostrais na área de estudo, conforme mostra a Figura 24. A definição desta quantidade de pontos levou em consideração a boa representatividade de águas heterogêneas, os custos e a logística. É importante ressaltar que a área destacada por um quadro na Figura 24, região sudoeste, apresentou um adensamento maior de pontos em decorrência do aproveitamento de pontos coletados em dezembro de 2011 no trabalho de Utsumi (2012). O esquema amostral sobreposto à imagem sintética é mostrado na Figura 24.

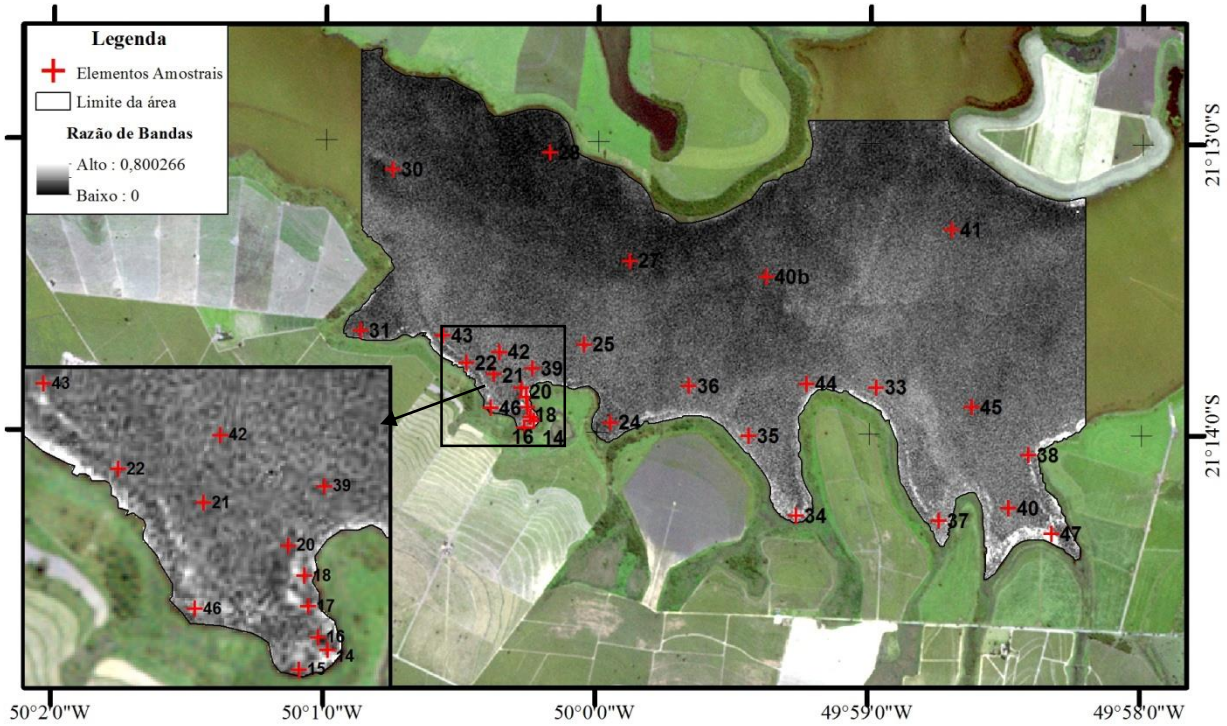



Figura 24 - Imagem sintética formada pela razão entre as bandas verde (520 – 590 ) e vermelho limítrofe (690 – 730 nm) da imagem RapidEye de fevereiro de 2011, sobreposta a imagem RapidEye (composição colorida: 3R2G1B) de fevereiro de 2011, indicando a distribuição dos elementos amostrais utilizados nos levantamentos de campo

Como se observa-se na Figura 24, a região Sul foi a que apresentou maior variabilidade na imagem sintética, recebendo então maior quantidade de pontos.

- **<u>Definição das épocas dos levantamentos de campo</u>**

Para a definição das épocas de realização dos levantamentos de campo, utilizaram-se cenas do Produto MOD09A1 do sensor MODIS/TERRA. Esse produto fornece mosaicos compostos pelas melhores imagens coletadas durante 8 dias com resolução de 500m e são disponibilizadas pela USGS.

Esta análise serviu de apoio para a definição dos períodos sazonais apropriados para realização do levantamento de campo, considerando o perfil geral da reposta espectral do reservatório para atividade fitoplanctônica. Foram obtidas imagens dos anos de 2009 e 2011 em períodos sazonais distintos, com um intervalo de 2 meses entre cada aquisição, conforme mostra Tabela 8, totalizando 17 imagens. Foram utilizadas imagens de até outubro de 2011, em virtude do primeiro levantamento de campo ter ocorrido em dezembro de 2011.

Tabela 8 - Datas de aquisição das cenas MODIS 09A1

| 2009 | 2010 | 2011 |
|---|---|---|
| 18/02/2009 | 02/02/2010 | 18/02/2011 |
| 15/04/2009 | 15/04/2010 | 15/04/2011 |
| 10/06/2009 | 02/06/2010 | 02/06/2011 |
| 13/08/2009 | 05/08/2010 | 29/08/2011 |
| 16/10/2009 | 26/10/2010 | 24/10/2011 |
| 19/12/2009 | 03/12/2010 | |

Utilizando o aplicativo ENVI 4.4, foi elaborada uma composição colorida das bandas 1, 2 e 7 (RGB) para a identificação do reservatório e leitura da reflectância de superfície na imagem. Para a coleta dos pixels representativos do reservatório nas épocas selecionadas, extraíram-se informações espectrais da imagem em um pixel central da área de estudo, como mostra a Figura 25.

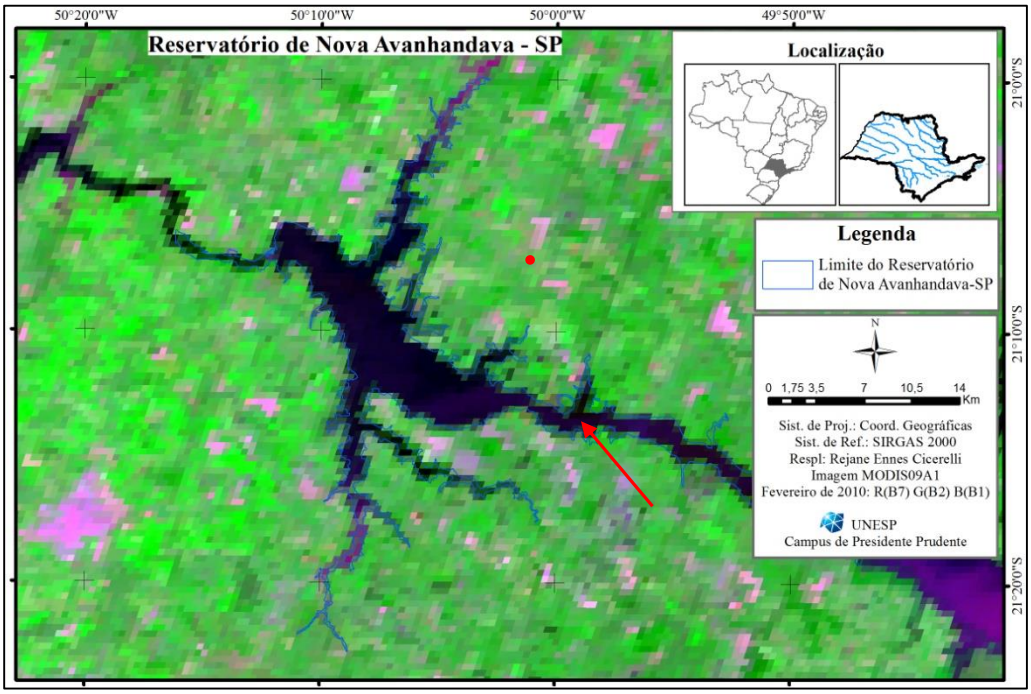



Figura 25 - Composição colorida nas bandas 1, 2 e 7 (RGB) do produto MOD 09A1 do sensor MODIS do Reservatório de Nova Avanhandava, com a localização de ponto da extração de informações espectrais.

Assim, em cada imagem, coletaram-se para um pixel informações espectrais representativos do comportamento espectral para cada mês analisado. Das sete bandas disponíveis, selecionaram-se as bandas 3,1 e 4, pois essas encontram-se em regiões espectrais mais adequadas para análise da atividade fitoplanctônica (KINK, 1994; GITELSON et al. 1999; WETZEL, 2001). Com as informações espectrais obtidas nos meses definidos na Tabela 8, foi traçado um perfil temporal da atividade fitoplanctônica. A Figura 26 representa o

comportamento sazonal no ponto de leitura para a variação de reflectância de superfície, nas bandas espectrais 3,1 e 4, nos meses considerados.

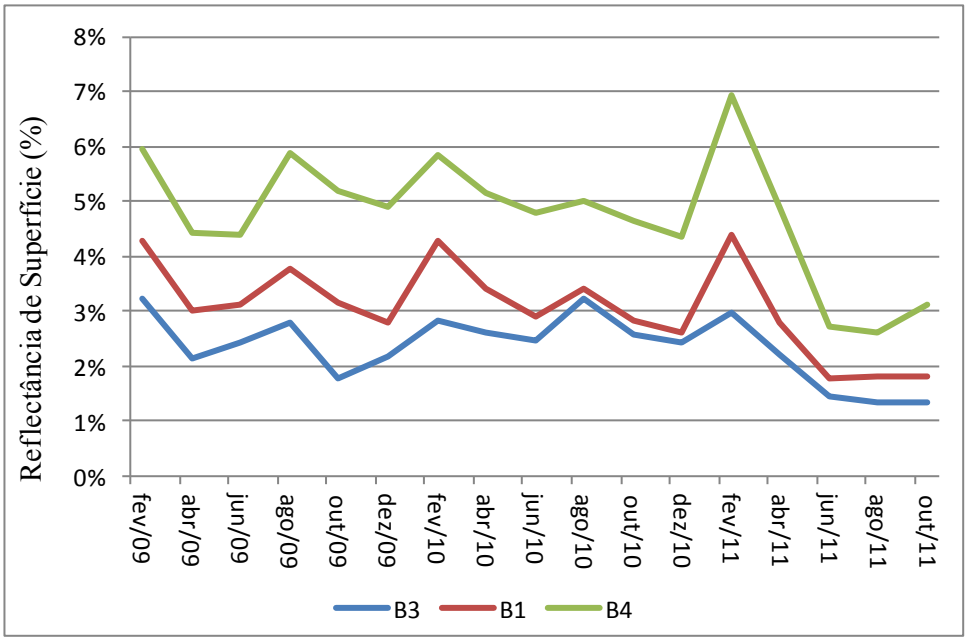



Figura 26 – Variação sazonal de reflectância nas bandas 3, 1 e 4 para os meses analisados.

Os valores entre as três bandas espectrais mostram-se altamente correlacionados ($r^2$ > 0,8). De acordo com o comportamento da reflectância de superfície ao longo do ano, verifica-se que a época de menor atividade fitoplanctônica está no período de seca, entre os meses de abril e junho. Em 2009 e 2010 o mês de agosto iniciou um aumento no valor de reflectância, porém em 2011 esse valor ainda permaneceu baixo. Posteriormente nos meses de outubro e dezembro observam-se baixos valores, representando o início do período chuvoso. O mês de fevereiro mostrou valores altos para 2009, 2010 e 2011, o que representa uma época de maior atividade fitoplanctônica no reservatório.

De acordo com a Figura 26, verifica-se que apesar dos reservatórios apresentarem tempos de residência (volume/vazão da água) muito distintos nas diferentes épocas do ano em função das necessidades de uso da água pela usina (ESTEVES, 1998), observa-se um comportamento com certa uniformidade na atividade fitoplanctônica. Essa característica auxiliou na indicação de épocas mais propícias de aumento e redução da atividade fitoplanctônica. Após análise da curva definida na Figura 26 considerou-se que os melhores períodos de visita ao reservatório, considerando comportamentos distintos de atividade fitoplanctônica, seriam: fevereiro, março ou abril, agosto, setembro ou outubro e dezembro. Dentro das possibilidades de logística e recursos disponíveis, as épocas passíveis de realização

de levantamento de campo foram dezembro/2011, fevereiro/2012, março/2012 e setembro/2012.

- **Levantamentos de Campo**

Ao todo foram realizados quatro levantamentos de campo. A expectativa foi coletar em todos os pontos definidos no esquema de amostragem as variáveis físico-químicas e biológicas, bem como as medidas de reflectância espectral e fluorimétricas. As variáveis físico-químicas e biológicas foram comparadas com valores de referência que são considerados limiares de aceitação determinados pela legislação, de acordo com a Resolução CONAMA nº 357/2005, complementada e alterada pela resolução n°430, para água doce de Classe 2, no qual se enquadra a área de estudo segundo determinação da Lei Estadual nº 10.755/1977. Para o posicionamento dos pontos utilizou-se um receptor GNSS de navegação Garmin.

A Tabela 9 apresenta as datas de realização dos levantamentos, bem como o número de elementos amostrais efetivamente levantados em cada missão de campo. Observa-se que os levantamentos ocorreram em distintas estações do ano, de modo a caracterizar as variações em um ciclo sazonal. A localização espacial dos pontos coletados está representada por um sinal de "x" na Figura 27 nos quatro levantamentos de campo. Importante destacar que para o primeiro levantamento, dos 11 pontos levantados, a concentração de clorofila *a* foi obtida apenas nos 6 pontos, sendo estes: 14, 15, 16, 18, 20 e 21.

Tabela 9 - Levantamentos de campo realizados

| Levantamentos de Campo | Data do levantamento | Período | Número de pontos coletados |
|---|---|---|---|
| 1° | 13/12/2011 | **Primavera** - Período Chuvoso | 11 |
| 2° | 15 e 16/02/2012 | **Verão** - Fim do Período Chuvoso | 30 |
| 3° | 27/03/2012 | **Outono** - Início da Seca | 27 |
| 4° | 18/09/2012 | **Inverno** - Início do Período Chuvoso | 22 |

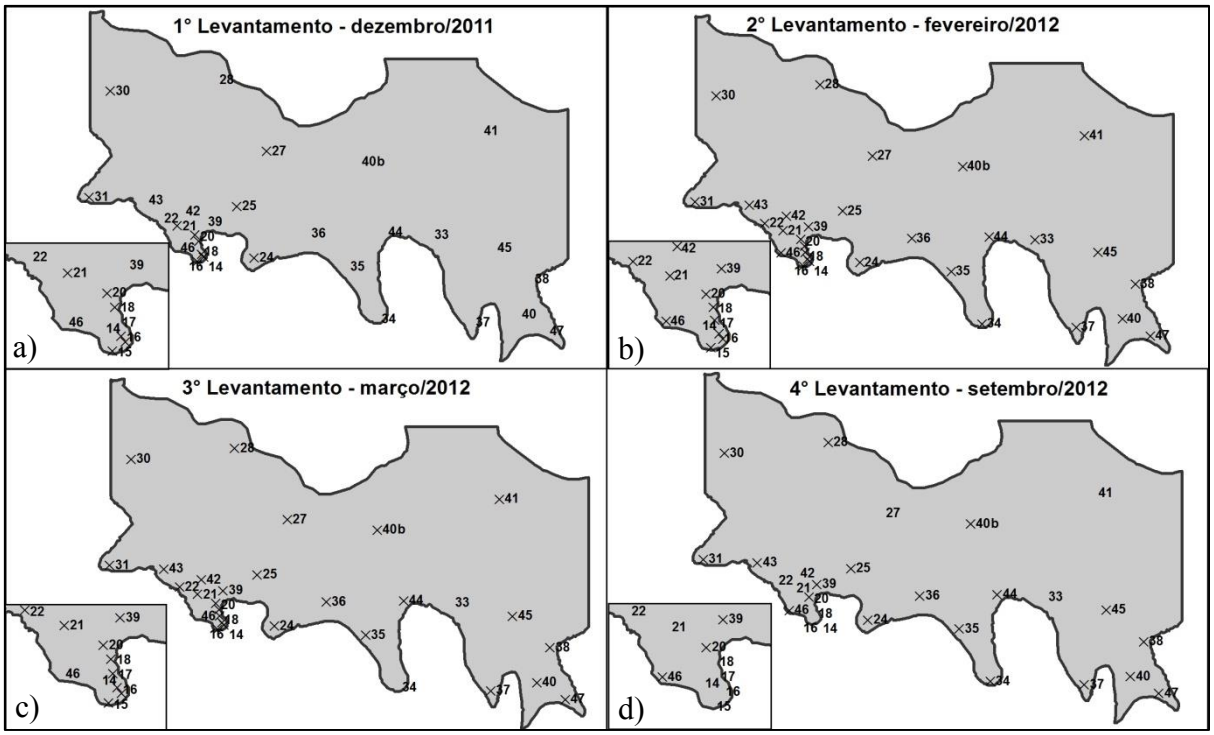



Figura 27 – Localização espacial dos pontos coletados nos quatro levantamentos de campo; a) Primeiro levantamento (11 pontos); b) Segundo levantamento (30 pontos); c) Terceiro levantamento (27 pontos); d) Quarto Levantamento (22 pontos). Os sinais de "x" representam os pontos em que efetivamente houve as coletas.

.

### *4.3.3. Coleta de variáveis limnológicas*

O monitoramento limnológico pode ser considerado um instrumento de planejamento de atuações tanto preventivas, quando permite detectar precocemente tendências prejudiciais; quanto corretivas, ao possibilitar o diagnóstico da efetiva degradação ecológica e sanitária (MAROTTA et al., 2008). Como nessa pesquisa foram realizados quatro levantamentos *in situ*, todas as variáveis limnológicas obtidas pontualmente foram analisadas buscando compreender as variações sazonais relacionadas à atividade fitoplanctônica no reservatório.

As variáveis limnológicas obtidas foram: oxigênio dissolvido, pH, disco de Secchi, turbidez e temperatura. Para a aquisição dessas medidas, os equipamentos foram calibrados previamente. Variáveis meteorológicas, tais como temperatura do ar, umidade, direção e velocidade dos ventos também foram pesquisadas a partir de estações climatológicas próximas à região e consideradas na discussão dos resultados.

Para o primeiro e segundo levantamentos de campo também foi realizada a contagem de espécies fitoplanctônicas pelo método de contagem Utermõhl, citado por

Uhelinger (1964) por número de indivíduos. Essa contagem foi realizada com o objetivo de comprovar a existência de cianobactérias no ambiente.

A obtenção da informação de disponibilidade de nutrientes, tais como fósforo e nitrogênio, muito auxiliaria para esclarecimentos mais detalhados sobre comportamento limnológico do reservatório, porém não foi possível a obtenção dessas informações.

### *4.3.4. Aquisição de medidas fluorimétricas*

As medidas fluorimétricas obtidas foram referentes à concentração dos pigmentos fitoplanctônicos ficocianina e clorofila *a*. A coleta foi feita de modo pontual para os quatro levantamentos de campo realizados, nos pontos definidos no delineamento amostral.

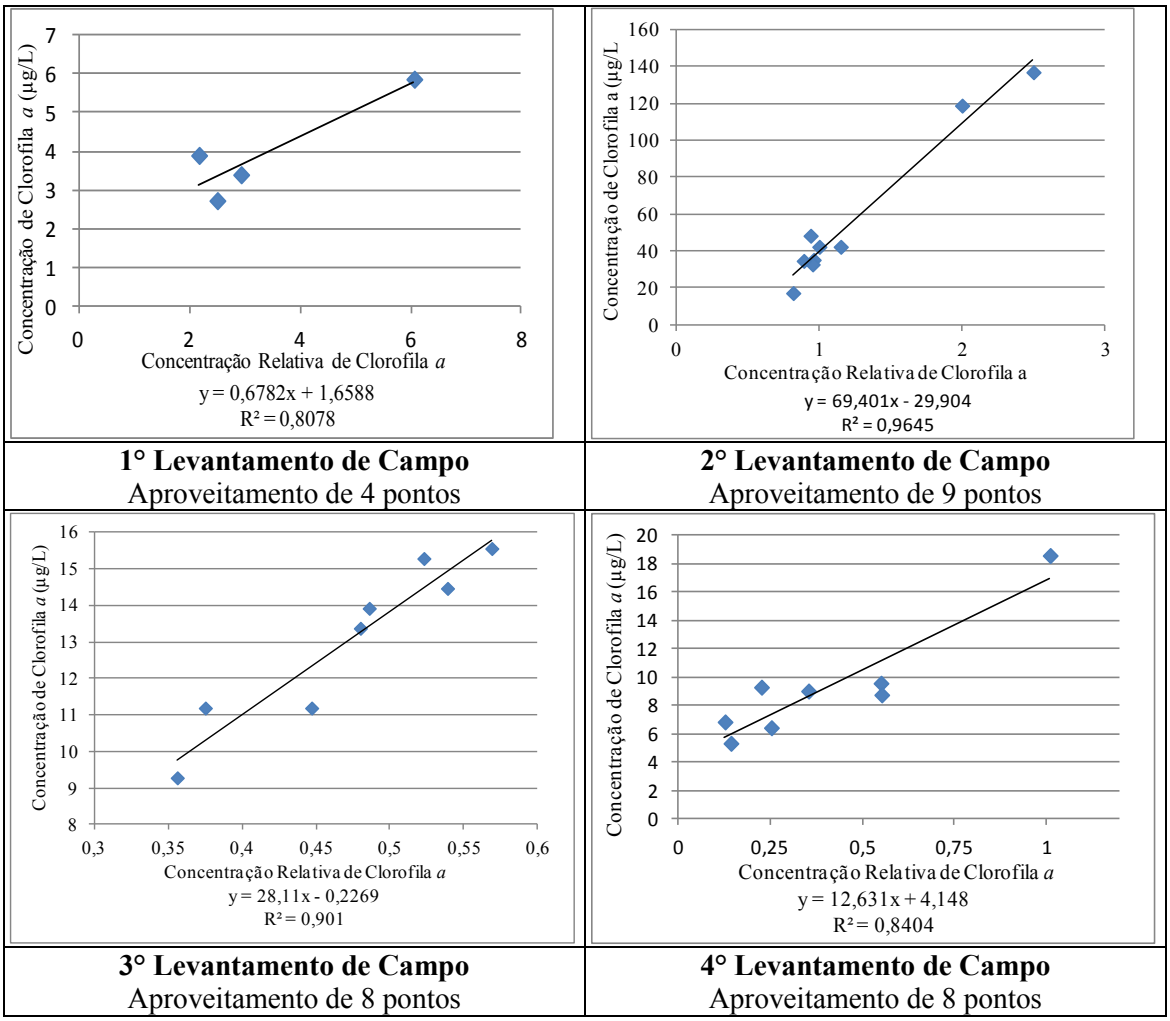
O fluorômetro Unilux, utilizado para leitura de concentração de ficocianina, fornece medidas diretas da concentração. Suas leituras apresentaram variações significativas nas concentrações devido à dinâmica do ambiente aquático e seus constituintes. A principal fonte de oscilação foi a ocorrência de plantas aquáticas submersas: nesses locais havia a fixação de colônias de fitoplâncton nas plantas. Nesses casos, como o aparelho realiza medidas contínuas no tempo, para cada ponto, optou-se por utilizar o valor central, representado pela mediana, na tentativa de eliminar possíveis *outliers* que poderiam interferir nas medidas.

O fluorômetro Turner 10-AU, utilizado para a estimativa de clorofila *a*, fornece valores relativos de fluorescência *in vivo* (IVF) da clorofila *a*, de modo que foi necessário calibrar os valores de IVF lidos usando os dados de concentração de clorofila *a* obtidos a partir da extração em laboratório. Para isso, foram coletadas amostras de água em 10 pontos distintos, as quais foram colocadas em recipientes opacos com volume de um litro e acondicionadas em uma caixa térmica com gelo durante o período de coleta, juntamente com suas réplicas.

Tanto para o fluorômetro Unilux quanto para o fluorômetro Turner 10-AU procurou-se evitar medições próximas a plantas aquáticas submersas, principalmente nas regiões mais rasas, quando se notou o acúmulo de fitoplâncton nessas áreas. Nessas regiões, os valores de concentração de ficocianina tinham a tendência de aumentar para até próximo de 100 μg/L e as leituras de clorofila *a* apresentavam altos valores.

As amostras de água coletadas *in situ* foram filtradas em ambiente escuro, para que não houvesse degradação da clorofila *a*. Para cada ponto de coleta foi feito uma réplica e, em seguida, os filtros foram acondicionados em papel alumínio e guardados em local com baixa temperatura até a análise laboratorial. A extração em laboratório da clorofila *a* foi realizada pelo método espectrofotométrico de acordo com o procedimento estabelecido por Goterman

(1978). Feito isso, construiu-se curvas de calibração relacionando os dados relativos de IVF (*in vivo fluorescence*) de clorofila *a* com os dados de concentração de clorofila *a* obtidos pelo método de extração em laboratório. As curvas de calibração, para os quatro levantamentos realizados são apresentadas na Figura 28. Conforme se visualiza na figura em alguns pontos houve problemas na estimativa de clorofila *a*, desse modo às curvas apresentaram uma quantidade inferior aos 10 pontos efetivamente coletados em campo.




**1° Levantamento de Campo**
Aproveitamento de 4 pontos

**2° Levantamento de Campo**
Aproveitamento de 9 pontos

**3° Levantamento de Campo**
Aproveitamento de 8 pontos

**4° Levantamento de Campo**
Aproveitamento de 8 pontos

Figura 28 - Curvas de calibração para a estimativa de Clorofila *a* a partir de valores relativos obtidos com o fluorômetro Turner 10-AU

Pela Figura 28 é possível observar que a estimativa de clorofila *a* realizada em laboratório ajustou-se adequadamente à concentração relativa de clorofila *a* medida com o fluorômetro, sendo possível a obtenção de uma reta linear ajustável aos dados. Observando os valores dos coeficientes de determinação percebe-se que, quanto maior a concentração de clorofila *a* do reservatório, melhor foi o ajuste da reta de regressão. Com utilização das equações de regressão mostradas na Figura 28, todos os pontos de concentração relativa de clorofila *a* obtidas com fluorômetro de campo foram convertidas para medidas de concentração absoluta.

Esses dados foram analisados estatisticamente e os pontos foram representados espacialmente por meio de polígonos de Thiessen (geração de polígonos a partir de pontos pelo método de interpolação por vizinho mais próximo) na tentativa de compreender o comportamento da ficocianina e da clorofila *a* na subárea de estudo nos quatro levantamentos de campo. A mesma abordagem de análise foi usada para ficocianina, porém não foi necessária a calibração das medidas, já que o fluorômetro Unilux fornece diretamente a concentração.

### *4.3.5. Medidas espectrais*

Os dados espectrais foram coletados no período de 10:00 às 15:30 horas, para garantir ângulos de inclinação solares adequados e maior intensidade luminosa. Antes da coleta das curvas espectrais de cada estação foi feita a calibração do espectrorradiômetro utilizando uma placa de referência, de modo que as curvas fossem calibradas de acordo com as condições meteorológicas do momento. Posteriormente, a radiância espectral do alvo foi obtida apontando diretamente o espectrorradiômetro para a superfície da água, com um ângulo de aproximadamente 45 graus em relação ao plano da superfície. Com o objetivo de evitar a aquisição de curvas ruidosas, fez-se a coleta de 10 curvas espectrais em cada ponto para, posteriormente, se calcular a média.

Nas curvas de reflectância espectrais foram observadas as feições diagnósticas relacionadas à presença de componentes opticamente ativos. Além dessas observações diretas sobre curvas de reflectância, frequentemente tratadas na literatura, ainda existe a possibilidade de utilizar a técnica de extração de informação para evidenciar características dos componentes opticamente ativos de interesse. Com a finalidade de extrair informações úteis das curvas espectrais relacionadas com ficocianina, diversas técnicas de análises espectrais foram aplicadas.

Primeiramente, na tentativa de reduzir o comportamento aleatório da presença de ruídos, foi necessário realizar uma suavização das curvas de reflectância. Foram testados filtros de média móvel com três, cinco e sete pontos (TSAI e PHILPOT, 1998). Para o primeiro e segundo levantamentos a aplicação desse método foi suficiente para obtenção de curvas bem definidas. Contudo, nos terceiro e quarto levantamentos, devido o excesso de ruído das curvas espectrais, foi necessário aplicar outro método de filtragem baseado na frequência por transformada de Fourier (CERQUEIRA et al., 2000), implementado no aplicativo Origin Pro 8.6. O método remove componentes de alta frequência com uma janela móvel parabólica (ORIGINLAB, 2013). Para sua aplicação foi utilizada a janela do tipo hanning com amplitude

da janela 8 e 5, para o terceiro e quarto levantamentos, respectivamente. É importante ressaltar que o intervalo espectral para análise foi delimitado para o intervalo de 400 a 900 nm. Também foram descartadas curvas espectrais que aparentaram características espectrais de plantas aquáticas submersas. Os métodos de extração de informação espectral utilizados são descritos na sequência.

- **Análise derivativa**

A vantagem da aplicação de análise derivativa é a possibilidade de produzir dados menos sensíveis às componentes que causam variações indesejáveis na radiância detectada por um sensor e que se comportam como constantes aditivas e espectralmente independentes ao longo do intervalo espectral de interesse (RUDORFF, 2006).

Teoricamente a primeira derivada do espectro de reflectância em relação ao comprimento de onda $\lambda$, para um determinado ponto *n*, pode ser aproximada numericamente por um esquema de diferenças finitas usando a aproximação central ou simétrica. A equação (6) pode ser usada para estimar a primeira derivada de uma curva espectral (RUDORFF, 2006):

$$\left.\frac{ds}{d\lambda}\right|_n \approx \frac{\rho(\lambda_{n+1}) - \rho(\lambda_{n-1})}{2\Delta\lambda} \qquad (6)$$

no qual $\Delta\lambda$ é a separação entre bandas adjacentes; $\Delta\lambda = \lambda_j - \lambda_i$ para $\lambda_j > \lambda_i$, com o intervalo entre as bandas constante e $\rho(\lambda_n)$ é o valor da reflectância do espectro na faixa de comprimento de onda $\lambda_n$. A segunda derivada pode ser obtida aplicando-se a equação 1 na curva resultante da primeira derivada e assim por diante. Dessa forma, derivadas de altas ordens são calculadas iterativamente de modo que qualquer ordem de derivada é possível, com o uso da aproximação central simétrica.

Na análise derivativa, a reflectância espectral de um corpo d'água pode ser entendida como um sinal composto, representando a soma ponderada de três componentes: água, sólidos em suspensão e clorofila *a*. Cada componente tem um padrão ou assinatura espectral distinto, e a mistura destes padrões produz uma assinatura espectral do corpo d'água (GOODIN et al., 1993). Essa assinatura pode ser representada como um polinômio de ordem N, sendo que N varia diferentemente para cada componente. Então, pela diferenciação

sucessiva da assinatura espectral original, podem-se remover sistematicamente os efeitos dos componentes de menor ordem (GOODIN et al., 1993).

Goodin et al. (1993) mostram que o cálculo da primeira derivada permite a análise das principais feições de absorção, realçando feições espectrais relacionadas com sólidos em suspensão presentes na água, como em 720 nm. Já na segunda derivada, os valores refletem as variações de concentração de clorofila *a*.

Alguns autores que utilizaram análise derivativa em corpos d'água relatam a utilização da técnica para decompor espectros de ambientes aquáticos, visando discriminar os efeitos e quantificar a concentração de sólidos em suspensão[4] e clorofila *a* na água (GOODIN et al., 1993; DEKKER, 1993; RUNDQUIST et al., 1996; LOUCHARD et al., 2002; CHEN et al.,1992; TORRECILLA e PIERA, 2009). O presente trabalho prevê uma abordagem diferente, ao usar a técnica como uma tentativa de realçar as feições espectrais relacionadas ao pigmento ficocianina.

Neste contexto, para esta pesquisa, foram calculadas curvas derivadas de primeira e segunda ordem nos espectros disponíveis de cada levantamento de campo.

- **Razão de Bandas**

As razões de bandas, quando aplicadas a imagens multiespectrais, constituem-se de realces resultantes da divisão de valores de reflectância de uma banda espectral (*m*) pelos valores correspondentes em outra banda (*n*) pixel a pixel (Equação 7). Quando aplicadas a curvas espectrais, trata-se de uma ferramenta simples e efetiva para análise de dados espectrais (SCHOWENGERDT, 2006).

$$R_{mn}(x,y) = \frac{\rho_m(x,y)}{\rho_n(x,y)} \tag{7}$$

Esse método é frequentemente usado para discriminação de feições espectrais da cena, que são mascaradas pelas variações de brilho em uma banda espectral individual, ou em composições coloridas padrão (DEKKER, 1993). A maior vantagem da razão de bandas é que mantêm as características espectrais das feições da imagem, desconsiderando as variações decorrentes de condições de iluminação da cena (MUSTARD; SUNSHINE, 1999).

[4] O termo "sólidos em suspensão" se refere à fração tripton (partículas inorgânicas mais detrito). O termo clorofila refere-se à matéria orgânica viva (fitoplâncton).

Devido a sua simplicidade empírica, esse método é usado em ambientes aquáticos para estimar concentração da clorofila, sólidos em suspensão e matéria orgânica dissolvida, por meio de análises estatísticas diretas com dados limnológicos coletados em campo, gerando modelos que quantificam esses componentes (HOGE et al., 1987). Contudo, para que sua aplicação forneça resultados aceitáveis, em relação a componente opticamente ativa analisada, é necessário selecionar regiões espectrais que forneçam informações apenas da componente em análise (DEKKER, 1993).

Razões espectrais entre as feições de absorção e refletância observadas nas regiões do vermelho e infravermelho próximo (IVP), por exemplo, são muito utilizadas para a estimativa de clorofila *a* (GITELSON, 1992; GITELSON; RUNDQUIST et al., 1996, RUDDICK, 2001; YACOBI et al., 1995; HOGE et al., 1987). Ruddick et al. (2001) afirma que a feição de absorção ocasionada pela presença de clorofila *a* existente na região do vermelho (≈670 nm) é atrativa para a formulação de razões espectrais, em decorrência dessa região, minimizar interferências de absorção do tripton e da matéria orgânica dissolvida, principalmente em ambientes aquáticos com alto grau de turbidez.

Na literatura, as razões espectrais mais citadas e avaliadas para estimativa do pigmento ficocianina contemplam as feições espectrais presentes em 620 e 650 nm (MISHRA et al., 2009; DEKKER, 1993).

Segundo esses autores, a utilização da razão espectral nesses intervalos tem gerado resultados bastante robustos para a estimativa de concentração de componentes opticamente ativos na água; porém é necessário ter uma concentração mínima da componente em análise no ambiente aquático para que a estimativa seja acurada.

A Tabela 10 apresenta quatro razões observadas na literatura para estimativa de ficocianina e respectivas referências. Nessa pesquisa, para avaliar a relação das razões espectrais com a resposta da ficocianina, alguns dos modelos propostos da literatura sofreram ajustes, para utilização exclusiva da informação de reflectância. Assim, as propriedades ópticas inerentes (POIs) presentes na coluna d'água, considerada por muitos autores nos modelos foram retiradas, em virtude desse trabalho não dispor de dados de POIs.

Tabela 10 - Razões espectrais utilizadas na estimativa do pigmento fotossintetizante ficocianina

| Razão Espectral (nm) | Referências |
|---|---|
| 709/620 | Simis et al. (2005); Le et al. (2011) |
| 654/617 | Mishra et al. (2009); |
| 700/600 | Mishra et al. (2009) |
| (705– 620/705+620) | Gómez et al. (2011) |

Com o intuito de identificar outras informações relacionadas com o pigmento ficocianina por meio da razão de bandas, aplicou-se a técnica nos comprimentos de onda do intervalo de 600 a 700 nm. A região espectral foi delimitada com base nas observações feitas na literatura para identificação de ficocianina (DEKKER, 1993; KIRK, 1994; GITELSON et al., 1999). Assim, foi considerada a sequência de 600 a 700 nm no numerador, com variação de 600 a 700 nm no denominador, com o objetivo de contemplar o cálculo de razões em todas as combinações possíveis. Esta operação foi realizada no montante de curvas espectrais coletadas nos quatro levantamentos de campo.

Posteriormente, com a medida de concentração de ficocianina medida e as razões espectrais calculadas para cada ponto, foram computados os valores de coeficiente de correlação de Pearson (*r*). Para facilitar a análise, a partir da matriz de correlação resultante em módulo, geraram-se superfícies para cada levantamento de campo pela aplicação da técnica de interpolação do inverso ponderado da distância. O módulo foi utilizado na tentativa de facilitar a representação, pois algumas correlações resultam em valores negativos, dificultando a visualização da superfície.

- **Remoção do Contínuo**

A remoção do contínuo utiliza uma função matemática para isolar bandas de absorção particulares dos espectros de reflectância, permitindo qualificar feições contínuas e individuais dos espectros que retratam características intrínsecas dos alvos (CLARK et al., 2003; KRUSE et al., 1993). Sua aplicação é importante, pois permite destacar essas feições, reduzir os efeitos externos e identificar os elementos causadores (CLARK; ROUSH, 1984).

A remoção do contínuo se aplica sobre feições de absorção representadas por bandas que definem um conjunto de medidas de reflectância entre dois comprimentos de onda. Esta técnica normaliza a reflectância espectral de modo a permitir um melhor detalhamento das feições nas bandas de absorção, possibilitando a comparação das feições de absorção

individuais com valores de referência comuns. Diversos autores desenvolveram pesquisas utilizando a remoção do contínuo, nas mais diversas áreas do conhecimento, propondo melhorias e extensões ao método, dentre os quais podemos citar Clark e Roush (1984), Nobrega (2002), Kruse et al. (1993), Clark et al. (2003), Mutanga e Skidmore (2003); Kokaly e Clark (1999) e Curran et al. (2001).

A formulação matemática para a remoção do contínuo, denominada fator de reflectância do contínuo $\rho_{CR\lambda}$ pode ser expresso pela divisão do valor da reflectância $\rho_{Original\lambda}$ para cada banda da feição de absorção pela linha do espectro do contínuo (superfície convexa) $\rho_{contínuo\lambda}$. O $\lambda$ representa o comprimento de onda (Equação 8) (CLARK; ROUSH, 1984; MUTANGA E SKIDMORE, 2003; CLARK et al., 2003).

$$\rho_{CR\lambda} = \frac{\rho_{Original\lambda}}{\rho_{contínuo\lambda}}, \tag{8}$$

Vale ressaltar que o espectro do contínuo ($\rho_{contínuo\lambda}$) pode ser formulado matematicamente pela equação da reta, definida na equação (9), em que $\lambda$ representa o comprimento de onda para cada banda que define feição de absorção. O coeficiente angular (k) é definido pela Equação (10) e o coeficiente linear (w) é obtido pela equação (11), ajustadas aos limites superiores e inferiores de cada feição de absorção, definidos pelo analista (BREUNIG, 2007).

$$y = k\lambda + w \tag{9}$$

$$k = \frac{\rho_2 - \rho_1}{\lambda_2 - \lambda_1} \tag{10}$$

$$w = \frac{[\rho_1 \cdot (\lambda_2 - \lambda_1)] + [-\lambda_1 \cdot (\rho_2 - \rho_1)]}{\lambda_2 - \lambda_1} \tag{11}$$

no qual tem-se, $\rho_2$ representando a reflectância espectral observada no limite superior feição de absorção; $\rho_1$ a reflectância espectral observada no limite inferior da feição de absorção; $\lambda_2$ representa o comprimento de onda do limite superior da feição de absorção; e $\lambda_1$ o comprimento de onda do limite inferior da feição de absorção.

Uma feição de absorção destacada pela aplicação de remoção do contínuo possui vários parâmetros associados a ela, como: profundidade, posição, largura e assimetria. Esses

parâmetros servem como indicadores quantitativos das propriedades espectrais das amostras analisadas (NOBREGA, 2002).

A profundidade da banda (BD) para cada banda da feição de absorção, pode ser obtida pela equação (12) (KOKALY; CLARK, 1999; MUTANGA; SKIDMORE, 2003). A profundidade da banda de absorção, apresentada por Clark e Roush (1984), está associada à quantidade de energia absorvida:

$$BD = (1 - \rho_{CR\lambda}) \tag{12}$$

em que $\rho_{CR\lambda}$ é o fator de reflectância do contínuo para o comprimento de onda $\lambda$. A área da feição de absorção pode ser calculada por meio de uma aproximação numérica que considera a área do trapézio entre cada $\lambda$ discretizado pelo sensor em relação à profundidade da banda (BD), para os limites escolhidos das bandas de absorção:

$$A_b = \sum_{i=m}^{M} \frac{(BD_i + BD_{i-1})}{2} \cdot (\lambda_i - \lambda_{i-1}) \tag{13}$$

em que, $A_b$ é a área da feição de absorção; e $i$ representa o passo de cálculo que vai de *m*, limite inferior da feição de absorção a $M$, limite superior.

Para o cálculo de alguns parâmetros, é necessário definir a posição de um $\lambda$ de referência, representativo das bandas de absorção que irão formar a feição de absorção. Pu et al. (2003) optaram pela utilização da profundidade máxima da feição de absorção. Assim, o valor da largura da feição de absorção foi obtido na metade da profundidade máxima da feição, como representa Figura 29.

A assimetria é definida pela razão da soma dos valores de reflectância para as bandas da feição de absorção à direita do $\lambda$ de referência, e pela soma dos valores de reflectância para as bandas de feição de absorção à esquerda do $\lambda$ de referência. Assim, feições de absorção simétricas possuem assimetria com valor zero (a área da esquerda e da direita do $\lambda$ de referência são iguais). Bandas de absorção que são assimétricas em direção a menores comprimentos de onda têm assimetria negativa, enquanto bandas que têm assimetria em direção a altos valores de comprimentos de onda têm assimetria positiva (KRUSE et al., 1993).

As informações derivadas da aplicação deste método são disponibilizadas na forma de tabelas com os valores dos parâmetros e sob forma de curvas do contínuo removido. Assim, esses dados podem ser comparados com outros e determinar, se as feições de absorção extraídas do espectro representam o material e a composição dos alvos em análise, ou se são somente

resultantes da presença de ruídos. Para melhor entendimento, a Figura 29 representa uma aplicação do contínuo removido com a apresentação de alguns parâmetros.

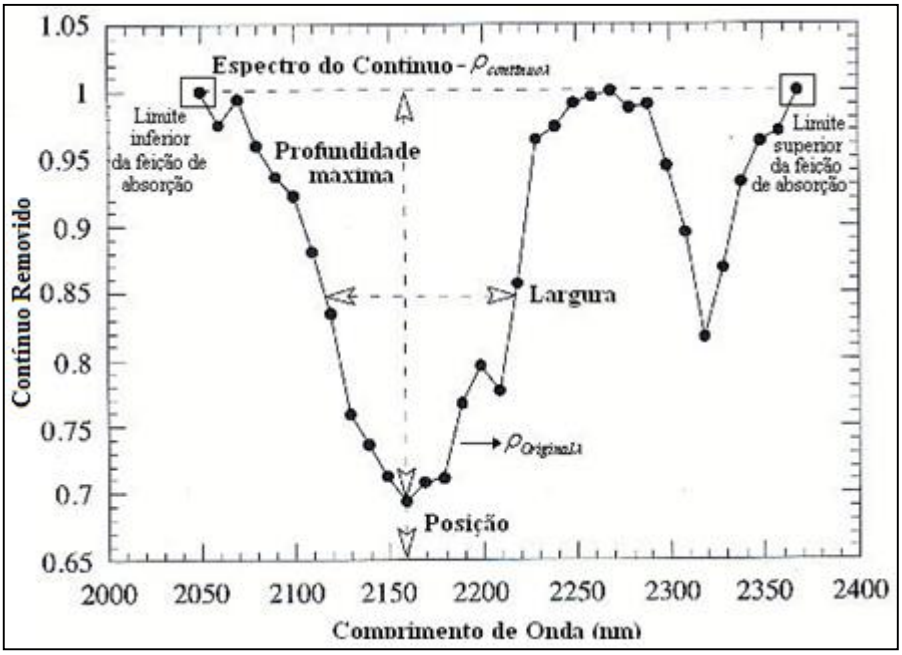



Figura 29 - Aplicação do contínuo removido e a apresentação de alguns parâmetros
Fonte: Adaptado de Schowengerdt (2006)

A técnica da remoção do contínuo foi aplicada nesta pesquisa para realçar feições espectrais que apresentam relação com a presença do pigmento ficocianina. De acordo com a literatura, a ficocianina possui a particularidade de absorver predominantemente na região espectral próxima a 615 nm (KUTSER et al., 2006; VICENT, 2004; WEAVER e WRIGLEY, 1994; RANDOLPH et al., 2008; RICHARDSON, 1996). De acordo com Dekker (1993) para a estimativa da concentração de ficocianina, também se pode utilizar as medidas espectrais centradas em 600, 624 e 648 nm. Considerando as referências anteriores, procurou-se identificar nas curvas espectrais obtidas nos levantamentos de campo, feições de absorção posicionadas nesses pontos para aplicação da técnica. A Tabela 11 indica os limites das feições de absorção e o comprimento de onda ( $\lambda$ ) central selecionados como referência neste trabalho.

Tabela 11- Feições de absorção e comprimento de onda ( $\lambda$ ) central de cada banda de absorção considerada

| Feições de Absorção | Central $\lambda$ (nm) | Limite inferior $\lambda$ (nm) | Limite superior $\lambda$ (nm) |
|---|---|---|---|
| 1º Feição de absorção | 600 | 590 | 610 |
| 2 º Feição de absorção | 627 | 610 | 645 |

As feições de absorção apresentadas na Tabela 11 passaram por processamentos para a obtenção das curvas com contínuo removido. As feições de absorção mencionadas nessa tabela foram centradas nos comprimentos de onda que mantiveram menores valores de reflectância e que, desse modo, indicaram maior absorção. A primeira feição de absorção foi considerada, pelo fato de ter sido citada por Dekker (1993) e por se mostrar bem definida nas curvas espectrais obtidas.

Na Figura 30, representa-se o espectro de reflectância obtido para o ponto 36 no segundo levantamento com os limites dos intervalos das feições de absorção selecionadas.

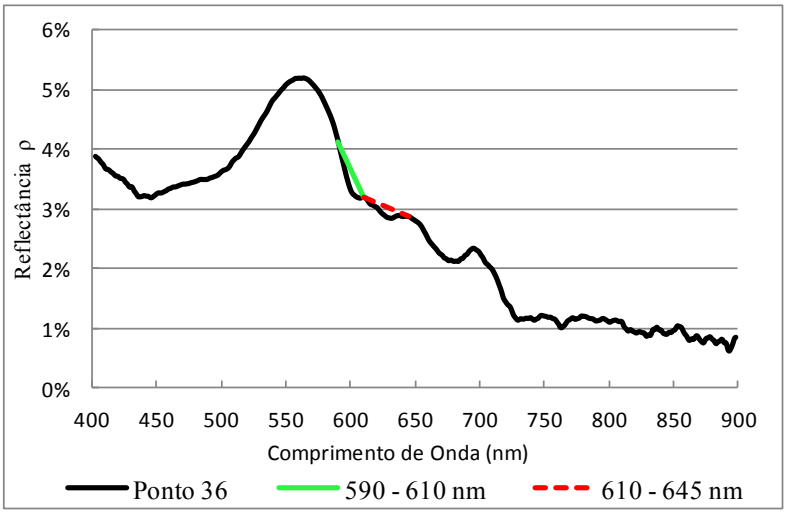



Figura 30- Espectro de reflectância (exemplo sobre o ponto 36 do segundo levantamento) com os limites dos intervalos e visualização dos intervalos: 1: 590-610 nm; 2: 610-645nm.

### *4.3.6. Detecção da ficocianina por Sensoriamento Remoto orbital*

A estimativa de COAs por meio dos valores de reflectância medidos *in situ*, além de permitir uma maior representatividade espacial da variável desonera os custos do projeto com a redução das análises de laboratório. No caso de dados orbitais, as vantagens são ainda maiores pois, além da diminuição dos custos, é possível garantir uma maior abrangência espacial dos pontos de coleta e realizar estudos multitemporais (BARBOSA, 2005).

Para essa pesquisa, primeiramente, na tentativa de observar a relação existente entre as informações de reflectância espectral com a ocorrência de cianobactérias, foi realizada uma análise criteriosa as informações de reflectância obtidas com o espectrorradiômetro de campo. Posteriormente, optou-se por trabalhar com imagens de satélite para obtenção de informações de toda a área de estudo, dada a possibilidade de aquisição periódica desses dados. As imagens avaliadas foram as obtidas pelos sistemas orbitais MODIS, obtidas gratuitamente e RapidEye, adquirida comercialmente. Esse tipo de análise foi estimulada pelos estudos realizados por

Vicent et al. (2004), em que foi gerado um modelo a partir de bandas do sensor LANDSAT TM e ETM. Os resultados dessa pesquisa foram promissores para estimativa de blooms, apesar do amplo intervalo das bandas.

- **Tratamento da imagem RapidEye**

As cenas do sistema RapidEye foram utilizadas, devido à sua disponibilidade em virtude do governo federal ter adquirido essas imagens para o monitoramento do uso e ocupação do solo em todo o Brasil no ano de 2011 e pela expectativa da aquisição de novas cenas para os próximos anos. Além disso, sua resolução temporal, espectral, radiométrica e espacial pode fornecer dados úteis no monitoramento de pequenos corpos d'água interiores. Sua resolução temporal é diária; a resolução espacial, de 5 metros (categoria 3A), permite uma boa visualização de corpos d'água maiores que 0,02 hectares; a resolução radiométrica de 12 bits possibilita uma discriminação de 4096 diferentes variações na intensidade do sinal, mesmo que a resolução espectral não seja totalmente promissora para a discriminação de cianobactérias, por intermédio da detecção da ficocianina.

Para relacionar os dados obtidos nos levantamentos de campo com os dados sensoriados por satélite, é importante que haja simultaneidade na aquisição entre esses dados em decorrência do caráter extremamente dinâmico dos ambientes aquáticos. Assim, procurou-se adquirir imagens em datas o mais próximo possível aos levantamentos de campo. A Tabela 12 apresenta as datas de tomada das cenas e de realização dos levantamentos de campo, além da defasagem temporal entre elas.

Tabela 12 - Datas dos levantamentos de campo e aquisição das imagens RapidEye

| Levantamentos de Campo | Data do levantamento | Data da aquisição das imagens | Defasagem em dias |
|---|---|---|---|
| 1° | 13/12/2011 | Imagem não disponível | Imagem não disponível |
| 2° | 15 e 16/02/2012 | 16/02/2012 | 1 dia |
| 3° | 28/03/2012 | 26/03/2012 | 2 dias |
| 4° | 18/09/2012 | 03/10/2012 | 15 dias |

As imagens utilizadas consistiram em produtos ortorretificados e os números digitais corrigidos para radiância no nível do satélite. No processo de correção dos efeitos atmosféricos, utilizou-se o módulo FLAASH (*Fast Line-of-sight Atmospheric Analysis of Spectral Hypercubes*) que tem como base o modelo de transferência radiativa MODTRAN4 (*MODerate resolution atmospheric TRANsmittance and radiance code*), disponível

comercialmente no *software* ENVI 4.4. As imagens processadas pelo FLAASH devem estar em μW/cm²*sr*nm, por isso foi necessário a conversão das imagens RapidEye Nivel 3 em Níveis Digitais (ND), originalmente em 1/100 de W/m²*sr*μm. Na conversão para μW/cm²*sr*nm foi utilizado um fator de escala 10.

Em seguida foram fornecidos alguns parâmetros como: coordenada central da área de estudo, altitude do sensor, altitude da região, tamanho do pixel, e dados da aquisição da imagem (dia e hora da aquisição, ângulo zenital e azimutal do sensor). Definiu-se como modelo atmosférico o "tropical" e como modelo de aerossol o "rural". A visibilidade utilizada foi em torno de 40 km a 50 km.

Um arquivo ASCII com as coordenadas de todos os pontos de coleta dos dados limnológicos foi sobreposto às imagens para identificar os pixels coincidentes com os pontos de coleta dos dados limnológicos, dos quais foram extraídos, valores de reflectância de superfície em cada banda do sensor. A correlação entre os valores de reflectância e ficocianina e clorofila *a*, foi avaliada e, posteriormente, foram calculados modelos de regressão e respectivos coeficientes de determinação.

- **Tratamento da imagem MODIS**

As imagens MODIS, produtos MOD09A1, foram obtidas em datas próximas a cada um dos quatro levantamentos de campo. O objetivo foi verificar se as informações espectrais derivadas da imagem MODIS poderiam indicar a variação na atividade fitoplanctônica, relacionada com a ocorrência de cianobactérias.

Em virtude de a área de estudo envolver uma região muito pequena, sua representação em imagens MODIS de resolução espacial de 500 metros é prejudicada. Assim, foi possível o aproveitamento de apenas alguns pontos no esquema amostral elaborado para coleta de dados em campo. Dessa forma foi realizada uma adequação dos valores obtidos em campo com as informações espectrais extraídas da imagem. No total foram aproveitados 13 dos 30 elementos amostrais estimados inicialmente. A Figura 31 apresenta os pontos que foram mantidos no esquema amostral.

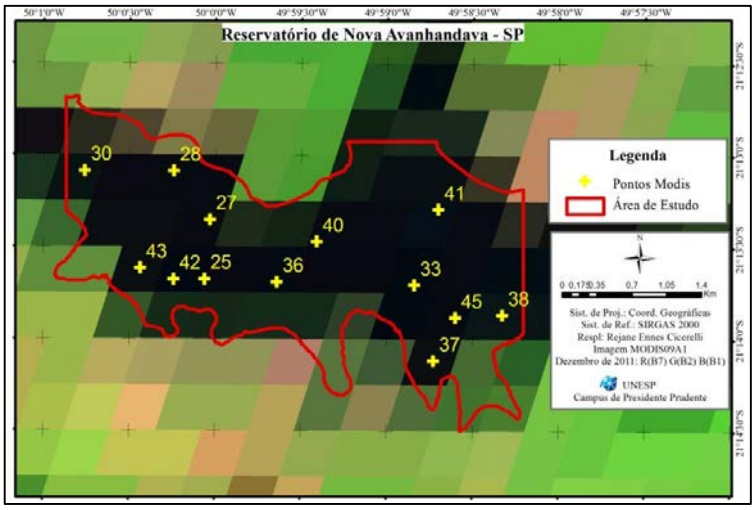



Figura 31- Visualização dos pontos coletados em campo passíveis de extração de informações espectrais na imagem MODIS (R7G2B1).

Assim, os valores espectrais das bandas 4, 3 e 1 dos pixels cuja sobreposição fosse equivalente aos pontos, mostrados na Figura 31, foram utilizados para testar a relação existente entre as informações espectrais obtidas nas imagens e a concentração de ficocianina e clorofila *a* estimada em campo. Para obter um indicativo de variação temporal das imagens relacionada com a concentração de ficocianina e clorofila *a* foi realizada uma análise temporal a partir da média dos pontos medidos em campo e dos pixels das imagens representativos desses pontos em cada levantamento. A seguir apresentam-se as datas de aquisição das cenas MODIS (Tabela 13).

Tabela 13 - Datas dos levantamentos de campo e da aquisição das imagens MODIS

| Levantamentos de Campo | Data do levantamento | Data de geração do MOD09 | Defasagem em dias |
|---|---|---|---|
| 1° | 13/12/2011 | 19/12/2011 | 6 dias |
| 2° | 15 e 16/02/2012 | 10/02/2012 | 5 dias |
| 3° | 28/03/2012 | 21/03/2012 | 7 dias |
| 4° | 18/09/2012 | 21/09/2012 | 3 dias |

Destaca-se que a periodicidade da geração do produto MOD09 é de 8 dias. Assim, foram selecionadas imagens mais próximas à data da execução do trabalho de campo e que ainda não apresentassem cobertura de nuvens.

### *4.3.7. Análise de correlação*

Teoricamente, correlação refere-se a uma associação numérica entre variáveis, ou seja, quando duas ou mais variáveis estão relacionadas e as alterações sofridas por uma são acompanhadas por alterações proporcionais das outras (BARBETTA et al., 2008).

Os coeficientes de correlação linear de *Pearson*, que descrevem a correlação linear simples entre duas variáveis aleatórias, foram calculados em diversas ocasiões na pesquisa. Primeiramente foram avaliadas correlações existentes entre a concentração de ficocianina e clorofila *a*, obtidas por fluorescência, com o intuito de observar se as variáveis apresentam comportamento sazonal similar.

Posteriormente, as grandezas radiométricas, tanto as obtidas por espectrorradiômetro, quanto as obtidas por imagens foram correlacionadas com a concentração de COAS, inclusive ficocianina. Também foram observadas as correlações entre os parâmetros resultantes da aplicação de técnicas de análises espectrais (análise derivativa, razão de bandas e remoção do contínuo) com a concentração de ficocianina. No caso de dados radiométricos e os derivados dispostos ao longo do espectro eletromagnético, foram gerados correlogramas que relacionaram as respostas espectrais com concentração de ficocianina, considerando os pontos levantados para cada levantamento de campo realizado.

Para a identificação de coeficientes de correlação significativos, ou seja, coeficientes de correlação resultantes, capazes de garantir a dependência entre dados espectrais e pigmentos fitoplanctônicos, considerando o número de elementos amostrais e o grau de significância, foi utilizado o teste significância de Fisher. Esse teste considera a hipótese da existência de correlação entre dados espectrais e amostras de variáveis limnológicas. Fisher definiu que a estatística desse teste é dada pela seguinte equação (10) (BUSSAB; MORETTIN, 1987):

$$t = r\sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}}\,, \tag{10}$$

em que $t$ representa a distribuição $t$ de Student, com $n$-2 graus de liberdade e $r$ o coeficiente de correlação. A partir desse teste, aplicado com nível de significância de 1% (p-valor < 0,01) e limiar de aceitação de 99 % e considerando o número de elementos amostrais disponíveis após o refinamento dos dados, tem-se para cada campo o valor de correlação aceitável, de acordo com a Tabela 14.

Tabela 14 - Valores de correlação significativos, considerando o número de elementos amostrais utilizados.

| **Levantamentos de Campo** | **Número de pontos utilizados** | **Correlação significativa** |
|---|---|---|
| 1° Levantamento – Ficocianina e variáveis limnológicas físico químicas | 11 | > 0,68 |
| 1° Levantamento – Clorofila *a* | 6 | > 0,88 |
| 2° Levantamento | 30 | > 0,42 |
| 3° Levantamento | 27 | > 0,44 |
| 4° Levantamento | 18 | > 0,56 |

# 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesse capítulo, os resultados são apresentados conforme a sequência apresentada no fluxograma de atividades (Figura 20). Assim são discutidos os resultados obtidos para cada objetivo específico da pesquisa.

## 5.1. Condições meteorológicas e variáveis limnológicas nos levantamentos de campo

As águas doces da Classe 2, classificação na qual se enquadram as águas do reservatório de Nova Avanhandava (CETESB, 2012), são destinadas, de acordo com a resolução CONAMA n° 357/2005; (a) ao consumo humano após tratamento convencional; (b) à proteção das comunidades aquáticas; (c) à recreação de contato primário (natação, esqui, mergulho); (d) à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, (e) à aquicultura e à atividade de pesca. Portanto, precisam atender a condições e padrões de qualidade estabelecidos por essa resolução, alguns dos quais, são analisados no presente trabalho. A seguir, mostram-se avaliações detalhadas dos levantamentos de campo realizados para algumas variáveis limnológicas de fácil aquisição. Em seguida, os resultados serão discutidos conjuntamente na tentativa de melhor compreender os fenômenos temporais observados no reservatório.

- **1° Levantamento de Campo**

No dia 12 de dezembro de 2011, quando foi realizado o 1° Levantamento de campo no Reservatório de Nova Avanhandava, o céu se apresentava sem nuvens, sendo que não houve precipitações de chuva nesse período. Os ventos possuíam baixa velocidade e por isso a superfície da água não estava agitada. Os dados climáticos obtidos nos dias do levantamento de campo são apresentados na Tabela 15. Essas medidas foram obtidas da estação climatológica de Cantanduva, localizada a cerca de 120 Km do reservatório, sendo a estação mais próxima do reservatório com informações disponíveis para essa época.

Tabela 15 - Variáveis meteorológicas no dia do 1° levantamento de campo (12/12/2012).

| **Estação:** CATANDUVA-83676 | |
|---|---|
| **1° Levantamento de Campo** | |
| Temp. Max.: 30,68 ºC | Velocidade do vento: 6,73 km/h |
| Temp. Min.: 20,2 ºC | |

De acordo com a Tabela 15, a temperatura foi típica da estação de verão com baixa velocidade do vento, de acordo com a escala de Beaufort[5], como observado em campo. A Tabela 16 apresenta os valores resultantes das medições das variáveis físico-químicas. De modo geral, os dados limnológicos apresentaram valores homogêneos em toda a área pesquisada.

Tabela 16 - Variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no primeiro levantamento de campo (12/12/2011)

| **Variáveis Limonológicas** | **Máximo** Valor | **Mínimo** Valor | **Média** | **Desvio Padrão** | **Coeficiente de Variação %** | **Referência CONAMA*** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperatura (°C) | 31,5 | 29,5 | 30,2 | 0,51 | 2 | - |
| pH | 6,3 | 5,2 | 5,78 | 0,3 | 5 | 6,0 a 9,0 |
| Oxigênio Dissolvido (mg/L) | 9,5 | 7 | 8,44 | 0,52 | 6 | > 5 mg/L |
| Turbidez (UNT) | 13,3 | 9 | 10,84 | 0,91 | 8 | 100 UNT |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 3 | 2,2 | 2,64 | 0,22 | 8 | - |

* valores de referência segundo a resolução CONAMA 357/2005 para classe II

A temperatura média da água foi de 30,2ºC, com baixa turbidez. Já para a variável profundidade do disco de Secchi foi de 2,64 metros, porém, em alguns locais não foi possível sua aquisição, uma vez que este se encontrava limitado pelo fundo do reservatório ou pela presença de plantas aquáticas. Esse problema também ocorreu em outros levantamentos de campo. O pH, entre 5,2 e 6,3 também apresentou valores dentro do padrão estabelecido como referência.

Nesse levantamento foram coletadas amostras de água para identificar as espécies fitoplanctônicas e a densidade total da comunidade fitoplanctônica em dois elementos amostrais. Para isso, a amostra foi preservada com solução lugol e encaminhada para análise laboratorial. A identificação de grupos algais, bem como as relações de dominância presentes em cada amostra, tiveram como objetivo auxiliar na interpretação dos resultados obtidos, além da possibilidade de indicação da presença de gêneros potencialmente tóxicos. As Figuras 32 e 33 apresentam a lista de grupos e gêneros de fitoplânctons, identificados nos pontos 47 e 15, respectivamente, em termos de concentração de indivíduo por ml/L (Ind ml-l) e proporção de ocorrência, pelo método de contagem Utermõhl, citado por Uhelinger (1964).

[5] Escala de Beaufort foi criada no século XIX por Francis Beaurfot e classifica a intensidade dos ventos de 0 (calmo - < 1,08 km/h) a 12 (Furacão>117,72 km/h/s).

| Grupo | *Genêro* | Ind ml-1 |
|---|---|---|
| Cryptophyceae | *Rhodomonas cf minuta* | 55 |
| Bacillariophyceae | *Aulacoseira sp* | 7 |
| | *Navicula sp* | 7 |
| | *Synedra sp* | 7 |
| Chlorophyceae | *Eutetramorus sp* | 7 |
| | *Oocystis cf marssonii* | 7 |
| Cyanophyceae | *Anabaena cf viguieri* | 55 |
| | *Cylindrospermopsis sp* | 42 |
| | *Doliichospermum spiroides* | 14 |
| | *Merismopedia sp* | 7 |
| | *Microcystis sp* | 104 |
| | *Pseudanabaena sp* | 7 |
| | *Spirogyra sp* | 7 |
| Zygnemaphyceae | *Gonatozygon pilosum* | 48 |

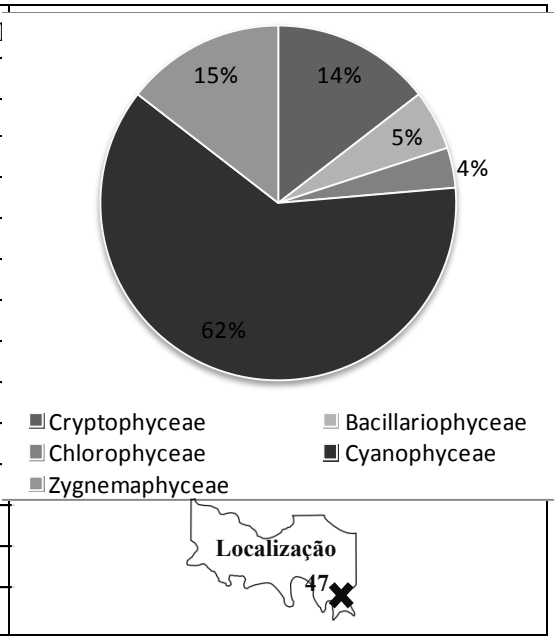



Figura 32 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 1° levantamento para o Ponto 47

| Grupo | *Genêro* | Ind ml-1 |
|---|---|---|
| Cryptophyceae | *Rhodomonas cf minuta* | 67 |
| Bacillariophyceae | *Aulacoseira sp* | 30 |
| | *Navicula sp 1* | 7 |
| Chlorophyceae | *Elakatothrix sp* | 7 |
| | *Scenedesmus sp* | 7 |
| Crysophyceae | *Synura sp 1* | 7 |
| Cyanophyceae | *Anabaena cf crassa* | 7 |
| | *Anabaena cf viguieri* | 52 |
| | *Cylindrospermopsis sp* | 185 |
| | *Microcystis sp* | 52 |
| | *Pseudanabaena sp* | 30 |
| Euglenophyceae | *Mallomonas sp* | 15 |

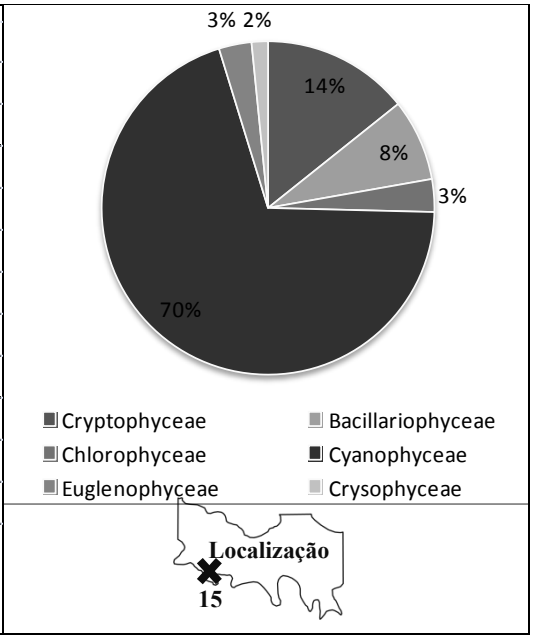



Figura 33 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 1° levantamento para o Ponto 15

Nota-se, pelas Figuras 32 e 33 que as duas amostras de água apresentam maior quantidade de indivíduos do grupo de cianobactérias (*Cyanophyceae*). Contudo, a concentração total da comunidade fitoplanctônica nos dois pontos foram similares e característicos de um ambiente pouco impactado. Foram identificados gêneros potencialmente tóxicos, tais como a *Microcystis sp*, a *Cylindrospermopsis sp*, a *Anabaena sp*, *Pseudanabaena sp, Doliichospermum spiroides*. Estes gêneros de cianobactérias têm como alvo primário em mamíferos o fígado, o nervo simpático, a pele, o trato gastrointestinal e órgãos múltiplos, tais como o rim, baço, coração e timo (CETESB, 2013).

- **2° Levantamento de Campo**

O segundo levantamento de campo foi realizado nos dias 15 e 16 de fevereiro de 2012, com a expectativa de se observar o florescimento de cianobactérias. De fato, no primeiro dia visualizaram-se regiões com alta ocorrência de algas, como mostra a Figura 34. Nesse primeiro dia, o céu apresentava-se nublado, impossibilitando a obtenção de curvas de reflectância espectral. Assim, optou-se por iniciar o levantamento no dia seguinte. No entanto, antes das coletas, o reservatório passou por um longo período de precipitação (aproximadamente 2,8 mm nas 24 horas anteriores a realização do levantamento de campo), o que auxiliou na dissolução do fitoplâncton. Ainda assim, no dia da coleta, os valores obtidos foram de uma área eutrofizada. As condições meteorológicas nos dias do levantamento de campo são apresentadas na Tabela 17. Os dados são da estação José Bonifácio, disponibilizado pelo INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), localizada a cerca de 40 Km do reservatório.

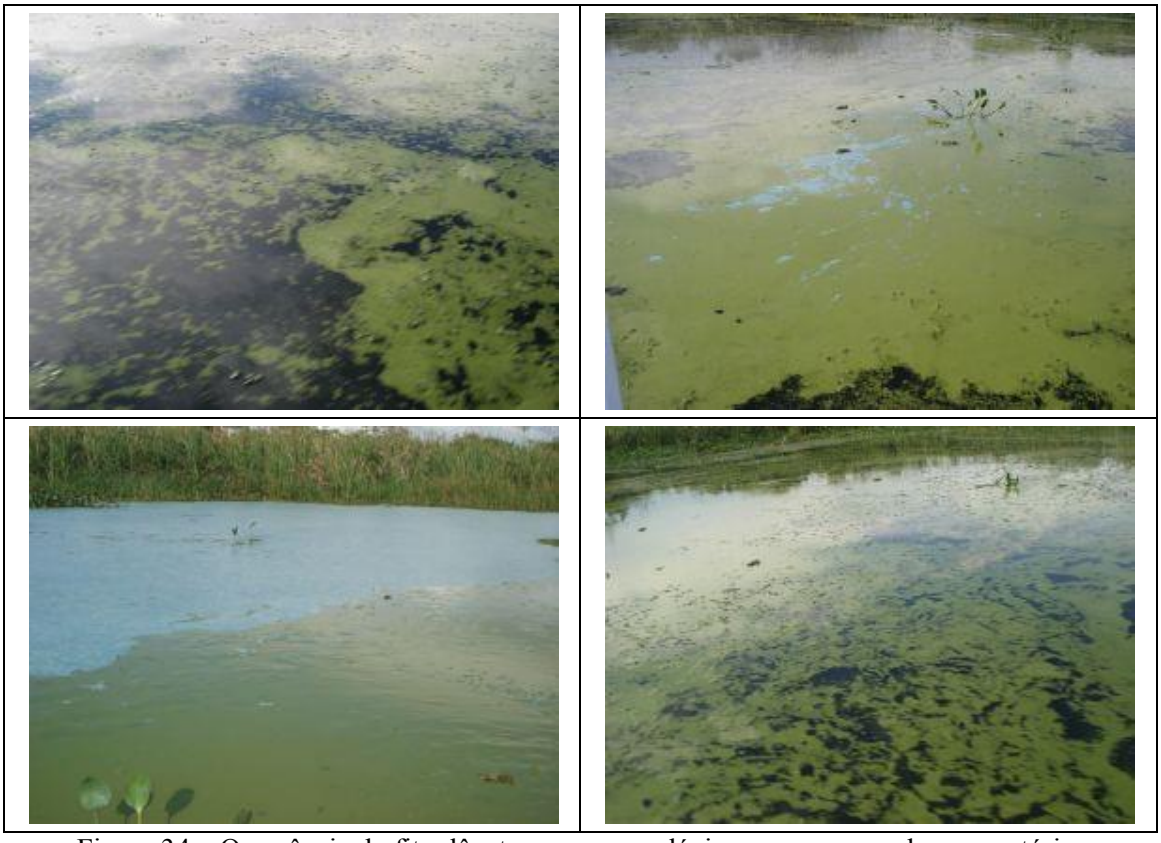


Figura 34 – Ocorrência do fitoplâncton na zona pelágica nas margens do reservatório.

Tabela 17 - Condições meteorológicas no dia do 2° levantamento de campo (16/02/2012).

| **Estação:** JOSE BONIFACIO-A735/ | |
|---|---|
| **2° Levantamento de Campo** | |
| Temp. Max.: 24 ºC | Vento Dir: 102° |
| Temp. Min.: 22 ºC | Velocidade do vento: 9 km/h |
| Umidade: 70% | Precipitação no mês da coleta: 12,4 mm |

Fonte: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas

De acordo com a Tabela 17 e dados observados no dia, o tempo estava instável com a presença de nuvens e chuvas esporádicas durante o levantamento. A velocidade do vento foi leve, de grau 2, de acordo com a escala de Beaufort[6] com direção nordeste. A Tabela 18 apresenta um resumo dos valores das variáveis limnológicas amostrados em campo.

Tabela 18 - Variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no segundo levantamento de campo (16/02/2012).

| Variáveis Limonológicas | Máximo | Mínimo | Média | Desvio Padrão | Coeficiente de Variação % | Referência * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperatura (°C) | 31,4 | 28,1 | 29 | 0,81 | 2 | - |
| pH | - | - | - | - | - | 6,0 a 9,0 |
| Oxigênio Dissolvido ($Mg.L^{-1}$) | 7,1 | 1 | 5,94 | 1,34 | 22 | > 5 mg/L |
| Turbidez (UNT) | 68,1 | 10,5 | 23,73 | 31,18 | 1,31 | 100 UNT |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 3,4 | 1 | 2,58 | 0,62 | 24 | - |
| Condutividade (µS/cm) | 182,4 | 161,9 | 176,87 | 4,18 | 2 | |

* valores de referência segundo a resolução CONAMA 357/2005 para classe II

Observa-se pela Tabela 18 que essa data foi caracterizada pela água com alta temperatura, condição ideal para proliferação do fitoplâncton, além da pequena variação, com valores típicos de regiões tropicais. Segundo Eliott (2012), devido à habilidade de algumas cianobactérias de fixar nitrogênio, estes ganham vantagens sobre outros grupos fitoplanctônicos em condições de limitação do nitrogênio causado por águas mais quentes, aumentando suas taxas de crescimento na primavera e o consumo de nutrientes.

Os valores de oxigênio dissolvido (OD) foram mais baixos, quando comparados com os outros levantamentos de campo, sendo que, em alguns pontos foi menor que o limiar permitido para a classe de qualidade da água do reservatório. As reduções na concentração são associadas ao consumo pela decomposição de matéria orgânica (oxidação), perdas para a

[6] Escala de Beaufort foi criada no século XIX por Francis Beaurfot e classifica a intensidade dos ventos de 0 (calmo - < 0,3m/s) a 12 (Furacão>32,7m/s).

atmosfera, respiração de organismos aquáticos e oxidação de íons metálicos como, por exemplo, o ferro e o manganês. O oxigênio dissolvido também diminui com o aumento da temperatura, por isso os valores devem ser maiores durante o inverno e menores durante o verão (ESTEVES, 1998). Observou-se também que durante a ocorrência de florações de fitoplânctons forma-se uma camada de vários centímetros de espessura na superfície da água, que impede a penetração de luz (Figura 34), isso limita a reprodução e a vida de outras espécies, interrompendo o contato da água com o ar e diminuindo a quantidade de OD.

Segundo a Cetesb (2012) para a condutividade, em geral, níveis superiores a 100 µS/cm indicam ambientes impactados. A turbidez também não atendeu o limite de referência da Cetesb e nos pontos indicados com altas concentrações de turbidez, observaram-se altas concentrações de clorofila *a* e ficocianina. Geralmente, em florações de algas tóxicas, durante o período diurno o pH é muito alto (9,5 a 11,0) (ESTEVES, 1998), porém, infelizmente neste período não foi possível a coleta de pH.

Nesse levantamento também foi feita a identificação de grupos fitoplanctônicos e avaliada a densidade total da comunidade fitoplanctônica em dois elementos amostrais. Nas Figuras 35 e 36 são mostrados os grupos e gêneros de fitoplânctons encontrados nos pontos 47 e 15, sua densidade estimada (em Ind ml/L), bem como a proporção de ocorrência.

| ***Grupo*** | ***Genêro*** | **Ind ml-1** |
|---|---|---|
| Bacillariophyceae | *Aulacoseira sp1* | 23 |
| | *Trachelomonas sp1* | 61 |
| | *Trachelomonas sp2* | 31 |
| Cryptophyceae | *Cryptomonas cf brasiliensis* | 8 |
| | *Rhodomonas cf minuta* | 291 |
| Cyanophyceae | *Cyanodictyon sp1* | 774 |
| | *Merismopedia* | 15 |
| | *Microsystis sp* | 437 |
| | *Microsystis sp2* | 77 |
| | *Microsystis sp3* | 77 |
| | *Oscillatoria sp* | 15 |
| | *Pseudanabaena sp1* | 23 |
| Dinophyceae | *Peridinium* | 23 |
| Zygnemaphyceae | *Sirogonium sp* | 17 |

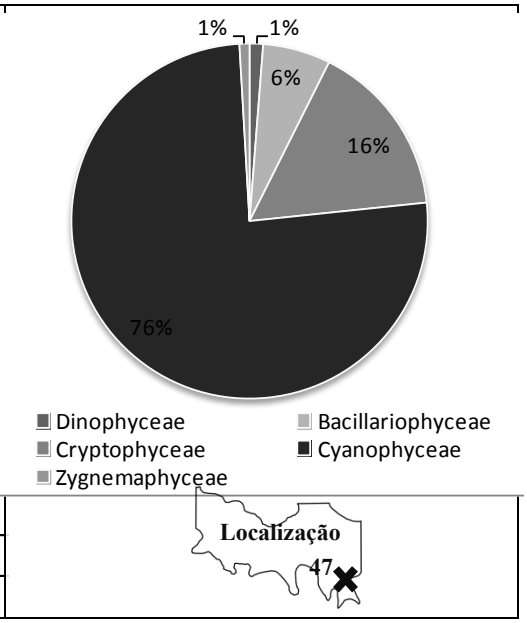



Figura 35 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 2° levantamento para o Ponto 47

| *Grupo* | *Genêro* | Ind ml-1 |
|---|---|---|
| Bacillariophyceae | *Aulacoseira sp1* | 26 |
| | *Caloneis sp* | 34 |
| | *Trachelomonas sp1* | 163 |
| Chlorophyceae | *Asterococcus cf limneticus* | 34 |
| | *Eutetramorus sp1* | 9 |
| Cryptophyceae | *Rhodomonas cf minuta* | 566 |
| Cyanophyceae | *Microsystis sp* | 1090 |
| | *Microsystis sp2* | 94 |
| | *Microsystis sp3* | 51 |
| | *Pseudanabaena sp1* | 86 |
| Euglenophyceae | *Mallomonas sp2* | 17 |
| Zygnemaphyceae | *Gonatozygon pilosum* | 26 |
| | *Sirogonium sp* | 9 |

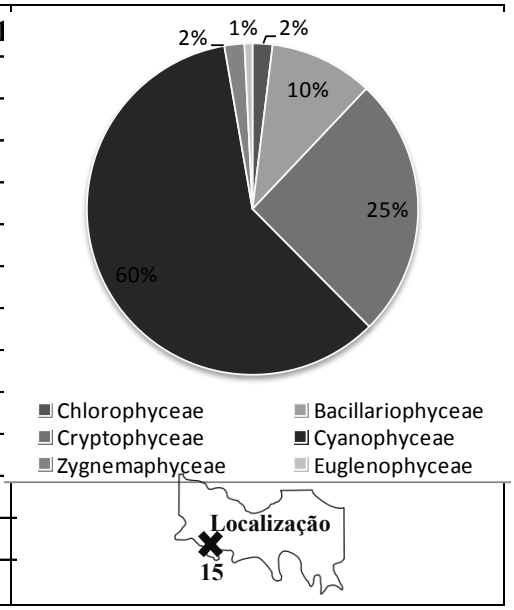



Figura 36 - Identificação de espécies fitoplanctônicas do 2° levantamento para o Ponto 15

Nota-se, a partir das Figuras 35 e 36, que as duas amostras de água apresentam gêneros potencialmente tóxicos com concentrações estimadas muito maiores que no primeiro levantamento de campo e com certa heterogeneidade entre os pontos analisados. A concentração de *Microsystis*, por exemplo, foi dez vezes superior, além de se observar a ocorrência de outros gêneros. O grupo de cianobactérias (*cyanophyceae*) domina o ambiente com proporção maior que 60%, tanto no primeiro, quanto no segundo levantamento. Dentre os principais gêneros presentes, podemos citar como dominantes, a *Microcystis*, a *Rhodomona*, e a *Cyanodictyon sp1*. No verão, os corpos d'água apresentam-se estratificados. Uma das conseqüências principais deste fenômeno é o empobrecimento da zona eufótica em nutrientes. Muito embora as condições de luminosidade sejam ótimas, o fator limitante para o desenvolvimento do fitoplâncton neste período são os nutrientes. Em consequência, pode ocorrer desenvolvimento somente moderado do fitoplâncton no verão, com a predominância de cianoficeas, em lagos eutróficos, que podem chegar a formar floração (ESTEVES, 1998).

- **3° Levantamento de Campo**

O terceiro levantamento de campo foi realizado no dia 28 de março de 2012. O fim do mês de março é representativo do fim do período de chuvas e início do período da seca, quando a área de estudo apresentou poucos organismos fitoplânctonicos visíveis e comportamento da água homogêneo. O início dos levantamentos foi previsto para 26 de março, porém, o dia amanheceu chuvoso e nublado, assim como o dia seguinte. O aspecto da água no

dia 28/03/2012 é mostrado na Figura 37, enquanto que as condições meteorológicas no mês do levantamento são apresentadas na Tabela 19.

Figura 37 – Aparência da água no reservatório no terceiro levantamento de campo.

Tabela 19 - Variáveis meteorológicasno dia do 3° levantamento de campo (28/03/2012).

| **Estação:** JOSE BONIFACIO-A735 | |
|---|---|
| **3° Levantamento de Campo** | |
| Temp. Max.: 24,5 ºC | Vento Dir: 250,3° |
| Temp. Min.: 23 ºC | Vento Vel: 9 km/h |
| Umidade: 62% | Precipitação no mês da coleta: 44,6 mm |

Fonte: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas

De acordo com a Tabela 19 e as observações realizadas no dia, não houve ocorrência de chuvas e havia poucas nuvens. A velocidade do vento foi leve, de grau 2, de acordo com a escala de Beaufort, com direção sudoeste. Outra característica importante foi a alta precipitação do mês. Segundo Esteves (1998), a uma associação entre a ocorrência de chuvas e ventos causando maior heterogeneidade da distribuição horizontal e vertical do fitoplâncton em reservatórios. A Tabela 20 apresenta um resumo das medidas das variáveis limnológicas amostrados em campo.

Tabela 20 - Resumo das variáveis físico-químicas medidas no reservatório de Nova Avanhandava no terceiro levantamento de campo (28/03/2012).

| **Variáveis Limonológicas** | **Máximo** | **Mínimo** | **Média** | **Desvio Padrão** | **Coeficiente de Variação%** | **Referência *** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperatura (°C) | 30,8 | 29,1 | 29,78 | 0,37 | 1 | - |
| pH | - | - | - | - | - | 6,0 a 9,0 |
| Oxigênio Dissolvido ($Mg.L^{-1}$) | 8,6 | 5 | 7,13 | 0,77 | 10 | > 5 mg/L |
| Turbidez (UNT) | 12,7 | 4,38 | 9,03 | 1,9 | 21 | 100 UNT |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 4 | 1,8 | 3,46 | 0,52 | 15 | - |
| Condutividade Elétrica | 176,6 | 164,6 | 174,4 | 2,47 | 1 | - |

* valores de referência segundo a resolução CONAMA 357/2005 para classe II;

A Tabela 19 mostra que a temperatura da água ainda foi alta para esta época. As concentrações de oxigênio dissolvido e turbidez estão dentro dos valores de referência. O ambiente apresentou altos valores de transparência indicando baixa presença de elementos em suspensão.

- **4° Levantamento de Campo**

No mês de setembro, foi realizado outro levantamento de campo. Nesse levantamento, ocorrido no dia 18 de setembro de 2012, foi possível a coleta de apenas 22 elementos amostrais em virtude da mudança das condições meteorológicas, com ocorrência de chuvas e fortes ventos. A Tabela 21 apresenta as variáveis limnológicas amostradas em campo.

Tabela 21 - Tabela resumida das variáveis físico-químicas medidas no reservatório no quarto levantamento de campo (18/09/2012).

| Variáveis Limonológicas | Máximo | Mínimo | Desvio Padrão | Coeficiente de Variação % | Média | Referência * |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Temperatura (°C) | 26,1 | 28 | 1,18 | 4 | 26,8 | - |
| PH | 9,48 | 7,95 | 0,31 | 3 | 8,53 | 6,0 a 9,0 |
| Oxigênio Dissolvido ($Mg.L^{-1}$) | 12,5 | 8 | 3,01 | 30 | 9,78 | > 5 mg/L |
| Turbidez (UNT) | 3,3 | 1,81 | 0,35 | 13 | 2,61 | 100 UNT |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 4 | 1 | 0,84 | 31 | 2,66 | - |

* valores de referência segundo a resolução CONAMA 357/2005 para classe II

Analisando os parâmetros de referência verifica-se que, para essa época, a represa está dentro das especificações dos padrões de qualidade da água para Classe 2. Observa-se pela Tabela 21, que a temperatura superficial é mais fria. O valor de turbidez no reservatório é baixo, o que pode ser explicado, principalmente, por pequenos organismos fitoplanctônicos em suspensão.

Sobre as condições meteorológicas, a Tabela 22 apresenta um resumo dos dados obtidos na estação José Bonifácio. Observou-se que o reservatório apresentava pequenas ondas com vento de velocidade média, de grau 3 na escala de Beaufort e céu com nuvens. Esse levantamento foi o que apresentou maior velocidade dos ventos. Segundo Esteves (1998) em corpos d'água profundos de regiões tropicais quando relativamente protegidos da ação do vento, permanecem estratificados na maior parte do ano, desestratificando-se no inverno, durante períodos de ventos fortes e duradouros, com energia suficiente para desestratificar temporariamente a coluna d'água.

Tabela 22 - Variáveis meteorológicasdo 4° levantamento de campo.

| **Estação:** JOSE BONIFACIO-A735 | |
|---|---|
| Dia: 18/09/2012 | |
| Temp. Max.: 19.0 ºC | Vento Dir: 50° |
| Temp. Min.: 24.0 ºC | Vento Vel: 14,4 km/h |
| Umidade: 40% | Precipitação no mês da coleta: 13 mm |

Fonte: http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesAutomaticas

- **Variabilidade nas condições da água no período considerado**

Para uma análise geral do comportamento sazonal das variáveis limnológicas, apresenta-se na Tabela 23, que resume as estatísticas obtidas para as variáveis em cada levantamento de campo. É possível notar que em fevereiro, os valores limnológicos são característicos de uma área eutrofizada, o que não ocorreu nos levantamentos de março, setembro e dezembro, nos quais foram constatados valores inferiores aos máximos estabelecidos na referência do CONAMA. Para a turbidez, em alguns casos, observou-se alta relação com a ocorrência de ficocianina e clorofila *a*, principalmente na época de maior atividade fitoplanctônica, que foi em fevereiro. Essas mesmas relações foram obtidas por Seppala (2007), contudo, segundo o autor a variável turbidez não pode ser utilizada como único preditor da ocorrência pigmentos, em decorrência dessa relação ter sido pouco confiável em seus estudos. Em setembro foi observado o menor valor de turbidez.

Tabela 23 –Variáveis limnológicas medidas nos quatro levantamentos de campo.

| | 1° Levantamento Dezembro | | 2° Levantamento Fevereiro | | 3° Levantamento Março | | 4° Levantamento Setembro | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **Variáveis** | Médias | % Coef. de Var. | Médias | % Coef. de Var. | Médias | % Coef. de Var. | Médias | % Coef. de Var. |
| Temperatura da água(°C) | 30,2 | 2 | 29 | 2 | 29,78 | 1 | 26,8 | 4 |
| PH | 5,78 | 5 | - | - | - | - | 8,53 | 3 |
| Oxigênio Dissolvido (mg/L) | 8,44 | 6 | 5,94 | 22 | 7,13 | 10 | 9,78 | 30 |
| Turbidez (UNT) | 10,84 | 8 | 23,73 | 1,31 | 9,03 | 21 | 2,61 | 13 |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 2,64 | 8 | 2,58 | 24 | 3,46 | 15 | 2,66 | 31 |
| Condutividade µS/cm | - | - | 176,87 | 2 | 174,4 | 1 | - | - |
| Vento Vel (m/s): | 1,87 | - | 2,5 | - | 2,5 | - | 4,0 | - |
| Precipitação no mês (mm) | - | - | 12,4 | - | 44,6 | - | 13 | - |
| Temperatura do ar (°C) (min/max) | 20/30 | | 22/24 | | 23/24 | | 19/24 | |

A temperatura influencia no crescimento e na resposta do fitoplâncton, segundo a Lei geral Q10, na qual os processos metabólicos dobram a cada aumento de 10°C (TUNDISI e TUNDISI, 2008). Segundo Eliott (2012), as maiores taxas de crescimento de cianobactérias são observadas em temperaturas maiores que 25°C. Comparativamente, observa-se que houve uma variação de aproximadamente 4°C entre os levantamentos de campo realizados e que os campos de dezembro, fevereiro e março apresentaram as maiores temperaturas na água.

A variável transparência depende de vários fatores, como concentração de material dissolvido e do material em suspensão. Nota-se que em março e setembro, o ambiente apresentou maior transparência com baixos valores de turbidez. O levantamento de março apresentou as maiores taxas de transparência, em virtude do período altamente chuvoso e consequente dissolução dos compostos presentes no corpo d'água.

Em fevereiro, as taxas de oxigênio dissolvido foram as mais baixas, o que pode ser decorrente da presença de matéria orgânica. Nessa época do ano se observa elevação do nível de água, ventos fortes, chuvas frias, fortes e duradouras que trazem a superfície compostos orgânicos como carboidratos, proteínas, lipídios, em diferentes graus de decomposição O levantamento de setembro foi na época de maior velocidade dos ventos e baixas temperaturas.

A velocidade dos ventos pode ter causado a maior média de oxigênio dissolvido no ambiente, já que os ventos ajudam na incorporação de oxigênio na água (ESTEVES, 1998).

## 5.2.Ocorrência sazonal e espacial de cianobactérias com base em dados fluorimétricos

As concentrações absolutas em μg/L da ficocianina e da clorofila *a* foram obtidas por meio de medidas fluorimétricas de campo.

Para análise dos valores de ficocianina, levou-se em consideração os resultados obtidos por Brient et al. (2008), os quais por meio de análises estatísticas realizadas em 800 ambientes com diversidade de algas, mostraram que quando a concentração de ficocianina é maior que 10 μg/L, as cianobactérias dominam o ambiente em densidades preocupantes.

De acordo com os mesmos autores, quando se mede a concentração fitoplanctônica em grupos com dominância do pigmento clorofila *a*, tais como diatomáceas e clorofitas, para cada 100.000 céls/mL a concentração de ficocianina fica na média de 3 e 6 μg/L, porém na presença de cianobactérias esse valor aumenta para 60 μg/L. Considerando que a resolução CONAMA n° 357/2005 estabelece um limite de densidade de cianobactérias de até 50.000 cel/mL ou 5 $mm^3$/L e relacionando com a estimativa feita por Brient et al. (2008), se obtém um limite de 30 μg/L. Contudo para as análises dos dados será utilizado o limite de que 10 μg/L proposto por Brient et al. (2008).

Para clorofila *a*, como explicado no item 4.3.2, as medidas originalmente obtidas com o fluorômetro são relativas e foram convertidas para valores absolutos. Para análise dos dados, considerou-se como valor de referência o estabelecido pela resolução CONAMA n° 357/2005 para águas de classe 2, a qual impõe o limite de 30 μg/L de clorofila *a*. Considerando o exposto, alguns parâmetros estatísticos, para a ficocianina e clorofila *a*, são apresentadas na Tabela 24.

Para uma análise comparativa, utilizam-se os valores expostos por Vallely (2008), no qual as concentrações de clorofila *a* e ficocianina típicas de um corpo d'água com dominância de cianobactérias foram de aproximadamente 188 e 91 μg/L, respectivamente. Enquanto que para outro corpo d'água pouco impactado, os quantitativos foram de 18 e 15 μg/L, respectivamente. Esses valores comparados com os indicadores estatísticos mostrados na Tabela 24, evidenciam que o segundo levantamento apresentou valores de clorofila *a* e ficocianina mais similares ao de um corpo d'água com predominância de cianobactérias. Os demais apresentaram valores de corpos d'água pouco impactados e dentro do previsto na legislação.

Tabela 24 – Valores obtidos para concentração de Ficocianina e Clorofila *a* nos levantamentos de campo com algumas análises estatísticas

| Análises estatísticas | 1° Levantamento Dezembro/2011 | 2° Levantamento Fevereiro/2012 | 3° Levantamento Março/2012 | 4° Levantamento Setembro/2012 |
|---|---|---|---|---|
| | **Concentração de Ficocianina (µg/L)** | | | |
| Máximo | 7,5 | 50,24 | 4,71 | 2,32 |
| Mínimo | 1,5 | 1,47 | 0,46 | 0,23 |
| Média | **3,58** | **7,12** | **2,58** | **1,39** |
| Desvio padrão | 2,32 | 10,05 | 0,99 | 0,71 |
| Coeficiente de Variação % | 65 | 141 | 38 | 50 |
| | **Concentração de Clorofila *a* (µg/L)** | | | |
| Máximo | 8,64 | 150,96 | 16,04 | 24,35 |
| Mínimo | 2,53 | 8,93 | 8,59 | 5,32 |
| Média | **4,22** | **47,54** | **12,31** | **11,86** |
| Desvio padrão | 1,20 | 34,21 | 2,26 | 4,32 |
| Coeficiente de Variação % | 28 | 71 | 18 | 36 |

Ainda, essas variáveis mantiveram um índice de proporcionalidade nos campos de fevereiro, março e setembro, com uma relação aproximada de 1 µg/L para ficocianina para cada 6 µg/L de clorofila *a*. O primeiro levantamento de campo foi o único em que as concentrações dos pigmentos fitoplanctônicos apresentaram concentrações médias similares, sendo de 4,22 µg/L para clorofila a e 3,58 µg/L para ficocianina, com pequeno desvio padrão. Randolph et al. (2008) afirmam que, quando a ficocianina é predominante em relação à clorofila *a*, esse pode ser um indicativo da dominância de cianobactérias no corpo d'água. A proporção da densidade de ocorrência de algas cianofíceas no primeiro levantamento (Figura 32 e Figura 33, página 100) confirma a dominância desse grupo, mesmo com densidade relativamente baixa. Verifica-se também que as concentrações obtidas para clorofila *a* em março e setembro de 2012 foram muito similares, assim como para concentrações de ficocianina.

No segundo levantamento (fevereiro/2012) a turbidez (Tabela 23) apresentou uma tendência de aumento associado com a concentração de ficocianina e clorofila *a* no ambiente e, consequentemente, proporcional à diminuição dos valores de disco de Secchi. Ainda, no segundo levantamento, as variáveis ficocianina e clorofila *a* apresentaram maior desvio padrão, demonstrando maior variabilidade no comportamento espacial, se comparado com os outros levantamentos.

Com relação a clorofila *a,* este é o único indicador utilizado pela Cetesb para identificação de floração de cianobactérias. Segundo seu manual de cianobactérias o Nível de Alerta 1, para água de abastecimento público, é caracterizado com a ocorrência de 2.000 cels/mL de cianobactérias ou 1 µg/L de clorofila *a*. Para o Nível de alerta 2, ou seja, condições estabelecidas de floração de cianobactérias nocivas, os valores considerados alarmantes são de

100.000 cels/mL ou 50 µg/L de clorofila *a* (CETESB, 2013). Vale lembrar que apesar da existência desses índices, não há indicativos sobre o aumento de pontos de monitoramento sistemático, nem da frequência a ser adotada para avaliar a clorofila *a* ou células de cianobactérias e suas toxinas.

Para auxiliar na compreensão dos dados numéricos da Tabela 24, apresenta-se na Figura 38 uma ilustração de gráfico de caixa (BoxPlot) para a variável ficocianina.

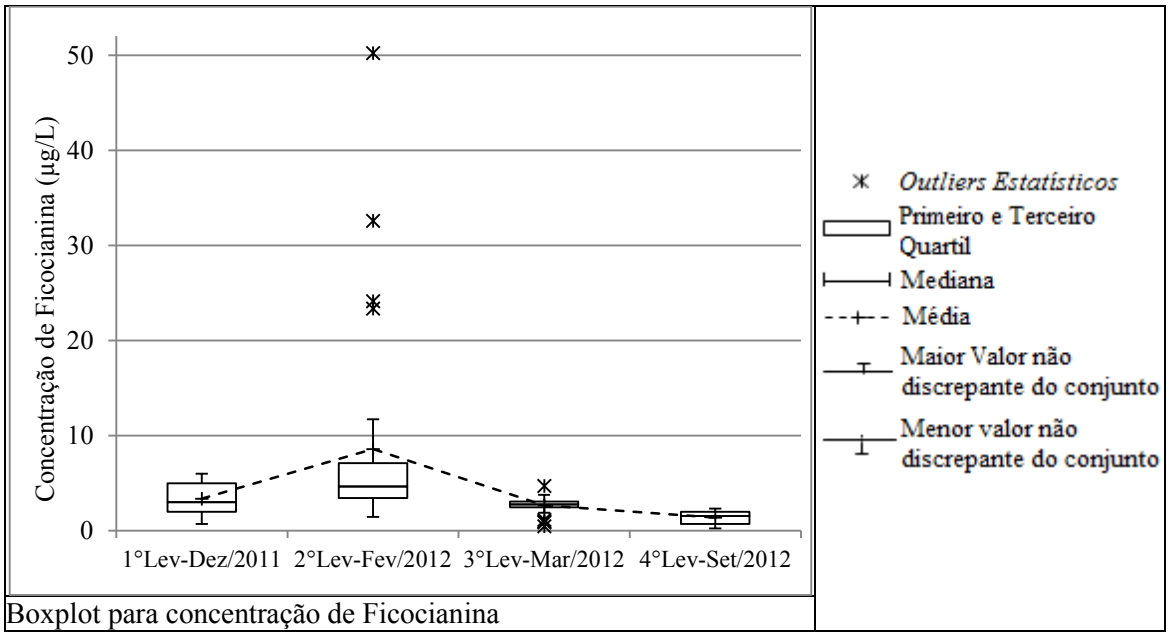



Figura 38 - Boxplot dos dados de Ficocianina coletados nos quatro levantamentos de campo.

Nesse gráfico (Figura 38) é possível verificar a presença de valores discrepantes (*outliers estatísticos*) no levantamento de campo de fevereiro e março de 2012. Esses pontos foram coletados em uma área rasa e de remanso, com interferência de atividade antrópica nas áreas adjacentes (pastagem e cultivo de cana de açúcar), o que acarreta o aumento na atividade fitoplanctônica. Pelo gráfico também fica claro a maior concentração e variabilidade para ambas as variáveis no levantamento realizado em fevereiro de 2012.

De acordo com a Figura 38 a menor variância foi observada no levantamento de campo realizado em março, enquanto que as menores concentrações são visualizadas no mês de setembro de 2012. Cinco pontos do segundo levantamento ultrapassaram o valor de concentração de ficocianina proposto por Brient et al. (2008) para áreas com dominância de cianobactérias. Os demais valores permaneceram abaixo desse padrão, porém muito próximos. Na Figura 39 apresenta-se outro gráfico de caixa (BoxPlot) para a variável clorofila *a*.

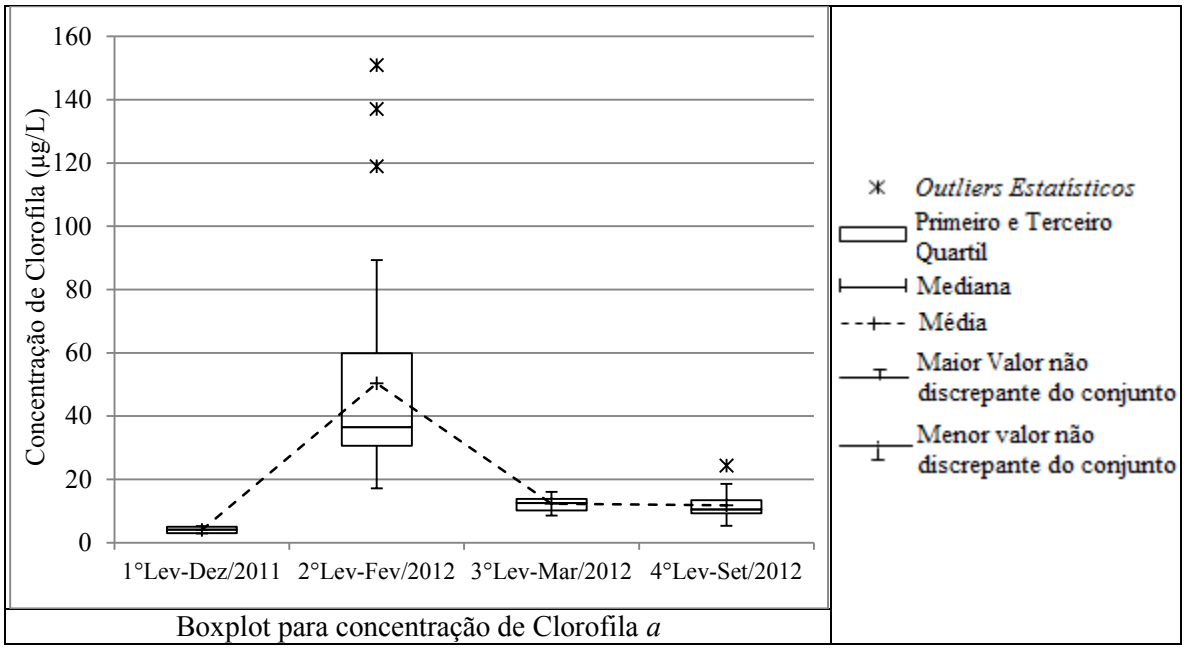



Figura 39 - Boxplot dos dados de clorofila *a* coletados nos quatro levantamentos de campo.

De acordo com a Figura 39, os valores mais altos de concentração de clorofila *a* foram medidos no campo de fevereiro/2012, os quais foram superiores ao limite estipulado pela resolução CONAMA n° 357/2005. Nos demais levantamentos os valores permaneceram dentro do limite previsto na legislação e ainda apresentaram baixa variabilidade.

Comparando os resultados obtidos com o exposto na literatura relacionada às variações meteorológicas e ocorrência de cianobactérias (TUNDISI et al, 2010; REICHWALDT E GHADOUANI, 2012; BRANCO et al., 2009), em fevereiro, o mês apresentou altas temperaturas do ar e da água, dias úmidos, várias precipitações rápidas, e baixa velocidade do vento. Nessas condições, considerando que as chuvas ocasionaram a entrada de nutrientes no ambiente e que a chuva e o vento não foram capazes de alterar as zonas de estratificação, houve a formação de um ambiente favorável para a proliferação de cianobactérias. Já em março, a ocorrência de chuvas frequentes provocou a diluição dos compostos, tornando o ambiente homogêneo. Em setembro, observou-se a presença de uma frente fria, com ventos de velocidade média e baixas temperaturas, o qual provoca intensas misturas vertical e horizontal, reduzindo significativamente a produção de cianobactérias. Em dezembro, inicia-se o período de verão com efeitos de curto prazo das chuvas, no qual as cianobactérias iniciam o processo de produção, com o término da ocorrência de frentes frias.

A Figura 40 apresenta a representação dos pontos, considerando o quantitativo da concentração de ficocianina e clorofila *a*, por levantamento de campo. Para uma melhor percepção da distribuição espacial da dispersão, os pontos foram transformados em regiões, por meio da geração de polígonos de Thiessen. Esse é um método de interpolação que se 'baseia no

vizinho mais próximo', ou seja, o valor escolhido para um ponto é o valor dado pelo ponto mais próximo, pelo cálculo da distância Euclidiana.

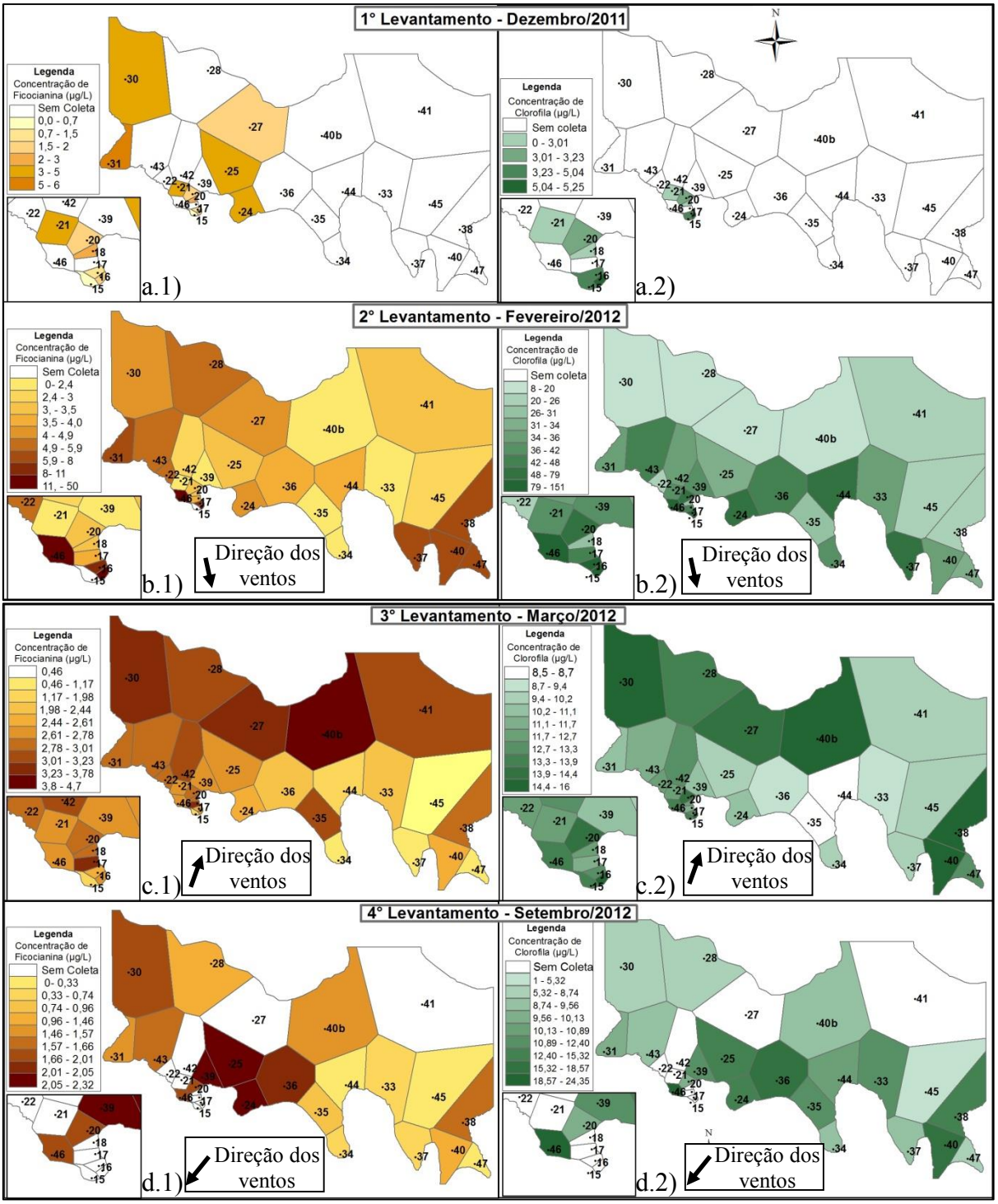



Figura 40 - Representação quantitativa por área da concentração de Ficocianina (.1) e Clorofila *a* (.2) para os levantamentos *in situ* realizados em: a) dezembro/2011 (1°); b) fevereiro/2012 (2°); c) março/2012 (3°) e d) setembro/2012 (4°). As setas indicam a direção dos ventos nas épocas dos levantamentos de campo.

Para o primeiro levantamento foram coletadas amostras de ficocianina e clorofila *a* em um número reduzido de pontos tornando difícil representar espacialmente os fenômenos de interesse, conforme mostra a Figura 40.

Para o segundo levantamento, característico de uma época com maiores concentrações de pigmentos fitoplanctônicos, as concentrações mais altas de clorofila *a* se encontram na parte sul da área de estudos, da mesma forma que para a variável ficocianina. Contudo, a localização espacial das altas concentrações de ficocianina e clorofila *a*, não são coincidentes, já que os de ficocianina estão nas partes noroeste e sudeste.

Ainda na Figura 40, no terceiro levantamento, observa-se que as altas concentrações, antes predominante na parte sul no segundo levantamento, agora ocorrem na parte norte da área de estudos. Nesse caso as maiores concentrações de clorofila *a* e ficocianina são espacialmente coincidentes, com algumas exceções. De acordo com dados da estação climatológica José Bonifácio, apresentados na Tabela 19, a direção do vento no dia partiu do sudoeste (250,3°) na direção Nordeste. Esse levantamento se caracterizou pela forte ocorrência de chuvas, como a parte sul do reservatório é mais rasa, o efeito de depuração e dissolução dos compostos pode ter sido mais elevado do que nas regiões mais profundas, localizadas na parte norte.

No quarto levantamento, apesar da existência de algumas lacunas devido a pontos não coletados, fica evidente que as maiores concentrações de ficocianina e clorofila *a* retornaram para a parte sul da área de estudos. Neste campo, de acordo com os dados da estação climatológica José Bonifácio Tabela 22, os ventos foram de média intensidade partindo da direção Nordeste (50°) para Sudoeste.

- **Relação entre concentração de ficocianina e clorofila *a* a partir de dados fluorimétricos**

Na tentativa de identificar relações sazonais entre as concentrações de ficocianina e clorofila *a,* apresenta-se, na Tabela 24**,** correlações medidas entre essas variáveis em cada um dos levantamentos de campo realizados.

Para avaliação da correlação, utilizou-se a Tabela 14 (pag. 107), que estabelece valores correlação significativos, de acordo com o teste significância de Fisher. Para o primeiro campo, destaca-se que foram utilizados apenas os 6 pontos, nos quais foi possível a aquisição conjunta de clorofila *a* e ficocianina, permitindo assim, o cálculo de correlação.

Tabela 25- Coeficientes de Correlação Linear de Pearson (*r*) entre ficocianina e clorofila *a* nos quatro levantamentos de campo

| Levantamentos de campo | Coeficientes de Correlação de Pearson (*r*) significativos (Tabela 14) | Coeficiente de Correlação de Pearson (*r*) | Quantidade de pontos levantados |
|---|---|---|---|
| 1° - 13/12/2011 | > 0,88 | -0,73 | 6 |
| 2° - 15 e 16/02/2012 | > 0,42 | 0,8 | 30 |
| 3° - 27/03/2012 | > 0,44 | 0,44 | 27 |
| 4° - 18/09/2012 | > 0,56 | 0,47 | 18 |

Pelos resultados da Tabela 25, percebe-se que o segundo e terceiro levantamento de campo apresentam dados correlacionados, de acordo com os valores de correlação mínimos estabelecidos como significativos na Tabela 14 (pag. 107).

Uma forma de visualizar se duas variáveis são correlacionadas é por meio do diagrama de dispersão, no qual os valores das variáveis são representados por pontos em um sistema cartesiano (BARBETTA et al., 2008). Os gráficos de dispersão linear entre as concentrações de ficocianina e clorofila *a* medidos nos quatro levantamentos são apresentados na Figura 41.

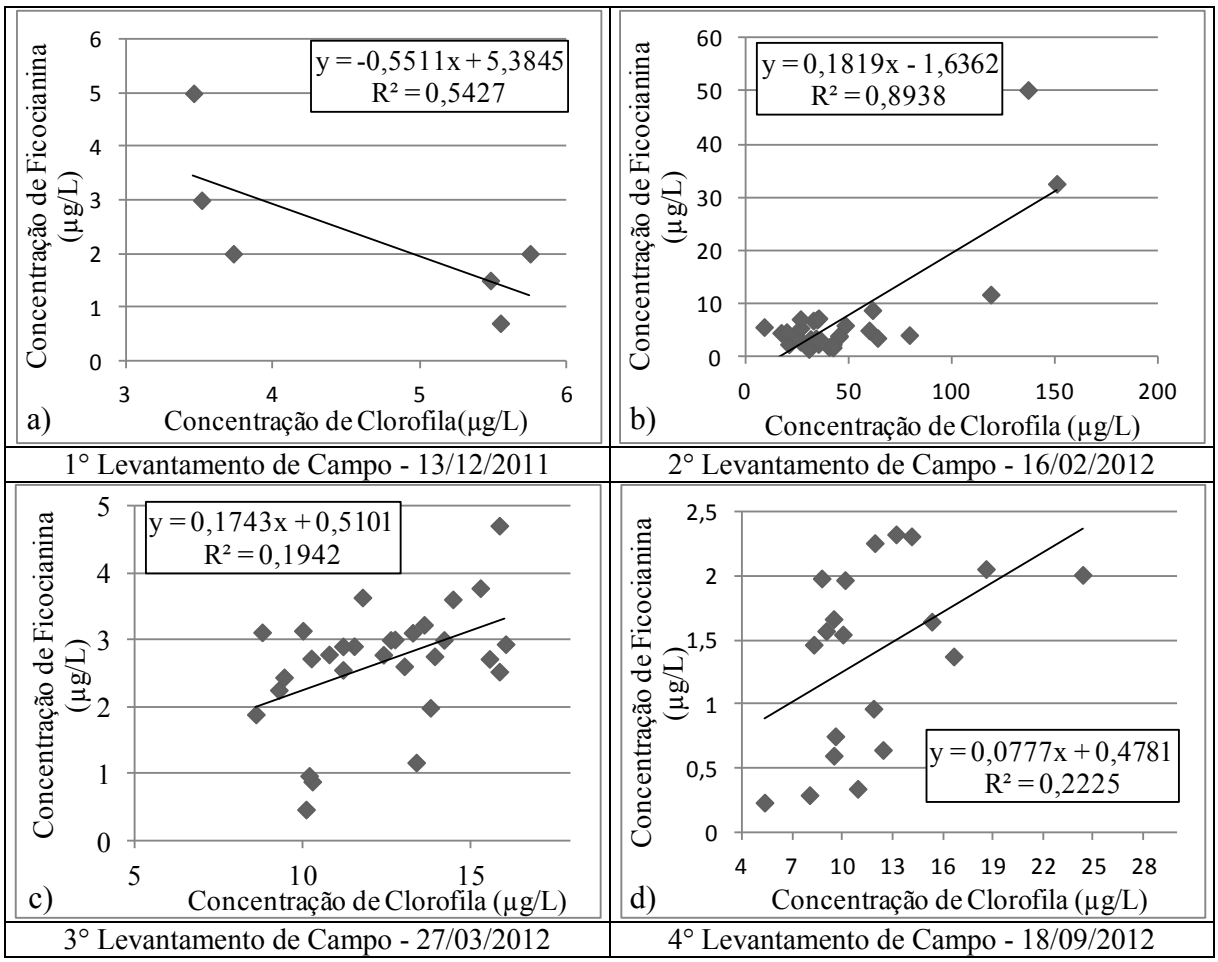



Figura 41- Equações de regressão linear entre ficocianina e clorofila *a* para os quatro levantamentos de campo. a) 1° levantamento de campo; b) 2° levantamento de campo; c) 3° levantamento de campo; d) 4° levantamento de campo

De acordo com a Figura 41 (a), no primeiro levantamento de campo foram coletados apenas 6 pontos de clorofila *a*, o que não permite o estabelecimento de uma relação estatística confiável entre as variáveis analisadas.

Nos demais levantamentos, o comportamento dos dados apontam para um aumento na concentração da clorofila *a* com o aumento da concentração de ficocianina, como observado no trabalho de Sun et al. (2012) e Vallely (2008). No trabalho de Duan et al. (2012) foram observados dois diferentes padrões de relacionamentos para clorofila *a* e ficocianina. Para concentração de ficocianina menor que 2 μg/L, os autores relataram tendência da concentração da clorofila *a* aumentar com o aumento da ficocianina. Para concentrações de ficocianina maiores que 2 μg/L, a concentração de clorofila *a* diminuía com o aumento de ficocianina.

Como mostra a Figura 41 (b), o segundo levantamento de campo apresentou melhor coeficiente de determinação para o ajuste da reta de regressão representativa do relacionamento entre clorofila *a* e ficocianina. Destaca-se que este campo é caracterizado pelas maiores concentrações de ambas as variáveis. Para os demais campos as retas de regressão linear não ajustaram significativamente aos dados. Possivelmente, a área de estudo apresentou um comportamento homogêneo para que a reta de regressão diagnosticasse algum padrão de tendência.

Ao realizarmos uma análise comparativa do comportamento espacial (Figura 40) com as retas de regressão (Figura 41) das variáveis ficocianina e clorofila *a* ao longo do tempo, verifica-se que o segundo levantamento de campo mostrou uma tendência de aumento da concentração de ficocianina e clorofila *a* (Figura 41-b), contudo, ao verificarmos a espacialização (Figura 40), a localização espacial das altas concentrações de ficocianina e clorofila *a*, não são totalmente coincidentes. Contudo, os terceiro e quarto levantamentos de campo apresentam comportamentos espaciais mais similares.

### 5.3.Caracterização espectral da ficocianina nos quatro levantamentos de campo

A seguir apresenta-se o comportamento espectral, por meio do tratamento dos dados medidos com o espectrorradiômetro de campo nos quatro levantamentos de campo, enfatizando as características do pigmento ficocianina, considerando que se trata do pigmento diagnóstico das cianobactérias.

- **Feições espectrais originais**

As curvas espectrais resultantes da aplicação do filtro para remoção do ruído são apresentadas na Figura 42, para cada um dos levantamentos. De modo geral, com maior ou menor amplitude, a curvas apresentam feições características sutis da presença de pigmentos fotossintetizantes, conforme descrito em Richardson (1996), Kirk (1994), Weaver e Wrigley (1994), Jensen (2000). Nesta figura, as linhas tracejadas representam a localização no espectro eletromagnético das feições diagnósticas de ficocianina (linhas mais escuras) e clorofila *a* (linhas mais claras), segundo Richardson (1996), Kirk (1994), Weaver e Wrigley (1994), Jensen (2000), entre outros.

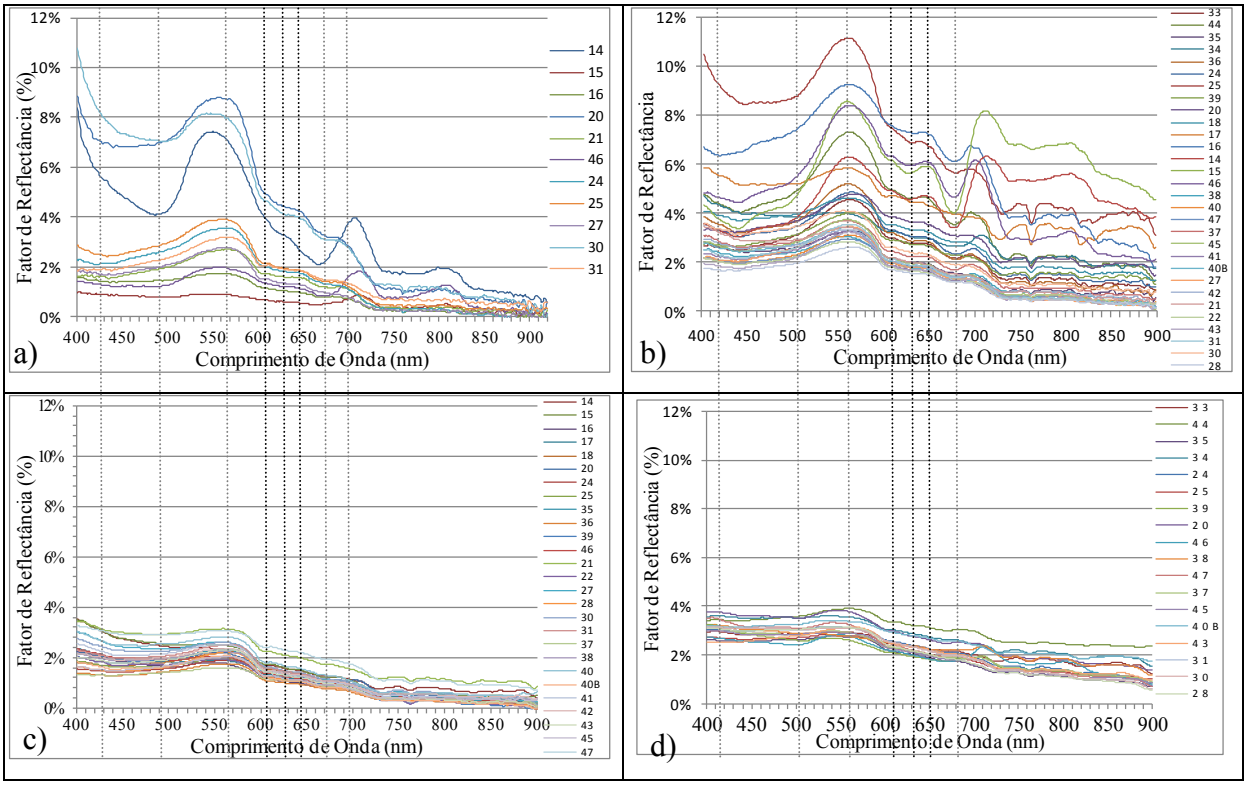



Figura 42 - Curvas espectrais suavizadas obtidas nos Primeiro (a – 11 pontos), Segundo (b - 30 pontos) Terceiro (c - 27 pontos) e Quarto (d – 18 pontos) levantamentos. As linhas tracejadas representam a localização no espectro eletromagnético das feições diagnósticas de ficocianina (linhas mais escuras) e clorofila a (linhas mais claras).

Analisando as curvas espectrais suavizadas, verifica-se que no primeiro e no segundo levantamentos (Figura 42 a e b), os dados espectrorradiométricos resultaram em curvas com maior variabilidade espectral, com fator de reflectância oscilando com valores em torno de 8%. Nos demais levantamentos, a maioria das curvas espectrais alcançaram fatores de reflectância menores que 4% (Figura 42 c e d).

Uma importante observação é o comportamento das curvas no intervalo dos menores comprimentos de onda (principalmente entre 400 a 500 nm). No terceiro levantamento (Figura 42-c) visualizam-se feições de absorção mais suaves, isto pode representar baixa presença de fitoplâncton na área de estudo nessa época, pois a presença destes elementos ocasiona uma feição de absorção mais profunda e ondulada, pela ocorrência de clorofila *a* (Han et al., 1994; Kirk, 1994), tais como as observadas nos segundo levantamento de campo (Figura 42-b). Ainda, Carder et al. (1986) observaram o papel significativo da matéria orgânica dissolvida na resposta espectral da água em regiões com baixas concentrações de clorofila *a*. Segundo Wetzel (2001), a presença de matéria orgânica dissolvida está intimamente ligada às necessidades nutricionais para o crescimento das algas. No primeiro levantamento (Figura 42-a), apenas os pontos 14, 24, 20 apresentaram curvas com comportamento padrão associado à presença de fitoplâncton nos primeiros comprimentos de onda. Esses pontos são característicos de áreas com águas paradas e próximas às margens, podendo ocorrer devido à maior presença de matéria orgânica e clorofila *a.*

As curvas espectrais de todos os levantamentos apresentam uma feição de absorção próxima de 500 nm. Segundo Weaver e Wrigley (1994) a presença de cianobactérias pode ser evidenciada por uma feição de absorção em 493 nm, característico da ficobilina. No segundo e quarto levantamentos essa feição um pouco mais evidente, bem como em algumas curvas espectrais do primeiro levantamento. Para o segundo levantamento, esse comportamento é esperado em virtude da maior concentração de pigmentos fitoplanctônicos. Para o quarto levantamento, esse comportamento pode estar mais associado à presença de matéria orgânica dissolvida, pois as concentrações de clorofila *a* e ficocianina foram baixas, em média 11,86 µg/L e 1,39 µg/L, respectivamente. Segundo Metsamaa et al. (2006) Gómez et al. (2009) e Vallely (2008) as feições de reflexão e absorção de clorofila *a* se tornam detectáveis nos espectros de reflectância quando a concentração de clorofila *a* é maior 8 µg/L.

As curvas espectrais de todos os levantamentos mostram uma região de reflectância máxima no verde entre 550 a 570 nm, ocasionada pela presença da clorofila *a.* No segundo levantamento, essa feição se mostrou mais pronunciada. As curvas também apresentaram uma feição de absorção no vermelho, 671 nm, e pico de reflectância no infravermelho próximo (700 nm), associado à presença da clorofila *a*. Também se percebe a ocorrência de outro pico pouco representativo em 750 nm, que pode ser atribuído à somatória do espalhamento por células do fitoplâncton e por TSS (KIRK, 1994; DEKKER, 1993).

Todas essas características espectrais foram observadas nas curvas obtidas por Rundquist et al. (1996), consideradas de baixas concentrações de clorofila *a* (média de 200

µg/L). Essa relação também comparece nas curvas obtidas por Tebbs et al. (2013), Gómez et al. (2009) Han et al. (1994), e Kirk (1994) para corpos d'água com presença predominante de clorofila *a*.

Especificamente para ficocianina, indicador da ocorrência de cianobactérias, em algumas curvas foi possível visualizar uma sutil feição de absorção próxima a 620 nm e um pico de espalhamento em torno de 650 nm, conforme relatado na literatura para ambientes aquáticos com presença de cianobactérias (DEKKER, 1993; WEAVER E WRIGLEY, 1994; RUIZ-VERDÚ et al., 2008; MARION et al., 2012; SONG et al., 2012; LE et al., 2011, LONDE, 2008). No levantamento de campo de fevereiro (segundo levantamento, Figura 42-b) estas feições são mais pronunciadas.

Em algumas curvas, para todos os levantamentos de campo, foi observada uma sutil feição de espalhamento em torno de 610 nm. Dekker (1993) observou essa ocorrência nas assinaturas espectrais geradas pelo sensor CASI e as associou a uma feição espectral observada em 600 nm devido à ocorrência de ficocianina.

Para uma melhor representação do comportamento espectral da ocorrência de clorofila *a* e ficocianina na água, extraiu-se curvas espectrais do segundo levantamento de campo, nas quais as concentrações de clorofila *a* e ficocianina mostraram feições diagnósticas perceptíveis. Tais curvas espectrais são mostradas na Figura 43, na qual as setas indicam feições de absorção e espalhamento, de acordo com a variação na concentração dos pigmentos.

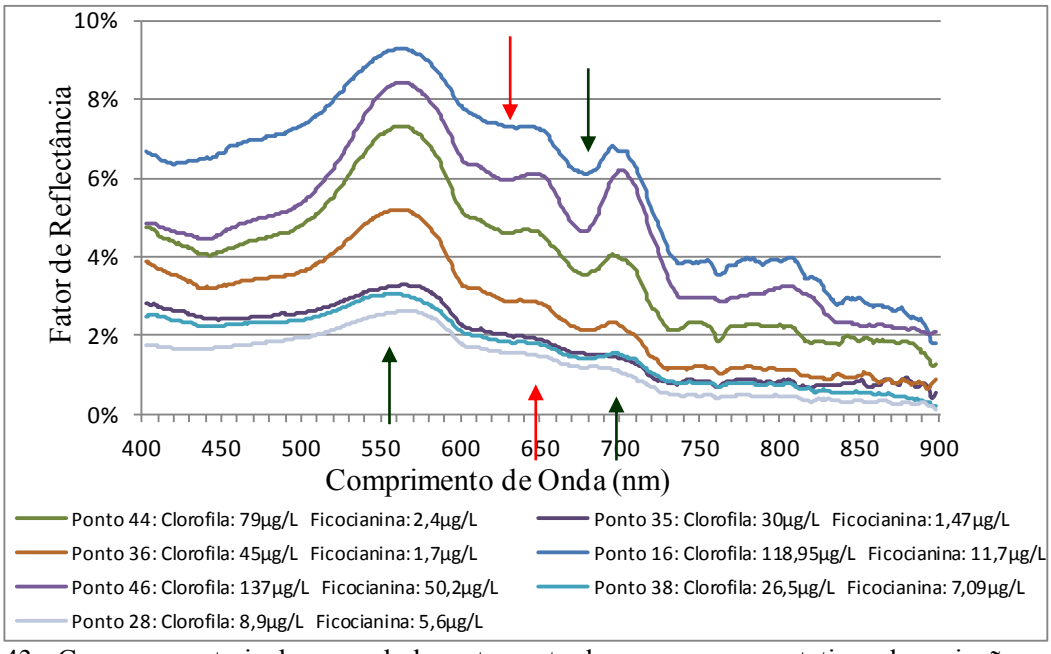



Figura 43 - Curvas espectrais do segundo levantamento de campo representativas da variação espectral relacionada com a variação na concentração de ficocianina (setas vermelhas) e Clorofila *a* (setas verdes).

De acordo com a Figura 43 as feições que sofreram maiores alterações com o aumento da concentração de clorofila *a* foram em 560 nm com maiores valores de reflectância, em 685, em que a feição de absorção apresentou maior profundidade e em 700 nm, onde o pico de reflectância foi mais evidente (MOREL e PRIEUR, 1977; GITELSON, 1999; RUNDQUIST et al., 1996). Para ficocianina, em 620 nm observa-se um comportamento sutil de absorção com o aumento da concentração, já em 650 nm a tendência foi de aumento da reflectância com a representação de uma pequena feição (DEKKER, 1993; KUTSER et al., 2006; VICENT, 2004; WEAVER e WRIGLEY, 1994; RANDOLPH et al., 2008; RICHARDSON, 1996; DUAN et al. 2012; SUN et al., 2012).

Na tentativa de melhor interpretar as relações das curvas de reflectância espectral obtidas (Figura 42) com variáveis auxiliares opticamente ativas medidas foi calculada a correlação para melhor explicar os fenômenos observados. A Figura 44 mostra os correlogramas obtidos por meio do cálculo de correlação entre os valores medidos de profundidade do disco de secchi (m), turbidez, ficocianina e clorofila *a* nos pontos visitados com as curvas de reflectância de cada ponto. Os correlogramas apresentam os valores de correlação de Pearson (*r*) em função do comprimento de onda (400 a 900 nm).

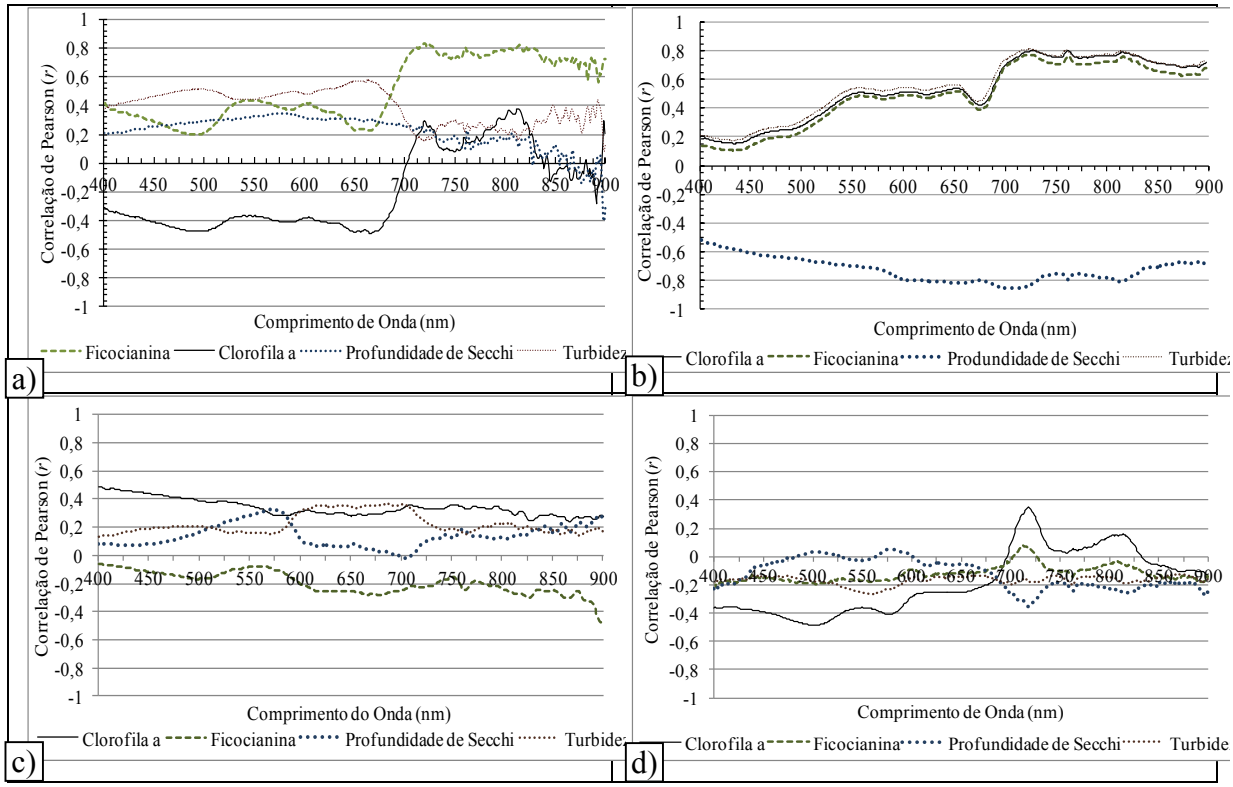



Figura 44 – Correlogramas obtidos entre valores de reflectância e ficocianina, clorofila *a*, profundidade do disco de secchi e turbidez, para o primeiro (a) (6 pontos para clorofila *a* e 11 pontos para as outras variáveis, segundo (b) (30 pontos), terceiro (c) (27 pontos) e quarto (d) (18 pontos) levantamentos

Analisando a Figura 44 verifica-se que para o primeiro levantamento, (Figura 44-a) a correlação da ficocianina com as curvas de reflectância espectral se mostrou mais significativa do que com clorofila *a.* Destaca-se, porém que a correlação obtida ao longo do espectro eletromagnético entre clorofila *a* e valores de reflectância, foi com base em apenas 6 (seis) pontos medidos. A ficocianina apresentou correlações maiores que 0,8 na região de 700 nm.

No segundo levantamento de campo (Figura 44-b), os valores de correlação entre a concentração de turbidez, clorofila *a*, ficocianina e transparência com a reflectância espectral se mostraram significativamente altos na região do IVP (Infravermelho Próximo) e com correlação moderada no visível. O que chama a atenção é que as curvas de correlação de turbidez, ficocianina e clorofila *a* apresentam valores muito similares. Para transparência, isso também pode ser observado, porém com valores de correlação opostos. Verifica-se que, conforme aumenta a concentração de ficocianina e clorofila *a* a água torna-se mais turbida e menos transparente. Segundo Tebbs et al. (2013) quando a covariância (medida de associação linear entre duas variáveis aleatórias) da clorofila *a,* turbidez e transparência são altas, tais variáveis podem ser indicadores efetivos da biomassa de cianobactérias. Além dessas variáveis citadas pelos autores, a ficocianina também apresentou o mesmo comportamento. Importante ressaltar que a distribuição do correlograma, foi muito similar aos resultados expostos pelo mesmo autor, para as mesmas varáveis.

Os correlogramas similares de clorofila *a* e ficocianina podem ser em decorrência de interferências na resposta lida pelo fluorômetro, pois Chang et al. (2012) relatam que a presença simultânea de clorofila *a* e alta turbidez produz falsas estimativas de cianobactérias. Além disso, o fluorômetro utilizado para estimativa de ficocianina possui um sensor óptico com filtro de excitação para ficocianina em 610 nm e emissão do comprimento da onda em 685 nm, porém a maioria das referências indicam emissão em 660 nm e excitação em 630 nm.

Ainda no segundo levantamento (Figura 44-b) as variáveis clorofila *a* e ficocianina apresentaram correlogramas com valores de correlação elevados para todos os comprimentos de onda, exceto na região espectral entre 400 e 530 nm. Analisando especificamente ambos os correlogramas, observam-se valores de correlação relevantes nos comprimentos de onda em torno de 550 nm, cuja presença predominante de clorofila *a* na água também provoca um pico de reflectância máxima. As regiões do espectro eletromagnético, cuja reflectância é influenciada pela presença de ficocianina apresentam valores de correlação de 0,53 em 630 nm e 0,56 em 650 nm, posteriormente a essa região se inicia a ocorrência de valores de baixa correlação em 675 nm. Depois, em torno de 690 nm, a correlação aumenta novamente. A

literatura descreve sobre um pico de reflectância no infravermelho próximo, entre 690 e 720 nm, relacionado à clorofila *a* (GITELSON, 1992; RUNDQUIST et al. 1996).

Após 691 nm (transição do vermelho para o infravermelho) a curva de correlação passa a apresentar altos valores de coeficientes de correlação. As referências pesquisadas também discutem sobre um pequeno pico de reflexão que ocorre em aproximadamente 810 nm ocasionado pela presença de clorofila *a* (RUNDQUIST et al., 1996). Observando a curva de reflectância original, este pico é menos pronunciado, contudo no correlograma resultante é possível verificar que essa região espectral apresentou altos valores de correlação em todos os COAs analisados, principalmente em 820 nm.

Para os demais levantamentos, valores significativos de correlação só foram visualizados no quarto levantamento para clorofila *a*, no qual se observa a ocorrência de um pico de correlação em torno de 690 nm. Esses resultados podem mostrar que as concentrações obtidas para clorofila *a* e ficocianina não foram suficientes para que as curvas de reflectância espectral respondessem a suas presenças na forma de feições de absorção e reflexão.

Considerando os resultados dos correlogramas apresentados, observa-se que as curvas de reflectância apresentam relação com ficocianina, que é o COA de interesse para a presente pesquisa, dessa forma, as próximas análises serão focadas para detecção desse pigmento.

- **Analise derivativa**

As Figura 45 e Figura 46 apresentam as curvas obtidas após aplicação da primeira e segunda derivada nas curvas espectrais obtidas nos quatro levantamentos de campo.

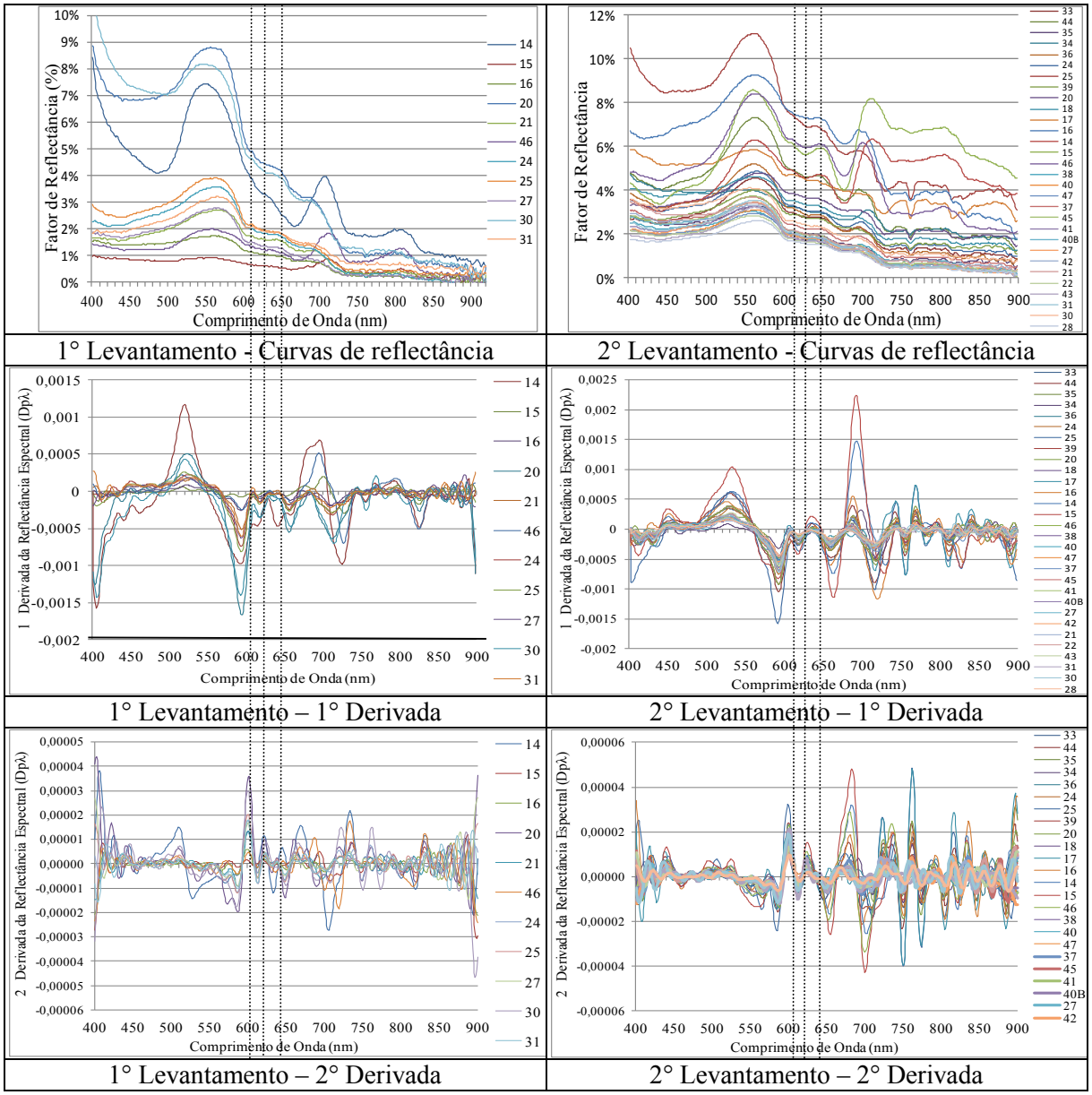



Figura 45 - Curvas de análise derivativa dos primeiro e segundo levantamentos de campo. As linhas tracejadas cobrem as feições posicionadas em 600, 630 e 650 nm relacionadas à ficocianina.

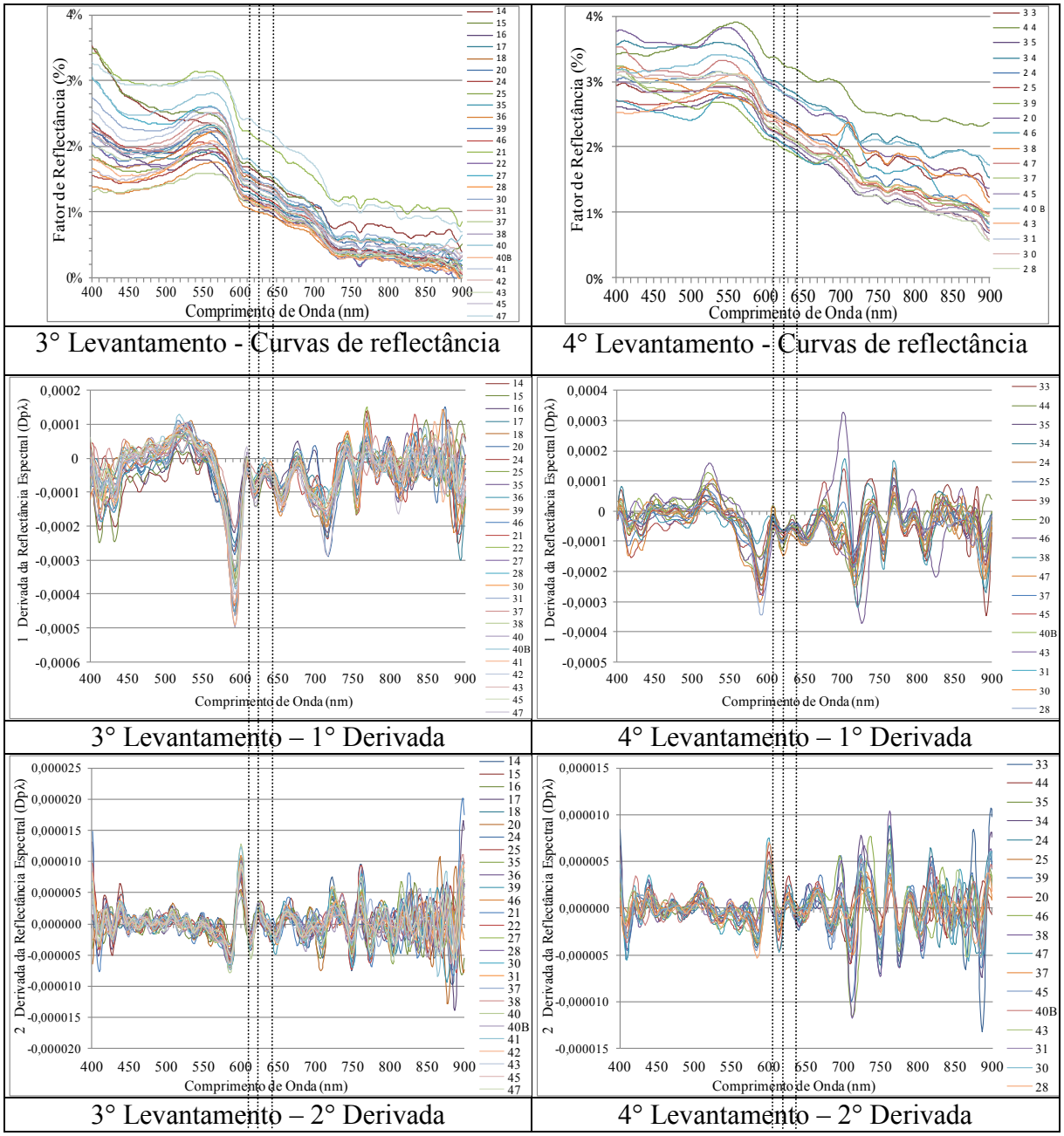



Figura 46 - Curvas de análise derivativa aplicadas nas curvas de reflectância obtidas nos terceiro e quarto levantamentos de campo. As linhas tracejadas cobrem as feições posicionadas em 600, 630 e 650 nm relacionadas à ficocianina.

Em curvas derivativas, as variações no coeficiente angular permitem identificar pontos de inflexão (mínimos e máximos) representativos de feições de absorção e reflexão, que são característicos de feições menos evidentes nos espectros de ordem inferior (GOODIN et al., 1993; CHEN et al., 1992; BRAGA, 1998). Assim, a aplicação das derivadas nos espectros de reflectância tem como função principal salientar feições de absorção e espalhamento pouco evidentes nos espectros de reflectância, que podem corresponder à resposta espectral de substâncias opticamente ativas presentes na água.

Observando o comportamento na primeira derivada espectral, verifica-se que os pontos de cruzamento no eixo das abscissas representam os maiores picos de absorção ou de espalhamento observados nas curvas de reflectância originais e então, as feições observadas na curva de primeira derivada representam regiões espectrais de maior inclinação da curva de reflectância original. De maneira análoga, os picos de absorção e de reflexão observados na curva de primeira derivada são referentes aos pontos de cruzamento das abscissas no eixo da curva de segunda derivada (BRAGA, 1998). Assim, quando se compara as curvas de segunda derivada com as de reflectância espectral original, verifica-se que a segunda derivada define feições equivalentes com as de reflectância, porém mais realçadas e com disposição oposta.

Considerando essa particularidade do comportamento das curvas derivadas, realizou-se uma análise relacionada com a descrição das feições espectrais observadas na literatura associadas à presença do pigmento ficocianina. Nas Figuras 45 e 46, os segmentos de reta verticais tracejados representam a localização das feições espectrais nas curvas de reflectância original relacionadas à ficocianina e o seu comportamento correspondente nas curvas derivadas. É possível perceber que feições pouco discerníveis na curva original passam a ter um comportamento mais sinuoso nas curvas derivadas. Importante ressaltar que feições mais expressivas foram observadas na segunda derivada em virtude destas representarem feições inversas e realçadas, quando comparadas com as feições espectrais das curvas originais. Além disso, as feições resultantes da segunda derivada tem posicionamento similar aos das curvas de reflectância original no eixo das abscissas.

Apesar das curvas espectrais de alguns levantamentos apresentarem de modo quase imperceptível as feições relacionadas à ocorrência de ficocianina, observa-se que essas se tornam evidenciáveis nas curvas de derivadas.

Para a análise da correlação ao longo do espectro, das curvas de primeira e segunda derivada, optou-se por limitar a região de abrangência espectral de 600 a 700 nm, pois se trata da região com referências para identificação de ficocianina por valores de reflectância. A Figura 47 apresenta os correlogramas das curvas de primeira e segunda derivadas com as concentrações de ficocianina para os quatro levantamentos de campo realizados.

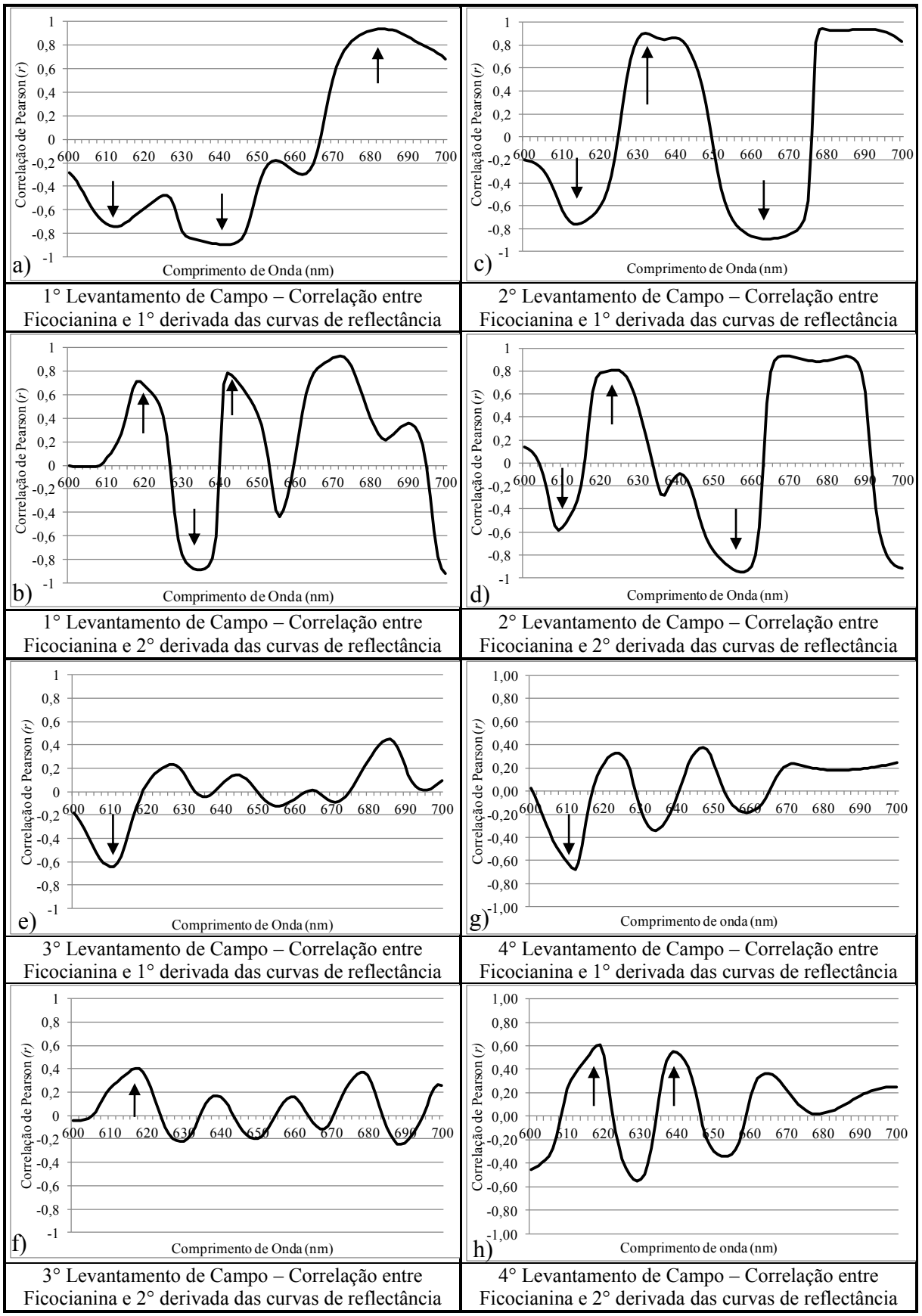



Figura 47 - Correlogramas das curvas obtidas por meio da análise derivativa e concentração de ficocianina

Para a primeira derivada do primeiro levantamento é possível verificar pela Figura 47-a, valores de correlação próximos a 0,9, na região entre 630 e 645 nm e em 680 nm. Na região de 615 nm foram obtidas correlações de 0,75, que podem estar associado à influência da ficocianina. Para a segunda derivada (Figura 47-b), o correlograma indicou altos valores de correlações em 615, 630, 645 e 680 nm.

No segundo levantamento, a primeira derivada (Figura 47-c) apresentou valores de correlação diferenciados do primeiro levantamento, porém, se mantiveram altos em 615, 630, 645 e 680 nm. Para o correlograma da segunda derivada com ficocianina (Figura 47-d), observam-se valores significativos de correlação em 620 e 655 nm e entre 665 a 690 nm. As curvas de correlação do segundo levantamento foram as que apresentaram comportamento mais contínuo em altas correlações posicionadas em feições características da ficocianina. O intervalo de 665 a 690 nm, também apresentou altas correlações, contudo, a literatura tem associado variações nesse intervalo com a resposta da clorofila *a* (GOODIN et al., 1993).

Nos correlogramas de todos os campos, tanto para a primeira, quanto para a segunda derivada foi observada correlação significativa em aproximadamente 615 nm, o que coincide com a feição de absorção da ficocianina mais comum na literatura. Para o terceiro levantamento de campo (Figuras 47-e e 47-f), as outras regiões do espectro eletromagnético mostraram baixa correlação com comportamento aleatório.

Os correlogramas gerados para o quarto levantamento mostraram para a segunda derivada, correlações expressivas nas regiões centradas em 615, 630 e 640 nm. Importante ressaltar que o primeiro, terceiro e quarto levantamentos se caracterizaram pela baixa concentração do pigmento ficocianina medida pela fluorescência.

Assim como Goodin et al. (1993) observaram melhores resultados da segunda derivada com presença de clorofila *a*, também se verificou resultados expressivos para a segunda derivada e ficocianina. Esse fato sustenta a hipótese de que a segunda derivada realça importantes feições espectrais ocasionadas pela presença de pigmentos fitoplanctônicos, tais como clorofila *a* e de acordo com os resultados alcançados, para ficocianina também. Para a primeira derivada, os dados devem ser analisados com maior atenção pelo fato de ser influenciado por outros COAS como os efeitos de sólidos em suspensão (Goodin et al., 1993).

- **Razão de bandas**

A Tabela 26 apresenta valores do coeficiente de correlação de Pearson (*r*) para diferentes razões espectrais observadas na literatura e a concentração de ficocianina. Foram

testadas as seguintes razões em nanômetros (nm): 709/620, 654/617, 700/600 e (705– 620/705+620).

Tabela 26 - Valores do coeficiente de correlação de Pearson para diferentes relações entre razões espectrais e a concentração de ficocianina.

| **Razão Espectral (nm)** | **Referências** | **Coeficiente de correlação por levantamento de campo** | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | **1°** | **2°** | **3°** | **4°** |
| 709/620 | Simis et al. (2005); Le et al. (2011) | -0,47 | **0,78** | 0,1 | 0,22 |
| 654/617 | Mishra et al. (2009); | **0,88** | **0,73** | 0,16 | 0,1 |
| 700/600 | Mishra et al. (2009) | -0,45 | **-0,65** | -0,23 | 0,14 |
| (705– 620/705+620) | Gómez et al. (2011) | -0,48 | **0,75** | -0,25 | 0,24 |

Para ficocianina, o primeiro e segundo levantamentos apresentaram melhores valores de coeficiente de correlação. A razão de bandas com melhores resultados foi proposta por Mishra et al. (2009) em 654/617 nm, contudo esta razão não apresentou bons resultados para o terceiro e quarto levantamentos, característico de concentrações mais baixas.

Em todas as razões testadas foram obtidos valores de correlação significativos para o segundo levantamento, que pode estar associada com a maior concentração do pigmento ficocianina, tornando as razões espectrais sejam mais eficientes para a detecção. Por outro lado, verifica-se que o terceiro e quarto levantamentos evidenciaram baixos valores de correlação.

Na tentativa de obter outras razões de bandas com sensibilidade para detecção de ficocianina, optou-se por trabalhar com todas as combinações possíveis de razões espectrais no intervalo de 600 a 700 nm. Por intermédio do cálculo de correlação dessas razões com a concentração de ficocianina, foram geradas 4 superfícies representando cada levantamento de campo. A Figura 48 apresenta as superfícies geradas a partir do cálculo de coeficiente de correlação de Pearson (*r*) entre as razões a concentração de ficocianina.

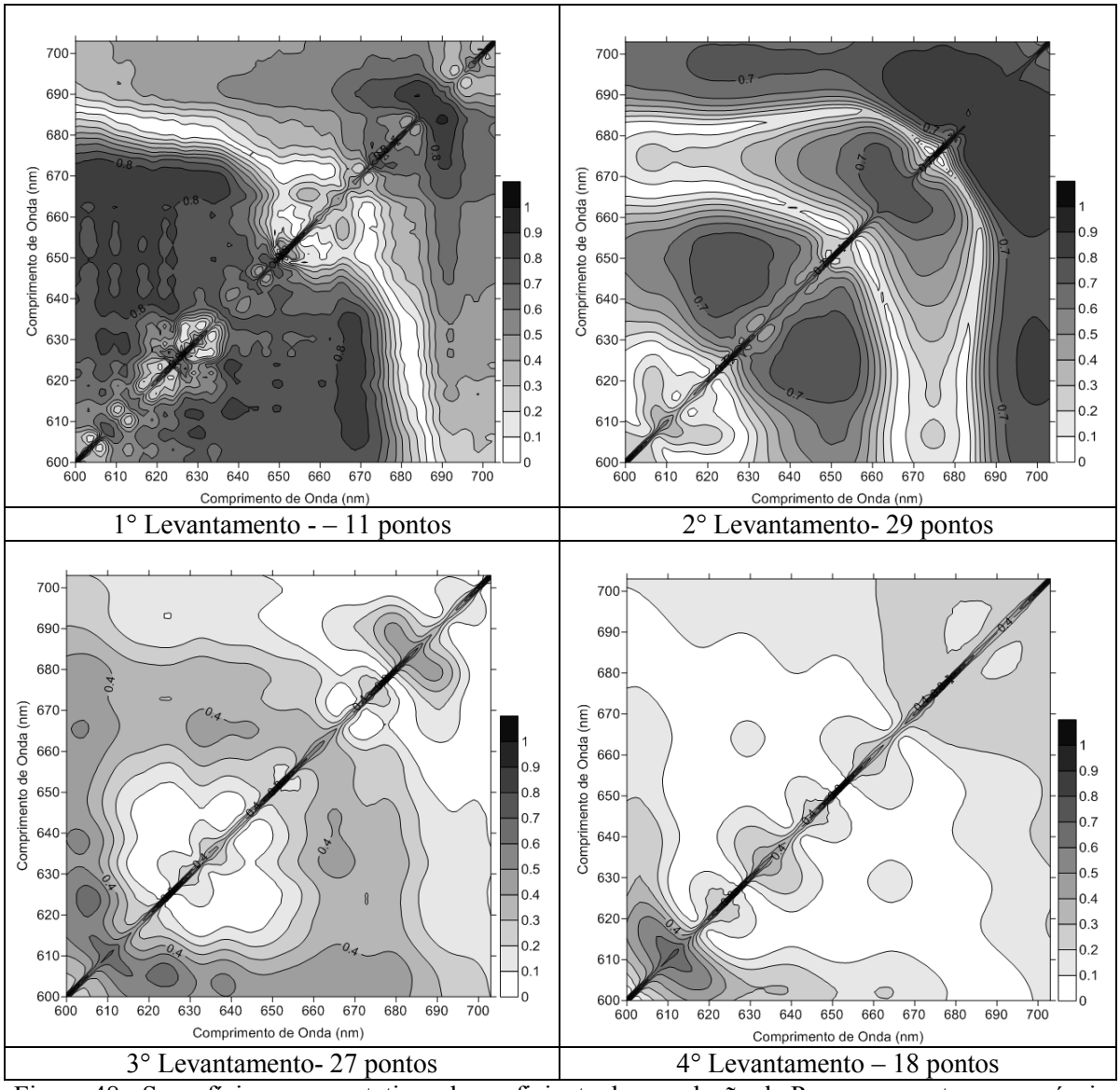



Figura 48 - Superfícies representativas do coeficiente de correlação de Pearson, *r*, entre as possíveis razões espectrais definidas no intervalo entre 600 e 700 nm e ficocianina.

Pela Figura 48 percebe-se que, nos levantamentos de campo com maior concentração do pigmento ficocianina, ou seja, 1° e 2° levantamentos, as razões espectrais resultaram também em maiores valores de correlação para as razões que consideraram os comprimentos de onda em torno de 612, 650, 670-680 nm e 690-700 nm. As regiões espectrais entre 670-680 nm e 690-700 nm também são utilizadas para detecção de clorofila *a*.

Os terceiro e quarto levantamentos apresentaram baixas concentrações de ficocianina, todavia, mesmo com essa limitação, percebe-se que as razões espectrais localizadas entre 610 e 620 nm resultaram em maiores coeficientes de correlação. Assim, para os dados levantados infere-se que essa região espectral é a mais adequada para identificação do pigmento ficocianina por meio da aplicação de razão de bandas, mesmo em baixas concentrações. Pelas observações anteriores, fazem-se proposições e ajustes em razões já existentes para

identificação de ficocianina na Tabela 27, na qual é possível observar que a razão de 650/600 e 603/650 obtiveram valores de correlação mais significativos.

Tabela 27 - Valores do coeficiente de correlação para diferentes relações entre razões espectrais e a concentração de ficocianina.

| Razão Espectral (nm) | Coeficiente de correlação por levantamento de campo | | | |
|---|---|---|---|---|
| | 1° levantamento dezembro/2011 | 2° levantamento fevereiro/2012 | 3° levantamento março/2012 | 4° levantamento setembro/2012 |
| **603/650** | **0,8** | **-0,56** | **0,44** | 0,13 |
| 630/603 | **-0,71** | 0,13 | -0,52 | 0,3 |
| 630/610 | **-0,80** | 0,18 | -0,35 | -0,01 |
| **630/650** | **-0,68** | **-0,74** | 0,12 | 0,06 |
| **650/600** | **-0,77** | **0,53** | **-0,47** | -0,20 |
| **603/630** | **0,74** | -0,13 | **0,53** | 0,30 |

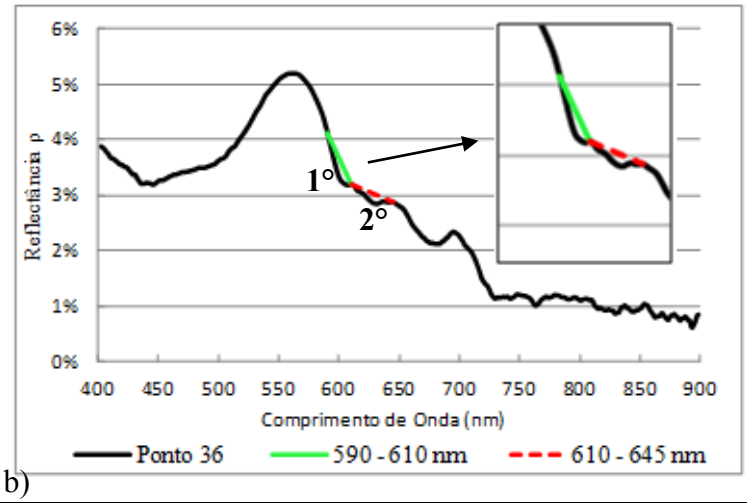
Como se observa na Tabela 27 os maiores valores de correlação foram observados nas razões que utilizam as regiões espectrais de 630 e 650 nm, já destacadas na literatura como sensíveis à ocorrência de ficocianina, já relatadas em obras como as de Marion et al. (2012), Song et al. (2012), Le et al. (2011), Londe (2008), Ruiz-Verdú et al. (2008), Weaver e Wrigley (1994) e Dekker (1993). Correlações significativas foram observadas no primeiro e segundo levantamento. Apesar de baixas concentrações de ficocianina, o terceiro levantamento também apresentou valores de correlações significativos para várias razões. Apenas o quarto levantamento resultou em valores pouco correlacionados para todas as razões testadas.

- **Remoção do contínuo**

A Figura 49-b esquematiza um exemplo das feições de absorção de uma curva espectral para análise da região de abrangência das 1° e 2° feições. A Figura 49-a apresenta os intervalos espectrais de cada feição. Como se observa nessa figura, as feições localizam-se sobre a região de interesse para investigação de alterações espectrais provocadas pela ocorrência de ficocianina.

a)

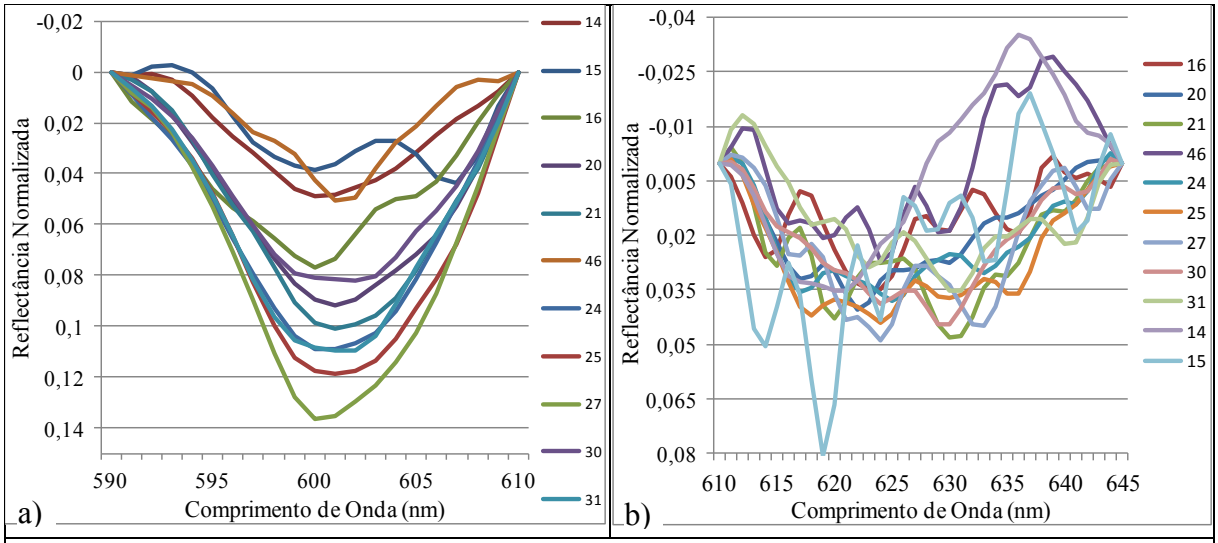
| Feições de Absorção | Limite inferior $\lambda$ (nm) | Limite superior $\lambda$ (nm) |
|---|---|---|
| 1º Feição de absorção | 590 | 610 |
| 2 º Feição de absorção | 610 | 645 |




b)

Figura 49- (a) Intervalos das 1° e 2° feições de absorção e (b) exemplo de espectro de reflectância (2° levantamento-Ponto 36) com a representação da 1° e 2° feições.

As Figuras 50, 51, 52 e 53 esquematizam as feições de absorção após a aplicação da técnica de remoção do contínuo em todas as curvas espectrais obtidas nos primeiro, segundo, terceiro e quarto levantamentos de campo, respectivamente.




1° Levantamento– dezembro/2011 (11 espectros do contínuo removido)

Figura 50 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 1° levantamento de campo

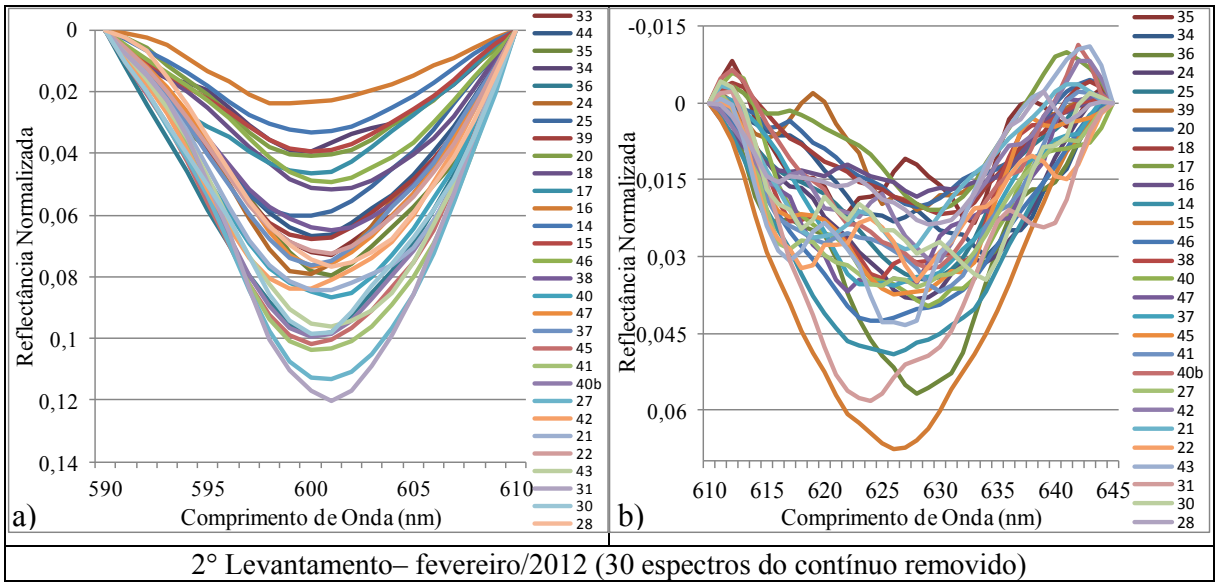



Figura 51 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 2° levantamento de campo

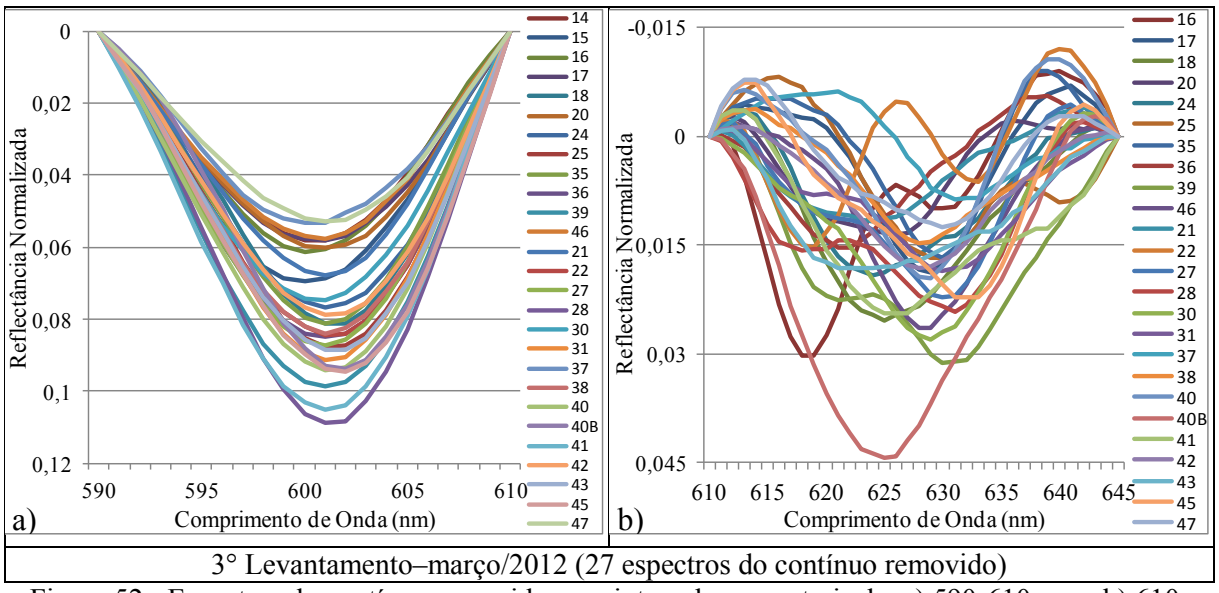
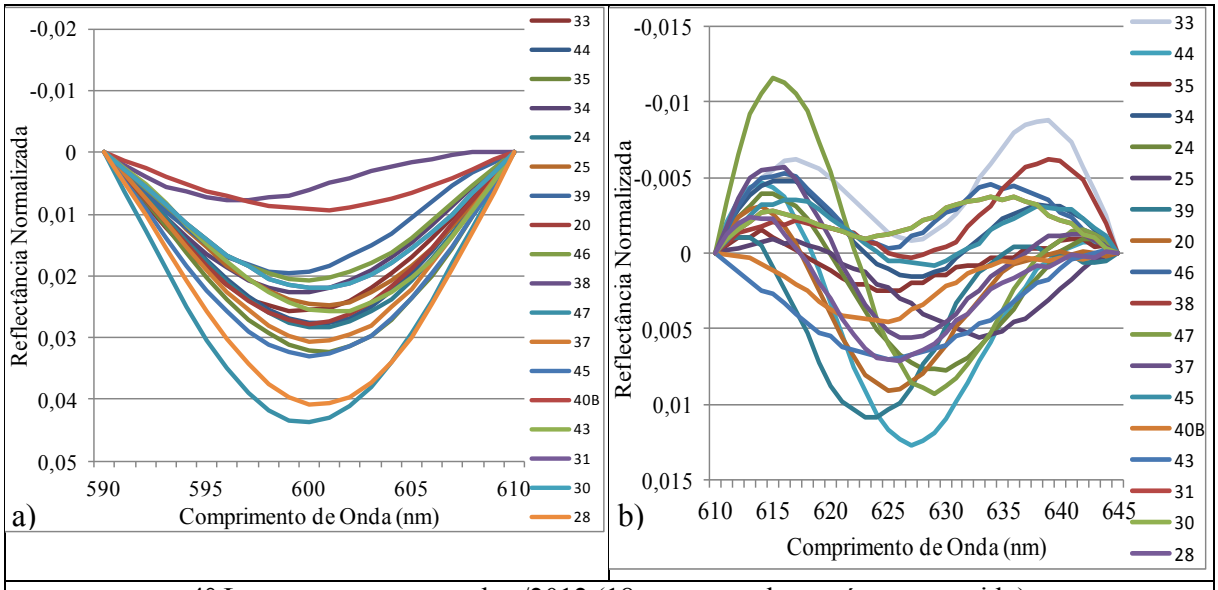



Figura 52 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 3° levantamento de campo




4° Levantamento– setembro/2012 (18 espectros do contínuo removido)

Figura 53 - Espectros do contínuo removido para intervalos espectrais de: a) 590-610 nm e b) 610-645nm aplicados nas curvas espectrais do 4° Levantamento

Analisando as Figuras 50, 51, 52 e 53 observa-se que as curvas do contínuo removido para a 1° feição de absorção (590-610 nm) apresentam um comportamento similar, em termos de forma, para todos os espectros do contínuo removido. As feições de absorção mais pronunciadas são verificadas nos segundo (Figura 51) e terceiro (Figura 52) levantamentos de campo, de acordo com os valores apresentados no eixo das ordenadas.

Para a feição 2 (610-645nm), as feições de absorção apresentam um comportamento mais aleatório e com aparência ruidosa. No quarto levantamento, algumas curvas espectrais não evidenciaram feição de absorção. O segundo levantamento de campo foi o que apresentou feições de absorção mais profundas e melhor definidas em virtude da maior concentração do pigmento fitoplanctônico ficocianina.

Após aplicação do contínuo removido estimou-se alguns parâmetros relacionados com as bandas de absorção, como: profundidade, área, largura e assimetria, os quais foram posteriormente correlacionados com a concentração de ficocianina. As Tabelas 28 e 29 apresentam os valores médios dos parâmetros obtidos do conjunto de curvas do contínuo removido, para as duas feições de absorção analisadas, considerando os levantamentos de campo realizados.

Tabela 28 - Parâmetros das bandas de absorção do contínuo removido para a 1° feição (590 – 610 nm)

| | **1° levantamento dezembro/2011** | | **2° levantamento fevereiro/2012** | | **3° levantamento março/2012** | | **4° levantamento setembro/2012** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Parâmetros* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* |
| Posição do $\lambda_{nm}$ de maior profundidade | 601,27 | 2,00 | 600,33 | 0,606 | 600,93 | 0,47 | 600,12 | 1,00 |
| Profundidade | 0,088 | 0,031 | 0,074 | 0,025 | 0,08 | 0,02 | 0,03 | 0,01 |
| Largura | 10,909 | 2,508 | 11,900 | 0,607 | 12,11 | 0,70 | 12,28 | 0,96 |
| Assimetria | 1,224 | 1,076 | 0,936 | 0,126 | 1,10 | 0,10 | 1,04 | 0,15 |
| Área | 1,008 | 0,467 | 0,878 | 0,303 | 0,96 | 0,20 | 0,32 | 0,11 |

Tabela 29 - Parâmetros das bandas de absorção do contínuo removido para a 2° feição (610-645nm)

| | **1° levantamento dezembro/2011** | | **2° levantamento fevereiro/2012** | | **3° levantamento março/2012** | | **4° levantamento setembro/2012** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Parâmetros* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* | *Média* | *Desvio Padrão* |
| Posição do $\lambda_{nm}$ de maior profundidade | 624,727 | 3,797 | 627,86 | 2,92 | 627,22 | 3,88 | 627 | 2,677 |
| Profundidade | 0,043 | 0,014 | 0,036 | 0,012 | 0,0209 | 0,0077 | 0,0047 | 0,0042 |
| Largura | 17,545 | 4,251 | 18,300 | 3,007 | 13,33 | 4,42 | 7,56 | 5,56 |
| Assimetria | 0,318 | 1,076 | 1,562 | 0,919 | 1,26 | 1,81 | 0,41 | 0,63 |
| Área | 0,743 | 0,219 | 0,659 | 0,246 | 0,289 | 0,168 | 0,054 | 0,052 |

Para a 1° feição (entre 590 a 610 nm), verifica-se pela Tabela 28, que o comprimento de onda de maior profundidade foi em aproximadamente 600 nm. O quarto levantamento representou a época de menor profundidade da feição. Para a largura da banda, as épocas de menor concentração de ficocianina, ou seja, os terceiro e quarto levantamentos, representaram feições mais largas e pouco profundas, visto que para baixas concentrações de pigmentos fitoplanctônicos esta região espectral tende a ser mais suave.

Já na 2° feição (entre 610 a 645nm), mostradas nas Figuras 50-b, 51-b, 52-b e 53-b nos quatro levantamentos de campo, observa-se que a posição do comprimento de onda ($\lambda_{nm}$) de maior profundidade é em torno de 627 nm, exceto para o primeiro levantamento. Os parâmetros larguras e área do quarto levantamento foram menores que os demais em virtude de muitas curvas de reflectância possuírem uma feição de absorção menos pronunciada, extrapolando o intervalo definido pela feição de absorção, que ocorreu em decorrência da feição de absorção ser menos pronunciada em casos de baixas concentrações de ficocianina. O parâmetro profundidade foi maior nos primeiro e segundo levantamentos.

As análises de correlações entre os parâmetros do contínuo removido nas bandas de absorção resultantes e a concentração de ficocianina são apresentadas nos gráficos das Figuras 54 e 55, para as 1° e 2° feições de absorção, respectivamente.

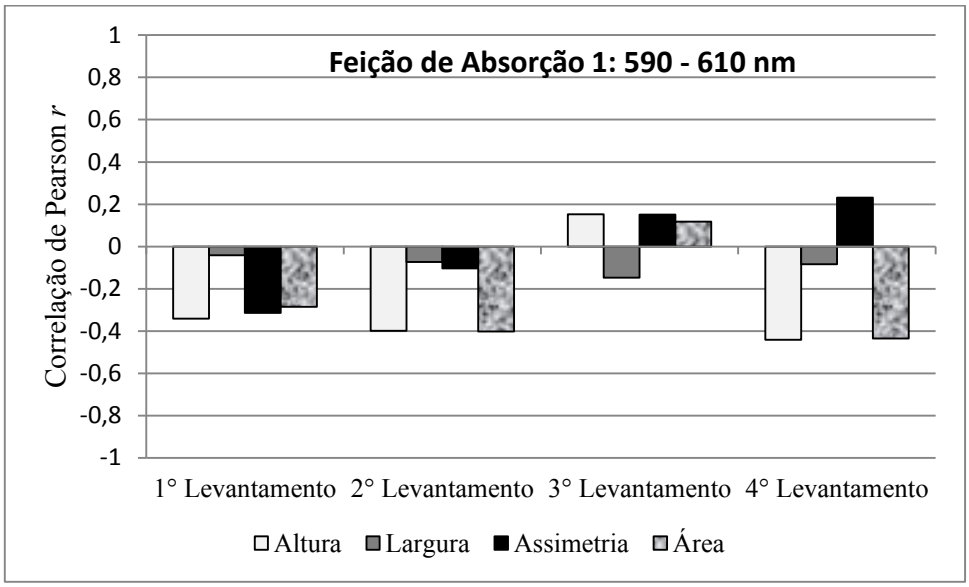



Figura 54 - Coeficientes de Correlação entre os parâmetros das curvas do contínuo removido com a concentração de ficocianina para a 1° feição de absorção (590 a 690nm).

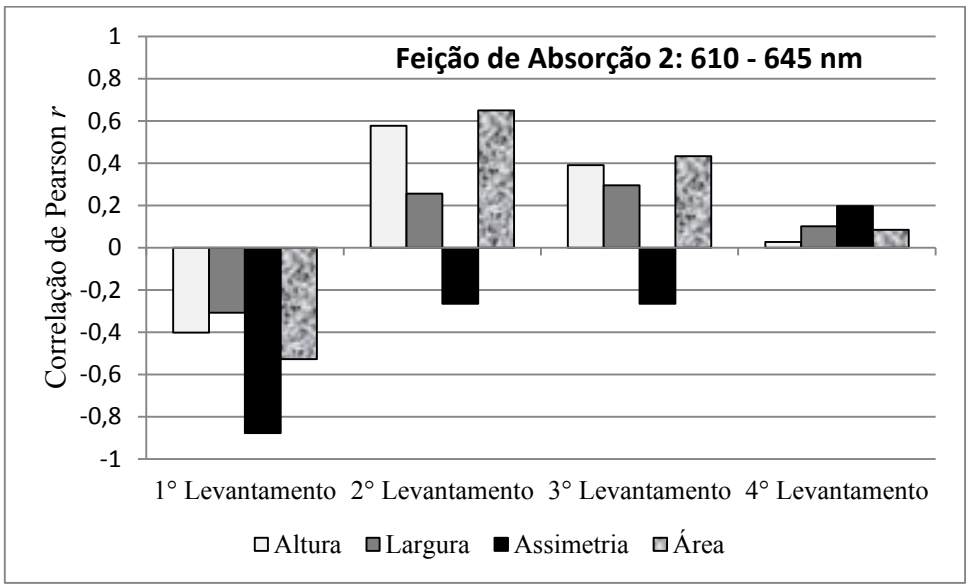



Figura 55 - Coeficientes de Correlação entre os parâmetros das curvas do contínuo removido com a concentração de ficocianina para a 2° feição de absorção (610 a 645 nm).

Para o cálculo dos coeficientes de correlação, considerou-se que foram processadas 11 curvas espectrais para o primeiro levantamento, 30 para o segundo, 27 para o terceiro levantamento e 18 curvas espectrais para o quarto levantamento. Foram considerados valores de correlação significativos, os maiores que os apresentados na Tabela 14.

Pelos graus de correlação de Pearson *r* visualizados na Figura 54 é possível dizer que a feição de absorção entre 590 e 610 nm não apresenta valores significativos de correlação entre os parâmetros obtidos das curvas do contínuo removido e a concentração de ficocianina. Apenas os segundo e quarto levantamentos verificaram-se correlações intermediárias para os parâmetros área e altura. Esse comportamento justifica-se no segundo levantamento em função dessa feição ser mais sinuosa em concentrações mais elevadas de pigmentos fitoplanctônicos. Para o quarto levantamento, verifica-se que mesmo em baixas concentrações, houve certa relação entre área e altura com a ocorrência de ficocianina.

Analisando a Figura 55, apesar da presença da ocorrência de muito ruído nas feições, observam-se resultados mais significativos para a 2° feição de absorção (entre 610 e 645 nm), principalmente para o primeiro e segundo levantamentos de campo. No segundo levantamento, os parâmetros altura e área foram os mais correlacionados com ficocianina, pois no caso dessa feição, diversos autores mencionam a importância do efeito da absorção e forma da feição com o aumento da concentração de ficocianina (DUAN, 2012, ODERMATT et al., 2012; , VINCENT et al., 2004, PAN et al., 2013, SENGPIEL, 2007, DUAN et al., 2012). Para o terceiro e quarto levantamento os parâmetros passam a ser menos correlacionados com ficocianina, o que pode significar que a concentração de ficocianina não foi suficiente para ser detectada pela resposta espectral após a aplicação do contínuo removido.

Nos primeiro, segundo e terceiro levantamentos, o parâmetro área foi a variável que apresentou melhores resultados, mesmo no terceiro levantamento, no qual foram observadas menores concentrações de ficocianina.

## 5.4.Detecção da ficocianina por meio das imagens orbitais multiespectrais

Com a finalidade de avaliar o potencial dos dados espectrais extraídos a partir de imagens RapidEye e MODIS na estimativa de ficocianina e clorofila *a*, foi calculada a correlação entre a concentração obtida por fluorimetria de campo para ficocianina e clorofila *a* com a informação espectral extraída na imagem.

- **RapidEye**

Para as quatro épocas analisadas foram adquiridas cenas correspondentes a três levantamentos de campo, de acordo com a disponibilidade no acervo de imagens da RapidEye. As imagens obtidas são apresentadas na Figura 56, para a área de estudos.

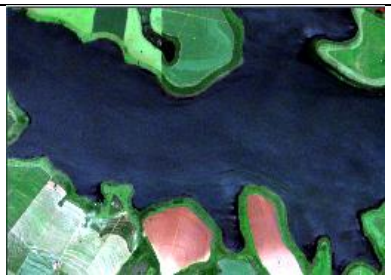
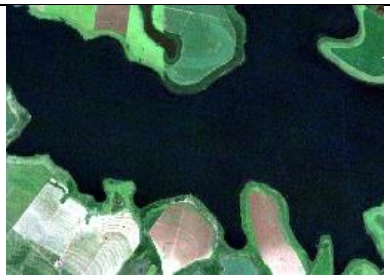
| | | |
|---|---|---|
|  |  | |
| Segundo Levantamento (fevereiro/2012): Imagem adquirida em 16/02/2012 | Terceiro Levantamento (março/2012): Imagem adquirida em 26/03/2012 | Quarto Levantamento (setembro/2012): Imagem adquirida em 03/10/2012 |

Figura 56 - recorte das imagens RapidEye adquiridas em épocas próximas a três dos levantamentos de campo (Composição colorida RGB-321)

Como é possível observar na Figura 56, a imagem próxima ao quarto levantamento de campo apresentou problemas na extração da informação espectral, ocasionados pelo efeito de *glitter*, entendido como a reflexão especular da luz ocasionada quando o ângulo zenital solar e o ângulo de visada do sensor são aproximadamente os mesmos. Os únicos dados de valor da imagem são padrões de vento da superfície da água, que fornecem alguma informação sobre a direção do vento na hora de obtenção da imagem (JENSEN, 2000). Assim, para a pesquisa só foi possível a utilização das imagens para as duas outras épocas (fevereiro/2012 e março/2012).

Uma das primeiras etapas na avaliação das imagens RapidEye foi interpretar as regiões espectrais de abrangência de cada banda, considerando as feições espectrais de interesse do pigmento ficocianina e clorofila *a*, de acordo com a literatura (DUAN, 2012; ODERMATT et al., 2012; VINCENT et al., 2004; RUIZ-VERDÚ et al., 2008; PAN et al., 2013; SENGPIEL, 2007; DUAN et al., 2012; KIRK, 1994; DEKKER, 1993). Observando a Figura 57, a Banda 3, apesar de muito ampla (aproximadamente 70 nm), será avaliada sobre seu potencial de detecção de ficocianina, contudo fica claro que as feições diagnósticas sutis desse pigmento podem ser homogeneizadas. As Bandas 2 e 4 também serão avaliadas considerando o pigmento clorofila *a*.

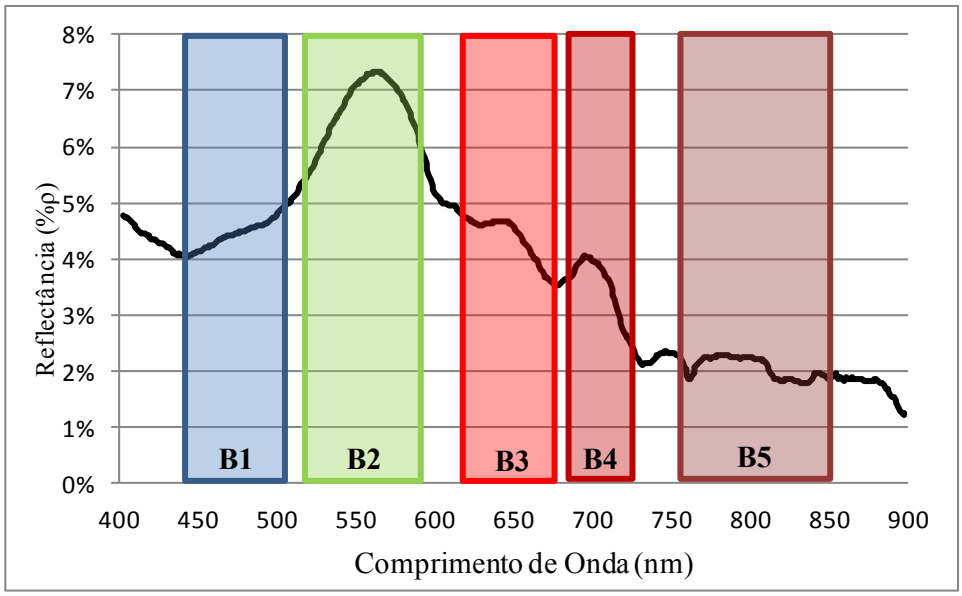
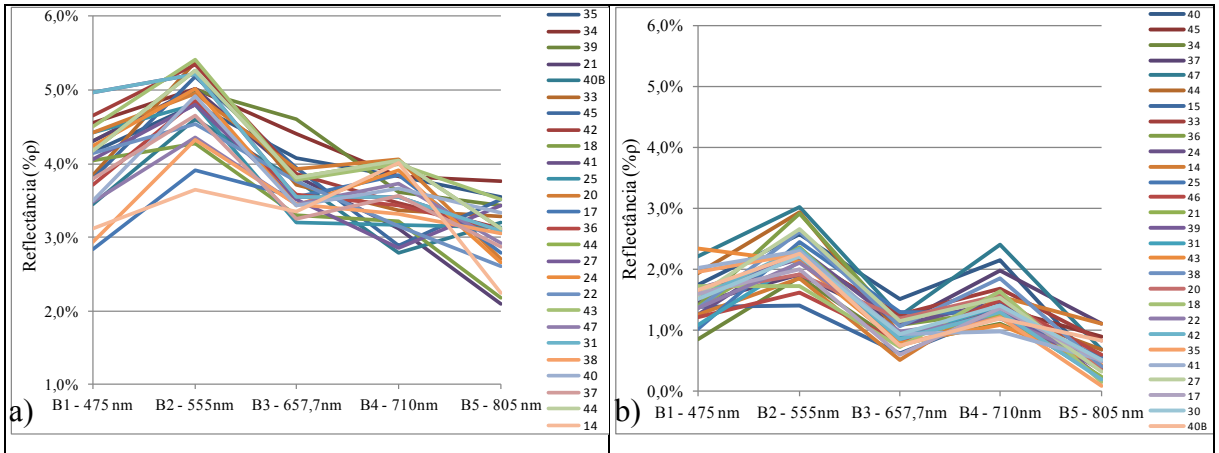



Figura 57 - Largura das bandas espectrais das imagens multiespectrais RapidEye (B1: 440 – 510 µm; B2: 520 – 590 µm; B3: 630 – 685 µm; B4: 690 - 730 µm; B5: 760 – 850) sobre uma curva de reflectância espectral de um corpo d'água com presença de ficocianina e clorofila *a*, do ponto 36 do segundo levantamento.

Após a compreensão da Figura 57, foram extraídos valores espectrais nos pontos em que foram medidos em campo a concentração de ficocianina e clorofila *a* por fluorescência, como mostra a Figura 58. Nesse caso, optou-se pela coleta dos valores espectrais em apenas um pixel em virtude da resolução espacial ser de 5 metros na imagem.




| Segundo Levantamento (fevereiro/2012): valores espectrais da Imagem adquirida em 16/02/2012 | Terceiro Levantamento (março/2012): valores espectrais extraídas da Imagem adquirida em 26/03/2012 |
|---|---|

Figura 58 - Curvas espectrais extraídas das imagens RapidEye nos pixels representativos dos pontos de amostragem de campo.

Pela Figura 58-a observa-se que os valores espectrais do segundo levantamento mostram-se bastante heterogêneos, alguns atingindo até 5% de intensidade de reflectância. Para

a terceira banda (B3), centrada em 657,7 nm, verifica-se um ponto de absorção na maioria das curvas. A banda centrada em 710 nm (B4) apresenta reflexão para a maioria das curvas de reflectância. Também é visualizado um comportamento de espalhamento na banda, centrada em 555 nm (B2). Na imagem obtida para o terceiro levantamento, apesar de visualmente as curvas apresentarem um melhor comportamento (Figura 58-b), verifica-se que a reflectância não ultrapassou a 3%. Esses valores de reflectância se mostram coerentes com as curvas de reflectância espectrais obtidas nos levantamentos de campo para as épocas em questão, representadas na Figura 42.

Com a extração dos valores espectrais de cada banda, foi possível realizar o cálculo de correlação entre os valores de reflectância obtidos nas imagens RapidEye com os pigmentos fitoplanctônicos ficocianina e clorofila *a*. Algumas razões também foram testadas e correlacionadas com os pigmentos fitoplanctônicos ficocianina e clorofila *a*. Os resultados são apresentados a seguir na Tabela 30.

Tabela 30- Valores de correlação entre valores espectrais obtidos pela imagem RapidEye e concentração de ficocianina e clorofila *a*.

| | 2° Levantamento | | 3° Levantamento | |
|---|---|---|---|---|
| | Ficocianina | Clorofila *a* | Ficocianina | Clorofila *a* |
| B1: 440 – 510 nm | -0,41 | 0,34 | 0,06 | -0,07 |
| B2: 520 – 590 nm | -0,49 | -0,51 | -0,11 | -0,16 |
| B3: 630 – 685 nm | **-0,61** | 0,26 | **-0,45** | -0,07 |
| B4: 690 - 730 nm | 0,37 | **0,70** | **-0,45** | 0,24 |
| B5: 760 – 850 nm | 0,03 | 0,25 | -0,17 | 0,03 |
| Razão B3/B2 | -0,28 | 0,05 | **-0,42** | 0,02 |
| Razão B3/B4 | **-0,54** | **-0,74** | 0,06 | -0,14 |

De acordo com a Tabela 30, observa-se que a imagem do segundo levantamento, no qual foram obtidas as maiores concentrações de pigmentos fotossintetizantes, apresentou correlações significativas entre a Banda 4 (690 - 730 nm) e concentração de clorofila *a* enquanto que a Banda 3 (B3: 630 – 685 nm) apresentou maior correlação com o pigmento ficocianina. A razão entre as bandas B3 e B4 manteve correlação negativa moderada para ficocianina e correlação negativa alta para clorofila *a*.

Para o terceiro levantamento, com característica de baixas concentrações de ficocianina e clorofila *a,* é fato que a obtenção de dados relacionados com os pigmentos a partir das imagens RapidEye fica mais comprometida. Pelos resultados apresentados observa-se que

as imagens RapidEye apresentaram melhores resultados para detectar clorofila *a*, contudo, ficou evidente que é necessário uma concentração mínima do pigmento para que a detecção seja possível. Além disso, deve-se considerar que as imagens utilizadas passaram por um processo suavização pelo método interpolação por convolução cúbica para ortorretificação, este procedimento pode ter mascarado as diferenças de respostas espectrais por pixel.

Destaca-se ainda que para o segundo levantamento de campo a concentração média foi de 47,54 µg/L, maior do que a concentração máxima recomendada pela resolução CONAMA n° 357/2005 para águas de classe 2. Assim, é importante haver uma avaliação temporal mais detalhada no sentido de observar se as imagens RapidEye atendem as expectativas para monitoramento de ambientes aquáticos, considerando as variações existentes de concentração de COAs em outros corpos d'água.

- **MODIS**

Para os dados do sensor MODIS (MOD09A1) realizou-se uma avaliação das regiões espectrais de abrangência de cada banda, comparada com as regiões espectrais sensíveis a resposta dos pigmentos ficocianina e clorofila *a*, considerando apenas as bandas espectrais próprias para aplicação em sistemas aquáticos continentais do produto MOD09 (NOVO et al., 2007). Nota-se pela Figura 59, que as bandas do sensor MODIS são mais estreitas, com localizações específicas, assim para a análise de correlação foram utilizadas as bandas 3 (459 – 479 µm), 4 (545 – 565 µm) e 1 (620 – 670 µm), consideradas mais propícias para detecção dos pigmentos analisados.

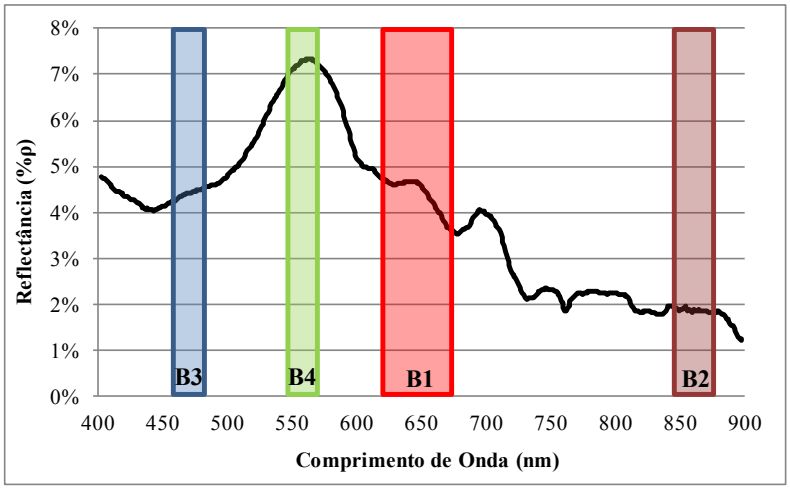



Figura 59 - Largura das bandas espectrais das imagens multiespectrais MODIS (B3: 459 – 479 µm; B4: 545 – 565 µm; B1: 620 – 670 µm; B2: 841 - 876 µm) sobre uma curva de reflectância espectral de um corpo d'água com presença de ficocianina e clorofila *a*, do ponto 36 do segundo levantamento.

Na Figura 60 mostram-se recortes de imagens MODIS (MOD09A1) sobre área de estudo para as épocas analisadas, representada por um polígono em branco. Para as imagens em questão na tentativa de observar uma relação temporal entre a concentração de ficocianina e a variação espectral ao longo do tempo, para as quatro épocas, foram calculadas as médias de concentração de ficocianina e valores espectrais por banda sobre os pontos passíveis de obtenção de valores espectrais. Assim para cada época obteve-se um valor representativo de concentração de ficocianina e um valor representativo de informação espectral para cada banda analisada. Esses valores foram correlacionados considerando os quatro levantamentos realizados.

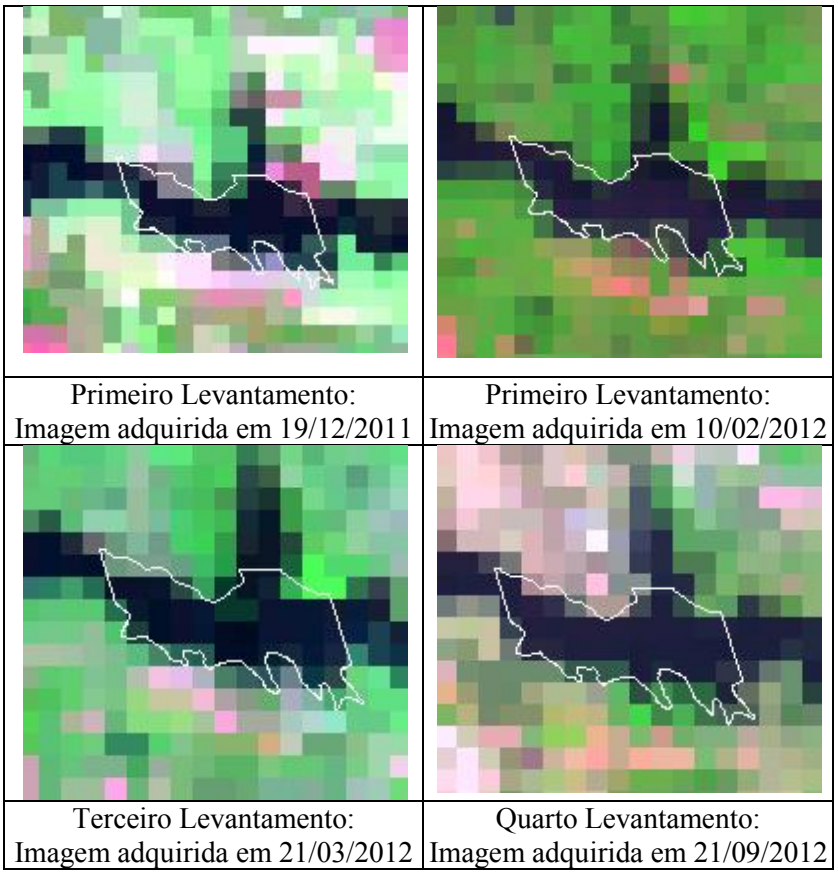



Figura 60 - Aparência das imagens MODIS adquiridas em épocas próximas aos levantamentos de campo (Composição colorida R (B1) G (B2) B (B7). O Polígono em branco apresentado sobreposto as imagens representam o limite da área de estudos.

A Figura 61 apresenta os valores médios de reflectância espectral obtidos, considerando as 3 bandas ( B3 (459 – 479 μm), B4 (545 – 565 μm) e B1 (620 – 670 μm)) de interesse para análise de pigmentos fitoplanctônicos.

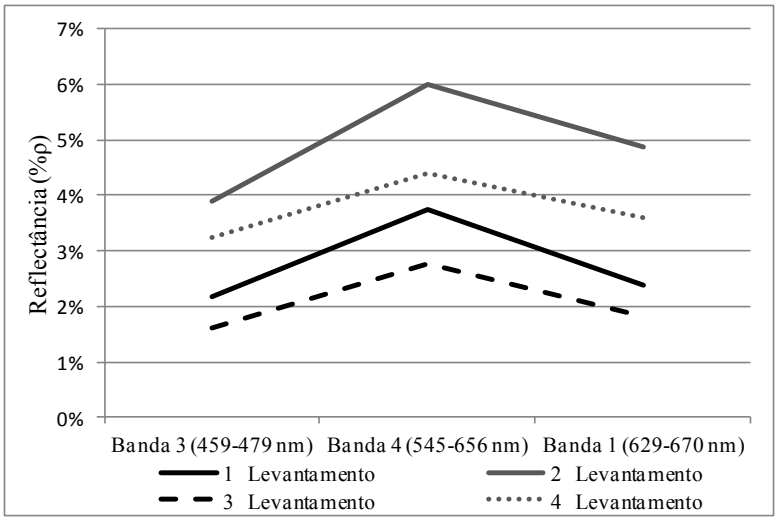



Figura 61 - Valores médios reflectância espectral do sensor MODIS obtidas para os quatro levantamentos de campo. Para cada levantamento de campo foram consideradas as médias de 13 pixels que sobrepuseram o elementos amostrais do esquema de amostragem de levantamento de campo.

Como se verifica na Figura 61 foi possível visualizar o comportamento dos valores de reflectância para as três bandas nas quatro épocas analisadas. Os valores de reflectância obtidos para o segundo levantamento de campo foi a que apresentou maior resposta espectral para as três bandas analisadas, conforme o esperado, pois este foi o levantamento de campo com maiores concentrações de pigmentos fitoplanctônicos que gera maior resposta de reflectância. O terceiro levantamento representou valores mais baixos de reflectância, pela a ocorrência contínua de chuvas na época, tornando a água mais limpa, com menor interferência de outros COAs, como os pigmentos fotossintetizantes.

Como já dito anteriormente não foi possível realizar uma análise de variação espacial com os dados MODIS em virtude da baixa resolução espacial, assim, apenas foi considerada a variação temporal entre a média dos valores de reflectância espectral obtidas nas quatro imagens MODIS e as variáveis biológicas ficocianina e clorofila *a*. As correlações obtidas são apresentadas na Figura 62.

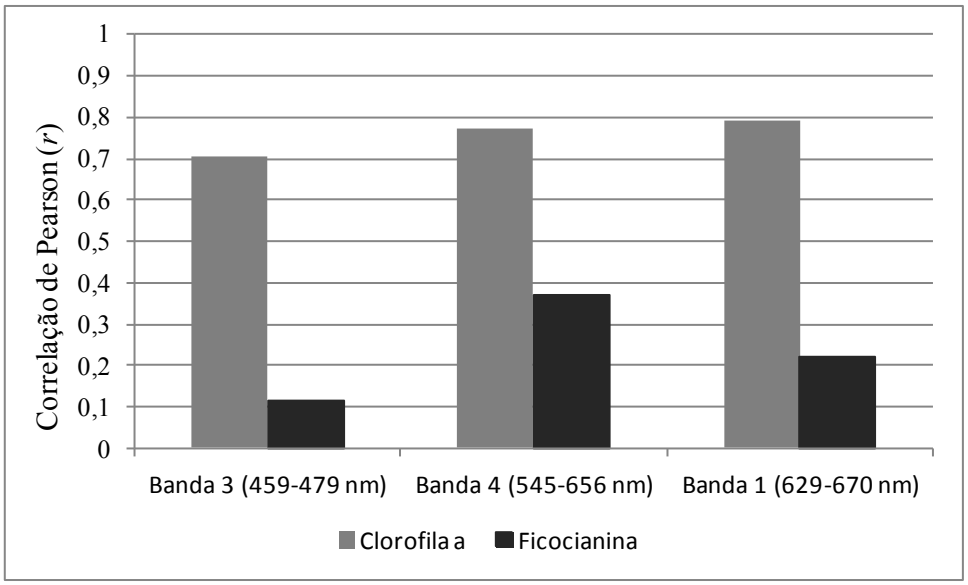



Figura 62- Correlação entre bandas extraídas do produto MOD09 e concentração de clorofila *a* e ficocianina, considerando os quatro levantamentos de campo realizados.

Observando a Figura 62 verifica-se que a clorofila *a,* como era esperado, apresenta valores de correlação mais significativos para as três bandas. A Banda 1, que teoricamente deveria ser mais susceptível para a variação de ficocianina, apresentou maior correlação com clorofila *a*. Provavelmente as feições características da presença de ficocianina nessa região foram suavizadas pelo amplo intervalo da Banda 1 (629-670 nm), trazendo informações de reflectância de outros componentes, como até mesmo da própria clorofila *a*, devido sua maior concentração.

## 5.5. Dados multifonte na caracterização sazonal de cianobactérias

Para uma percepção geral de como os dados multifonte obtidos nesta pesquisa responderam na detecção e caracterização temporal das cianobactérias, apresenta-se neste item uma análise global dos resultados alcançados.

Primeiramente observa-se, pela Tabela 31, que a fluorescência apresentou alto desempenho na estimativa de clorofila *a*, pois foram observadas correlações significativas entre a concentração relativa (fluorescência) e absoluta (laboratório), mesmo nos casos em que a concentração de clorofila *a* foi considerada baixa, ou seja, nos primeiro, terceiro e quarto levantamentos de campo. Sobre a variável ficocianina percebe-se, mesmo considerando que foram analisados apenas dois pontos, que o número de indivíduos por ml/L de cianofíceas, foi consistente como as leituras fluorimétricas desses pontos. Desse modo, os valores obtidos por fluorescência foram utilizados como referência para as concentrações de ficocianina e clorofila

*a*, na análise da eficiência de detecção da resposta espectral em curvas de reflectância espectral e imagens multiespectrais.

Tabela 31 - Relações entre medidas de laboratório e fluorescência

| **Relações com fluorescência** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **Variáveis** | **1° Levantamento (Dez/2011)** | **2° Levantamento (Fev/2012)** | **3° Levantamento (Mar/2012)** | **4° Levantamento (Set/2012)** |
| Correlação entre concentração relativa (fluorescência) e absoluta (laboratório) de clorofila *a* | 0,80 | 0,96 | 0,90 | 0,84 |
| Concentração média de clorofila *a (*µg/L) | 4,22 | 47,54 | 12,31 | 11,86 |
| Concentração média de indivíduos por ml/L nos pontos analisados | 280 | 1370 | - | - |
| Concentração média de Ficocianina *(*µg/L) | 3,58 | 7,12 | 2,58 | 1,39 |

Na Tabela 32 destacam-se algumas variáveis que podem relacionar as características espectrais da ficocianina.

No primeiro levantamento de campo realizado no final da primavera e início do verão (dezembro/2011), as temperaturas mais altas e baixa velocidade dos ventos podem estar indicando que as frentes frias se dissiparam, podendo ter proporcionado a formação de zonas de estratificação. Nessas condições, aliada à possível entrada de nutrientes pelas chuvas, inicia-se o processo de produção de cianobactérias (TUNDISI et al., 2012), tornando as concentrações de clorofila *a* e ficocianina similares. Assim, as curvas de reflectância espectral, permitiram uma visualização moderada das feições diagnósticas da presença de ficocianina. Os métodos de extração de informações espectrais que se mostraram mais adequados nessa detecção foram a razão de bandas e a análise derivativa.

Tabela 32 - Relações com as características espectrais para ficocianina

| **Relações com as características espectrais para ficocianina** | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **1° Levantamento (Dez/2011)** | **2° Levantamento (Fev/2012)** | **3° Levantamento (Mar/2012)** | **4° Levantamento (Set/2012)** |
| **Variáveis Meteorológicas** | | | | |
| Temperatura do ar(°C)(min/max) | 20/30 | 24/22 | 24/23 | 27/36 |
| Velocidade do Vento (m/s) | 1,87 | 2,5 | 2,5 | **4,0** |
| Precipitação no mês (mm) | - | 12,4 | 44,6 | 13 |
| **Variáveis Físicas e Químicas (médias)** | | | | |
| Profundidade do disco de Secchi (m) | 2,64 | 2,58 | 3,46 | 2,66 |
| Oxigênio Dissolvido (mg/L) | 8,44 | **5,94** | 7,13 | 9,78 |
| Turbidez (UNT) | 10,84 | **23,73** | 9,03 | 2,61 |
| Temperatura da água | 30,2 | 29 | 29,78 | **26,8** |
| **Características espectrais relacionadas com a concentração de ficocianina** | | | | |
| Percepção das feições diagnósticas nas curvas de reflectância. | Moderada em 63% das curvas | Acentuada em 67% das curvas | Sutil em 77% das curvas | Sutil em 72% das curvas |
| Correlações em 620 e 650 nm, respectivamente. | 0,35 e 0,25 | **0,5** e **0,56** | -0,25 e -0,25 | -0,11 e -0,10 |
| Correlações da 2° derivada em 620 e 650 nm, respectivamente. | **0,7** e **0,8** | **0,8** e **0,96** | 0,4 e -0,2 | 0,55 e 0,5 |
| Correlação da Razão 654/610 (MISHRA et al., 2009). | **0,88** | **0,73** | 0,16 | 0,1 |
| Correlações com os parâmetros área e altura do contínuo removido para a feição de absorção 2: 610-645 nm | -0,56 e -0,4 | **0,66** e **0,58** | 0,45 e 0,39 | 0,1 e 0,05 |

Com relação ao segundo levantamento de campo (fevereiro/2012), as concentrações de ficocianina e clorofila *a* foram significativamente maiores que os outros levantamentos de campo. Observando as variáveis meteorológicas, verifica-se que o processo que se iniciou em dezembro de 2011 pode ter se intensificado devido à continuidade das altas temperaturas, chuvas e baixa velocidade dos ventos. Nesse processo, a água se tornou mais turbida, houve diminuição do oxigênio dissolvido, possivelmente causado pela decomposição de matéria orgânica e aumento da concentração de clorofila *a* e ficocianina. A resposta espectral

do pigmento ficocianina pôde ser melhor visualizada nas curvas (620 e 650 nm) em virtude de sua maior concentração e todas as técnicas de análise espectral mostraram-se sensíveis às maiores concentrações do pigmento. Os melhores coeficientes de correlação foram obtidos com a aplicação da segunda derivada e da razão de bandas utilizada por Mishra et al. (2009). A concentração média de ficocianina foi de 7,12 µg/L.

Em março de 2012, a ocorrência de chuvas frequentes de alta intensidade pode ter auxiliado no processo de dissolução dos componentes opticamente ativos presentes da água, assim a resposta espectral predominante medida no terceiro levantamento foi de água pura. Desse modo, a concentração do pigmento ficocianina foi considerada baixa e as curvas espectrais não definiram feições diagnósticas significativas, nem favoreceram sua quantificação. De acordo com as pesquisas realizadas por Metsamaa et al. (2006), Mishra et al. (2009), Mishra et al. (2013b), Li et al. (2012) é necessário concentrações mínimas de ficocianina e clorofila *a* para identificação em curvas de reflectância espectrais.

Para o último levantamento de campo realizado em setembro de 2012, as frentes frias foram caracterizadas pelas menores temperaturas do ar e da água, bem como pela maior velocidade dos ventos. Desse modo, supõe-se que na região houve a consequente homogeneização da coluna d´água pela ação dos ventos. Nessa situação, juntamente com as baixas temperaturas a concentração de cianobactérias reduz consideravelmente, pela dificuldade de reprodução dessa espécie nessas condições (MUR et al., 1999).

Observando os resultados apresentados na Tabela 32 é fato que a reflectância espectral permitiu a detecção de ficocianina em concentrações mais elevadas que foram identificadas na área de estudo, ocorridas no segundo levantamento de campo. Esse desempenho evidencia que a resposta espectral não permite a detecção de ficocianina em todas as situações do comportamento sazonal das cianobactérias, apenas no processo de florescimento. Assim, os dados de fluorescência servem como uma informação complementar para análises em baixas concentrações, mesmo considerando que o sinal fluorescente sofre interferências dependendo das condições iluminação do ambiente, do estresse de nutrientes, da presença de outros COAs como CDOM, clorofilas *b, c1 e c2*, e da composição das espécies fitoplanctônicas (LE et al., 2011; SEPPALA, 2009; KIEFER, 1973).

Na tentativa de corroborar as associações feitas com relação à atividade fitoplanctônica no reservatório e variações meteorológicas, faz-se menção às Figura 26 e 15, nas quais se visualiza, respectivamente, a variação sazonal da reflectância das bandas 3, 1 e 4, do sensor MODIS, produto MOD09A1 (cuja literatura as relacionam com a atividade

fitoplanctônica), no período de 2009 a 2012 e os dados meteorológicos da estação de Catanduva obtidos desde 2009. A partir desses dados foi possível elaborar a Figura 63 mostrada a seguir.

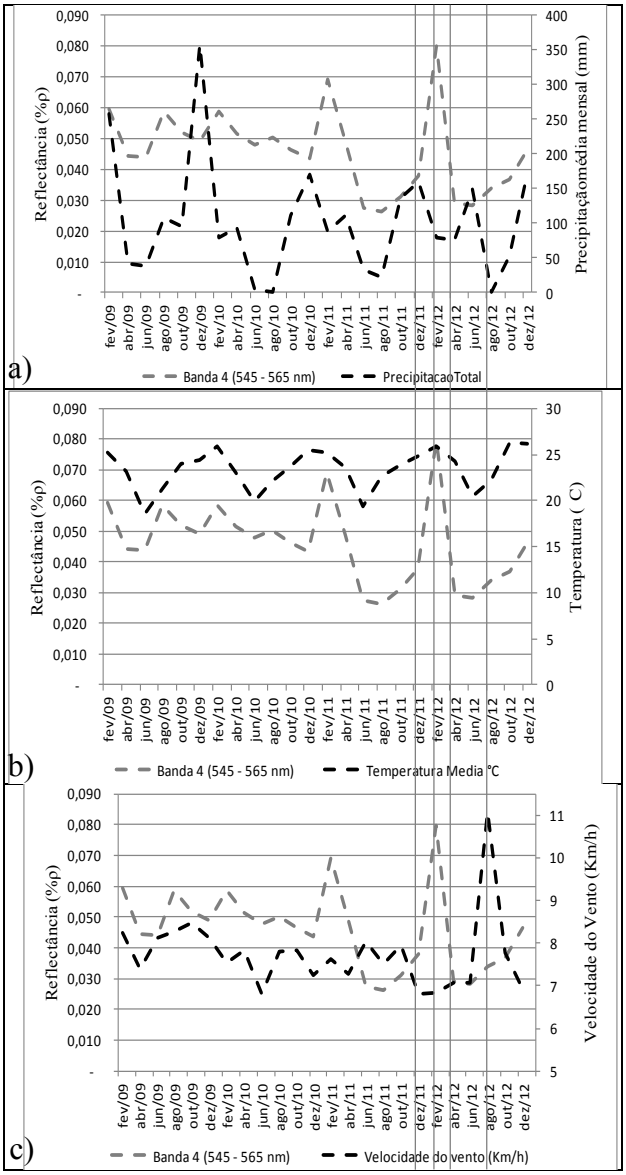



Figura 63 - Dados meteorológicos bimestrais da estação meteorológica de Catanduva de 2009 até 2012; a) Precipitação média mensal (mm); b) temperatura média do ar (°C); c) velocidade dos ventos (Km/h) confrontados com os valores de reflectância da banda 4 do sensor MOD09A1. As linhas verticais representam épocas próximas aos levantamentos de campo realizados na pesquisa.

Para melhor visualização, optou-se pela utilização dos valores de reflectância da banda 4, do sensor MOD09A1 que foi diagnosticada por Novo et al. (2007) como altamente relacionada com a atividade fitoplanctônica no reservatório. Assim, quanto maior a reflectância, maior a atividade fitoplanctônica no reservatório. Importante ressaltar que nessa análise comparativa não houve a distinção de grupos fitoplanctônicos, tais como cianobactérias, pois

como mostrado no item 5.4 as imagens MODIS apresentaram baixo potencial para tal discriminação.

De modo geral, a Figura 63-a mostra que, quando a precipitação aumenta a atividade fitoplanctônica tende a reduzir, provocando os efeitos de curto prazo relatados por Reichwaldt e Ghadouani (2012). Quando se observa as épocas de realização dos levantamentos de campo (linhas verticais) essa constatação fica evidente, principalmente no segundo levantamento de campo (fevereiro/2012).

Na Figura 63-b, verifica-se uma tendência de aumento da atividade fitoplanctônica com o aumento da temperatura, como nos picos máximos de reflectância nos meses de fevereiro. Já para Figura 63-c, mesmo que de forma mais sutil, verifica-se que com o aumento da velocidade do vento, diminui-se a atividade fitoplanctônica, como foi verificado no quarto levantamento de campo (setembro/2012), ou de forma oposta no segundo levantamento de campo (fevereiro/2012).

# 6. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

Os resultados confirmam a hipótese de que dados multifonte de Sensoriamento Remoto, mesmo em diferentes níveis de aquisição, permitem detectar a ocorrência de clorofila *a* e ficocianina, assim como o comportamento sazonal de cianobactérias. Contudo, a detecção pela resposta espectral destes pigmentos fotossintetizantes está condicionada a ocorrência em concentrações mínimas. Assim, para um acompanhamento do comportamento sazonal da ocorrência das cianobactérias, equipamentos de detecção por fluorescência são complementares haja vista que medidas fluorimétricas realizam inferência em baixas concentrações.

Foi verificado que as cianobactérias têm um comportamento sazonal, dependente de diversos fatores meteorológicos que inter-relacionados propiciam condições ideais para proliferação e dispersão ao longo do reservatório, considerando as variáveis obtidas: temperatura do ar, velocidade dos ventos e precipitação. Também se verificou pelos levantamentos de campo realizados que a dispersão espacial da ficocianina foi diferente para todas as épocas.

Em relação às variações na concentração de cianobactérias, constata-se que o segundo levantamento de campo (fevereiro/2012) foi o mais representativo de uma região eutrofizada, com algumas áreas superando os valores máximos estabelecidos para ficocianina e clorofila *a*. Nesse levantamento, na média, a concentração de ficocianina foi inferior ao limite proposto por Brient et al. (2008) de 10 µg/L, contudo a concentração de clorofila *a* média superou os 30 µg/L estabelecidos na resolução CONAMA n° 357/2005 para águas de Classe 2. Esses resultados podem ser preocupantes, pois o reservatório de Nova Avanhandava não possui ponto de monitoramento da Cetesb. Nos demais levantamentos, de um modo geral, foram detectadas concentrações relativamente baixas. A relação entre as variáveis foi de, aproximadamente, 1 µg/L para ficocianina para cada 6 µg/L de clorofila *a*, exceto o quarto levantamento (dezembro/2011) no qual as concentração de ficocianina e clorofila *a* foram similares.

De acordo as análises realizadas, no segundo levantamento, o período chuvoso proporcionou efeitos de longo prazo, no qual a entrada de compostos orgânicos auxilia na proliferação do fitoplâncton e na redução das taxas de oxigênio dissolvido na água. Além disso, os ventos fracos não induzem a agitação das águas, facilitando a formação de zonas de estratificação (TUNDISI et al., 2010; REICHWALDT e GHADOUANI, 2012). Não foi avaliado o tempo de retenção do reservatório nesse período, mas é evidente que longos períodos de retenção da água auxiliam no processo de reprodução de cianobactérias em detrimento de

muitas outras espécies de algas (MUR et al., 1999). Já em março, a ocorrência de chuvas de verão frequentes pode ter provocado a diluição dos compostos, tornando o ambiente homogêneo com menor turbidez e maior transparência. Em setembro, houve uma redução da produção de cianobactérias, que pode ter sido ocasionada pela ocorrência de ventos de velocidade média e baixas temperaturas, contudo, deve-se considerar que essa afirmação depende da intensidade da frente fria e sua capacidade em realizar trocas de calor entre a superfície da água e atmosfera. Em dezembro, inicia-se o período de verão, no qual os efeitos de curto prazo das chuvas podem estar atuando no ambiente por meio da entrada de nutrientes no corpo d'água com o estimulo da produção de cianobactérias.

A identificação de espécies e densidade total dos fitoplânctons realizadas para o primeiro e segundo levantamentos de campo (dezembro de 2011 e fevereiro de 2012, respectivamente) mostraram que o grupo de cianobactérias dominou o ambiente nas duas épocas, mesmo em baixas concentrações do fitoplâncton.

Pela análise da ocorrência espacial e temporal de cianobactérias, por meio das medidas fluorimétricas da concentração do pigmento ficocianina, percebe-se que sua distribuição é variável ao longo do reservatório independente da baixa ou alta concentração. No segundo levantamento (fevereiro de 2012), as maiores concentrações de ficocianina e clorofila *a* foram observadas na parte sul do reservatório, contudo, espacialmente, nem sempre as altas concentrações de ficocianina coincidem com os locais de altas concentrações de clorofila *a.* Nos terceiro e quarto levantamentos, nos quais se obtiveram as menores concentrações, observa-se maior uniformidade na distribuição espacial da clorofila *a* e ficocianina.

O segundo levantamento de campo, realizado em fevereiro de 2012, foi o que propiciou melhores relações com os dados multifonte, que pode ser explicado pelo fato de haver maior concentração do pigmento fitoplanctônico ficocianina. Destaca-se, contudo, que as concentrações encontradas no meio, na média, estiveram abaixo do máximo proposto por Brient et al. (2008), estabelecido como seguro para a ocorrência de cianobactérias em consonância com os usos múltiplos do reservatório.

As técnicas de análise espectral, análise derivativa, razão de bandas e remoção do contínuo, aplicadas nas curvas espectrais, permitiram uma melhor caracterização do comportamento óptico da ficocianina. Verifica-se que valores de correlação significativos foram observados, principalmente, nas regiões espectrais de 620 e 650 nm, já destacadas na literatura como sensíveis à ocorrência de ficocianina em obras como as de Marion et al. (2012), Song et al. (2012), Le et al. (2011), Londe (2008), Ruiz-Verdú et al. (2008), Weaver e Wrigley (1994) e Dekker (1993). Além disso, destaca-se também a razão espectral apresentada por

Mishra et al. (2009), em 654nm/617nm a qual, mesmo para concentrações relativamente baixas como do primeiro levantamento de campo, resultou em uma correlação significativa.

A utilização de imagens multiespectrais não foi bem sucedida em decorrência do amplo intervalo das bandas na região espectral de interesse para detecção de ficocianina, ou seja, entre 610 e 670 nm. Além disso, é importante frisar que a aplicação de alguns pré-processamentos às imagens podem mascarar a resposta sutil da ficocianina. As imagens RapidEye, por exemplo, passam por um processo de interpolação por convolução cúbica na ortorretificação, resultando em um excesso de suavização da cena.

Recomenda-se para os próximos trabalhos a realização e estudos voltados para a modelagem bio-ótica do pigmento ficocianina, pois os estudos existentes ainda são incipientes, principalmente no Brasil. Esses tipos de pesquisas representam um avanço na discriminação da contribuição da ficocianina na reposta espectral, na tentativa de melhor compreender quantitativa e qualitativamente as variações espectrais obtidas por Sensoriamento Remoto, relacionadas à ocorrência de cianobactérias. Também é relevante a realização de testes com modelos empíricos, semi-analíticos ou analíticos propostos na literatura em regiões tropicais brasileiras, para validar os métodos em outras regiões.

Sugere-se também a realização de outros testes com imagens multiespectrais. Especificamente para as imagens utilizadas neste trabalho, recomendam-se mais aquisições ao longo do tempo para a realização de análises detalhadas do comportamento espectral, de acordo com a variação temporal e espacial da concentração dos pigmentos. Considera-se que a utilização de imagens hiperespectrais, podem alcançar resultados mais significativos em virtude da possibilidade de configuração de bandas específicas para a detecção de ficocianina.

## 7. REFERÊNCIAS

ABBOTT, M. R .; POWELL, T. M.; RICHERSON, P. J. The relationship of environmental variability to the spatial patterns of phytoplankton biomass in Lake Tahoe. **Journal of Plankton Research**, v. 4, n. 4, p. 927 - 941, 1982.

AGHA, R. et al. Multi-sclae strategies for the monitoring of freshwater cyanobacteria: reducing the sources of uncertainty. **Water Research**, v. 46, p. 3043-3053, 2012.

ALFÖLDI, T. T. Remote sensing for water quality monitoring. In. **Remote sensing for resource management**. Edited by JOHANNSEN, C. J.; SANDERS, J. L. Soil Conservation Society of America, Ankeny, Iowa, USA, 1982.

ANDERSON, D. et al. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences. **Estuar. Coasts,** v. 25, p.704- 726, 2002.

ASD Inc. **FieldSpec®UV/VNIR: HandHeld Spectroradiomenter.** User's Guide. 2003

AZEVEDO S. M. F. O. et. al.; First report of microcystins from a Brazilian isolate of the cyanobacterium Microcystis aeruginosa. **Journal of Applied Phycology,** v. 3, n. 5, p. 261, 1994.

BARBETA, P. A. et al. **Estatística: para cursos de engenharia e informática**. São Paulo: Atlas, 2008, 408 p.

BARBOSA, P. C. C. **Aplicações de Fluorescência Induzida por Laser em Monitoramento Ambiental.** 2003. 139f. Tese (Doutorado em Física) - PUC, Rio de Janeiro.

BARBOSA. C. C. F. **Sensoriamento remoto da dinâmica da circulação da água do sistema planície de Curuai/Rio Amazonas**. 2005. 255 f. Tese (Doutorado em Sensoriamento Remoto) Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, São José dos Campos.

BRASIL. Portaria n° 2914, de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Disponível em:< http://www.suvisa.rn.gov.br/contentproducao/aplicacao/sesap_suvisa /arquivos/gerados/portaria_ms_2914_dez_2011.pdf>. Acesso em: 12 de Dezembro de 2012.

BRASIL. Lei nº 12.608, de Abril de 2012. Institui a Política Nacional de Proteção e Defesa Civil – PNPDEC. Presidência da República/Casa Civil/Subchefia para Assuntos Jurídicos. Disponível em: < http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2011-2014/2012/Lei/L12608.htm >. Acesso em: 10 jan. 2013.

BRASIL. Portaria MS n.º 518/2004. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilânica em Saúde. Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Vigilância em Saúde Ambiental – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Resolução n° 357, de março de 2005. Conselho nacional do meio ambiente – CONAMA. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu

enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. Disponível em:<http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2013.

BRANCO, C.W.C. et al. Impact of climate on the vertical water column structure of Lajes reservoir (Brazil): a tropical reservoir case. Lakes and Reservoirs. **Research and Management**, vol. 14, p. 175-191, 2009.

BRAGA, C. Z. F. **Sensoriamento remoto aplicado ao estudo da concentração de clorofila-a, transparência e profundidade da água na Lagoa de Araruama, RJ**. 1998. 147 f. Tese (Doutorado em Geociências) Universidade Federal Fluminense - UFF, Niterói.

BREUNIG, F. M. et al. Aplicação da técnica de remoção do contínuo para a discriminação espectral de diferentes dosagens de Nitrogênio aplicadas ao trigo (Trotoci, aesivum, L. – IAC-370). In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 13. 2007, Florianópolis. **Anais…** Florianópolis: INPE, 2007. P. 91-98

BRIENT, L. et al. A phycocyanin probe as a tool for monitoring cyanobacteria in freshwater bodies. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, p. 248–255, 2008.

BUKATA, R. P. J. et al. **Optical properties and remote sensing of inland and coastal waters.** Boca Taton: CRC, 1995. 362p.

BUKATA, R. P. **Satellite Monitoring of inland and coastal water quality**. Retrospection, introspection, future directions. New York, Taylor&Francis, 2005, p. 246.

BUSSAB, W.; MORETTIN, P. **Estatística Básica**. Editora Saraiva, São Paulo. 1987, v. 4.

CALIJURI, M.C.; ALVES, M.S.A.A.; SANTOS, A.C.A. **Cianobactérias e cianotoxinas em águas continentais**. São Carlos: RiMa, 2006. 118 p.

CARDER, K.L. et al. The interaction of light with phytoplankton in the marine environment, **Ocean Optics**, Orlando, v.8, n. 637, p. 42-55, 1986.

CAREY, C. C. et al. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. **Water Research**, v. 46, p. 1394-1407, 2012.

CERQUEIRA et al. Utilização de filtro de trasformada de Fourier para minimzação de ruídos em sinais analíticos. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 690-698, 2000.

CESP (Companhia energética de São Paulo). Conservação e manejo nos reservatórios: limnologia, ictiologia e pesca. CESP, 163 p., 1998.

CETESB (São Paulo) variáveis da qualidade da água: Governo do Estado de São Paulo. 2007. Disponível em: <http://www.cetesb.sp.gov.br>. Acesso em: 20 de dezembro. 2012.

CETESB (São Paulo). Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental. **Qualidade das águas superficiais no estado de São Paulo**. CETESB, São Paulo, 370p., 2013.

CETESB (São Paulo). **Manual de cianobactérias planctônicas: legislação, orientações para o monitoramento e aspectos ambientais**. CETESB, São Paulo; CARVALHO M. C. et al. p. 47, 2013.

CHANG, W. et al. Measurement of cyanobacteria using in-vivo fluoroscopy e Effect of cyanobacterial species, pigments, and colonies. **Water Research**, v. 46, p. 5037-5048, 2012.

CODD G. A.; MORRISON, L. F.; METCALF F.S. Cyanobacterial toxins: risk management for health protection. **Toxicology and Applied Pharmacology**, Elsevier, v. 203, p. 264 – 272, 2005

CHEN, Z. et al. Derivative reflectance spectroscopy to estimate suspended sediment concentration. **Remote Sensing Environment**, St. Paul, v. 40, p. 46-59, 1992.

CHORUS I., BARTRAM J. (eds) (1999). Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management. Published on behalf of UNESCO, WHO and UNEP by E&FN Spon, London. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/resourcesquality/toxicyanbact/en/. Acesso em: 01 de jul. de 2010.

CIOTTI, A.M.; LEWIS, M.R.; CULLEN, J.J. Assessment of the relationships between dominant cell size in natural phytoplankton communities and the spectral shape of the absorption coefficient. **Limnology and Oceanography**, v. 47, n. 2, p. 404-417, 2002.

CLARK, R. N. et al. Reflectance spectroscopy as rapid assessment tool for the detection of amphiboles from the Libby, Montana Region. **USGS Spectroscopy Lab,** Denver, p. 1-41, 2003.

CLARK, R. N. Spectroscopy of Rocks and Minerals and Principles of Spectroscopy. In: RENCZ A. N. **Remote Sensing for the Earth sciences**, New York: John Wiley & Sons,v. 3, n.1, p. 3-59, 1999.

CLARK, R. N.; ROUSH, T. L. Reflectance spectroscopy: quantitative analysis techniques for remote sensing applications. **J. Geophys. Res**., Hawaii, v. 89, p. 6329–6340, jul. 1984.

CURRAN, P. J. et al. Estimating the foliar biochemical concentration of leaves with reflectance spectrometry testing the Kokaly and Clarke methodologies. **Remote sensing of Enviroment**, St. Paul, v. 76, p. 349-359, 2001.

DEKKER, A G. **Detection of optical water quality parameters for eutrophic waters by hihg resolution remote sensing**. 1993. 211 f. Tese (PhD theses) Free University, Amsterdan.

DUAN, H. et al. Evaluation of remote sensing algorithms for cyanobacteral pigmento retrievals during spring bloom formation in several lakes of East China. **Remote Sensing of Enviroment**, v.126, p.126-135, 2012.

EAS TIÊTE Nova Avanhandava: EASTIÊTE, 2011. Apresenta informações sobre o reservatório. Disponível em: <http://www.aestiete.com.br/usinas/Paginas/NovaAvanhandava.aspx>. Acesso em 06 de Novembro de 2011.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia.** Rio de Janeiro: Finep. 2.ed. 575p. 1998.

ELIOTT, J. A. Is the future blue-green? A review of the current model predictions of how climate change could affect pelagic freshwater cyanobacteria. **Water research**, v. 46, p. 1364-1371, 2012.

FALCONER I. R.; Health implications of Cyanobacterial (blue-green algae) toxins. In: Steffensen DA, Nicholson BC, editors. Toxic Cyanobacteria Current Status of Research and Management - **Proceedings of an International Workshop**. Adelaide; 1994.

FRENCH, C.S. et al. Fluorescence-spectrum curves of chlorophyls, pheophytins, phycoerythrins, phycocyanins and hypericin. **Plant Physiol**, v. 31, n. 5, p. 369–374, set**.** 1956.

FUNASA. **Cianobactérias tóxicas na água para consumo humano na saúde pública e processos de remoção em água para consumo humano**. – Brasília: Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde, 2003. 56 pg.

GIARDINO C. et al. Assessment of water quality in Lake Garda (Italy) using Hyperion. Elsevier. **Remote Sensing of Environment**, Canberra, v.109, p. 183-195, dez. 2007.

GITELSON, A. A., et al. Comparative reflectance properties of algal cultures with manipulated densities. **Journal of Applied Phycology**, v.11, p. 345-354, 1999.

GITELSON, A. A. The peak near 700 nm on radiance spectra of algae and water: relationships of its magnitude and position with chlorophyll concentration. **International Journal of Remote Sensing,** v. 13, n. 17, p. 3367-3373. nov. 1992.

GITELSON, A. A.; SCHALLES, J. F.; HLADIK, C. M. Remote chlorophyll *a* retrieval in turbid, productive estuaries: Chesapeake Bay case study. **Remote Sensing of Environment**, v. 109 , n. 4, p. 464 - 472 , 2007.

GÓMEZ, D. J. A. et al. Monitoring transparency in inland water bodies using multispectral Images. **International Journal of Remote Sensing**, v. 30, n. 6, p. 1567–1586, Mar 2009.

GÓMEZ, D. J.A., et al.. Remote sensing as a tool for monitoring water quality parameters for Mediterranean Lakes of European Water Framework Directive (WFD) and as a system of surveil lance of cyanobacterial harmful algae blooms (SCyanoHABs). **Environmental Monitoring and Assessment,** v. 181, p. 317-334, 2011.

GOODIN, D. G. et al. Analysis of suspended solids in water using remotely sensed high resolution derivate spectra. **Photogrammetric Engineering and Remote Sensing**, Manhattan, v. 59, n. 4, p. 505-510, abr. 1993.

GOTERMAN, H. L. **Methods for physical and chemical analysis of fresh waters**. Limnological Institute. Oxford . Blackwell Scientific.2.ed, 213 p., 1978.

GREGOR, J.; MARSALEK, B. Freshwate r phytoplank ton quantification by chlorophyll a: a co mparative study of in vitro, in vivo and in situ methods. **Water Research**, v. 38, n.3, p. 517 e 522, 2004.

GROSS, H. F. Luminescence signatures induced by lasers with enhanced specificity for remote active sensing. Remote Sensing of Earth Resources. Tullohoma, Ten, University of Tennessee 1972.

HAN, L. et al. The Spectral responses of algal chlorophyll in water with varying levels of suspended sediment. **International Journal of Remote Sensing**, Abingdon, v. 15, n. 18, p. 3707-3718. 1994.

HOGE, E. F. et al. Radiance ratio algorithm wavelengths for remote oceanic chlorophyll determination. **Applied Optics**, v. 26, n. 11, p. 2082−2094, 1987.

HOGE, F. E.; SWIFT, R. N. Chlorophyll pigment concentration using spectral curvature algorithms: an evaluation of present and proposed satellite ocean color sensor bands. **Appl.Optics**, v. 25, p. 3677-3682, 1986.

HOLLER, F. J.et al. **Princípios de análise instrumental**. 6° Ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

HOLMES, K. W. et al. **Designs for remote sampling: Review, discussion, examples of sampling methods and layout and scaling issues.** Cooperative Research Centre for Coastal Zone, Estuary ant Waterway Management (Coastal CRC). School of Plant Biology. Australia, 2006. p. 64.

HUOT, Y.; BROWN C. A.; CULLEN J. J. Cullen Retrieval of phytoplankton biomass from imultaneous inversion of reflectance, the d iffuse attenuation coefficient, and Sun-induced fluorescence in coastal waters. **Journal of Geophysical Research**, v. 112, p. 1-26, 2007.

HUNTER PD,et al.. The spatial dynamics of vertical migration by Microcystis aeruginosain a eutrophic shallow lake: a case study using high spatial resolution time-series airborne remote sensing. **Limnol Oceanogr**, v. 53, p. 2391–406, 2008.

ITT Corporation. Atmospheric Correction Module User's Guide in ENVI. **ITT Visual Information Solutions.** v. 4.7, August, 2009.

IOCCG (2000). Remote Sensing of Ocean Colour in Coastal,and Other Optically-Complex, aters. Sathyendranath,S.(ed.),ReportsoftheInternationalOcean-ColourCoordinating Group, No. 3, IOCCG, Dartmouth, Canada, 2000.

JENSEN, J. R., **Remote Sensing of the Environment: An Earth Resource Perspective**, Upper Saddle River: Prentice-Hall, 2000, 544 p.

JUPP, D. L. et al. Detection, identification and mapping of cyanobacteria using remote sensing to measure the optical quality of turbid inland waters. **Australian Journal of Marine and Freshware Research**, v. 45, p. 801-828, 1994.

KONDRATYEV K. Ya., FILATOV, N. **Limnology and remote sensing: a contrary approach**. springer, 1999, 406 p.

KATANO, T. et al. Discrimination of two phycoerythrin-pigment types of synechococcus and their seasonal succession in the uwa sea. **Microbes Environ**., 2004, v. 19, n. 1, p. 7-12.

KALLIO, K. et al. Feasibility of airborne imaging spectrometry for lake monitoring—a case study of spatial chlorophyll a distribution in two meso-eutrophic lakes. **International Journal Remote Sensing**, v. 24, n. 19, p. 3771-3790, 2003.

KIRK, J.T.O. **Light & Photosynthesis in Aquatic Ecosystems**, London, Cambridge University Press, 1994, v. 2, p. 507.

KIEFER, D. A. Chlorophyll a fluorescence in marine centric diatoms: responses of chloroplasts to light and nutrient stress. **Marine Biology**, v. 22, n. 3, p. 39 -46, 1973.

KOZLOWSKI W. A. et al. An evaluation of the application of CHEMTAX to Antarctic coastal pigment data. **Deep-Sea Research I**, v. 58, p. 350–364, 2011.

KOKALY, R. F.;CLARK, R. N. (1999). Spectroscopic determination of leaf biochemistry using band-depth analysis of absorption features and stepwise multiple linear regression. **Remote Sensing of Environment**, St. Paul, v. 67, p. 267– 287, 1999.

KUTSER T. Quantitative detection of chlorophyll in cyanobacterial blooms by satellite remote sensing. **Limnol. Oceanogr.** v. 49, n. 6, p. 2179–2189, 2004.

KUTSER, T. et al. Monitoring cyanobacterial blooms by satellite remote sensing. **Estuarine, costal and shelf science,** n.67, p.303-312, 2006.

KRAFT, S.B. et al. FIMAS – feasibility study of a fluorescence imaging spectrometer to be flown on a small platform in tandem with sentinel 3. **International Conference on Space Optics.** ICSO 2010. Rhodes, Greece. Out. 2010.

KRUSE, F. A. et al. The spectral Image-Processing System (Sips) - interactive visualization and analysis of imaging spectrometer data. **Remote Sensing of Environment**, v. 44, n.2-3, p. 145-163, 1993.

LAKOWICZ, J. R. **Principles of Fluorescence Spectroscopy**. 3. Ed. Maryland: Springer, 2008, v. 3.

LEE, T. et. al. In vivo Fluorometric Method for Early Detection of Cyanobacterial Waterblooms. **Journal of App. Phycology**, v. 6, p. 489-495, 1994

LE C. et al. Remote sensing of phycocyanin pigment in highly turbid inland waters in Lake Taihu, China. International Journal of Remote Sensing, v. 32, n. 23, 10 p. 8253–8269, dez. 2011.

LEITE, T. G. C. Cianobactérias e suas toxinas. **Revista Analytica.** n. 32. p. 36-41 Jan. 2008 n.32.

LI et al. A semi-analytical algorithm for remote estimation of phycocyanin in inland waters. **Science of the Total Environment**, v. 435, n. 436, p. 141 –150, 2012.

LIANG, S. Validating MODIS land surface reflectance and albedo products: methods and preliminary results. **Remote Sensing of Environment**, v. 83, p. 149 – 162, 2002.

LIU, Y. et al. Quantification of shallow water quality parameters by means of remote sensing. **Progress in Physical Geography**,v. 27, n. 1, p. 24-43, 2003.

LOBO, F. L. Propriedades da reflectância de *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) manipulada em altas concentrações de pigmentos.In: XIV Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, 14., 2009, Natal. **Anais...** Natal: INPE, 2009. p. 4747-4754.

LONDE, L. R. **Comportamento espectral do fitoplâncton de um reservatório brasileiro eutrofizado – Ibitinga (SP)**. 2008. 138 f. Tese (Doutorado em Sensoriamento Remoto) INPE, São José dos Campos.

LORENZEN, C.J. A method for the continuous meas urement of in vivo chlorophyll concent ration. Deep-Sea Research, v. 13, n. 2, p. 223 e 227, 1966.

LOUCHARD, E. M. et al. Derivative analysis of absorption features in hyperspectral remote sensing data of carbonate sediments. **Optical express**, v. 10, n. 26, p.1573, 2002.

MARION, J. W. et al. In Vivo Phycocyanin Flourometry as a Potential Rapid Screening Tool for Predicting Elevated Microcystin Concentrations at Eutrophic Lakes. **Environ. Sci. Technol**, v. 46, p. 4523− 4531, 2012.

MAROTTA, H. et al. Monitoramento limnológico: um instrumento para a conservação dos recursos hídricos no planejamento e na gestão urbano-ambientais. **Ambiente & Sociedade**, Campinas, v. 11, n. 1, p. 67-79, 2008.

MATTHEWS, M. W. et al. Remote Sensing of cyanobacteria-dominant algal blooms and water quality parameters in Zeekonevlei, a small hypertrophic lake, using MERIS. **Remote Sensing of Environment**, v. 114, p. 2070-2087, 2010.

MATTHEWS, M. W. A current review of empirical procedures of remote sensing in inland and near-coastal transitional waters. **Remote Sensing of Environment**, v. 114, p. 2070-2087, v. 32, n. 21, p. 6855–6899, 2011.

METSAMA, A. **Model-based assessment to improve the use of remote sensing in recognition and quantitative mapping of cianobactéria**. 2009. 53f. Dissertation (Doctor philosophiae in hydrobiologys) TARTU University, Estonia.

METSAMAA, L.; KUTSER, T.; STROMBECK, N. Recognising cyanobacterial blooms based on their optical signature: a modelling study. **Boreal Environment Research**, v.11, p. 493-506, 2006.

MCCLUNEY, W.R.; "Ocean Color Spectrum Calculations". **Applied Optics,** v.13, n.10, p. 2422-2429, 1974.

MINILO, A. **Análise da distribuição, densidade e toxicidade de florações de cianobactérias em reservatórios do médio e baixo rio Tietê (SP) e relação com as características limnológicas do sistema.** 2005. 400 f. Tese (Doutorado da Escola de Engenharia de São Carlos) Universidade de São Paulo – USP, São Carlos

MISHRA S. et al. A Novel Algorithm for Predicting Phycocyanin Concentrations in Cyanobacteria: A Proximal Hyperspectral Remote Sensing Approach. **Remote Sensing**, 1, doi:10.3390/rs1040758, p. 758-775, 2009.

MISHRA, S. et al. Quantifying cyanobacterial phycocyanin concentration in turbid productive waters:A quasi-analytical approach. **Remote Sensing of Environment**, v. 133, p. 141– 151 , 2013a.

MISHRA, S. et al. Bio-Optical Inversion in Highly Turbid and Cyanobacteria-Dominated Waters. **IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing**, Digital Object Identifier 10.1109/TGRS.2013.2240462 , p. 1– 14 , 2013b.

MOBLEY C. D. **light and Water: Radiative Transfer in Natural Water**. Academic Press, 1994, 592p.

MOBLEY C. D, et al. Interpretation of hyperspectral remote-s ensing imagery via spectrum matching and look-up tables. **Applied Optics**, v.44, n.17, p.3576-3592, 2005.

MOREIRA, M. A.. **Fundamentos do sensoriamento remoto e metodologias de aplicação.** São José dos Campos, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE), 2005.

MOREL, A.; PRIEUR, L. **Analysis of variations in ocean colour. Limnology and Oceanography,** v. 22, p. 709–722, 1977.

MOOIJ, W.M., et al.., 2005. The impact of climate change on lakes in the Nether lands: a review . **Aquatic Ecology**, v. 39, p. 381 – 400, 2005.

MUR L, et al. Cyanobacteria in the environment. In: Chorus I, Bartram J [eds.], **Toxic cyanobacteria in water: A guide to public health significance,consequences, monitoring and management**, E&FN SPON, London, 1999.

MUSTARD, J. F.; SUNSHINE, J. M. Spectral Analysis for Earth science: Investigations Using Remote Sensing Data. In: RENCZ A. N. **Remote Sensing for the Earth sciences,** New York: John Wiley & Sons, Inc.1999, v. 3, c. 5, p. 251-374.

MUTANGA, O.; SKIDMORE A. D. Integrating imaging spectroscopy and neural networks to map grass quality in the Kruger National Park, South Africa. **Remote Sensing of Environment**, v.90, p. 104-115, 2003.

NAIME, R. Impactos socioambientais de hidrelétricas e reservatórios nas bacias hidrográficas brasileiras. **Monografias ambientais**, REMOA-UFSM, v. 9, n. 9, 2012. p. 1924 – 1937, 2012.

NAKAEMA, M. K. K.; SANCHES, R. **Fluorometria no domínio da freqüência**. São Carlos: Química nova, 1999.

NICODEMUS, F. E.; RICHMOND, J. C.; HSIA, J. J.; GINSBER, I. W.; LIMPERS, T. **Geometrical considerations and nomenclature for reflectance.** Washington, DC: National Bureau of Standards, US Department of Commerce, 1977.

NOBREGA, I. W. **Análise espectral de sistemas aquáticos da amazônia para a identificação de componentes opticamente ativos**. 2002. 87 f. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, São José dos Campos.

NOGUEIRA, M. G. et al.**Ecologia de reservatórios. Impactos potenciais, ações de manejo e sistemas em cascata**. 2.ed. s. l.: Rima, 2006. 458p.

NOVO, E. M. L. M. et al. Sistemas Aquáticos Continentais. In: RUDORFF, F. T. et al. **O Sensor Modis e suas aplicações ambientais no Brasil**. São José dos Campos: A. Silva Vieira. 2007.

NOVO, E.M.L.M. **Sensoriamento remoto: princípios e aplicações**. São Paulo: Edgard Blucher, 1992. 308p.

ODERMATT, D.; et al. Review of constituent retrieval in optically deep and complex waters from satellite imagery. **Remote Sensing of Environment**, v. 118, p. 116– 126, 2012.

ORIGINLAB. **Origin 9.1 User Guide**, OriginLab Corporration, 2013.

PAN, X. et al. Remote sensing of picophytoplankton distribution in the northern South China. **Sea Remote Sensing of Environment**, v. 128, p. 162– 175, 2013.

PHILIPPE, C. et al. Cyanobacteria, cyanotoxins and potential health harzards in small tropical reservoirs. **Small Reservoirs Toolkit**, 2007 p. 1-12.

PU, R. et al. Spectral absorption features as indicators of wates status in coast live oak (Quercus agrifolia) leaves. **International Journal of Remote Sensing**, v. 24, n.9, p. 1799 – 1810. 2003.

RANDOLPH, H. et al. Hyperspectral remote sensing of cyanobacteria in turbid productive water using optically active pigments, chlorophyll a and phycocyanin. **Remote Sensing Environment**, v. 112, p. 4009-4019, 2008.

RANDOLPH K. L. Remote Sensing of cyanobacteria in case ii waters using optically active pigments, chlorophyll a and phycocyanin. 2007. 128 f. (degree Master of Science in the Department of Geography) - Faculty of the University Graduate School, Indiana University.

RAPIDEYE AG. **RapidEye Satandard Image Product Specifications.** 2009 Disponível em <www.rapideye.com>. Acesso em: 31 jul. 2012.

REICHWALDT, E. S., GHADOUANI, A. Effects of rainfall patterns on toxic cyanobacterial blooms in a changing climate: Between simplistic scenarios and complex dynamics. **Water Research**. vol. 46, p. 1372-1393, 2012.

REPEA – Rede Paulista de Educação Ambiental. Orientação para educação ambiental nas bacias hidrográficas do Estado de São Paulo : origem e caminhos. Organizadoras Mônica Pilz Borba, Patricia Otero e Cyntia Helena Ravena Pinheiro – São Paulo : Imprensa Oficial do Estado de São Paulo, 2005. 139 p.

RITCHIE, J. C. et al. Remote sensing techniques to assess water quality. **Photogrammetric Engineering & Remote Sensing**, v. 69, n.6, p. 695-704, 2003.

RICHARDSON, L.L.; Remote Sensing of algal bloom dynamics; Neu research fuses remote sensing of aquatic ecosystems with algal accessory pigment analysis. **BioScience**, v. 46, n. 7, p. 492-501, 1996.

RODGHER, S. et al."Estudos ecotoxicológicos nos reservatórios em cascata do médio e baixo rio Tietê: uma avaliação dos impactos ambientais", in **Recursos hidroenergéticos: usos, impactos e planejamento integrado**. Ed. RiMa, São Carlos, 2002.

ROWAN, K.S. Phhotosynthetic Pigments of Algae. Cambridhe: Cambridhe University Press. 1989.

RUIZ-VERDÚ, A. et al. An evaluation of algorithms for the remote sensing of cyanobacterial biomass. **Remote Sensing of Environment**, v. 112, p. 3996-4008, 2008.

RUDORFF, C. M.; NOVO, E. M. L. M.; GALVÃO, L. S. Spectral mixture analysis for water quality assessment over the Amazon floodplain using Hyperion/EO-1 images. Revista Ambiente e Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science, v. 1, n. 2, p. 65-79, 2006. Disponível em: <http://www.agro.unitau.br/seer/index.php/ambi-agua/article/view/26/37>. Acesso em: 13 novembro 2009.

RUDDICK, K. G. et al. Optical remote sensing of chlorophyll a in case 2 waters by use of an adaptive two band algorithm with optimal error properties. **Applied Optics**, v. 40, p. 3575−3585, 2001.

RUDORFF, C. M. **Estudo da composição das águas da planície amazônica por meio de dados de reflectância do sensor Hyperion/eo-1 e de espectrorradiômetro de campo visando à compreensão da variação temporal dos seus constituintes opticamente ativos**. 2006. 138 f. Dissertação (Mestrado em Sensoriamento Remoto) Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, São José dos Campos.

RUNDQUIST D. C. et al. Remote measurement of Algal Chlorophyll in surface waters: the case for the first derivative of reflectance near 690 nm. **Photogrammetric Engineering e Remote Sensing**, Lincoln, v. 62, n. 2, p. 195-200, fev. 1996.

SEEBER, G. **Satellite Geodesy**. Water de Gruyter. New York, v. 2, p. 589, 2003.

SCHLUCHTER, W., Ph.D. Biochemistry, Microbiology, and Molecular Biology, 1994. Department of Biochemistry and Molecular Biology, The Pennsylvania State University, Disponível em: < http://www.biology.uno.edu/fac_web_pages/schlucterhtm.html>. Acesso em: 17/06/2010.

SCHAEPMAN-STRUB, G. et al. Reflectance quantities in optical remote sensing—definitions and case studies, **Remote Sensing of Environment**, v. 103, p. 27–42, 2006.

SENDACZ, S. et al. Sistemas em Cascata: Concentrações e Cargas de Nutrientes no Sistema produtor Alto Tietê, São Paulo. In: NOGUEIRA, M. G. et al. **Ecologia de Reservatórios:**

**Impactos Potenciais, Ações de Manejo e Sistemas em Cascata**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 417- 436.

SENGPIEL, R.E. Using airborne hyperspectral imagery to estimate chlorophyll *a* and phycocyanin in three central indiana mesotrophic to eutrophic reservoirs. 2007. 149 f. Thesis Indiana University Purdue University Indianapolis.

SEPPALA, J. et al. Ship-of-opportunity based phycocyanin fluorescence monitoring of the filamentous cyanobacteria Bloom dynamics in the Baltic Sea. **ScienceDirect, Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 73, p. 489-500, 2007.

SEPPALA, J. Fluorescence properties of Baltic Sea phytoplankton. 2009. 83 f. Monographs of the boreal environment research. Edita Prima Ltd. Helsinki.

SILVA, L. A. **Estudo do processo biotecnológico de produção, extração e recuperação do pigmento ficocianina da spirulina platensis**. 2008. 91 f. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SIMIS , S. et al. Remote sensing of the cyanobacterial pigment phycocyanin in turbid inland water. **Limnology and Oceanography**, v. 50 p. 237–245, 2005.

SIMIS, S. et al. Influence of phytoplankton pigment composition on remote sensing of cyanobacterial biomass. **Remote Sensing of Environment**, v. 106, p. 414-427, 2007.

SONI, B. et al. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from Oscillatoria quadripunctulata – isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, Índia. **Process Biochemistry**, 2006.

SONG, K., et al. Remote estimation of phycocyanin (PC) for inland waters coupled with YSI PC fluorescence probe. **Environmental Science and Pollution Research**, p.1-11, 2013.

STEWART, D. E.; FARMER, F. H. Extraction, identification and quantitation of phycobiliprotein pigments from phototrophic plankton. **Limnology and Oceanography**, v. 29, p. 392-397, 1984.

SCHALLES, J. F., & YACOBI, Y. Z. Remote detection and seasonal patterns of phycocyanin, carotenoid and chlorophyll pigments in eutrophicwaters. Archiv fur **Hydrobiologie Special Issues Advances in Limnology**, v. 55, p.153−168, 2000.

SCHOWENGERDT, R. A. **Remote Sensing: models and methods for image processing**. v. 3. London: Academic Press, 2006.

SUGGETT, D. J. et al. **Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: methods and applications.** Dordrecht: Springer, 2010. 323 p.

SUN et al. A novel support vector regression model to estimate the phycocyanin concentration in turbid inland waters from hyperspectral reflectance. **Hydrobiologia,** v.680, p.199–217, 2012.

TEBBS, E. J. et al. Remote Sensing of Chlorophyll-*a* as a measure of cyanobacterial biomass in Lake Bogoria, a Hypertrophic, saline-alkaline, flamingo lake, using Landsat ETM+. **Remote Sensing of Environment**, v. 135, p.92-106, 2013.

TEIXEIRA, M. G. L. C. et al.; Gastroenteritis epidemic in the area of the Itaparica, Bahia, Brazil. **Bulletin of PAHO**, v. 27, n. 3, p. 244-53, 1993.

TORRECILLA, E.; PIERA, J. Derivative analysis of hyperspectral oceanographic data. In JEDLOVEC, G. **Advances in Geoscience and Remote Sensing**. Rijeka: InTech, 2009. p. 742.

TSAI F., PHILPOT W. Derivative Analyses of Hyperspectral Data. **Remote Sensing Environoment**, St. Paul, v. 66, p. 41–51, 1998.

TURNER DESIGNS. Fluorometer Calibration for *in vivo* detection of Cyanobacterial Pigments. 2004. Disponível em: http://www.turnerdesigns.com/t2/doc/ appnotes/cyano.html. Acesso em: 16 de junho de 2010.

TURNER DESIGNS. Phycoerythrin and Phycocyanin Optical Kits for the Detection of Cyanobacteria. S-0024. 2007. Disponível em:<http://www.turnerdesigns.com/t2/doc/ appnotes/cyano.html> Acesso em: 16 de junho de 2010.

TUNDISI, J. G. et al. Limnologia no século XXI: perspectivas e desafios. International Institute of Ecology. In: Congresso Brasileiro de Limnologia, 7., 1999, Florianópolis. Anais...Florianópolis:UFSC, 1999. p. 24

TUNDISI, J. G.; TUNDISI, T. M. **Limnologia,** São Paulo: Oficina de Textos, 2008. p. 631.

TUNDISI, J. G et al. O. Ecossistemas de águas interiores. In: REBOUÇAS, A. C.; BRAGA, B.; TUNDISI, J. G. (Orgs.). **Águas Doces no Brasil: capital ecológico, uso e conservação**. 3 ed. São Paulo: Escrituras, 2006, p. 161-202.

TUNDISI, J. G; et al. The response of Carlos Botelho (Lobo, Broa) reservoir to the passage of cold fronts as reflected by physical, chemical, and biological variables. **Brazilian Jornal of Biology**, v. 64, n. 1, p. 177-186, 2004.

TUNDISI, J. G. Cold fronts and reservoir limnology: an integrated approach towards the ecological dynamics of freshwater ecosystems. **Braz. J. Biol**., v. 70, n. 3, p. 815-824, 2010.

TUNDISI, J. G et al. Climate monitoring before and during limnological studies: a needed integration. **Brazilian Jornal of Biology**, v. 67, n. 4, p.795-796, 2007.

UENO, Y. et al.. Detection of microcystins, a blue-green algal hepatotoxin, in drinking water sampled in Haimen and Fusui, endemic areas of primary liver cancer in China, by highly sensitive immunoassay. **Carcinogenesis**, v. 17, n.6, p. 1317-1321, 1996.

UHELINGER, V. Étude statistique des méthodes de dénobrement planctonique. Arch. Sci. V. 17, v. 2, p. 121-123. 1964.

UTSUMI, A. G. **Inferência espacial de cianobactérias a partir da fluorescência in vivo do pigmento ficocianina**. 2012. 110f. Dissertação (Mestrado em Ciências Cartográficas)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Presidente Prudente.

Unilux Fluorimeter:Handbook.ChelseaTechologies.2009. p.20.

Uhelinger, V. Étude statistique des méthodes de dénobrement planctonique. **Arch Sci**, v. 17, p. 121-23, 1964.

YACOBI, Y. Z., GITELSON, A., & MAYO, M. (1995). Remote sensing of chlorophyll in Lake Kinneret using high spectral resolution radiometer and Landsat TM: Spectral features of reflectance and algorithm development. **Journal of Plankton Research**, Tiberias, n. 17, p. 2155−2173., 1995.

VALLELY, L. A. **Confounding constituents in remote sensing of phycocyanin**. Indiana. 2008. 80 f. (Master degree) Indiana University, India.

VINCENT, R.K et al. Phycocyanin detection from LANDSAT TM data for mapping cyanobacterial blooms in Lake Erie. **Remote Sensing of Environment**, v. 89, p. 361-368, 2004.

VINCENT, W.F., Fluorescence properties of freshwater phytoplankton: three algal classes compared. **Br. Phycol**., 1983, v. 18, p. 407-417.

WATRAS, C. J.; BAKER, A. L. Detection of planktonic cianobactéria by tandem in vivo fluorometry. Hydrobiologia., 1988, v. 169, p. 77-84.

WEAVER, E.C.; WRIGLEY, R. **Factors affecting the identification of phytoplankton groups by means of remote sensing**. Moffet Field: NASA, 1994. 121 p. (TM-108799).

WETZEL, R. G. **Limnology.** Academic press, v. 3, 2001, p. 1006

WATANABE F. S. Y. et al. Identificação de vegetação aquática submersa em período de alta infestação e maior turbidez aplicando mapeamento por ângulo espectral em espectros de reflectância – Estudo de Caso. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto - SBSR, 16, 2013, Foz do Iguaçu, PR. Anais...São José dos Campos: INPE, 2013. p. 8861-8868. 1 DVD.

WEAVER, E. C.; WRIGLEY, R. **Factors affecting the identification of phytoplankton groups by means of remote sensing**. Moffet Field: NASA, 1994. 124p.

WHO Report, p. 416. In: Chorus, I., Bartram, J. (Eds.), ToxicCyano bacteria in Water: A Guide to Their Public Health Conseq uences, Monitor ing and Manag ement. E&FN Spon, London.

ZIBORDI, G. et al. Autonomous above-water radiance measurements from an offshore platform: A field a ssessment experiment. **Journal of Atmospheric and Oceanic Technology**, v. 19, n. 5, p. 808 - 819, 2002.