

Estudo espaço-temporal de florações de cianobactérias no Rio Tapajós: Monitoramento por sensoriamento remoto e experimento em laboratório.

Felipe de Lucia Lobo ¹
Claudio Clemente Faria Barbosa ¹
João Sarkis Yunes ²
Edi Morales Pinheiro Junior ²
Pablo Santos Guimarães ²
Evelyn Márcia Leão de Moraes Novo ¹
Lino Sander de Carvalho ¹
Daniel Schaffer Ferreira Jorge ¹

¹ Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE
Caixa Postal 515 - 12227-010 - São José dos Campos - SP, Brasil
{evlyn.novo, felipe.lope}@inpe.br, claudio@dpi.inpe.br, lino.sander@gmail.com,
danielschafferfj@hotmail.com

² Universidade Federal do Rio Grande - FURG
Avenida Itália, km 08 - Caixa Postal 474 - 96.203-900 Rio Grande-RS, Brasil
{jsyunes, edijunior}@furg.br, pabloguima@gmail.com

Abstract. Monitoring cyanobacteria blooms in inland waters is largely restricted to in situ water samples. An alternative for quick access to algae blooms is the use of satellite images. However, the identification of the species mapped on the images is still dependent on microscopy techniques. Therefore, as an attempt to develop techniques of cyanobacteria monitoring, this research had two objectives: 1) Map the spatial-temporal distribution of cyanobacteria bloom in the Tapajós River using multi-satellite approach (MERIS/Envisat, Landsat, e Rapideye); and 2) Evaluate the use of Particle Size Distribution (PSD) to estimate biovolume ($\mu\text{l/l}$) of three different cyanobacteria with different sizes and shapes (*Microcystis sp.*, *Anabaena variabilis*, e *Synechocystis sp.*). This research mapped cyanobacteria blooms for the past 10 years which seems to be one of the largest blooms in Brazilian inland waters. The multi-satellite approach showed promising results for a time-series analysis. The biovolume estimated by LISST (optical sensor) showed satisfactory correlation to biovolume observed on microscopy, which indicates this approach as a quick but generic approach for species dominance. For a proper use of LISST for biovolume estimation, one has to consider the presence of non-algal particles, and its limitation on biovolume estimation under high cells concentration.

Palavras-chave: Florações de cianobactéria, multi-satélites, Distribuição do Tamanho de Partículas (DTP), Cyanobacteria blooms, multi-satellite, Particle Size Distribution (PSD).

1. Introdução

As cianobactérias são frequentemente responsáveis por florações de fitoplâncton (Funari e Testai 2008) e podem produzir toxinas de ação hepato/neurotóxicas que são liberadas quando ocorre lise da célula e podem, em altas concentrações, prejudicar a cadeia trófica e contaminar a água usada para abastecimento público.

O monitoramento de florações de algas, em especial de cianobactérias, nos reservatórios, lagos e regiões costeiras do Brasil é bastante restrito e muitas vezes limitado à amostragem esporádica dos ambientes aquáticos. Uma alternativa prática de rápido acesso à qualidade de água em grandes extensões e diferentes datas é o uso de imagens de satélite. As técnicas de sensoriamento remoto permitem recuperar informações sobre as propriedades ópticas das populações de cianobactérias (Kubiak et al. 2016), o que contribui, para ampliar sua representatividade espacial e temporal. A partir do processamento digital de imagens adquiridas por sensores orbitais como OLI e TM/Landsat, MUX e WFI/CBERS, MODIS/Terra e Aqua e MERIS/Envisat é possível recuperar informações sobre a extensão de florações de algas ou a concentração de sólidos em suspensão na água e concentração de pigmentos

fotossintetizadores, em particular a clorofila-a e a ficocianina, característica de cianobactérias (Barbosa et al. 2010; Lobo et al. 2009). No entanto, a caracterização dos grupos de fitoplâncton dominantes em eventos de florações ainda é dependente da identificação em laboratório. Como alternativa, aos métodos de identificação de fitoplâncton por microscopia, há técnicas automatizadas baseadas em fotos (flowcell) ou ainda métodos que são baseados na forma das células fitoplanctônicas (Karp-Boss 2007). Recentemente, o LabISA adquiriu um equipamento óptico para a estimativa da Distribuição do Tamanho de Partículas (DTP) em suspensão na água denominado LISST (Portable Laser Diffraction Particle Size Analyzer) que pode indicar a dominância de uma determinada espécie e agilizar o processo de monitoramento (Slade e Boss 2015).

No caso do Rio Tapajós, diversos estudos têm registrado a ocorrência de florações de cianobactérias, tanto na região de Santarém, quanto na margem esquerda do rio (Ferreira 2011; Sá et al. 2010; Silva 2012). Entre 2008 e 2009, Silva (2012) registrou o aumento expressivo da densidade destes organismos, da ordem de nove vezes entre 1968 e 2009. Mais recentemente, Lobo et al. (2016) indicaram a dominância de cianobactérias na região do Baixo Tapajós (Figura 1). Em geral, a região sofre com diversas ameaças aos recursos naturais como atividade garimpeira no alto Tapajós e pecuária extensiva nas margens do rio (Weinhold et al. 2013). Além disso, está programado pelo governo Federal a construção de um complexo hidrelétrico de quatro barragens (Fearnside 2015), cujas consequências para a dinâmica da qualidade da água e ocorrências de florações são incertas.

Em resposta à necessidade de desenvolvimento de técnicas de monitoramento de florações de cianobactérias, essa pesquisa formulou os seguintes objetivos: 1) mapear a distribuição espaço-temporal de eventos de florações de cianobactérias no rio Tapajós utilizando imagens de múltiplos sensores orbitais (MERIS/Envisat, Landsat, e Rapideye); e 2) avaliar o uso das DTPs resultantes de medidas em três culturas de cianobactérias com o sensor LISST na estimativa do biovolume ($\mu\text{l/l}$) de espécies com características de formas e tamanhos distintas (*Microcystis sp.*, *Anabaena variabilis*, e *Synechocystis sp.*) para auxiliar a identificação de espécies nas florações observadas em 1).

2. Materiais e métodos

As duas principais atividades da pesquisa foram. 1) Processamento de imagens de satélites para a detecção espaço-temporal de florações de cianobactérias no rio Tapajós; 2) Cultivo, em ambiente controlado de luz, das três espécies de cianobactéria para medição da DTP desses três cultivos com o instrumento LISST e comparação com a DTP determinada em microscopia.

2.1. Imagens de satélites para a detecção das florações algais

Imagens de múltiplos satélites foram utilizadas para detectar a ocorrência e a extensão das florações no rio Tapajós. Os critérios de seleção das imagens foram: i) disponibilidade de imagens com baixo incidência de nuvens; ii) indicações visuais de ocorrência de florações. Nesse estudo foram utilizadas 5 imagens de 4 sensores orbitais diferentes (Tabela 1).

As imagens foram inicialmente adquiridas pelas plataformas de acesso de cada sensor (Tabela 1). Para as imagens Landsat 5- TM, Rapideye e Meris foi aplicado um processamento radiométrico e atmosférico para a conversão de número digital (ND) em reflectância de superfície (R) (Gerace e Schott, 2012). A imagem Landsat 8- OLI foi pré-corrigida pela agência espacial americana (NASA) e disponibilizada em reflectância de superfície (R).

Para a detecção das florações nas imagens foi gerada uma composição colorida verdadeira (true color), na qual os canais (RGB) são carregados com as respectivas bandas dos sensores (vermelho, verde e azul) (Kudela et al., 2015). Dessa forma, foi possível identificar a ocorrência de florações nas imagens selecionadas pela cor verde (Figura 1).

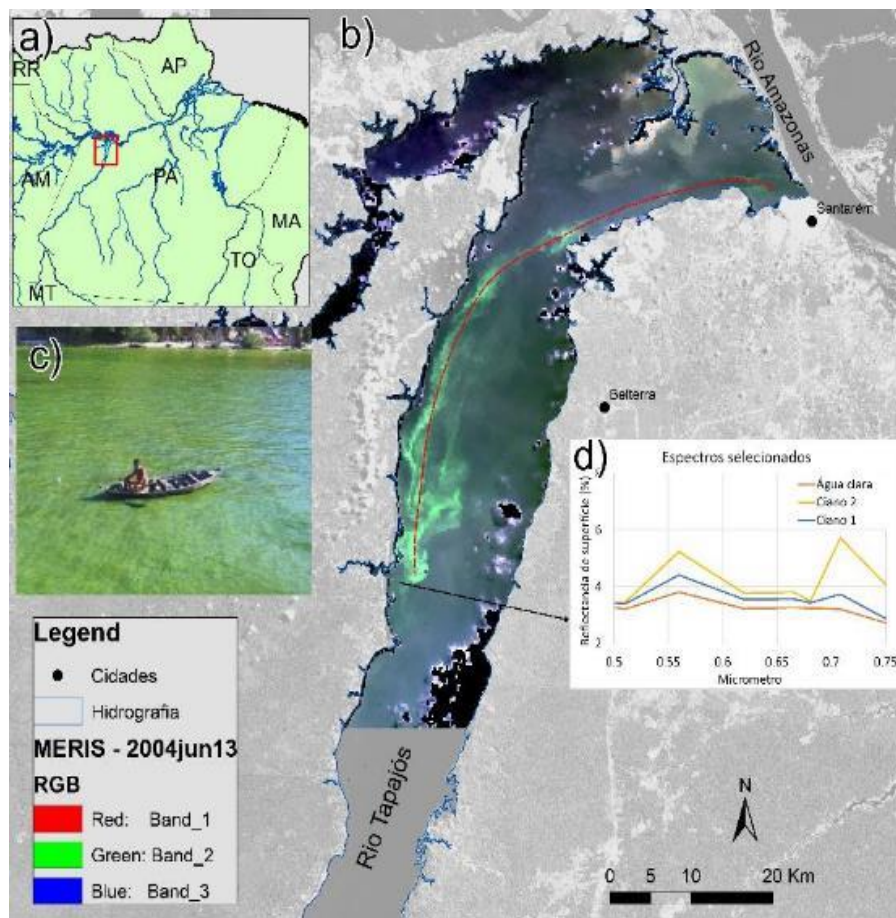


Figura 1: a) Localização do rio Tapajós na região oeste do estado do Pará; b) Imagem do satélite MERIS (13/06/2004) com floração de cianobactéria cobrindo uma área com mais de 70 km de extensão (linha vermelha); c) Foto adaptada de (Sá et al., 2010) ilustrando a ocorrência de floração de cianobactéria na região de Santarém; d) Espectros selecionados da imagem MERIS para ilustrar a diferença entre água clara e águas com presença de florações. Adaptado de (Ferreira, 2011; Sá et al., 2010).

2.2. Cultivo, contagem e biovolume de cianobactérias

Três espécies de cianobactérias, cultivadas no Laboratório de Cianobactérias e Ficotoxinas, da FURG, foram definidas pelo critério de importância ecológica (florações, ocorrência, toxicidade) e características de forma e tamanho. *Anabaena variabilis* - longos filamentos; *Synechocystis sp.* - unicelular e pequena (3µm); *Microcystis sp.* - unicelular e mucilaginosa (6 µm). Os cultivos foram mantidos sob regime controlado de luz em ciclos de 12 horas (claro-escuro). A irradiância incidente nos períodos claros foi de aproximadamente de 100 µEm⁻²s⁻¹ (Deblois et al. 2013). Para a contagem das células (número de células total, N) em microscopia foi utilizado uma câmara Utermohl de acordo com o método de Wetzel et al. (1996)

$$N = n \cdot A / a \cdot 1 / V \quad (1)$$

onde n é o número de células, A área da lâmina (4.33 cm²), a área das fotos (0.015 cm²), V, volume da lâmina (2 ml).

Para o cálculo de biovolume das células fitoplanctônicas foi aplicado o método de Hillebrand et al. (1999),

$$\text{Biovolume } (\mu\text{l/l}) = N \cdot CV \cdot 1000 \quad (2)$$

onde N = número total de células em 1 ml, VC = volume da célula (µl).

Para o cálculo do Biovolume (Hillebrand et al. 1999) multiplicou-se o número total estimado pelo volume (em μl) de cada tipo de fitoplâncton. Dessa forma, o biovolume calculado em microscopia pode ser diretamente comparado com a distribuição da concentração volumétrica de partículas gerada pelo LISST.

2.3. Medição da distribuição do tamanho de partícula e biovolume com LISST

Amostras das culturas foram usadas para medição de DTP utilizando o instrumento LISST manufaturado pela empresa Sequoia (EUA). O LISST-Portable é um dos poucos instrumentos ópticos que mede o espalhamento volumétrico em corpos d'água (Agrawal 2005). O instrumento emite um feixe de luz (670 nm) em um tubo preenchido por amostra de água, e mede em 32 intervalos angulares de 0 até 20 graus com tecnologia de ponta baseada em difração à laser (Agrawal, 2005). Para a estimativa do biovolume a partir dos dados de saída do LISST, deve ser considerado que essa estimativa é baseada em teoria Mie, a qual pressupõe partículas esféricas homogêneas.. Assim os valores de biovolume podem ser comparados diretamente com o biovolume calculado pela técnica em microscopia (Karp-Boss, 2007). É importante ressaltar, entretanto, que esse pressuposto simplificador, nem sempre condiz com as partículas encontradas em ambientes aquáticos naturais

3. Resultados e Discussão

3.1. Mapeamento de florações de cianobactérias com imagens de satélites

Florações de cianobactérias foram mapeadas em cinco datas entre maio de 1993 e junho de 2016 (Figura 2). Os resultados de composições coloridas normais mostram que a ocorrência de cianobactérias acontece desde 1993 como detectado pela imagem Landsat 5 – TM (Figura 2a). É interessante observar que em todas as imagens as florações ocorrem na mesma região, na margem esquerda do Tapajós, e apresentam distribuição similar. A extensão das florações, no entanto, varia de uma data para outra. Apesar de os múltiplos sensores aqui utilizados apresentarem diferentes resoluções espaciais, radiométricas e espectrais, em todas imagens foi possível detectar as florações algais a partir de composição colorida normal (RGB). De fato, diversos trabalhos demonstraram a capacidade de estimar não só a extensão das florações como também a concentração de pigmentos com imagens de satélite em diferentes ambientes aquáticos, o que corrobora a abordagem desse trabalho.

Tabela 1: Informações sobre as aquisições das imagens e seus respectivos sensores. Data, resoluções espacial, temporal, espectral e radiométrica, e faixa de imageamento.

Data de aquisição das imagens	Satélite/sensor	Resoluções				Faixa de imageamento
		Espacial	Temporal	Radiométrica	Espectral	
29/mai/1993	Landsat-5/Thematic Mapper (TM)/	30 m	16 dias	8 bit	470, 550, 660, 860, 1600 e 2200 nm	170 km
13/junho/2004 18/set/2010	ENVISAT/MERIS	300 m	3 dias	12 bit	15 bandas entre 390 e 1040 nm.	1150km
17/mai/2015	Rapideye	5 m	6 dias	12 bit	470, 550, 660, 705 e 820 nm	77 km
04/junho/2016	Landsat 8 - Operational Land Imager (OLI) (Usgs 2013)	30 m	16 dias	12 bit	440, 470, 550, 660, 860, 1600 e 2200 nm	170 km

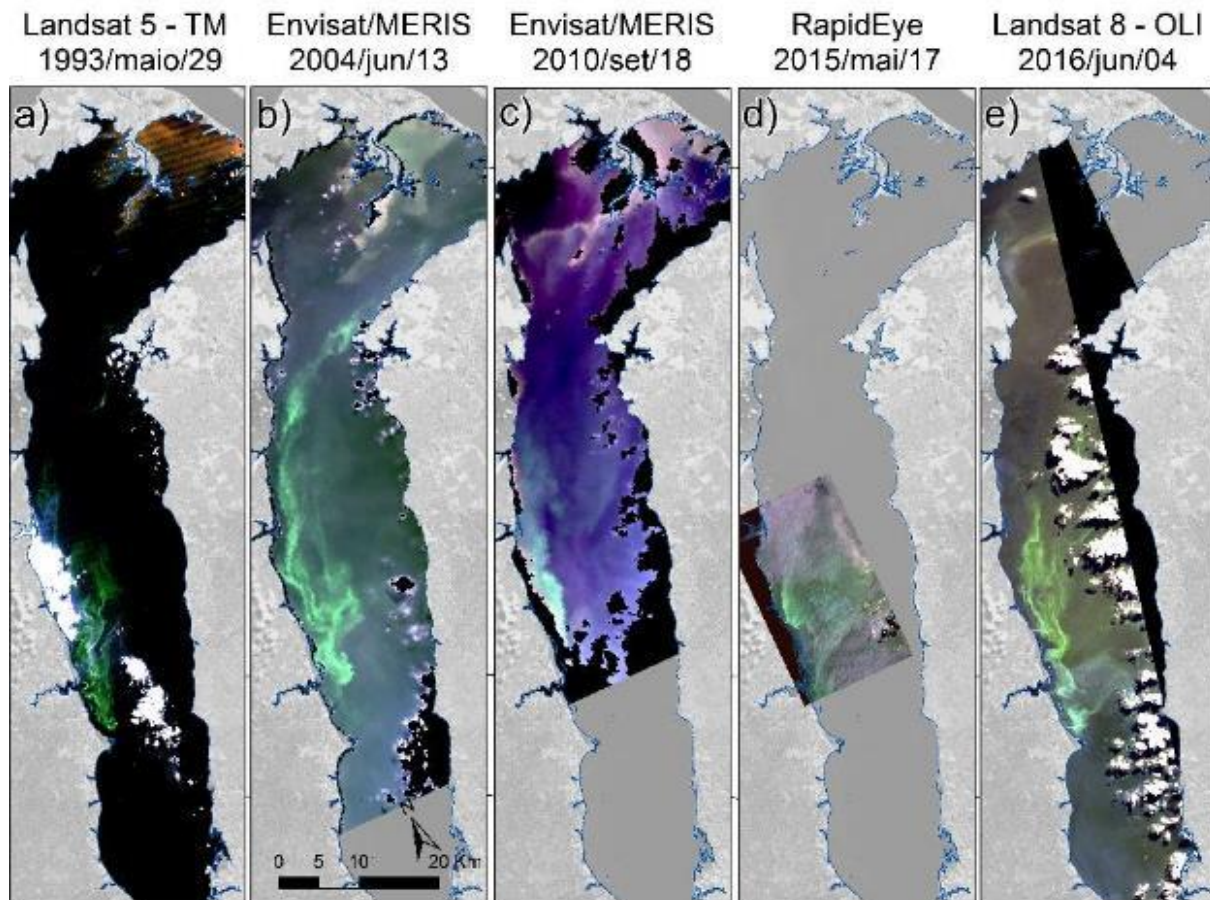


Figura 2: Composição colorida verdadeira das imagens de satélite selecionadas para o mapeamento de florações algais no Rio Tapajós. a) Landsat 5 – TM 29 de maio de 1993; b) MERIS 13 de junho de 2004; MERIS 18 de setembro de 2010; d) Rapideye 17 de maio de 2015; e) Landsat 8 – OLI 04 de junho de 2016.

Essa série histórica de imagens mostrando as florações em uma determinada região da margem esquerda do Rio Tapajós levanta algumas questões sobre os fatores bio-físicos estão condicionando esses fenômenos. Em relação à alta disponibilidade de nutrientes, que geralmente é o fator limitante para esse fenômeno, o rio Tapajós é classificado como um rio de águas claras, com baixa concentração de sedimento em suspensão e baixa disponibilidade de nutrientes, quando comparado com rio de águas brancas, por exemplo. Assim a ocorrência de florações de cianobactérias nesse ambiente reforça a hipótese de que deve haver aporte de nutrientes de origem antrópica às águas do rio Tapajós, seja de origem agropecuária (Silva, 2012), ou provenientes dos garimpeiros de ouro no Médio Tapajós (Lobo et al. 2015).

3.2. Biovolume observado (microscopia) vs estimado (LISST)

Os biovolumes estimados pelo LISST foram comparados diretamente com os biovolumes observados pela microscopia (Figura 3). A cultura celular de *Anabaena variabilis* se encontrava em concentração de *Chl-a* igual a 109,1 $\mu\text{g/l}$. A *Anabaena* sp. forma filamentos de células que variam de 5 a 100 células. Foi verificada a alta incidência de detritos nessa cultura os quais coincidem com os tamanhos dos filamentos de *Anabaena* sp. (Figura 3a). Além disso, foi observada também a presença de uma espécie contaminante (*Chlamydomonas* sp) com cerca de 4 μm de diâmetro em média. Para *Anabaena* sp., os valores de biovolume foram superestimados pelo LISST, como indicado pela inclinação do coeficiente de regressão (2,81). Nesse caso, a presença de detritos também em alta concentração e de mesmas dimensões, interferiram diretamente na estimativa do biovolume entre 10 e 200 μm de diâmetro.

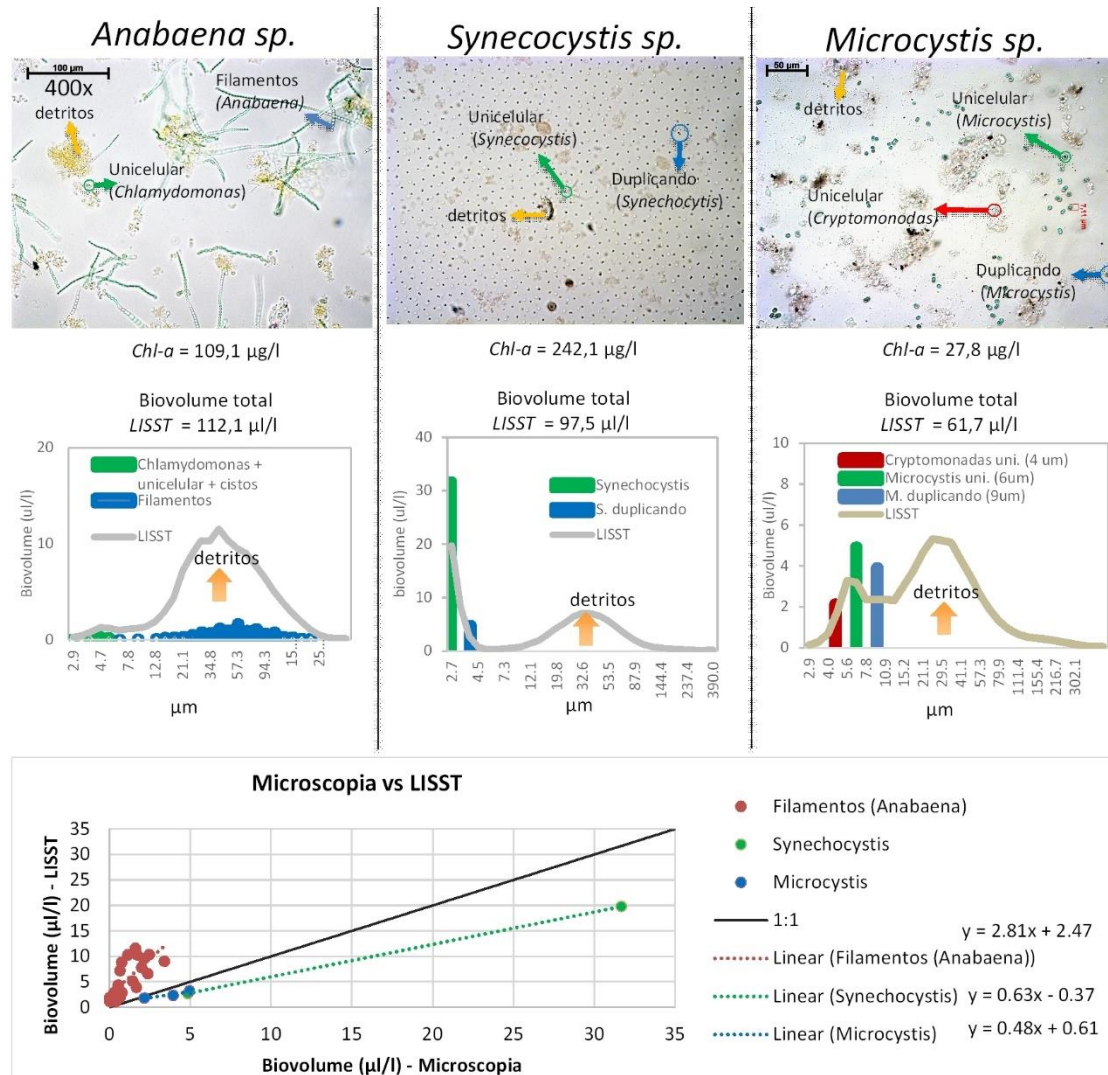


Figura 3: Exemplos de foto microscópica das três culturas de cianobactérias estudadas: *Anabaena variabilis*, *Synechocystis sp.* e *Microcystis sp.* Valores de biovolume estimados pelo equipamento LISST (linha cinza nos gráficos) em comparação com valores observados em microscopia (barras coloridas). A correlação entre biovolume observado pela microscopia e estimado pelo LISST para as três culturas, com indicação das linhas de tendências com respectivas equações, também estão indicadas.

A cultura de *Synechocystis sp.* se encontrava em alta concentração ($Chl-a = 242,1 \mu\text{g/l}$). Os resultados da microscopia revelam alta ocorrência de células individuais. Cerca de 10% das células individuais se encontravam em fase de duplicação. Além disso, foi observado a presença de detritos celulares (agregado de células mortas e outros resíduos) cujos tamanhos são variados e bem maiores do que as células individuais. As estimativas de biovolume LISST foram subestimadas em relação à microscopia indicada pela inclinação da curva (0.63) na Figura 3. Isso pode ser explicado pelo fato de que o LISST, por ser um instrumento óptico, não permite detectar boa parte das células em suspensão em decorrência do efeito de ‘sombreamento’, ou seja, quando há sobreposição de camadas de células.

A cultura celular de *Microcystis sp.* se encontrava em média concentração ($Chl-a = 27,8 \mu\text{g/l}$). As células são maiores (5 µm) do que as células de *Synechocystis* (2-3 µm). Além dos detritos que foram observados em todas as culturas, foi observada também a presença de um tipo algal contaminante. Trata-se de *Cryptomonas sp.* (4 µm). Para essa cultura a subestimação pelo LISST foi ainda maior, indicada pela inclinação da curva (0,48). Nesse caso, a presença de outra espécie (*Cryptomonas sp.*) pode ter contribuído para essa subestimação observada. Os

resultados de biovolume estimado em ambas as culturas (*Synechocystis* e *Microcystis*), indicam que em situações de concentrações muito alta de células em suspensão, o efeito de 'sombreamento' leva a subestimar os reais valores de biovolume.

4. Conclusões

A abordagem multi-sensores se mostra apropriada para gerar uma série histórica quando em condições de alta cobertura de nuvens e baixa revisita (frequência) dos satélites com resolução espacial mínima para identificação das florações (250 m). Devido a específica caracterização espectral (Figura 1 c) das florações, com picos de reflectância (R) na banda do verde (550 nm) e na região do infra-vermelho próximo (705-850 nm), qualquer sensor que apresente essas bandas com resolução radiométrica mínima de 8 bit e resolução de até 250 m é útil para a detecção de florações nesse ambiente.

As imagens da Figura 2 mostram que as florações ocorrem uma mesma região na margem esquerda do Tapajós, o que levanta várias questões que serão abordadas nas próximas atividades: Quais fatores ambientais estariam condicionando esses fenômenos? Hidrodinâmica, temperatura, sazonalidade?; Há alguma interferência antrópica nessa região que esteja contribuindo diretamente para ocorrência de florações, como, por exemplo, aumento de nutrientes oriundos de áreas agrícolas ou de pastagens?

Os resultados do experimento com três cianobactérias mostraram o potencial do biovolume ($\mu\text{l/l}$) gerado pelo LISST para rápida identificação de grupos de fitoplâncton de acordo com a forma e tamanho. De forma geral, é possível distinguir aquelas florações dominadas por células individuais pequenas (até 5 μm) como *Synechocystis* sp. em relação às florações dominadas por células filamentosas (*Anabaena variabilis*) e coloniais (*Microcystis* sp.) (30 a 100 μm) somente pela caracterização e análise da DTP gerada pelo LISST. Nos casos das culturas *Synechocystis* e *Microcystis* houve subestimativa do biovolume pelo LISST, o que indica que altas concentrações de células impedem a correta estimativa de biovolume por efeito de 'sombreamento' das células em suspensão na amostra de água (200 ml) analisada. Ao passo que para a cultura de *Anabaena*, a presença de detritos na mesma faixa de tamanho dos filamentos de células, gerou concentrações volumétricas superestimadas. O biovolume das espécies estimado pelo LISST apresentou correlação satisfatória em comparação com o biovolume observado pela microscopia, o que demonstra um potencial de utilização em campo para rápida, porém genérica, identificação de grupos de fitoplâncton dominantes observados nas imagens de satélite (Figura 2). Para o efetivo uso desse aparelho (LISST) para estimativa *in situ* de biovolume e identificação genérica dos grupos dominantes em casos de florações algais, deve-se considerar a presença de partículas não-algais, e também a limitação do aparelho em condições de alta concentração de células em suspensão.

Agradecimentos

Agradecemos ao CNPq pela bolsa de Pós-Doutorado Jr. ao primeiro autor (150835/2015-9), e pela aquisição de equipamentos ópticos (552490/2011-3). À FAPESP pelo apoio ao experimento em laboratório (2014/23903-9) e MSA-BNDES (1022114003005) por apoio adicional.

Referências bibliográficas

Agrawal, Y. C. 2005. The optical volume scattering function: Temporal and vertical variability in the water column off the New Jersey coast. *Limnology and oceanography* 50: 1787.

Barbosa, C., E. Moraes Novo, J. Melack, M. Gastil-Buhl, and W. Filho. 2010. Geospatial analysis of spatiotemporal patterns of pH, total suspended sediment and chlorophyll-a on the Amazon floodplain. *Limnology* 11: 155-166.

Deblois, C. P., A. Marchand, and P. Juneau. 2013. Comparison of Photoacclimation in Twelve Freshwater Photoautotrophs (Chlorophyte, Bacillariophyte, Cryptophyte and Cyanophyte) Isolated from a Natural Community. *PLoS ONE* 8: e57139.

Fearnside, P. M. 2015. A Hidrelétrica de São Luiz do Tapajós: A arte de EIAs cosméticos. *HIDRELÉTRICAS NA AMAZÔNIA* 8: 115.

Ferreira, R. D. L., J. D.; Barbosa, C. C. F.; Novo, E. M. 2011. Quantificação Da Concentração De Clorofila Em Ambientes Aquáticos Continentais Através Da Utilização De Um Fluorômetro De Campo. In INPE [ed.], XIX Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos.

Funari, E., and E. Testai. 2008. Human Health Risk Assessment Related to Cyanotoxins Exposure. *Critical Reviews in Toxicology* 38: 97-125.

Gerace, A. D., and J. R. Schott. 2012. Over-water atmospheric correction for Landsat's new OLI sensor, p. 837211-837211-837219.

Hillebrand, H., C. D. Dürselen, D. Kirschtel, U. Pollinger, and T. Zohary. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of phycology* 35: 403-424.

Karp-Boss, L. 2007. LISST-100 measurements of phytoplankton size distribution: evaluation of the effects of cell shape. *Limnology and oceanography, methods* 5: 396-406.

Kubiak, K. A., J. Kotlarz, and A. M. Mazur. 2016. Monitoring cyanobacteria blooms in freshwater lakes using remote sensing methods. *Polish Journal of Environmental Studies* 25: 27-35.

Kudela, R. M., S. L. Palacios, D. C. Austerberry, E. K. Accorsi, L. S. Guild, and J. Torres-Perez. 2015. Application of hyperspectral remote sensing to cyanobacterial blooms in inland waters. *Remote Sensing of Environment* 167: 196-205.

Lobo, F., C. Barbosa, E. Novo, and J. Yunes. 2009. Mapping potential cyanobacterial bloom using Hyperion/EO-1 data in Patos Lagoon estuary. *Acta Limnol. Bras* 21: 299-308.

Lobo, F., M. P. F. Costa, E. M. Novo, and K. H. Telmer. 2016. Effects of Artisanal Small-scale Gold Mining tailings on the underwater light field in the Tapajós River Basin. *Limnology and Oceanography in preparation*.

Lobo, F. L., M. P. F. Costa, and E. M. Novo. 2015. Time-series analysis of Landsat-MSS/TM/OLI images over Amazonian waters impacted by gold mining activities. *Remote sensing of environment* 157: 170-184.

Sá, L. L. C. D. and others 2010. Ocorrência de uma floração de cianobactérias tóxicas na margem direita do Rio Tapajós, no Município de Santarém (Pará, Brasil). *Revista Pan-Amazônica de Saúde* 1: 159-166.

Silva, S. C. F. 2012. Ecotoxicologia de cianobactérias no canal principal do baixo Rio Tapajós, Santarém, Pará, Amazônia, Brasil. Universidade Federal Do Oeste Do Pará, Pró-Reitoria De Pesquisa E Pós-Graduação e Inovação Tecnológica.

Slade, W. H., and E. Boss. 2015. Spectral attenuation and backscattering as indicators of average particle size. *Applied optics* 54: 7264-7277.

Usgs. 2013. Using the USGS Landsat 8 Product. https://landsat.usgs.gov/Landsat8_Using_Product.php accessed in Sep, 2013.

Weinhold, D., E. Killick, and E. J. Reis. 2013. Soybeans, poverty and inequality in the Brazilian Amazon. *World Development* 52: 132-143.

Wetzel, G., G. Likens, and M. Svatora. 1996. *Limnological analyses* 2nd ed. *Photosynthetica* 32: 380-380.