

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da**  
**Vida Silvestre.**

**EFEITOS DA INVASÃO DO MEXILHÃO-DOURADO**  
**(*Limnoperna fortunei*) NA DINÂMICA POPULACIONAL**  
**DE ORGANISMOS FITOPLANCTÔNICOS**

**Fabiano Alcísio e Silva**

*Orientadora*

**Alessandra Giani**

BELO HORIZONTE, 2018.

**FABIANO ALCÍSIO E SILVA**

**EFEITOS DA INVASÃO DO MEXILHÃO-DOURADO  
(*Limnoperna fortunei*) NA DINÂMICA POPULACIONAL  
DE ORGANISMOS FITOPLANCTÔNICOS  
TESE DE DOUTORADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do Título de Doutor em Ecologia.

Orientadora: Dra. Alessandra Giani

BELO HORIZONTE, 2018.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à orientadora Dra. Alessandra Giani que, com muita cordialidade, foi a grande parceira deste trabalho. Pessoa com quem eu realmente discuti cada detalhe desta tese e, juntos, avaliamos, aprendemos e evoluímos com os muitos erros e acertos. Avançamos pela espiral do conhecimento e, sem dúvida, a professora Alessandra contribuiu enormemente com minha formação acadêmica e humana.

Agradeço minha doce e querida esposa, Daniela Mota. Muito além de companheira de vida, foi minha grande motivadora. Acolheu minhas angústias, e me fez acreditar e ter orgulho de fazer doutorado. Com o carinho de sempre, foi o ponto de equilíbrio e energia, por mais de quatro anos de muita ansiedade.

Agradeço à equipe do laboratório de ficologia da UFMG, ao suporte dado pelos Departamentos de Biologia Geral e de Botânica, e pelo Programa PG-ECMVS. Muito além de colegas de trabalho, colecionamos histórias, angústias e alegrias. Dentre os grandes ganhos de se fazer um doutorado, as relações humanas e amizades estão, sem dúvida, entre as mais ricas e importantes.

Agradeço ao CETEC e CBEIH, minhas grandes escolas. Em nome do professor Antônio Valadão, agradeço cada grande amigo desta equipe, que sem dúvida, foi a grande inspiração para seguir estudando, evoluindo e desafiando fazer ciência no Brasil. Agradeço aos fiéis escudeiros de campo, Tiãozinho, Vinicius, João, Arthur, Natália, Valquíria e o barqueiro Gonçalves. Apesar dos perrengues, vamos sentir falta dos rodízios do Cupim e das gargalhadas em campo.

Agradeço à Cemig, que junto à ANEEL financiou este trabalho através do P&D GT343. Agradeço minhas queridas amigas da equipe de qualidade de águas e limnologia da Cemig, Marcela, Helen, Fabiana, Bárbara e Maria Edith. A amizade, cumplicidade, respeito e carinho que construímos em mais de 12 anos de parceria, são

reflexos não só do profissionalismo e competência de vocês, mas também da sintonia e confiança, que não me deixam dúvidas, de que muitos trabalhos ainda virão. Agradeço ainda à equipe de Volta Grande (Sônia, Alessandra e Caissor), sempre salvando nos sufocos dos trabalhos em campo.

Por fim, agradeço e dedico este trabalho à minha família. Minha amada e guerreira mãe, fonte de carinho e amor maior. Meu pai, meu grande inspirador para a vida, eternizado em minhas boas memórias. Minhas irmãs e sobrinhos, que dentre brigas, choros, alegrias e muito carinho, me fazem sentir a indescritível sensação do lar e de estar em casa. Meus primos, primas, tios e tias, amigos e amigas, com quem em algum momento acabei desabafando as mazelas e alguns sucessos de minhas pesquisas. E à família Mota, que me acolheu com todo carinho, respeito, confiança e alegria, essenciais para esta caminhada. Fizeram minha família ainda maior e mais unida.

## Resumo

Considerada uma das espécies invasoras, de águas doces, mais agressivas da atualidade, o mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) tem sido frequentemente estudado e os seus impactos amplamente discutidos na literatura científica. Paralelo a isso, os ambientes aquáticos têm sofrido impactos oriundos de diferentes atividades antrópicas, que vão pela contramão da necessidade global, cada vez maior por águas de melhor qualidade. O processo de invasão do mexilhão-dourado tem acelerado no Brasil nos últimos anos, e atualmente atinge diferentes bacias hidrográficas que reúnem importâncias cênicas, econômicas e ecológicas. Os impactos causados pelo bivalve nestes ambientes invadidos ainda são bastante discutidos e muitas vezes contraditórios e algumas vezes desconhecidos. Os impactos da invasão do mexilhão-dourado sobre a cadeia trófica dos ambientes por ele invadidos estão entre os pontos mais discutidos e contraditórios na literatura especializada. As variações temporais e espaciais, além das características intrínsecas de cada ambiente estudado, estão entre as principais causas destas divergências. Nesse sentido, este estudo buscou contemplar diferentes escalas experimentais, abrangendo estudos em laboratório, em mesocosmo e em ambientes abertos, além de diferentes escalas temporais, que variaram de alguns dias de experimento a dois anos de monitoramento. A primeira fase dos estudos foi realizada em uma bateria de experimentos laboratoriais pelo período de 11 dias, em ambientes controlados, onde uma cianobactéria e uma alga verde foram oferecidas como alimento. Em seguida experimentos em escala de mesocosmo, de doze dias, foram desenvolvidos em tanques de pisciculturas de um reservatório invadido pelo bivalve, utilizando águas do próprio ambiente, além da comunidade planctônica local. E por fim, foram realizados dois anos de monitoramento, com amostragens trimestrais, em um reservatório recém-invadido pelo mexilhão-dourado, para comparação de dados dos

mesmos pontos monitorados antes da chegada do invasor. Os resultados, tanto experimentais como de observação de campo, revelaram a alta capacidade de alteração nas características físicas, químicas e hidrobiológicas da água que a invasão do mexilhão-dourado é capaz de provocar. Em especial, aumento da penetração da luz na coluna d'água, aumento da concentração dos nutrientes dissolvidos tais como amônio e fósforo e profunda alteração nas estruturas das comunidades hidrobiológicas. Além disso, este estudo confirma que a presença do mexilhão-dourado, mesmo em um curto período de dias, já seria capaz de alterar de maneira significativa a estrutura de uma comunidade fitoplanctônica, favorecendo alguns grupos e prejudicando outros. Os resultados, portanto, corroboram com as hipóteses principais aqui levantadas, que propuseram que a introdução do mexilhão-dourado poderia alterar a estrutura trófica dos ambientes invadidos, tanto através da pressão seletiva por filtração, como do maior acúmulo de nutrientes na água, resultantes de sua atividade metabólica. Dentre as espécies favorecidas, *Microcystis aeruginosa*, uma cianobactéria conhecida pela sua capacidade de formar florações e produzir toxinas, teve sua densidade aumentada nos experimentos laboratoriais. Os resultados apresentados neste trabalho podem servir, portanto, como base para desenvolvimento de ferramentas de manejo, controle e mitigação dos impactos causados pelo mexilhão-dourado nos ambientes por ele invadidos.

Palavras-Chave: Invasões biológicas, moluscos bivalves, cianobactérias, teia trófica, reservatórios.

## **Abstract**

Considered as one of the most aggressive freshwater invasive species, the golden mussel (*Limnoperna fortunei*) has been intensively studied and its impacts widely discussed in the scientific literature. Additionally, the aquatic environments have suffered impacts from different anthropic activities, going against the increasing global necessity for high quality water. In recent years, the golden mussel invasive process has accelerated in Brazil, and it currently reaches different watersheds with scenic, economic and ecological importance. The impacts caused by the bivalve in these invaded environments are still quite discussed and often contradictory. The impacts of the golden mussel introduction on the trophic chain of invaded environments present several contradictory points of view in the literature. The temporal and spatial variations, and the intrinsic characteristics of each particular environment, are the main causes of these divergences. In this sense, this study sought to contemplate different temporal and spatial scales, covering studies in the laboratory, in mesocosmos and in the field, in addition to different time scales, which varied from a few days to two years. The first phase of the study was carried out in a battery of 11-day laboratory experiments, under controlled conditions, when the animals were fed on a cyanobacterium and a green alga. Then, twelve-day mesocosmic scale experiments were performed in a reservoir invaded by the bivalve, using the reservoir water and the local plankton community. Finally, a two years' monitoring sampling was followed in the field at monthly intervals in a reservoir recently invaded by the golden mussel. The results, both experimental and from field observation, revealed the high capacity of golden mussel to alter the physical and chemical properties of the water. In particular, we observed increased light penetration into the water and increased concentration of dissolved nutrients such as ammonium and phosphorus. In addition, this study confirms

that the presence of the golden mussel, even on a few days scale, would be able to modify the structure of the phytoplankton community, favoring some groups and harming others. The results, therefore, corroborate the main hypotheses raised here, which proposed that the introduction of the golden mussel could have an effect on the trophic structure of the invaded environments, through selective pressure by filtration and greater accumulation of nutrients in the water, consequence of its metabolic activity. Among the favored species, *Microcystis aeruginosa*, a cyanobacterium able to form blooms and to produce toxins, had its density increased in the laboratory experiments. The results presented in this PhD thesis can therefore serve as the basis for the development of tools with the purpose of managing, controlling and mitigating the impacts caused by the golden mussel in the environments.

Keywords: Invasive species, bivalve mollusks, cyanobacterias, trophic chain, reservoirs.

# SUMÁRIO

---

|   |           |
|---|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO</b> -----   | <b>11</b> |
| ESPÉCIES INVASORAS: O MEXILHÃO-DOURADO COMO CASO DE ESTUDO -----  | 11        |
| ESTRUTURA DA TESE-----  | 19        |
| OBJETIVO E HIPOTHESES -----   | 19        |
| Hipóteses testadas-----   | 19        |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----  | 20        |
| <b>CAPÍTULO 1</b> -----   | <b>28</b> |
| <b>POPULATION DYNAMIC OF BLOOM-FORMING <i>MICROCYSTIS AERUGINOSA</i> IN THE PRESENCE OF THE INVASIVE BIVALVE <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i></b> -----               | <b>28</b> |
| 1.1 INTRODUCTION -----  | 30        |
| 1.2 - MATERIAL AND METHODS -----  | 34        |
| 1.2.1 - Experimental design -----   | 35        |
| 1.2.2 - Analyses -----  | 36        |
| 1.2.3 - Statistical analyses -----  | 37        |
| 1.3 - RESULTS -----   | 39        |
| 1.3.1 - Cell density of <i>M. aeruginosa</i> -----  | 39        |
| 1.3.2 - Cell density of <i>Pseudokirchneriella</i> sp.-----   | 40        |
| 1.3.3 - Population growth of <i>M. aeruginosa</i> ( $\lambda$ ) -----   | 40        |
| 1.3.4 - Mortality -----   | 41        |
| 1.3.5 - Nutrient concentration -----  | 41        |
| 1.3.6 - Feeding rates -----   | 43        |
| 1.4 - DISCUSSION-----   | 45        |
| 1.5 - CONCLUSIONS -----   | 52        |
| 1.6 - REFERENCES -----  | 53        |
| <b>CAPITULO 2</b> -----   | <b>63</b> |
| <b>ALTERAÇÕES NAS COMUNIDADES FITO E ZOOPLANCTÔNICAS CAUSADAS PELA PRESENÇA DO BIVALVE INVASOR <i>LIMNOPERNA FORTUNEI</i>: EXPERIMENTOS EM MESOCOSMOS</b> ----- | <b>63</b> |
| 2.1 - INTRODUÇÃO -----  | 65        |
| 2.2 - MATERIAIS E MÉTODOS-----  | 67        |
| 2.2.1 - Desenho experimental -----  | 67        |
| 2.2.2 - Análises laboratoriais -----  | 69        |
| 2.2.2.1 Nutrientes -----  | 69        |
| 2.2.2.2 Comunidade zooplanctônica -----   | 69        |
| 2.2.2.3 - Comunidade fitoplanctônica-----   | 70        |
| 2.2.3 - Análises estatísticas -----   | 70        |

|  |            |
|--|------------|
| 2.4 - RESULTADOS   | 71         |
| 2.4.1 - Parâmetros físicos e químicos  | 71         |
| 2.4.2 - Parâmetros biológicos  | 74         |
| 2.4.2.1 Clorofila-a  | 74         |
| 2.4.2.2 Fitoplâncton   | 75         |
| 2.4.2.3 Zooplâncton  | 81         |
| 2.5 - DISCUSSÃO  | 84         |
| 2.6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS   | 94         |
| 2.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 95         |
| <b>CAPÍTULO 3</b>  | <b>104</b> |
| <b>VARIAÇÕES LIMNOLÓGICAS NO RESERVATÓRIO DA UHE VOLTA GRANDE APÓS A INVASÃO PELO MEXILHÃO-DOURADO</b> | <b>104</b> |
| 3.1 - INTRODUÇÃO   | 106        |
| 3.2 - ÁREA DE ESTUDO   | 111        |
| 3.3 - MATERIAIS E MÉTODOS  | 111        |
| 3.3.1 - Estabelecimento da rede amostral   | 111        |
| 3.3.2 - Amostragem e análise dos parâmetros físicos e químicos da água                                 | 114        |
| 3.3.3 - Amostragem de parâmetros biológicos  | 114        |
| 3.3.4 Análise estatística dos dados  | 116        |
| 3.4 - RESULTADOS   | 117        |
| 3.4.1 Parâmetros físicos e químicos  | 117        |
| 3.4.2 - Parâmetros hidrobiológicos   | 121        |
| 3.4.2.1 Clorofila-a (BIOMASSA)   | 121        |
| 3.4.2.2 Biovolume planctônico (Cianobactérias e fitoplancton)  | 121        |
| 3.4.2.3 Densidades larvais de mexilhão-dourado   | 122        |
| 3.5 - DISCUSSÃO  | 124        |
| 3.6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS   | 132        |
| 3.7 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS   | 133        |
| <b>CONCLUSÕES</b>  | <b>144</b> |

# INTRODUÇÃO

---

## INVASÕES BIOLÓGICAS: O MEXILHÃO-DOURADO COMO CASO DE ESTUDO

Devido às características biológicas, genéticas, fisiológicas e ecológicas que conferem tolerância à diversos fatores ambientais, espécies exóticas podem apresentar grande capacidade de invasão e colonização de novos ecossistemas (Machado & Oliveira, 2009). Após a invasão, as espécies exóticas podem promover mudanças que vão afetar as relações entre os diversos componentes do ecossistema, assim como podem interferir e causar um impacto no uso dos recursos naturais pelo homem. A globalização e aumento da mobilidade pelos seres humanos potencializaram as invasões biológicas, fazendo com que os processos de invasão, mediados por atividades humanas, sejam agora tão difundidos em todo o mundo que seus impactos passaram a constituir um componente importante das mudanças globais induzidas pelo homem (Vitousek *et al.*, 1997).

Por isso, a introdução de espécies, fora de sua faixa nativa, tem sido considerada uma das maiores e mais irreversíveis ameaças à diversidade biológica e à integridade dos ecossistemas em escala global (Simberloff, 1996; Sala *et al.*, 2000). Essas invasões biológicas têm sido amplamente investigadas e discutidas nos estudos ecológicos.

Os ambientes de água doce, especialmente lagos e reservatórios, têm sido caracterizados como altamente vulneráveis a espécies invasoras, entre as quais moluscos e crustáceos são os mais significativos (Karatayev *et al.*, 2015). Estes invasores são estressores importantes dos ecossistemas aquáticos (Strayer, 2010), caracterizando estes ecossistemas entre os mais gravemente afetados pelas invasões biológicas (Dextrase & Madrak, 2006; Boltovskoy *et al.*, 2009).

Dentre as espécies invasoras aquáticas, alguns dos exemplos mais bem estudados incluem as mudanças ocorridas após invasões pelos mexilhões zebra (*Dreissena polymorpha*) e quagga (*D. rostriformis bugensis*) (Vanderploeg *et al.*, 2002). Em uma pesquisa recente (Smith *et al.*, 2015), a invasão pelos dreissenídeos nos Grandes Lagos da América do Norte, foi classificada como a principal ameaça ambiental, sendo considerada como, provavelmente, o distúrbio mais relevante para os organismos autotróficos pelágicos, juntamente com a deposição de nutrientes atmosféricos (Kovalenko *et al.*, 2017).

Na América do Sul, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), vem colonizando diversos rios e reservatórios. Por dividir várias características ecológicas com o mexilhão-zebra, e por ter sido menos estudado, as pesquisas com esse organismo tem sido utilizadas como base para prever os impactos ambientais causados pelo *Limnoperna* (Karatayev *et al.*, 2007a). Popularmente conhecido como mexilhão-dourado, este bivalve é uma espécie invasora com características parecidas com os dreissenídeos da América do Norte. Ele tem causado diversos impactos ambientais e econômicos nos locais que coloniza. Devido ao seu alto potencial adaptativo, o mexilhão-dourado invadiu e se estabeleceu na América do Sul, introduzido, possivelmente, através de água de lastro de navios oriundos da Ásia (Darrigran & Pastorino, 1995). Os relatos da presença desta espécie no continente sul-americano são datados do ano de 1991, na Argentina, no estuário do Rio da Prata (Pastorino *et al.*, 1993). Com o passar do tempo se espalhou por diversos países deste continente, inclusive o Brasil (Darrigran & Pastorino, 2004; Mansur *et al.*, 2003).

Outro bivalve invasor encontrado na América do Sul e introduzido via águas de lastro de navios é o *Corbicula fluminea*, que assim como o mexilhão-dourado, tem características invasoras e transformadoras dos ambientes que invade, com

significativos impactos sobre a diversidade da comunidade bentônica (Beasley *et al.*, 2003), na ciclagem de nutrientes Sousa *et al.* (2008), além de impactos à saúde, já que esses organismos são hospedeiros intermediários de trematódeos (Chung *et al.*, 2001).

Em 08 de setembro de 2017, entrou em vigor a Convenção Internacional para o Controle e Gerenciamento da Água de Lastro e Sedimentos dos Navios. O propósito da Convenção é prevenir os riscos de introdução de espécies aquáticas invasoras, já que as águas de lastro se tornaram um dos principais meios de introdução de espécies no mundo. A convenção, que teve sua adoção internacional em 13 de fevereiro de 2004, previa que a mesma só entraria em vigor doze meses após a data que, pelo menos 30 países, com frotas mercantes combinadas de pelo menos 35 por cento da arqueação bruta da frota mercante mundial, ratificassem o documento junto à Organização Marítima Internacional (IMO). Com a adesão da Finlândia em 08 de setembro de 2016, a arqueação bruta mínima necessária foi atingida, fazendo com que a Convenção entrasse em vigor doze meses depois, portanto em 08 de setembro de 2017.

Dentre as diversas espécies exóticas invasoras, introduzidas via águas de lastro de navios, o mexilhão-dourado tem se destacado em função dos significativos impactos econômicos e ecológicos observados após a invasão. O mexilhão-dourado é capaz de obstruir as tubulações de sistemas de captação de água, gerando altos custos anuais de operação e manutenção. Essa capacidade de obstruir a passagem de água está relacionada à produção de fios de bisso, que são secretados através de glândulas localizadas no pé desses bivalves. O bisso é responsável pela incrustação do mexilhão-dourado em diversas superfícies, como rochas, metais, madeiras, plásticos e vidros (Faria *et al.*, 2006). A adesão entre o bisso e o substrato se dá em escala nanométrica, por interações do tipo capilaridade e forças de van der Waals (Meyers, 2008), permitindo que o mexilhão se fixe em praticamente qualquer substrato sólido, de

pedras, troncos e conchas de outros moluscos a cascos de barco, redes de pesca, placas de vidro e de teflon.

O mexilhão-dourado é um molusco bivalve pertencente à Família Mytilidae, Subclasse Pteriomorpha e Ordem Mytiloida. Possui elevada capacidade de reprodução e adaptação nos ambientes em que se instala, causando mudanças na fauna e na flora. Possui duas valvas (conchas), (Morton, 1977) constituídas de carbonato de cálcio, que confere ao animal uma grande vantagem ecológica, pois além de sustentar o corpo mole, a concha o protege de agentes externos como os predadores (Morton, 1977). Pode apresentar comprimento máximo valvar de 40 a 45 mm (Darrigran, 2002). Boltovskoy & Cataldo (1999) estimaram a longevidade deste organismo em até aproximadamente três anos de idade para localidades na América do Sul. Populações de mexilhão-dourado são formadas, em geral, por aproximadamente 2/3 de indivíduos fêmeos. São dioicos, com reprodução externa (Morton, 1982).

Na América do Sul estima-se que a reprodução ocorra ao longo de pelo menos nove meses por ano, sendo mais intensa nos períodos de temperatura mais altas da água (Boltovskoy & Cataldo, 1999). Possui estágios larvais planctônicos que se fixam ao substrato após cerca de 15 dias de vida (Kimura & Sekiguchi, 1996). Acredita-se que haja uma fixação inicial em substrato filamentosos (Mansur *et al.*, 2003) e apenas após um dado período ocorra a mudança do animal para um substrato duro definitivo. O indivíduo se torna adulto após um período de aproximadamente um ano, atingindo a maturação sexual (Morton, 1982).

Os moluscos bivalves invasores, mexilhões quagga e zebra (*Dreissena bugensis* e *Dreissena polymorpha*) e o mexilhão-dourado (*Limnoperna fortunei*) têm causado alterações relevantes nos ambientes que ocupam (Karatayev *et al.*, 2002, 2007a, b; Vanderploeg *et al.*, 2002; Hecky *et al.*, 2004; O'Neill, 2008; Boltovskoy &

Correa, 2015). Boa parte dos trabalhos de revisão que relatam os impactos causados tanto pelo mexilhão-dourado como pelos mexilhões zebra e quagga evidenciam que as alterações observadas nos ambientes invadidos são muito parecidas, apesar de algumas variações pontuais (Karatayev *et al.*, 1997; Strayer *et al.*, 1999; Karatayev *et al.*, 2002; Kelley *et al.*, 2010; Van der Velde *et al.*, 2010; Boltovskoy & Correa 2015; Karatayev *et al.*, 2015).

Na América do Sul, diversos estudos têm evidenciado alterações nos ambientes invadidos pelo mexilhão-dourado. Alterações na concentração de nutrientes da água (Kawase, 2011; Cataldo *et al.*, 2012), aumento da penetração de luz na coluna da água e consequente aumento de perifiton e macrófitas aquáticas (Cataldo *et al.*, 2012; Boltovskoy *et al.*, 2009), alteração na composição das comunidades zooplanctônicas (Rojas Molina & Jose De Paggi, 2008), bentônicas (Burlakova *et al.*, 2012) e das fitoplanctônicas e de cianobactérias (Devercelli & Peruchet, 2008; Rojas Molina & Jose De Paggi, 2008; Boltovskoy *et al.*, 2009; Cataldo *et al.*, 2012). A elevada densidade populacional, com registros de até 200 mil ind./m<sup>2</sup> (Sylvester *et al.*, 2007; Spaccesi & Rodrigues Capítulo, 2012), somada à alta capacidade de filtração destes organismos (Sylvester *et al.*, 2006), são fatores que afetam diretamente a estrutura da cadeia trófica nos ambientes invadidos.

Alguns trabalhos têm demonstrado que a presença do bivalve invasor *Dreissena polymorpha*, conhecido como mexilhão-zebra (“zebra mussel”), tem causado aumento na biomassa da cianobactéria *Microcystis aeruginosa*, favorecendo a ocorrência de florações potencialmente tóxicas nos ambientes por ele invadidos (Lavrentyev *et al.*, 1995; Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001; Nicholls *et al.*, 2002; Juhel *et al.*, 2006). O trabalho de Vanderploeg *et al.* (2001) mostrou que a filtração seletiva por parte deste organismo eliminava, através das pseudofezes (partículas que não são

assimiladas pelos organismos, e que são expelidas, integradas a muco), células intactas de *Microcystis aeruginosa*, fator que poderia contribuir para a volta da cianobactéria à coluna d'água e a floração.

Os primeiros estudos relacionando o mexilhão-zebra e as cianobactérias buscavam verificar se a espécie invasora era capaz de filtrar as cianobactérias tóxicas e sobreviver à exposição. As taxas de filtração do molusco alimentado com *Microcystis* tóxicas unicelulares apresentaram valores semelhantes quando comparadas a outras algas (Vanderploeg *et al.*, 2001; Dionísio Pires & Van Donk, 2002). No laboratório, Juhel *et al.* (2006) demonstraram que, quando exposto a *M. aeruginosa*, o mexilhão-zebra apresentava “pseudodiarreia”, termo utilizado pelos autores para indicar aumento da produção de pseudofezes para a expulsão de células tóxicas de *M. aeruginosa*, como uma prática para evitar a assimilação de toxinas (Juhel *et al.*, 2006). Os autores também observaram que as pseudofezes eram facilmente ressuspendidas em água e ainda continham células viáveis de *Microcystis* (Juhel *et al.*, 2006). No entanto, parece que a rejeição seletiva é específica de cada linhagem e não está relacionada à concentração de microcistina, uma toxina produzida por certas cepas de *Microcystis* (Vanderploeg *et al.*, 2001). Assim, algumas cepas podem não ser expulsas como pseudofezes.

Alguns trabalhos na América do Sul observaram a interação do mexilhão-dourado com populações de cianobactérias. O primeiro trabalho avaliou as taxas de filtração de *L. fortunei* sobre as espécies *Selenastrum capricornutum*, *Microcystis viridis* e *Pseudanabaena* sp.. Este trabalho mostrou que não houve variação nas taxas de filtração pelo mexilhão-dourado entre estas diferentes espécies testadas (Rückert *et al.*, 2004). Trabalhos recentes têm demonstrado que o mexilhão-dourado filtra as células individuais de *Microcystis* sp. tóxicas (Gazulha *et al.*, 2012a), mas assim como o

mexilhão-zebra, pode expelir através das pseudofezes as colônias destes organismos e também os filamentos da cianobactéria *Planktothrix* (Gazulha *et al.*, 2012b).

Cataldo *et al.* (2012), fizeram testes em escala de mesocosmos no reservatório de Salto Grande no Uruguai. Mexilhões dourados foram adicionados em tanques de 400 litros, contendo populações de *Microcystis* sp.. O trabalho mostrou que a amônia e o fosfato diminuíram nos tanques sem mexilhões e aumentaram naqueles colonizados por este organismo. A população de *Microcystis* sp. teve crescimento significativamente maior nos tanques com mexilhões comparados àqueles não colonizados. Segundo esses autores, esse fato ocorreu provavelmente porque os mexilhões dourados modificaram as concentrações de nutrientes da água, favorecendo o crescimento das cianobactérias.

O possível aumento de florações de cianobactérias tóxicas em locais invadidos pelo mexilhão-dourado é preocupante, já que florações dominadas por cianobactérias são uma das principais causas da degradação da qualidade das águas doces em todo o mundo (Chorus & Bartram, 1999). Florações (“*blooms*”) de fitoplâncton são definidas pelo crescimento rápido e maciço de uma ou poucas espécies que passam a ser dominantes num determinado ambiente. Florações de cianobactérias tóxicas estão em geral associadas à eutrofização dos ambientes aquáticos causado pelo excesso de nutrientes (Smith, 1983; Sommer *et al.*, 1986), em geral, associadas ao aumento nas concentrações de fósforo e nitrogênio (Paerl, 1996). No entanto, o sucesso competitivo destes organismos não está associado apenas a uma característica ambiental ou ecológica, mas a vários fatores intrínsecos e ambientais em conjunto, tais como a presença de aerótopos nas células que permitem controle da flutuabilidade, capacidade de fixação do nitrogênio (únicas entre os organismos do fitoplâncton), capacidade de acumular elevadas concentrações de fósforo, entre outras (Schindler *et al.*, 2006). Dentre os graves problemas observados nos eventos de florações de cianobactérias

tóxicas, destacam-se a redução na diversidade da comunidade aquática, com dominância de uma ou poucas espécies (Romo & Miracle, 1995; Giani *et al.*, 2005) e a produção de cianotoxinas, que após ingestão das células, podem causar mortalidade de animais aquáticos (Salomom *et al.*, 1996), além de causarem efeitos tóxicos em vertebrados, incluindo seres humanos (Sivonen & Jones, 1999). Além das cianotoxinas, a anóxia causada pela decomposição da floração pode causar mortandade de organismos aquáticos.

As possíveis alterações nas comunidades planctônicas causadas diretamente pela alta demanda alimentar do mexilhão-dourado, bem como as causadas indiretamente, através do aumento da concentração de alguns nutrientes e redução das partículas em suspensão na água, com conseqüente aumento da penetração da luz, podem contribuir para o aumento de florações de cianobactérias tóxicas.

Nenhum trabalho, no entanto, avaliou especificamente a dinâmica populacional das cianobactérias após a colonização pelo mexilhão-dourado. As altas taxas de filtração do *Limnoperna fortunei*, associadas à elevada densidade destes organismos nos locais que colonizam, podem gerar impactos substanciais nas comunidades de algas fitoplanctônicas e cianobactérias (Gazulha *et al.*, 2012a). Soma-se ainda o fato de que o mexilhão-dourado tem a taxa de filtração entre as mais altas para os bivalves, incluindo as espécies invasoras *D. polymorpha*, *D. bugensis* e *Corbicula fluminea* (Sylvester *et al.*, 2006). Grande parte dos estudos que avaliaram os efeitos do mexilhão-dourado em cianobactérias ainda está em escala laboratorial (Cataldo *et al.*, 2012). Desta forma, estudos que avaliem a dinâmica populacional de cianobactérias em locais invadidos por *L. fortunei* são importantes.

## **ESTRUTURA DA TESE**

Este trabalho foi dividido em três partes, cada uma objetivando responder uma das hipóteses levantadas (ver tópico seguinte). O trabalho constou de um experimento de laboratório (Capítulo 1, primeira hipótese); um experimento de campo, em mesocosmos, (Capítulo 2, segunda hipótese), que foi realizado na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura do Reservatório UHE de Volta Grande (MG); e de um trabalho de monitoramento no campo (Capítulo 3, terceira hipótese), que foi realizado no Reservatório UHE de Volta Grande. O reservatório de Volta Grande foi escolhido por duas razões: em primeiro lugar, por ter sido recentemente invadido pelo mexilhão-dourado; em segundo, por já existir um banco de dados sobre as condições limnológicas deste ambiente, realizado pela mesma equipe, em período prévio à chegada do bivalve, que poderia nos permitir uma análise comparativa de possíveis alterações na qualidade da água.

## **OBJETIVO E HIPÓTESES**

O objetivo proposto neste trabalho foi de avaliar o efeito da presença do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei*, na dinâmica da comunidade fitoplanctônica, em especial das populações de cianobactérias tóxicas, testando diferentes abordagens temporais e espaciais.

### **Hipóteses testadas**

Primeira Hipótese: o crescimento populacional de *Microcystis aeruginosa* será acelerado na presença do mexilhão-dourado, devido tanto a (1) aumento nas concentrações de nutrientes na água, em especial nitrogênio e fósforo, consequência do

metabolismo do animal, como a (2) filtração seletiva, se alimentando preferencialmente de outro alimento, que não cianobactérias.

Segunda Hipótese: as comunidades de algas fitoplanctônicas e cianobactérias do reservatório de Volta Grande sofrerão alterações a partir da invasão pelo mexilhão-dourado, refletindo no aumento das densidades de espécies fitoplanctônicas oportunistas e redução da diversidade da comunidade.

Terceira Hipótese: a presença do mexilhão-dourado irá alterar a qualidade da água dos ambientes invadidos, incrementando a concentração de nutrientes (nitrogênio, amônio e fósforo), podendo, porém, reduzir a turbidez da água, devido ao seu efeito de filtrador.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- Beasley, C.; Tagliaro, C.; Figueiredo, W.B. 2003. The occurrence of the Asian clam *Corbicula fluminea* in the lower Amazon Basin. *Acta Amazônica* 33(2):317-323.
- Boltovskoy, D., Correa, N., 2015. Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (golden mussel) in South America. *Hydrobiologia* 746, 81–95. doi:10.1007/s10750-014-1882-9.
- Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. 1999. Population dynamics of *Limnoperna fortunei*, an invasive fouling mollusc, in the lower Parana river (Argentina). *Biofouling* 14 (3): 255-263.
- Boltovskoy, D., Sylvester, F., Otaegui, A., Leites, V., Cataldo, D.H., 2009. Environmental modulation of reproductive activity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei*: Implications for antifouling strategies. *Austral Ecol.* 34, 719–730. doi:10.1111/j.1442-9993.2009.01974.x

- Burlakova, L. E., A. Y. Karatayev & V. A. Karatayev, 2012. Invasive mussels induce community changes by increasing habitat complexity. *Hydrobiologia* 685: 121–134.
- Cataldo, D., Vinocur, A., O'Farrell, I., Paolucci, E., Leites, V., Boltovskoy, D., 2012. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia* 680, 25–38. doi:10.1007/s10750-011-0897-8.
- Chorus, I., and Bartram, J., 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, London.
- Chung, P.R.; Jung, Y.; Park, Y. K.; Hwang, M.G.; Soh, C.T.I. 2001. *Corbicula fluminea* (Bivalvia: Corbiculidae): a possible second molluscan intermediate host of *Echinostoma cinetorchis* (Trematoda: Echinostomatidae) in Korea. *Korean Journal of Parasitology* 39 (4):329-332.
- Darrigran, G. & Pastorino, G. 1995. The recent introduction of asiatic bivalve, *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) into South America. *The Veliger* 38: 183-187.
- Darrigran, G., 2002. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological Invasions*. 4, 145-156.
- Darrigran, G., and Pastorino, G., 2004. Distribution of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), (Family Mytilidae) after 10 years invading America. *Journal of Conchology Special Publication*. 3, 95-102.
- Devercelli, M. & E. Peruchet, 2008. Trends in chlorophyll a concentration in urban water bodies within different man- used basins. *Annales de Limnologie — International Journal of Limnology* 44: 75–84.
- Dextrase, A.J., and Madrak, N.E., 2006. Impacts of alien invasive species on freshwater fauna at risk in Canada. *Biological Invasions*. 8, 13-24.

- Dionisio Pires, L. M. & Van Donk, 2002. Comparing grazing by *Dreissena polymorpha* on phytoplankton in the presence of toxic and non-toxic cyanobacteria. *Freshwater Biology* 47: 1855-1865.
- Faria, E.A.; Branco, J.R.T.; Campos, M.C.S.; Oliveira, M.D.; Rolla, M.E. 2006. Estudo das características antiicrustantes de materiais. *Revista da Escola de Minas* 59(2):233-238.
- Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012a. Feeding behavior of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) under exposure to toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de biologia.* 72(1), 41-9.
- Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012b. Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de Biologia.* 72(1), 33-9.
- Giani, A., Bird, D., Prairie, Y., and Lawrence, J., 2005. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* Sci. 62, 1-10.
- Hecky, R.E., Smith, R.E.H., Barton, D.R., Guildford, S.J., Taylor, W.D., Charlton, M.N., and Howell, E.T., 2004. The near shore phosphorus shunt: a consequence of ecosystem engineering by dreissenids in the Laurentian Great Lakes.
- Juhel, G., Davenport, J., O'Halloran, J., Culloty, S., Ramsay, R., James, K., Furey, A., and Allis, O., 2006. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. *Journal Experimental Biology.* 209, 810-816.
- Kimura, T. & Sekiguchi, H. 1996. Effects of temperature on larval development of two mytilid species and their implication. *Venus. Jap. J. Malacol.* 55 (3): 215-222.

- Karatayev, A. Y., Burlakova, L. E., Padilla, D. K. 1997. The effects of *Dreissena polymorpha* (Pallas) invasion on aquatic communities in Eastern Europe. J. Shellfish Res. 16:187–203.
- Karatayev, A.Y., Burlakova, L.E., and Padilla, D.K., 2002. Impacts of zebra mussels on aquatic communities and their role as ecosystem engineers. In: Leppäkoski, E., S. Gollasch and S. Olenin, editors. Invasive aquatic species of Europe: distribution, impacts and management. Monographiae biologicae series. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers 433–446
- Karatayev, A.Y., Boltovskoy, D., Padilla, D.K., and Burlakova, L.E., 2007a. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. Journal of Shellfish Research. 26(1), 205-213.
- Karatayev, A.Y., Padilla, D.K., Minchin, D., Boltovskoy, D., and Burlakova, L.E., 2007b. Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. Biological Invasions. 9, 161–180.
- Karatayev, A. Y., L. E. Burlakova & D. K. Padilla, 2015. Zebra versus quagga mussels: a review of their spread, population dynamics, and ecosystem impacts. Hydrobiologia 746: 97–112.
- Kawase, M., 2011. Feeding and filtration in *Limnoperna lacustris*. Available via [http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo\\_05/amckiyono05-05.pdf](http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo_05/amckiyono05-05.pdf). Accessed 11 Feb 2014 [In Japanese]
- Kelley, D.W., Herborg, L.M. and MacIsaac, H.J., 2010. Ecosystem changes associated with *Dreissena* invasions: recent developments and emerging issues. In: van der Velde, G., S. Rajagopal and A. Bij de Vaate (eds), The zebra mussel in Europe. Backhuys Publishers, Leiden: 199–209.

- Kovalenko, Katya E., Euan D. Reavie, J. David Allan, Meijun Cai, Sigrid D. P. Smith  
And Lucinda B. Johnson, 2017. Pelagic phytoplankton community change-points  
across nutrient gradients and in response to invasive mussels. *Freshwater Biology*  
62: 366–381.
- Lavrentyev, P.J., Gardner, W.S., Cavaletto, J.F., and Beaver, J.R., 1995. Effects of the  
zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) on protozoa and phytoplankton from  
Saginaw Bay, Lake Huron. *Journal of Great Lakes Research*. 21, 545-557.
- Makarewicz, J.C., Lewis, T.W., and Bertram, P., 1999. Phytoplankton composition and  
biomass in the offshore waters of Lake Erie: pre and post *Dreissena* introduction  
(1983-1993). *Journal of Great Lakes Research*. 25, 135-148.
- Mansur, M.C.D., Santos, C.D., Darrigran, G., Heydrich, I., Callil, C.T., and Cardoso,  
F.R., 2003. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna*  
*fortunei* (Dunker), no delta do Jacuí, no lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio  
Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista*  
*Brasileira de Zoologia*. 20(1), 75-84.
- Machado, C.J.S.; Oliveira, A.E.S. 2009. Espécies exóticas invasoras: problema nacional  
ainda pouco conhecido. *Ciência e Cultura* 61(1):22-23.
- Meyers, A. M., *et al* - Biological materials: Structure and mechanical properties.  
*Science Direct* 53 (2008) 1-206
- Morton, B. 1977. Freshwater fouling bivalves. *Proceedings of the First International*  
*Corbicula Symposium*. Texas Christian University: 1-14.
- Morton, B. 1982. The reproductive cycle in *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857)  
(Bivalvia: Mytilidae) fouling Hong Kong's raw water supply system. *Oceanologia*  
*et Limnologia Sinica*, 13 (14): 312-324.
- Nicholls, K.H., Heintsch, L., and Carney, E., 2002. Univariate step-trend and

- multivariate assessments of the apparent effects of P loading reductions and zebra mussels on the phytoplankton of the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*. 28, 15-31.
- O'Neill, C.R. Jr., 2008. The silent invasion: finding solutions to minimize the impacts of invasive quagga mussels on water rates, water infrastructure and the environment. Hearing of the U.S. House of Representatives Committee on Natural Resources—Subcommittee on Water and Power, Washington
- Paerl, H.W. 1996. A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments. *Phycologia*, 35: 25–35.
- Pastorino, G.; Darrigran, G.; Martin, S. & Lunaschi, L. 1993. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor em águas Del Rio de la Plata. *Neotropica*, 39 (101-102): 34.
- Rojas Molina, F. & S. Jose ´ De Paggi, 2008. Zooplankton in the Parana river floodplain (South America) before and after the invasion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia). *Wetlands* 28: 695–702.
- Romo, S., & Miracle, M.R. 1995. Diversity of the phytoplankton assemblages of a polymictic hypertrophic lake. *Arch. Hydrobiol.* 132: 363–384.
- Rückert, G.V., Campos, M.C.S., and Rolla, M.E., 2004. Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de cyanobacteria. *Acta Scientiarum Biological Sciences*. 26, 421-429.
- Sala, O. E., *et al.* 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science* 287:1770–1774.
- Schindler, D. W. (2006) Recent advances in the understanding and management of eutrophication. *Limnology and Oceanography* 5: 356–363
- Simberloff, D. 1996. Impacts of introduced species in the United States. *Consequences*

2:13–24.

- Sivonen, K., and Jones, G., 1999. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (Eds.) Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, London.
- Smith, V.H., 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*. 221, 669-671.
- Smith S.D.P., McIntyre P.B., Halpern B.S., Cooke R.M., Marino A.L., Boyer G.L. *et al.* (2015) Rating impacts in a multi-stressor world: a quantitative assessment of 50 stressors affecting the Great Lakes. *Ecological Applications*, 25, 717– 728.
- Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2006. Tasas de clareado: ritmos e impacto. In G. Darrigran and C. Damborenea, (Eds.). *Bioinvasión del mejillón dorado en el continente americano*. Edulp., La Plata
- Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2007. The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* enhances benthic invertebrate densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia*. 589, 15-27.
- Sommer, U., Gliwicz, Z., Lampert, W., and Duncan, A., 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*. 106, 433-471.
- Spaccesi, F.G., and Capitulo, R.A., 2012. Benthic communities on hard substrates covered by *Limnoperna fortunei* Dunker (Bivalvia, Mytilidae) at an estuarine beach (Río de la Plata, Argentina). *Journal of Limnology*. 71, 144-153.
- Strayer, D.L., Caraco, N.F., Cole, J.J., Findlay, S., and Pace, M.L., 1999. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves - a case study of zebra mussels in the Hudson River. *BioScience*. 49, 19-28.
- Strayer, D.L. Twenty years of zebra mussels: Lessons from the mollusk that made

- headlines. *Front. Ecol. Environ.* 2009, 7, 135–141.
- Vanderploeg, H. A., Liebig, J.R., Carmichael, W.W., Agy, M. a., Johengen, T.H., Fahnenstiel, G.L., Nalepa, T.F., 2001. Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 1208–1221. doi:10.1139/cjfas-58-6-1208.
- Vanderploeg, H.A., Nalepa, T.F., Jude, D.J., Mills, E.L., Holeck, K.T., Liebig, J.R., Grigorovich, I.A., & Ojaveer, H. (2002). Dispersal and emerging ecological impacts of Ponto Caspian species in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:1209–1228
- Van der Velde, G., S. Rajagopal & A. Bij De Vaate (eds), 2010. *The Zebra Mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Vitousek, P.M., D'Antonio, C.M., Loope, L.L., Rejmanek, M., Westbrooks, R., 1997a. Introduced species: a significant component of human-caused global change. *NZ J. Ecol.* 21, 1–16.

## CAPÍTULO 1

# Population dynamic of bloom-forming *Microcystis aeruginosa* in the presence of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei*

---

### *Abstract*

Aquatic ecosystems have been severely altered by invasive species and a connection has been observed between bivalve invasions and an increase in frequency of cyanobacteria toxic blooms. In South America, the invasive golden mussel, *Limnoperna fortunei*, has caused serious environmental and economic impacts, because of its high filtration rates, high population densities and rapid dispersion. Changes in the plankton community have been detected at sites invaded by this species. The aim of the present study was to investigate the possible effects of this mussel on the growth of the bloom-forming cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, in laboratory experiments under controlled light and temperature conditions. The cyanobacterium *M. aeruginosa* and a chlorophyte (*Pseudokirchneriella* sp.) were used either together or alone as food for the mussels. Density measurements of *M. aeruginosa* and *Pseudokirchneriella* sp. growing in vessels with and without mussels were performed daily, and nutrient concentrations in the water were assessed at the beginning and end of the experiment. The results indicated that *Pseudokirchneriella* sp. acted as a competitor, contributing to reduce densities and growth rates of *M. aeruginosa*. These effects, however, did not occur in the presence of the golden mussel, when the densities of *Pseudokirchneriella* sp. were significantly lower, possibly due to selective grazing. Phosphate and nitrate concentrations were always higher in the presence of the bivalves. As previously observed for other invasive mollusks, our results suggest that the golden mussel may have a positive effect on *M.*

*aeruginosa* by the exclusion of potential competitors as well as by increasing nutrient supply.

*Keywords:* golden mussel; cyanobacterial blooms; competitive exclusion; selective filtration; nutrient enrichment.

## 1.1 – INTRODUCTION

Food webs represent one of the most important aspects of an ecosystem, and their trophic structure has been explored since the beginning of ecological studies (Lindeman, 1942; Paine, 1966; Cohen, 1978; Cohen and Newman, 1990). In particular, the trophic structure of aquatic environments has been investigated because of the essential ecological services that they provide (Mitsch *et al.*, 2010). In recent decades, biological invasions have become one of the most common and challenging problems facing a variety of ecosystems throughout the world, and are one of the causes of changes to the structure of food webs and the ecological relationships within an environment. Freshwater ecosystems are among the most severely affected by this problem (Dextrase and Madrak, 2006; Boltovskoy *et al.*, 2009). A classic example is that of invasive bivalve mollusks that have caused significant impacts to the environments they occupy (Karatayev *et al.*, 2002, 2007 a, b; Vanderploeg *et al.*, 2002; Hecky *et al.*, 2004; O’Neill, 2008; De Stasio *et al.*, 2014). The high population densities that they reach, combined with their high capacity for filtration, can directly affect the structure of the food chain and physicochemical characteristics of the invaded environments.

The most aggressive freshwater invaders in the Northern Hemisphere are *Dreissena polymorpha* (zebra mussel) and *D. rostriformis bugensis* (quagga mussel), (Nalepa and Schloesser, 1993, 2014; Karatayev *et al.*, 2002, 2007a, b). In South America, a different species of mollusk has colonized numerous rivers and reservoirs since the early 1990’s; the bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), commonly known as the golden mussel, is a freshwater member of the family Mytilidae. The impacts of this mussel on the aquatic biota are complex (Boltovskoy and Correa, 2015),

yet many of its invasion patterns are the same as those observed for the zebra and quagga mussels in North America and Europe, respectively (revised in Karatayev *et al.*, 2007a). Just like the quagga and zebra mussel, the effects of the golden mussel on the food chain are likely to be significant.

The filtration activity and food preferences of the golden mussel, as well as their effects on the environment, have been investigated, but the findings are contradictory (Rückert *et al.* 2004; Rojas Molina *et al.*, 2010; Boltovskoy *et al.*, 2009; Fachini *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012a, b; Cataldo *et al.*, 2012; Frau *et al.*, 2016). Part of the controversy surrounds their rate of filtration on toxic cyanobacteria, especially *M. aeruginosa*. Similarly, for the invasive bivalves in the Northern Hemisphere, *D. polymorpha* and *D. bugensis*, several studies have addressed the issue of grazing selectivity using mixtures of plankton and various combinations of cultured algae, but despite the number of published studies, the results are still conflicting (Strayer *et al.*, 1999; Baker and Levinton, 2003; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2009, 2013; Dionisio Pires *et al.*, 2005, 2010).

Some field studies have shown that the presence of the invasive bivalve *D. polymorpha* can cause an increase in biomass of *Microcystis* by favoring the occurrence of algal blooms in the invaded regions (Lavrentyev *et al.*, 1995; Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001; Nicholls *et al.*, 2002; Juhel *et al.*, 2006; De Stasio *et al.*, 2014). In Saginaw Bay (Lake Huron) and in Lake Erie, both in the Great Lakes Region in North America, blooms of *Microcystis aeruginosa*, which were not recorded after implementation of phosphorus control into the system, started again to be observed after the establishment of the zebra mussel (Vanderploeg *et al.*, 2001). These authors reported the feeding mechanism of this organism, which eliminates through pseudofeces

(particles that are not assimilated but integrated in mucous and expelled) intact cells of *Microcystis*, as a possible contribution to increased cyanobacterial growth in the lakes.

In the laboratory, Juhel *et al.*, (2006) demonstrated that when exposed to *M. aeruginosa*, the zebra mussel presented “pseudodiarrhoea,” a term used by the authors to indicate increased production of pseudofeces for the expulsion of toxic cells of *M. aeruginosa*, as a practice to avoid toxin assimilation (Juhel *et al.*, 2006). The authors also, observed that pseudofeces were easily resuspended in water and still contained viable cells of *Microcystis* (Juhel *et al.*, 2006). Nevertheless, it seems that selective rejection is strain specific and is not related to concentration of microcystin, a toxin produced by certain *Microcystis* strains (e.g. Vanderploeg *et al.*, 2001, 2009, 2013). Thus, some strains may not to be expelled as pseudofeces.

In view of the data generated by previous works on other mussels, *L. fortunei* is supposed to also have a potential effect on cyanobacterial populations. Such an influence could be quite significant, since the filtration rates of this mussel are high, even when compared to other bivalve invaders such as *D. polymorpha*, *D. bugensis* and *Corbicula fluminea* (Sylvester *et al.*, 2006). Furthermore, the golden mussel can reach extremely high population densities, with up to 200-thousand individuals per square meter (Sylvester *et al.*, 2007; Spaccesi and Capítulo, 2012).

Populations of cyanobacteria may suffer an indirect effect by the golden mussel, since several studies have shown that mussels significantly alter turbidity and the amount of suspended organic matter in the water, as well as the concentration of ammonium, nitrate and phosphate (see review by Karatayev *et al.*, 2002; Cataldo *et al.*, 2012). The only long-term study on *L. fortunei* was performed by Boltovskoy *et al.* (2009) in *Embalse de Río* (central Argentina), between 1996 and 2008. In their

experiment, the ammonium concentration increased 400%, total nitrogen increased 300% and phosphate doubled. These changes recorded in the physicochemical characteristics of the water can, as a consequence, affect the population densities of cyanobacteria in these environments.

Blooms of phytoplankton dominated by cyanobacteria are one of the main causes of the degradation of freshwater systems throughout the world (Chorus and Bartram, 1999). Several studies have been performed in the last decades trying to explain the success of cyanobacteria in freshwater systems (see for example Smith *et al.*, 2006; Carey *et al.*, 2012; Newcombe *et al.*, 2012). Toxins produced by these organisms pose serious risks to animals, including humans (Sivonen and Jones, 1999). While several studies have been performed to understand the feeding mechanisms and preferences of the golden mussel on phytoplankton species (Rückert *et al.*, 2004; Rojas Molina *et al.*, 2010; Boltovskoy *et al.*, 2009; Fachini *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012a, b; Frau *et al.*, 2016), very few have clearly shown the potential influence of *Limnoperna* on toxic cyanobacterial blooms (Cataldo *et al.*, 2012). There is a lack of studies on *Limnoperna* potential impacts, in comparison with similar effects on the biomass of *Microcystis* that have been demonstrated for *Dreissena* in the Northern Hemisphere (for example, Vanderploeg *et al.*, 2001; Sarnelle *et al.*, 2005; Bykova *et al.*, 2006).

Unlike previous studies that aimed to measure *L. fortunei* filtration rates on algae or cyanobacteria, the main goal of this study was to measure the response of *Microcystis aeruginosa* to the presence of the golden mussel in a eleven days experiment. The hypotheses tested were based on the following questions: 1 – will *M. aeruginosa* growth be favored by the presence of the golden mussel? 2 – will this growth occur only as a consequence of increased nutrient concentrations? 3 – or, will

the mussels selectively prefer one food over another, if an alga (chlorophyte) is offered as alternative food along with *M. aeruginosa*, thus promoting growth of the less preferred organism?

To test our hypotheses, laboratory experiments were designed, in which cultures of *M. aeruginosa* were offered as food, with or without the simultaneous addition of the chlorophyte *Pseudokirchneriella* sp.. The parallel experiments with the chlorophyte were meant to verify whether potential *M. aeruginosa* ingestion occurs only in the absence of an alternative diet or if there may be any selective feeding.

## **1.2 - MATERIAL AND METHODS**

Experiments were performed in the golden mussel cultivation laboratory at the “Bioengineering Center of Invasive Species in Hydroelectric power plants” (CBEIH), campus Senai-CETEC in Belo Horizonte (MG, Brazil), which is fully adapted to the rules for cultivation of alien invasive aquatic organisms. Mussels were collected from the fish farming station of Volta Grande reservoir, and taken in aerated plastic bags to CBEIH for cultivation in the laboratory. In the laboratory, the organisms were washed with de-chlorinated water and maintained in aerated aquaria. Prior to the experiments, healthy individuals (i.e., exhibiting filtration activity and byssus) of  $19 \pm 3$  mm were selected and kept in plastic tubs with aerated de-chlorinated tap water without food for a period of 24 hours.

A toxic strain of *M. aeruginosa* (UFMG26), from the culture bank of the Phycology Laboratory of the Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), and a strain of the chlorophyte *Pseudokirchneriella* sp., obtained from at CBEIH, were cultured in sterile CHU 10 medium (Chu 1942). The presence of toxin (microcystin) in

*M. aeruginosa* was previously estimated by ELISA and HPLC (Pereira and Giani, 2014; Pimentel and Giani, 2014). Both species were in their unicellular form, and colony development was not observed during our experiments. The experiments were conducted under controlled conditions in a growth chamber at a temperature of 19°C, light intensity of 50  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  and a photoperiod of 12 hours light:12 hours dark.

### **1.2.1 - Experimental design**

The experiments were performed with the following experimental design: 1) *M. aeruginosa* (three replicates); 2) *M. aeruginosa* and mussels (five replicates); 3) *M. aeruginosa* and *Pseudokirchneriella* sp. (three replicates); 4) *M. aeruginosa*, *Pseudokirchneriella* sp. and mussels (five replicates). The number of replicates was higher for treatments with mussels, because in previous experimental tests we observed higher variability among replicates with the addition of animals. To correct for these potential differences and improve statistical robustness, five replicates were used when mussels were added. This was not necessary for the alga and the cyanobacterium.

The experiments were carried out in 500 ml glass vessels (beakers). In the treatments with mussels (treatments 2 and 4) each of the five replicates received five animals (valve length  $19 \pm 3$  mm). During the entire experimental period, all vessels were aerated. Aeration was permanent and finely controlled to keep the algae from sedimenting, and it was also important to assure good oxygen levels for the mussels.

Cells of *M. aeruginosa* were added daily to all vessels and cells of *Pseudokirchneriella* sp. to the vessels of treatments 3 and 4. The number of cells of each species added was based on the specific biovolume (calculated using the average cell linear dimensions and their closest geometrical shape), to assure the addition of equivalent biomass. Even though biovolume is a more appropriate unit, in our case cell

biovolumes of both species were very similar (52 and 44  $\mu\text{m}^3$ , respectively for *M. aeruginosa* and *Pseudokirchneriella*). Thus, similar number of cells was added per day: *M. aeruginosa* 200,000 cells/mL and *Pseudokirchneriella* 240,000 cells/mL.

As showed by previous authors, because of the high filtration rates of dreissenids, daily addition of algae is needed in laboratory experiments lasting several days (Dionisio Pires *et al.*, 2004b; Riisgård *et al.* 2013), in order to ensure constant food availability during the entire experimental period. Since the added number of cells was equivalent and constant for all vessels, it was possible to compare results among the experimental treatments and perform the subsequent statistical analyses.

For estimation of cell density, an aliquot of 5 mL preserved with 1% Lugol's solution, was taken every day from each experimental vessel, after carefully mixing of the vessel content and before the daily addition of the new cells.

The experiments lasted eleven days. Byssus activity and mortality of individuals were evaluated daily by directly inspecting if the valves were open, if the inhalant siphon was active, and if the organism was attached to the substrate.

Water samples were collected at the beginning and end of the experiment to analyze dissolved nutrients. Sub-samples of 100 mL from each beaker were filtered throughout a glass fiber filter (GF/F) and immediately frozen for subsequent chemical analysis.

### **1.2.2 - Analyses**

Cell density was estimated in all daily samples, by counting a minimum of 200 cells of each, alga and cyanobacterium, in a Neubauer chamber under a Leica model DMLS microscope.

Chemical analyses of dissolved nutrients (ammonium, nitrate and soluble phosphorus) were performed according to the methodology described in APHA (2005), by colorimetric procedures in a Perkin Elmer Lambda 25 spectrophotometer, in the Phycology Laboratory of the UFMG.

Mass balance of nutrients was estimated by the percent of increase or decrease of their concentration at the end of the experiments, relative to the concentration measured at the beginning.

Based on the cell counts, feeding rates were estimated on a daily basis, using the formula “ $F=(V/nt)[\ln(C_o-C_t)-\ln(C'o-C't)]$ ”, where  $V$  is the suspension volume,  $C_o$  and  $C_t$  are algal concentration at time 0 and time  $t$ , respectively, in the vessels with mussels,  $C'o$  and  $C't$  are algal concentration in the no mussel vessels and  $n$  the number of mussels.

### **1.2.3 - Statistical analyses**

The final data consisted of daily measurements of *M. aeruginosa* cell density, in each vessel. Since the data were subject to pseudoreplication, mixed linear models were constructed using the package lme4 (v1.1-7) implemented in the R environment (R Core Team, 2014). To correct for the effect of temporal pseudoreplication the model was constructed using the random effect of sampled days.

In the first step, the model evaluated how the density of *M. aeruginosa* (response variable) was affected by the presence of the golden mussel (explanatory variable). The significance of the variables was tested by analysis of variance (One-Way ANOVA) against null models (Crawley, 2007), with the package RT4Bio, implemented in the R environment. The analysis sought to evaluate the influence of the presence of the golden

mussel on the density of the toxic strain of *M. aeruginosa*. To test the model, density values (in cells/mL) were log transformed (ln), and then subjected to a residual model analysis using the Shapiro test, which indicates goodness of fit of the data to normality. The Tukey test (post hoc) was applied to contrast and differentiate the tested groups.

The same model was then used to evaluate the density of *Pseudokirchneriella* sp. (response variable) as a function of the presence of the golden mussel (explanatory variable). The cell densities of *Pseudokirchneriella* sp. were also log transformed (ln) and adjusted to normality, as indicated by the Shapiro test.

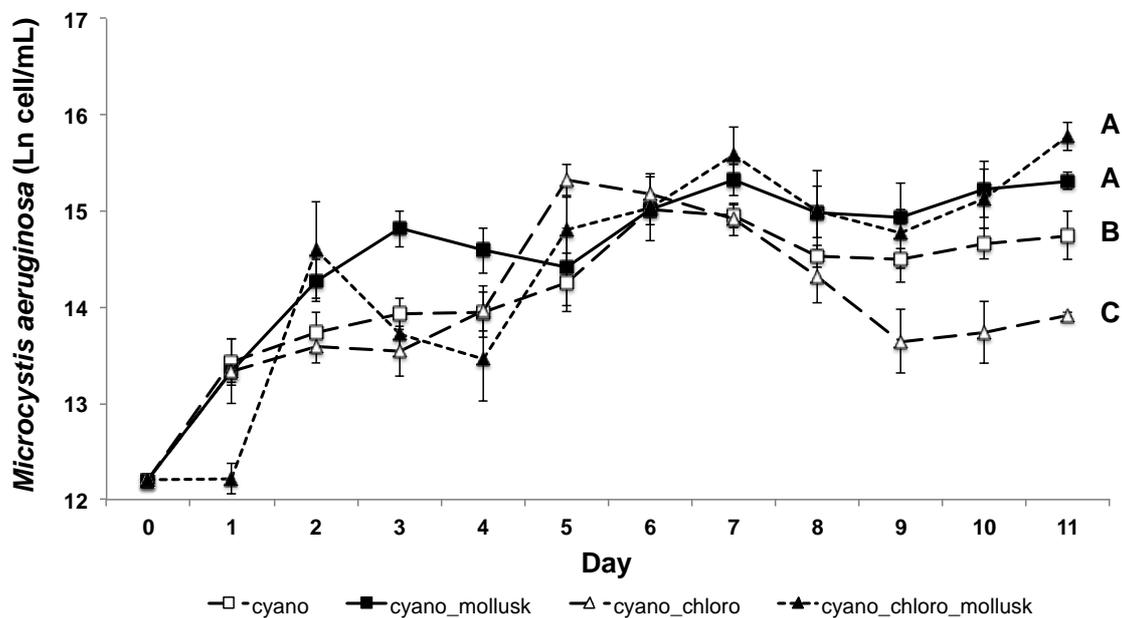
To evaluate population growth of *M. aeruginosa* in the treatments, the “finite population growth rate” ( $\lambda$ ) was calculated using the following equation:  $\lambda = N(t+1) / N(t)$ ; where N corresponds to the number of cells of *M. aeruginosa*; and t to the first day of the experiment and t+1 the last day of the experiment. To compare  $\lambda$  among the different treatments, an analysis of variance (One-Way ANOVA) was performed, followed by the Tukey weighted test (post hoc), always taking into account the assumptions of homogeneity of variance of the data.

The nutrient concentrations in the water (response variable) were also analyzed among the different treatments (explanatory variable). Analysis of variance (One-Way ANOVA) was also used to evaluate these data, and again followed by the Tukey weighted test (post hoc), and taking into account the assumptions of homogeneity of variance of the data.

### 1.3 – RESULTS

#### 1.3.1 - Cell density of *M. aeruginosa*

Figure 1 shows the variation in *M. aeruginosa* density among the different treatments, during the eleven experimental days. The model tested for assessing the cyanobacterial population densities found significant variation among treatments ( $\chi^2 = 17.586$ ; Df= 2;  $p < 0.001$ ). The presence of the bivalve *L. fortunei* and of the alga *Pseudokirchneriella* sp. significantly affected *M. aeruginosa* density ( $p < 0.001$ ). The Tukey test showed that the cyanobacteria-chlorophyte treatment had significantly the lowest density of *M. aeruginosa* among all treatments (Figure 1). The presence of *Pseudokirchneriella* sp. had a negative effect on the density of the cyanobacterium, while the presence of the golden mussel had a significantly positive influence ( $p < 0.001$ ). The cyanobacterium had no apparent effect on the green algae.



**Fig. 1** - *M. aeruginosa* cell density (Ln scale) during the experimental period, when submitted to different treatments. Bars represent standard error. Different letters on the right side of the lines indicate significant differences among treatments (see text for statistics).

### 1.3.2 - Cell density of *Pseudokirchneriella* sp.

The density of *Pseudokirchneriella* sp. is represented in Figure 2 in the presence or absence of the mussel. The results showed that the alga was severely affected by the golden mussel, displaying significantly lower cell density in the presence of the mussel as proved by the tested model applied on the last experimental day ( $\chi^2 = 96.116$ ; Df= 1;  $p < 0.001$ ).

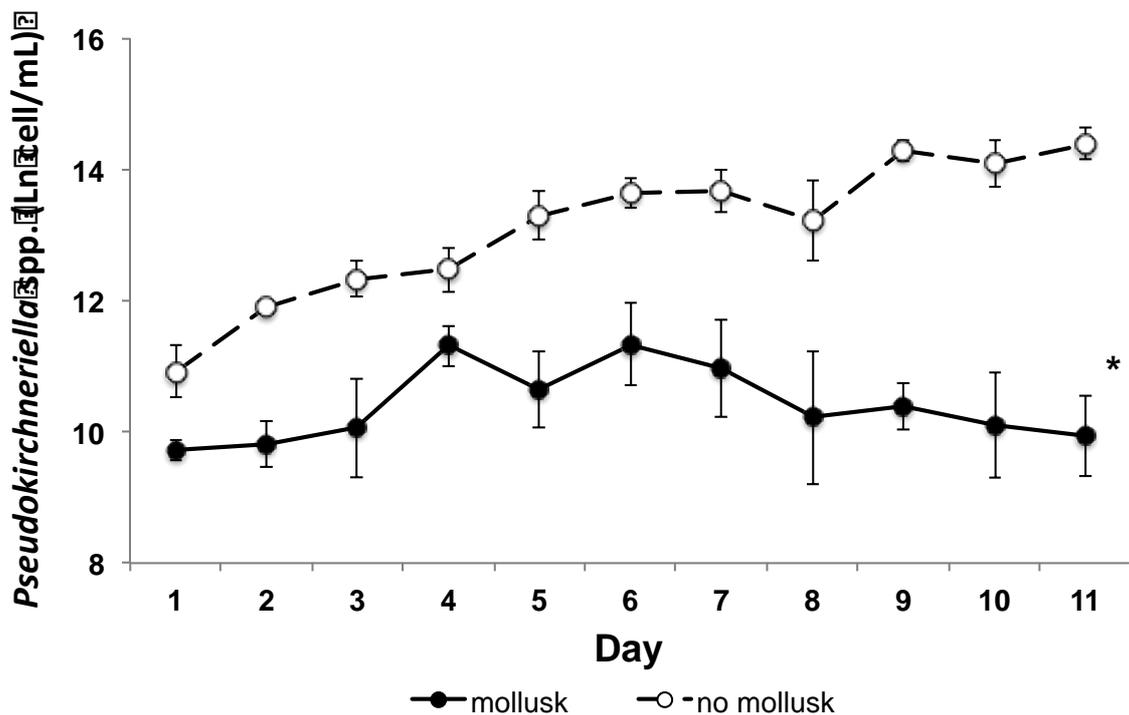


Fig. 2 - *Pseudokirchneriella* sp. cell density (Ln scale) in the presence or absence of the golden mussel (\* significant difference) during the experimental period. Bars represent standard error.

### 1.3.3 - Population growth of *M. aeruginosa* (lambda)

The finite growth rate of *M. aeruginosa*, expressed by lambda, varied significantly among treatments ( $p < 0.001$ ) (Table 1). A negative influence of *Pseudokirchneriella* sp. on the growth of *M. aeruginosa* was observed, particularly in the absence of the golden mussel.

Table 1 - *M. aeruginosa* finite population growth ( $\lambda$  - lambda) when submitted to different treatments. Different superscript letters indicate significant differences among treatments (see text for statistics).

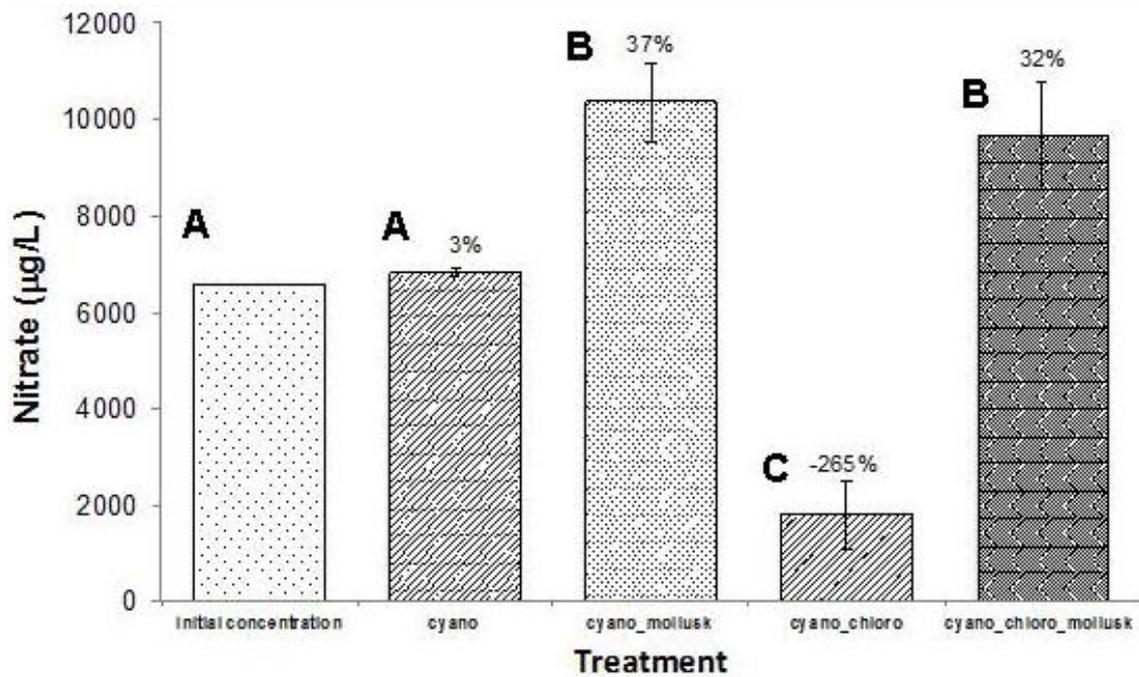
| TREATMENT            | $\lambda$ - average | std error | n |
|----------------------|---------------------|-----------|---|
| cyano                | 1.181 <sup>ac</sup> | 0.016     | 3 |
| cyano_mollusk        | 1.196 <sup>a</sup>  | 0.013     | 5 |
| cyano_chloro         | 1.092 <sup>b</sup>  | 0.007     | 3 |
| cyano_chloro_mollusk | 1.163 <sup>c</sup>  | 0.013     | 5 |

#### 1.3.4 - Mortality

No deaths were registered during the entire experimental period, and animals' survival rate was 100%.

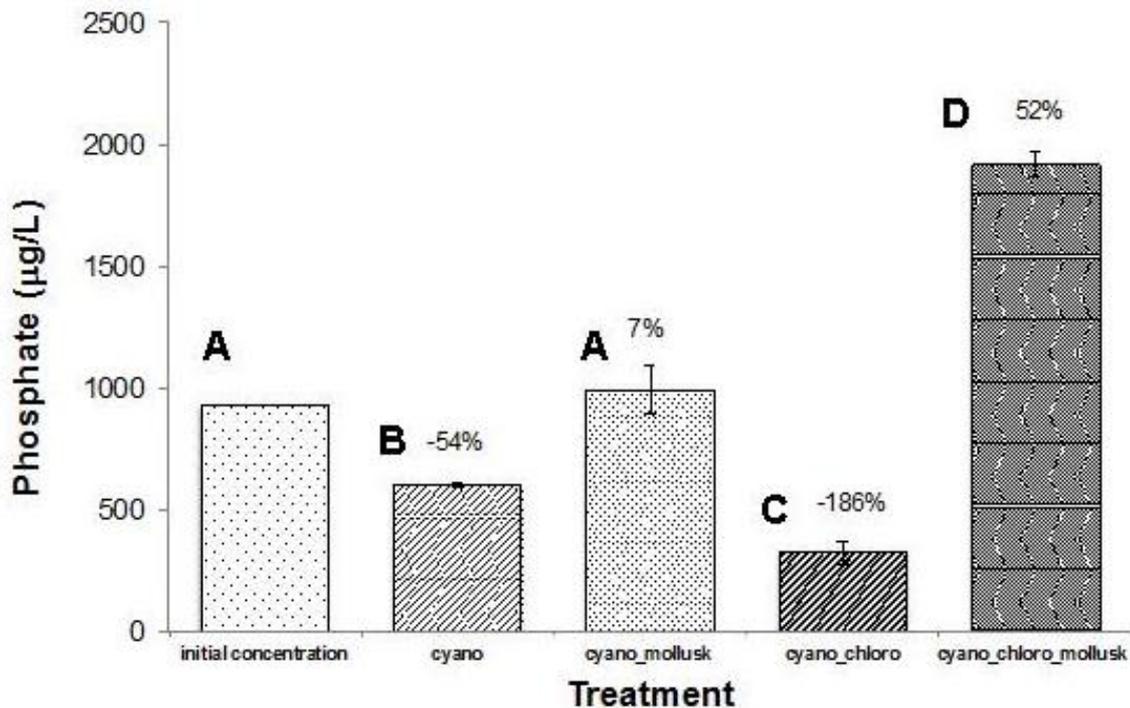
#### 1.3.5 - Nutrient concentration

The nitrate concentration varied significantly among treatments ( $p < 0.001$ ) (Figure 3). The presence of the mollusk caused a significant increase of 37%, in the experiment with *M. aeruginosa* alone, and of 32% in the experiment with the cyanobacterium and the chlorophyte in mixed culture. No significant changes were observed when the cyanobacterium grew alone and a significant decrease occurred when the *M. aeruginosa* and the chlorophyte were growing together in the mixed culture, but in the absence of the mussel.



**Fig. 3** Initial and final nitrate concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) as measured in the culture medium and in the four experimental treatments. Percent at the top corresponds to concentration increase or decrease, relative to initial concentration. Bars represent standard error. Different letters at the top left indicate significant difference in  $\text{N-NO}_3^-$  concentration.

Soluble phosphate showed significant differences in all treatments ( $p < 0.001$ ), with concentrations always being lower in the absence of the golden mussel (Figure 4). The highest phosphorus values were observed in the group that presented cyanobacteria, algae and golden mussels simultaneously, which showed 52% increase relative to initial concentration. Phosphate significantly decreased in treatments with the cyanobacterium (-54%) and with the cyanobacterium and the chlorophyte (-186%) in the absence of the mollusk. Thus, even though only 7% higher concentration was recorded in the cyanobacterium+mollusk experiment relative the initial phosphate this is still a significant increase relative to the no-mollusk treatment.



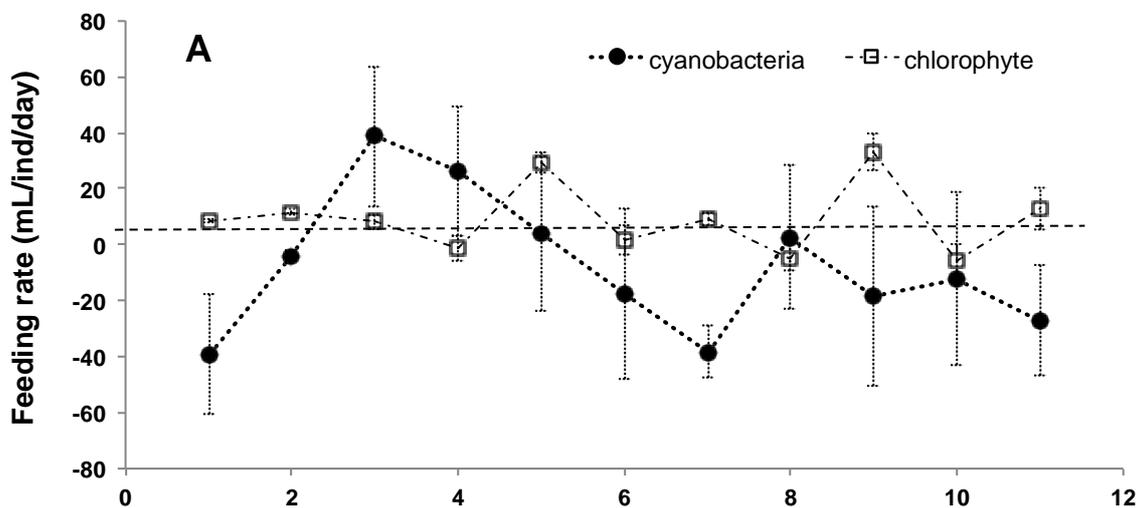
**Fig. 4** - Initial and final phosphate concentration ( $\mu\text{g/L}$ ) as measured in the culture medium and in the four experimental treatments. Percent at the top corresponds to concentration increase or decrease, relative to initial concentration. Bars represent standard error. Different letters at the top left indicate significant difference in  $\text{P-PO}_4^-$  concentration.

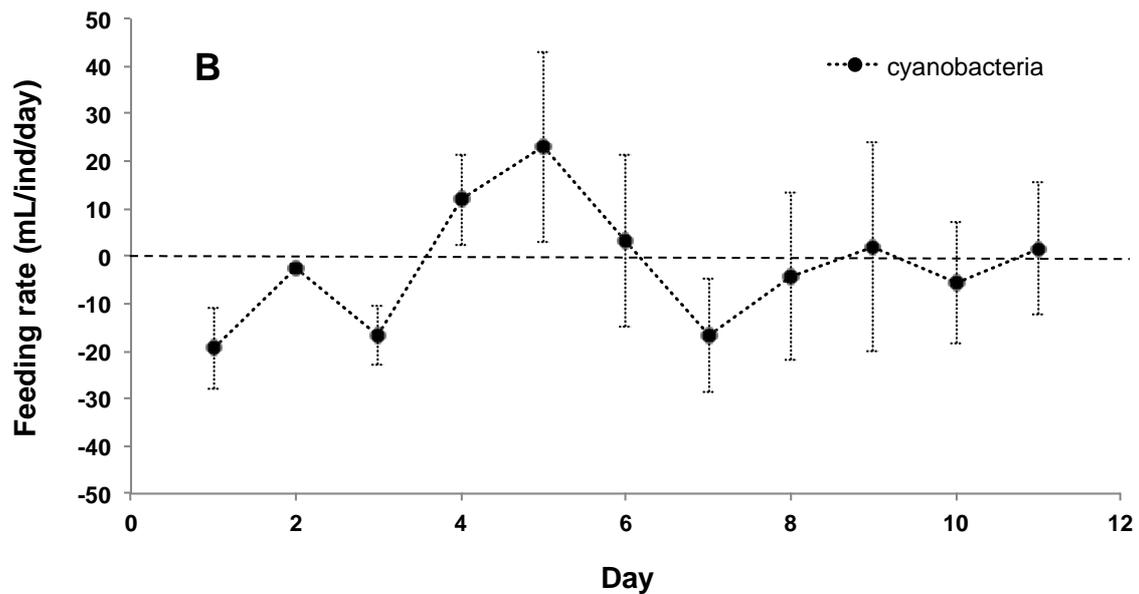
Even though the concentration of ammonium increased in the presence of the mollusk, the difference was not significant among treatments, probably as a result of the high standard deviation observed among replicates for this parameter. For this reason, these data will not be presented or discussed here.

### 1.3.6 - Feeding rates

Feeding rates of *L. fortunei* on *M. aeruginosa* and *Pseudokirchneriella* added together in a mixed culture are represented in figure 5A. While rates were mostly negative for *M. aeruginosa*, they showed only three slightly negative values for the chlorophyte. The difference between feeding on the chlorophyte or the cyanobacterium was highly significant on a daily basis ( $p=0.003$ ), and the chlorophyte was preferred. Most interesting also were the long term feeding patterns displayed by *L. fortunei*: after

a start favoring feeding mainly on *Pseudokirchneriella*, the mussel began preferring *M. aeruginosa*, but finally switched back to the chlorophyte up to the end of the experiment. No significant difference was recorded in this pattern of daily changes, since standard error of the feeding was very large. It is remarkable, however, that the same variations in feeding pattern were observed in the experiment without addition of the chlorophyte (Figure 5B). Again, peaks were observed after three experimental days, but they decreased by the end of the experiment. This pattern was also not significant, because of the large variation and standard error recorded.





**Fig. 5** - *Limnoperna fortunei* feeding on the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* M26, in a mixed culture with the chlorophyte *Pseudokirchneriella* (A), and on the cyanobacterium *M. aeruginosa* M26 growing alone (B). Dashed line represents zero.

#### 1.4 – DISCUSSION

The hypothesis of a positive effect of the presence of the golden mussel on populations of *M. aeruginosa* was confirmed by the results of increased density and population growth of the cyanobacterium in the presence of the bivalve, and this effect was statistically significant also in the joint presence of the alga *Pseudokirchneriella* sp. Our results confirmed earlier observations on *L. fortunei* in experiments performed by Cataldo *et al.* (2012) in mesocosms, and several studies on zebra mussel in North America and Europe (Dionisio Pires *et al.*, 2010; De Stasio *et al.*, 2014; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2013).

The positive effect of the presence of the golden mussel on *M. aeruginosa* can be linked to the increased nutrient concentrations, consequence of the mussel excretory activity. Cataldo *et al.* (2012) also observed an increase in ammonium, nitrate and phosphate concentration as a consequence of the occurrence of *L. fortunei*. The same

effect was seen in the presence of the zebra mussel (reviewed in Vanderploeg *et al.*, 2002, 2017; Karatayev *et al.*, 2002, 2007a, b; Higgins and Vander Zanden, 2010; Kelley *et al.*, 2010; Nalepa, 2010; De Stasio *et al.*, 2014). It is important to remark that our results followed the same patterns found by Vanderploeg *et al.* (2017) in experiments performed in Gull lake (USA). These authors suggested that phosphorus excretion would be affected by seston composition. In the present work, the highest phosphate increase was observed when the chlorophyte was added to the *M. aeruginosa* and mollusk experiment (Figure 4), implying in more excretion in the presence of the alga, as Vanderploeg *et al.* (2017) had previously indicated. Regarding nitrogen, they observed a more constant excretion and, similarly to their results, in our experiments nitrate increase was independent from the type of food offered and similar in the two treatments (Figure 3). Finally, since toxic blooms of cyanobacteria are known to be associated with excess nutrients in eutrophic aquatic environments (Smith, 1983; Sommer, *et al.* 1986; Downing *et al.*, 2001; Giani *et al.*, 2005), the elevated concentrations recorded in this study in the presence of the golden mussel clearly indicates their potential contribution to higher densities of cyanobacteria and bloom development.

The resulting effects of the high filtration rates of *L. fortunei* on the physicochemical characteristics of the water reported in the literature, like decreased turbidity, higher light penetration and increased concentration of nutrients (Cataldo *et al.*, 2012), are indirectly connected to metabolic activities of the golden mussel and may ultimately enhance the proliferation of primary producers, like phytoplanktonic microalgae and cyanobacteria. Therefore, in our experiments higher nutrient concentrations should have promoted *Pseudokirchneriella* sp. growth as observed for *M. aeruginosa*, being both photosynthetic organisms and sharing similar nutrient needs.

The chlorophyte *Pseudokirchneriella*, however, did not increase in the presence of the mussel and, on the contrary, cell densities were significantly lower (Figure 2). Although potentially favored by the increase in nutrient concentrations, the chlorophyte was strongly affected by the bivalve, suggesting a feeding preference for the chlorophyte over the cyanobacterium. The feeding patterns that was observed for *L. fortunei* during the experimental period (Figure 5A) confirm that the mussel feeds on the chlorophyte more often and intensively than on *M. aeruginosa*. The ability for selective feeding was already observed in some experiments with *L. fortunei* (Rojas Molina *et al.*, 2010; Frau *et al.*, 2016), but not in others (Rückert *et al.*, 2004; Cataldo *et al.*, 2012). Contrasting results may depend on the type of offered food, as well as the experimental design. *Dreissenia polymorpha* was also found to be able for selective feeding (Dionisio Pires *et al.*, 2004a, 2004b; Naddafi *et al.*, 2007) and again it was suggest that the mussel feeding behavior was susceptible to the food species composition. Consequently, the reduction of competitors, such as the chlorophyte *Pseudokirchneriella*, by selective grazing is one additional factor favoring *M. aeruginosa* growth in the presence of the mussel. Thus, the hypothesis that the presence of filter feeder mollusks would increase the concentration of nutrients by their metabolic activity was demonstrated; also the hypothesis that the effect of the mollusk on the photosynthesizers would depended on the species (cyanobacteria or chlorophyte algae) was confirmed.

Selective filtration coupled with the increased concentration of nutrients by the presence of quagga and zebra mussels have been identified as a cause of toxic blooms of *M. aeruginosa* in North America and Europe (Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2009; Conroy *et al.*, 2005a, b; Bykova *et al.*, 2006; De Stasio *et al.*, 2014). Nevertheless, the overall effect is still debated since other studies have shown that the

zebra mussel is able to actively consume *Microcystis* and reduce its population densities (Dionisio Pires *et al.*, 2004a, 2005, 2010; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2013, 2017).

As two photosynthetic organisms, *M. aeruginosa* and *Pseudokirchneriella* sp. have similar needs for nutrients and light when growing in the same environment and therefore act as potential interspecific competitors. Several studies have shown the existence of competition among phytoplanktonic organisms and emphasized its importance as growth regulator (Lichtman *et al.*, 2004; Yoshiyama *et al.*, 2009; Wacker *et al.*, 2015). The lower concentration of phosphorus and nitrate observed in our experiments in the bivalve absence shows the steady consumption by the photosynthesizers, whereas demonstrating that the mussels compensate to their demand. The percent of decrease in nutrient concentration was always more severe when both, cyanobacterium and alga, were growing together in a mixed culture (Figure 3 and 4) as an evidence of potential resource competition between them. The results of this work indicated how competition by *Pseudokirchneriella* sp. was able to reduce cell densities and population growth of *M. aeruginosa*. Figure 1 shows that the lowest densities of *M. aeruginosa* occurred when it grew along with the chlorophyte, likewise growth rate ( $\lambda$ ) that was lower in the same treatment (Table 1). Nevertheless, when the cyanobacterium and the chlorophyte were growing in the presence of the golden mussel, cell densities and growth rates of *M. aeruginosa* increased. Thus, the presence of the bivalve was able to reverse the negative competitive effect of *Pseudokirchneriella* on the cyanobacterium. This process would occur indirectly, as a function of the reduced density of the chlorophyte submitted to preferential grazing pressure by the mollusk (Figure 2 and 5A). In this sense, the higher filtration rate on the chlorophytes alleviated the competition between alga and cyanobacteria for nutrients, favoring cyanobacteria. Thus, the third working hypothesis held true.

The majority of studies in the literature that have evaluated the relationship between *L. fortunei* and toxic cyanobacteria have focused on filtration rates and not on the mussel effect on the population density of the cyanobacteria after a period of permanent contact (Ruckert *et al.*, 2004; Rojas Molina *et al.*, 2010; Boltovskoy *et al.*, 2009; Fachini *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012a, b; Frau *et al.*, 2016). The temporal scale of the afore mentioned experiments was always short, in general about 1 to few hours, since evaluating filtration rates generally requires short term experiments and these studies did not require an evaluation of nutrient changes during experimental period. The only work with *L. fortunei* on a longer time scale was that of Cataldo *et al.*, (2012), whose mesocosm experiments lasted 35 days. These authors observed a significant increase in *M. aeruginosa* density in tanks with golden mussels, and especially in tanks with high mussel densities.

Long term studies are also important to evaluate the feeding patterns of the mussels as well as their effects on the growth patterns of the preys. In the work of Cataldo *et al.* (2012), for example, the authors observed that after the third experimental day, the cyanobacteria cell density and the concentration of chlorophyll a, which had fallen shortly after the start of the experiment, began to increase. In the work of Gazulha *et al.* (2012a), the filtration rate was higher in their one hour long experiment than in the experiment that lasted for five days. Therefore, it is clear that if our aim is to evaluate and estimate the mollusk effects on population dynamics of prey organisms, a longer time scale is needed.

Much of the discussions and disagreements in the literature about the effects of the presence of the golden mussel on the density of toxic cyanobacteria may ultimately be caused by differences in the time scale of the experiments and in the composition of

the tested communities (food species) since, as discussed above, relationships between competitors, for example, have proven to be very important in the regulation of this dynamic. For the zebra mussel, discussion of its effects on toxic cyanobacteria persists even after long-term experiments have already been performed. The works of Bastviken *et al.* (1998), Smith *et al.* (1998), Baker and Levinton (2003), and Dionisio Pires *et al.* (2005) demonstrated active consumption of toxic *Microcystis* by zebra mussels. Their works combine short, medium, and long-term experiments. On the other hand, the works of Makarewicz *et al.* (1999), Vanderploeg *et al.* (2001, 2009), Conroy *et al.* (2005a, b), and Bykova *et al.* (2006) showed an increase in the population of toxic *Microcystis* in the presence of zebra mussels. The complexity of these interactions were also found by Sarnelle *et al.* (2005; 2012), who showed that the positive effect of zebra mussels on populations of toxic cyanobacteria occurred only at low to moderate local concentrations of phosphorus. These apparently complex and conflicting results, consumption of *Microcystis* versus the increase of its population, may however be complementary, since the cyanobacterium may be not fully digested or also benefit from increasing nutrient levels and selective filtration over other photosynthetic organisms, as discussed above. To this discussion, it is also important to add that the feeding on *Microcystis* is probably strain dependent, as observed by Vanderploeg *et al.* (2013), and toxicity seem to play no role in this selection.

Despite the apparent positive outcome of *M. aeruginosa* observed in our experiments with *L. fortunei*, it is not easy to predict what could happen in natural environments. Results would depend on the composition of the local phytoplankton and their competitive relationships. Another important issue to be considered, before making predictions about the impacts of the golden mussel on cyanobacteria population dynamics in natural environments, is that some studies have shown that blooms of toxic

cyanobacteria can suppress bivalve reproduction because of the negative impact of their toxins on their larvae. This effect was suggested in field studies (Boltovskoy *et al.*, 2009), and later confirmed by the analysis of nine years of data from the Salto Grande reservoir (Argentina / Uruguay) (Boltovskoy *et al.*, 2013). Based on these observations, Boltovskoy *et al.* (2013) suggested that 10-20  $\mu\text{g L}^{-1}$  of microcystin LR would be able to kill up to 100% of the larvae in 48 h. The fact that the number of larvae increased when bloom levels declined indicated that adult mussels, however, can survive the adverse periods of blooms (Boltovskoy *et al.*, 2009, 2013), but the dynamics of long-term coexistence of these organisms could be complicated by the fact that the larvae are affected by the cyanotoxins.

The great invasive potential of the golden mussel, with capacity to occupy several aquatic ecosystems around the globe (Campos *et al.*, 2014), and its continuous growing expansion, with new records in major river basins of South America, such as the recent invasion of the Rio São Francisco Basin in Brazil (Barbosa *et al.*, 2016), show the need of more studies for the development of tools and mechanisms to mitigate the potential impacts of these organisms. Cyanobacterial blooms are capable of producing toxins that are, according to Chorus and Bartram (1999), a major causes of quality degradation of freshwater environments throughout the world and their frequency may increase together with the occurrence of the bivalves.

## 1.5 – CONCLUSIONS

Our results suggest that the presence of the golden mussel contributed to improved competitive success of *M. aeruginosa*, by both, increasing the amount of nutrients in the water and reducing the density of competitors through selective filtration, thus enhancing its performance and allowing superior growth. The data of the present work show that the impacts of a mussel on the biota can be quite complex and that there is still much to be understood and investigated, due to the influence of various environmental factors. What was found so far in this study is that the golden mussel is able to have a significant effect on the density of toxic cyanobacteria, and on a time scale of a few days, populations of *M. aeruginosa* are likely to increase their densities in the presence of this invader. A sum of biotic and abiotic factors, such as food preference, competitive exclusion, changes in physical and chemical properties of the water, and predation escape strategies, can help explain the increase in cyanobacteria reported in the literature. It is important to note, however, that regardless of the causes, the increase in densities of *M. aeruginosa* when coexisting with the golden mussel is quite disturbing and indicates the need for management strategies to mitigate economic, environmental and social impacts.

### *Acknowledgments*

This research was supported by CEMIG (Companhia Energética de Minas Gerais) and ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica), through a PhD 343 scholarship to F.A.S. and by a FAPEMIG (Fundação de Amparo a Pesquisa de Minas Gerais) grant to A.G.. We thank N. Carvalho, N. R. Oliveira and V. F. L. Viana for assistance in the laboratory, and A.V. Cardoso, director of CBEIH (Centro de Bioengenharia de Espécies Invasoras de Hidrelétricas) for support and facilities during the development of this work.

## 1.6 – REFERENCES

- APHA. American Public Health Association, 2005. “Standard Methods for Examination of Water and Wastewater”, Washington, DC.
- Baker, S., Levinton, J., 2003. Selective feeding by three native North American freshwater mussels implies food competition with zebra mussels. *Hydrobiologia* 505, 97–105. doi:10.1023/B:HYDR.00000007298.52250.99.
- Barbosa, N.P.U., Silva, F.A., Oliveira, M.D., Neto, M.A.S., Carvalho, M.D., and Cardoso, A.V., 2016. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae): first record in the São Francisco river basin, Brazil. *Check List*. 12, 1-6.
- Bastviken, D.T.E., Caraco, N.F. and Cole, J.J., 1998. Experimental measurements of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) impacts on phytoplankton community composition. *Freshwat Biology*. 39, 375-386.
- Boltovskoy, D., Correa, N., 2015. Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (golden mussel) in South America. *Hydrobiologia* 746, 81–95. doi:10.1007/s10750-014-1882-9.
- Boltovskoy, D., Correa, N., Bordet, F., Leites, V., Cataldo, D., 2013. Toxic *Microcystis* (cyanobacteria) inhibit recruitment of the bloom-enhancing invasive bivalve *Limnoperna fortunei*. *Freshw. Biol.* 58, 1968–1981. doi:10.1111/fwb.12184
- Boltovskoy, D., Sylvester, F., Otaegui, A., Leites, V., Cataldo, D.H., 2009. Environmental modulation of reproductive activity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei*: Implications for antifouling strategies. *Austral Ecol.* 34, 719–730. doi:10.1111/j.1442-9993.2009.01974.x
- Bykova, O., Laursen, A., Bostan, V., Bautista, J., and McCarthy, L., 2006. Do zebra

- mussels (*Dreissena polymorpha*) alter lake water chemistry in a way that favors *Microcystis* growth? Science of the Total Environment. 371, 362-372.
- Campos, M.C.S., Andrade, A.F.A., Kunzmann, B., Galvão, D.D., Silva, F.A., Cardoso, A.V., Carvalho, M.D., and Mota, H.R., 2014. Modelling of the potential distribution of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on a global scale. Aquatic Invasions. 9, 253-265.
- Carey, C. C., Ibelings, B.W., Hoffmann, E. P., Hamilton, D. P., Brookes, J. D., 2012. Eco-physiological adaptations that favour freshwater cyanobacteria in a changing climate. Water Research 46 (5): 1394 -1407.
- Cataldo, D., Vinocur, A., O'Farrell, I., Paolucci, E., Leites, V., Boltovskoy, D., 2012. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. Hydrobiologia 680, 25–38. doi:10.1007/s10750-011-0897-8.
- Chorus, I., and Bartram, J., 1999. Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management. E and FN Spon, London.
- Chu, S.P., 1942. The influence of the mineral composition of the medium on the growth of planktonic algae. 1. Methods and culture media. Journal of Ecology. 31, 109-148.
- Cohen, J.E., 1978. Food webs and niche space. Princeton University Press, Princeton.
- Cohen, J.E., Briand, F., and Newman, C.M., 1990. Community food webs: data and theory. Springer Verlag, New York.
- Conroy, J.D., Kane, D.D., Dolan, D.M., Edwards, W.J., Charlton, M.N., and Culver, D.A., 2005a. Temporal trends in Lake Erie plankton biomass: roles of external phosphorus loading and dreissenid mussels. Journal of Great Lakes Research. 31(Suppl. 2), 89-110.

- Conroy, J.D., Edwards, W.J., Pontius, R.A., Kane, D.D., Zhang, H., Shea, J.F., Richey, J.N., and Culver, D.A., 2005b. Soluble nitrogen and phosphorus excretion of exotic freshwater mussels (*Dreissena* spp.): potential impacts for nutrient remineralization in western Lake Erie. *Freshwater Biology*. 50, 1146-1162.
- Crawley, M.J., 2007. *The R book*. John Wiley and Sons, West Sussex
- De Stasio, B., Schrimpf, M., Cornwell, B., 2014. Phytoplankton Communities in Green Bay, Lake Michigan after Invasion by Dreissenid Mussels: Increased Dominance by Cyanobacteria. *Diversity* 6, 681–704. doi:10.3390/d6040681
- Dextrase, A.J., and Madrak, N.E., 2006. Impacts of alien invasive species on freshwater fauna at risk in Canada. *Biological Invasions*. 8, 13-24.
- Dionisio Pires, L. M., Jonker, R. R., Van Donk, E. *et al.*, 2004a. Selective grazing by adults and larvae of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): application of flow cytometry to natural seston. *Freshwater Biology*. 49, 116–126.
- Dionisio Pires, L. M., Karlsson, K. M., Meriluoto, J. A. O. *et al.*, 2004b. Assimilation and depuration of microcystin-LR by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology*. 69, 385–396.
- Dionisio Pires, L.M., Bontes, B.M., Van Donk, E., Ibelings, B.W., 2005. Grazing on colonial and filamentous, toxic and non-toxic cyanobacteria by the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *J. Plankton Res.* 27, 331–339. doi:10.1093/plankt/fbi008
- Dionisio Pires, L.M., Ibelings, B.W., and Van Donk, E., 2010. Zebra mussels as a potential tool in the restoration of eutrophic shallow lakes dominated by toxic cyanobacteria. *The Zebra Mussel in Europe*. Backhuys Publishers. Leiden, 331-342.
- Downing, J.A., Watson, S.B., and McCauley, E., 2001. Predicting cyanobacteria dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58, 1905-

1908.

Dunker, G., 1857. Mytilacea nova collections Cumingianæ. Proceedings of the Zoological Society of London. 24, 358-366.

Fachini, A., Gazulha, V., and Pedroso, C.S., 2012. Os impactos do mexilhão-dourado sobre a comunidade planctônica CAPÍTULO 23 In: Mansur, M.C., C.P. Santos, D. Pereira, I. C. Paz, M. L.Zurita, M. T. Rodriguez, M. V. Nehrke and P. E. Bergonci, 2012. Moluscos límnicos invasores no Brasil: biologia, prevenção e controle. Redes Editora, Porto Alegre

Frau, D., Molina, F.R., Mayora, G., 2016. Feeding selectivity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on a natural phytoplankton assemblage: what really matters? *Limnology* 17, 47–57. doi:10.1007/s10201-015-0459-2

Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012a. Feeding behavior of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) under exposure to toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de biologia.* 72(1), 41-9.

Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012b. Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de Biologia.* 72(1), 33-9.

Giani, A., Bird, D., Prairie, Y., and Lawrence, J., 2005. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 62, 1-10.

Hecky, R.E., Smith, R.E.H., Barton, D.R., Guildford, S.J., Taylor, W.D., Charlton, M.N., and Howell, E.T., 2004. The near shore phosphorus shunt: a consequence of ecosystem engineering by dreissenids in the Laurentian Great Lakes. *Canadian*

- Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 61, 1285-1293.
- Higgins, S.N., and Vander Zanden, M.J., 2010. What a difference a species makes: a meta-analysis of dreissenid mussel impacts on freshwater ecosystems. *Ecological Monographs*. 80, 179-196.
- Juhel, G., Davenport, J., O'Halloran, J., Culloty, S., Ramsay, R., James, K., Furey, A., and Allis, O., 2006. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. *Journal Experimental Biology*. 209, 810-816.
- Karatayev, A.Y., Burlakova, L.E., and Padilla, D.K., 2002. Impacts of zebra mussels on aquatic communities and their role as ecosystem engineers. In: Leppäkoski, E., S. Gollasch and S. Olenin, editors. *Invasive aquatic species of Europe: distribution, impacts and management*. *Monographiae biologicae series*. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers 433–446
- Karatayev, A.Y., Boltovskoy, D., Padilla, D.K., and Burlakova, L.E., 2007a. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. *Journal of Shellfish Research*. 26(1), 205-213.
- Karatayev, A.Y., Padilla, D.K., Minchin, D., Boltovskoy, D., and Burlakova, L.E., 2007b. Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. *Biological Invasions*. 9, 161–180.
- Kelley, D.W., Herborg, L.M. and MacIsaac, H.J., 2010. Ecosystem changes associated with *Dreissena* invasions: recent developments and emerging issues. In: van der Velde, G., S. Rajagopal and A. Bij de Vaate (eds), *The zebra mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden: 199–209.
- Lavrentyev, P.J., Gardner, W.S., Cavaletto, J.F., and Beaver, J.R., 1995. Effects of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) on protozoa and phytoplankton from

- Saginaw Bay, Lake Huron. *Journal of Great Lakes Research*. 21, 545-557.
- Litchman, E., Klausmeier C.A., and Bossard, P., 2004. Phytoplankton nutrient competition under dynamic light regimes. *Limnology and Oceanography* 49:1457–1462.
- Lindeman, R.L., 1942. The trophic-dynamic aspect of ecology. *Ecology* 23:399-417
- Makarewicz, J.C., Lewis, T.W., and Bertram, P., 1999. Phytoplankton composition and biomass in the offshore waters of Lake Erie: pre and post *Dreissena* introduction (1983-1993). *Journal of Great Lakes Research*. 25, 135-148.
- Mitsch, W.J., Nahlik, A., Wolski, P., Bernal, B., Zhang, L., and Ramberg, L., 2010. Tropical wetlands: seasonal hydrologic pulsing, carbon sequestration, and methane emissions. *Wetland Ecology and Management*. 18, 573-586.
- Morton, B., 1982. The reproductive cycle in *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) fouling Hong Kong's raw water supply system. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology* 13, 312-325.
- Naddafi R., Pettersson K., Eklov P., 2007. The effect of seasonal variation in selective feeding by zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on phytoplankton community composition. *Freshwater Biology*. 52, 823–842.
- Nalepa, T.F., and Schloesser, D.W., 1993. *Zebra mussels biology, impacts, and control*. Lewis Publishers, Boca Raton .
- Nalepa, T.F., 2010. An overview of the spread, distribution, and ecological impacts of the quagga mussel, *Dreissena rostriformis bugensis*, with possible implications to the Colorado River system. *Proceedings, Colorado river basin science and resource management symposium. coming together, coordination of science and restoration activities for the Colorado river ecosystem, Scottsdale, AZ November 18–20, 2008*. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report: 2010–5135

- Nalepa, T.F., and Schloesser, D.W., 2014. Quagga and zebra mussels: biology, impacts, and control, 2nd edn. CRC Press, Boca Raton
- Newcombe, G., I. Chorus, I. Falconer & T. F. Lin, 2012. Cyanobacteria: impacts of climate change on occurrence, toxicity and water quality management. *Water Research* 46(5): 1347–1548.
- Nicholls, K.H., Heintsch, L., and Carney, E., 2002. Univariate step-trend and multivariate assessments of the apparent effects of P loading reductions and zebra mussels on the phytoplankton of the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*. 28, 15-31.
- O’Neill, C.R. Jr., 2008. The silent invasion: finding solutions to minimize the impacts of invasive quagga mussels on water rates, water infrastructure and the environment. Hearing of the U.S. House of Representatives Committee on Natural Resources—Subcommittee on Water and Power, Washington
- Paine, R.T., 1966. Food web complexity and species diversity. *American Naturalist*. 100, 65-75.
- Pereira, D. A., Giani, A., 2014. Cell density dependent oligopeptide production in cyanobacterial strains. *FEMS Microbiology Ecology*. 88, 175-183.
- Pimentel, J. S. M., Giani, A., 2014. Microcystin production and regulation under nutrient stress conditions in toxic *Microcystis* strains. *Applied and Environmental Microbiology*. 80, 5836-5843.
- R Core Team, 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

- Riisgård, H.U., 2001. On measurement of filtration rates in bivalves—the stony road to reliable data: review and interpretation. *Marine Ecology Progress Series* 211, 275–291.
- Rojas Molina, F., Paggi, J.C., Devercelli, M., 2010. Zooplanktophagy in the natural diet and selectivity of the invasive mollusk *Limnoperna fortunei*. *Biol. Invasions* 12, 1647–1659. doi:10.1007/s10530-009-9578-1
- Rückert, G.V., Campos, M.C.S., and Rolla, M.E., 2004. Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de cyanobacteria. *Acta Scientiarum Biological Sciences*. 26, 421-429.
- Sarnelle, O., Wilson, A.E., Hamilton, S.K., Knoll, L.B., and Raikow, D.E., 2005. Complex interactions between the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, and the harmful phytoplankter, *Microcystis aeruginosa*. *Limnology and Oceanography*. 50, 896-904.
- Sarnelle, O., Whitea, J.D., Horst, G.P., and Hamilton, S.K., 2012. Phosphorus addition reverses the positive effect of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*. 46(11), 3471-8.
- Sivonen, K., and Jones, G., 1999. Cyanobacterial toxins. In: Chorus I, Bartram J (Eds.) *Toxic cyanobacteria in water: a guide to their public health consequences, monitoring and management*. E and FN Spon, London.
- Smith, T.E., Stevenson, R.J., Caraco, N.F., Cole, J.J., 1998. Changes in phytoplankton community structure during the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion of the Hudson River (New York) 20, 1567-1579.
- Smith, V.H., 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*. 221, 669-671.

- Smith, V. H., Joye, S. B., Howarth, R. W., 2006. Eutrophication of freshwater and marine ecosystems. *Limnology and Oceanography* 51(1): 351–355.
- Sommer, U., Gliwicz, Z., Lampert, W., and Duncan, A., 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*. 106, 433-471.
- Spaccesi, F.G., and Capitulo, R.A., 2012. Benthic communities on hard substrates covered by *Limnoperna fortunei* Dunker (Bivalvia, Mytilidae) at an estuarine beach (Río de la Plata, Argentina). *Journal of Limnology*. 71, 144-153.
- Strayer, D.L., Caraco, N.F., Cole, J.J., Findlay, S., and Pace, M.L., 1999. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves - a case study of zebra mussels in the Hudson River. *BioScience*. 49, 19-28.
- Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2006. Tasas de clareado: ritmos e impacto. In G. Darrigran and C. Damborenea, (Eds.). *Bioinvasión del mejillón dorado en el continente americano*. Edulp., La Plata
- Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2007. The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* enhances benthic invertebrate densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia*. 589, 15-27.
- Vanderploeg, H. A., Liebig, J.R., Carmichael, W.W., Agy, M. a., Johengen, T.H., Fahnenstiel, G.L., Nalepa, T.F., 2001. Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 1208–1221. doi:10.1139/cjfas-58-6-1208.
- Vanderploeg, H.A., Nalepa, T.F., Jude, D.J., Mills, E.L., Holeck, K.T., Liebig, J.R., Grigorovich, I.A., and Ojaveer, H. (2002). Dispersal and emerging ecological impacts of Ponto Caspian species in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal*

- Vanderploeg, H. A., Johengen, T.H., and Liebig, J.R., 2009. Feedback between zebra mussel selective feeding and algal composition affects mussel condition: did the regime changer pay a price for its success? *Freshwater Biology*. 54, 47-63.
- Vanderploeg H.A., Wilson A.E., Johengen T.H., Dyble Bres- sie J., Sarnelle O., Liebig J.R. *et al.*, 2013. Role of selective grazing by dreissenid mussels in promoting toxic *Microcystis* blooms and other changes in phytoplankton com- position in the Great Lakes. In: *Quagga and Zebra Mussels: Biology, Impacts, and Control*, Second Edition, 2nd edn (Eds T.F. Nalepa & D.W. Schloesser), pp. 509–523 (Chapter 32). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Vanderploeg H.A., Sarnele O., Liebig J. R., Morehead N. R., Robinson S. D., Johengen T. H. and Horst G. P., 2017. Seston quality drives feeding, stoichiometry and excretion of zebra mussels. *Freshwater Biology*. 62, 664-680.
- Wacker, A., Marzetz, V., and Spijkerman, E. 2015. Interspecific competition in phytoplankton drives the availability of essential mineral and biochemical nutrients *Ecology* 96: 2467–2477.
- Yoshiyama, K., Mellard, J. P. , Litchman, E. and Klausmeier, C. A., 2009. Phytoplankton competition for nutrients and light in a stratified water column. *American Naturalist* 174:190–203.

## CAPÍTULO 2

### **Alterações nas comunidades fito e zooplanctônicas causadas pela presença do bivalve invasor *Limnoperna fortunei*: EXPERIMENTOS EM MESOCOSMOS**

---

#### ***Resumo***

As alterações nos ambientes causadas pelo estabelecimento de espécies invasoras têm sido amplamente investigadas em várias partes do mundo. Para os ambientes aquáticos, em especial, diversos trabalhos têm apontado alterações relevantes nos ambientes invadidos por molusco tais como os mexilhões zebra, quagga e dourado. As altas densidades populacionais, atingidas por estas espécies nos locais por elas invadidos, associadas à alta demanda alimentar destes organismos, têm contribuído diretamente no aumento da penetração de luz, que indiretamente afetam as comunidades aquáticas, favorecendo alguns grupos e prejudicando outros. Este trabalho buscou avaliar efeitos da presença do bivalve invasor, *Limnoperna fortunei*, na comunidade fito e zooplanctônica do reservatório de Volta Grande (Minas Gerais, Brasil), através de experimentos conduzidos em mesocosmos, instalados na Estação de Piscicultura da usina hidroelétrica. Os experimentos tiveram a duração de 12 dias, e tiveram o objetivo de comparar alterações em parâmetros físicos, químicos e biológicos de um grupo teste (com mexilhão-dourado) com um controle (sem mexilhão-dourado). Os resultados evidenciaram que a presença do mexilhão promoveu aumento na concentração de nutrientes na água (amônio e fósforo), e alterou a composição da comunidade fitoplanctônica, favorecendo crescimento de Chlorophyceae e Euglenophyceae. Os mesocosmos com mexilhão-dourado apresentaram maior biovolume total de fitoplâncton e maiores concentrações de clorofila-a. A comunidade zooplanctônica não variou significativamente, no entanto a densidade de Rotifera aumentou na presença do

bivalve, enquanto densidade de Crustacea foi menor. A atividade metabólica do mexilhão-dourado (filtração e excreção) causou alterações diretas na estrutura da comunidade fitoplanctônica, através da filtração das células do plâncton, e indiretas, já que sua alta atividade metabólica promove aumento das concentrações de nutrientes nas águas, que conseqüentemente favorecem o crescimento de alguns grupos do fitoplâncton. Pode-se concluir, até o momento, que a invasão do mexilhão-dourado causa alterações na disponibilidade de nutrientes da água e na comunidade planctônica, em especial no fitoplâncton. Estes impactos provavelmente irão variar em função da escala temporal e da composição da comunidade presente em cada ambiente invadido.

Palavras-chave: Invasões biológicas, teia trófica, moluscos

## 2.1 - INTRODUÇÃO

O primeiro registro do mexilhão-dourado na América do Sul foi reportado em 1991 na bacia do rio de La Plata, na Argentina (Pastorino *et al.*, 1993). A principal hipótese é a de que estes organismos tenham chegado através de águas de lastro de navios vindos da Ásia (Darrigran & Pastorino, 2004). A partir daí a dispersão ocorreu rapidamente pela bacia do rio Paraná e Paraguai, com uma velocidade reportada de aproximadamente 250 km por ano (Boltovskoy & Correa 2015). No Brasil, a primeira ocorrência da espécie foi reportada em 1998 (Mansur *et al.*, 1999; Mansur *et al.*, 2003), com registros da espécie nos estados do Rio Grande do Sul e Mato Grosso do Sul. Atualmente a espécie está bem estabelecida no alto rio Paraná, nos rios Paraguai, Paranaíba e Grande, além de diversos tributários que compõem essa bacia (Boltovskoy & Correa 2015), e mais recentemente foi registrado na bacia do rio São Francisco (Barbosa *et al.*, 2016).

A região do alto rio Paraná, onde a invasão pelo mexilhão-dourado foi mais eminente no Brasil, possui grande disponibilidade hídrica e importância para a produção de energia, uma vez que abriga diversas hidrelétricas de grande e médio porte. Além disso, nesta mesma região, encontram-se áreas com rica biodiversidade, inclusive algumas delas são apontadas como áreas prioritárias para conservação da biodiversidade de peixes.

As alterações ambientais causadas pelo estabelecimento de espécies invasoras têm sido amplamente investigadas em várias partes do mundo (Dextrase & Madrak, 2006; Boltovskoy *et al.*, 2009). Para os ambientes aquáticos, em especial, diversos trabalhos têm apontado alterações relevantes nos ambientes invadidos por bivalves tais como os mexilhões zebra, quagga, dourado e também *Corbicula fluminea* (Karatayev *et al.*, 2002, 2007a, b; Vanderploeg *et al.*, 2002; Hecky *et al.*, 2004; O'Neill, 2008). As

altas densidades destas populações invasoras associadas à alta demanda alimentar, têm contribuído diretamente no aumento da penetração de luz, que indiretamente afetam as comunidades aquáticas, favorecendo alguns grupos e prejudicando outros (Ruckert *et al.*, 2004; Rojas Molina *et al.*, 2010; Boltovskoy *et al.*, 2009; Fachini *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012 a, b; Cataldo *et al.*, 2012; Frau *et al.*, 2016). Além disso, uma possível preferência alimentar pode contribuir para o incremento da alteração nas comunidades, causadas pela alta taxa de filtração destes organismos (Cataldo *et al.*, 2012; Frau *et al.*, 2016). Alguns trabalhos evidenciaram ainda a alteração na concentração de nutrientes na água, em consequência da contínua atividade metabólica destes bivalves (Rojas Molina *et al.*, 2010; Boltovskoy *et al.*, 2009, 2013; Cataldo *et al.*, 2012).

Este trabalho buscou avaliar efeitos da presença do bivalve invasor, *Limnoperna fortunei*, na comunidade fito e zooplanctônica presentes no reservatório de Volta Grande (Minas Gerais, Brasil).

Volta Grande é um dos reservatórios que compõem uma cadeia de hidrelétricas, construídas no rio Grande e, em sequência, no rio Paraná. Esta é uma região de alta relevância ambiental e econômica, que teve o primeiro registro de *L. fortunei* em 2012. Além de poder causar impactos econômicos nas hidrelétricas, a presença do mexilhão poderá alterar toda a cadeia trófica. O objetivo desta pesquisa foi de medir “in situ” estes efeitos potenciais.

## **2.2 - MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.2.1 - Desenho experimental**

Os experimentos foram conduzidos em mesocosmos, instalados em tanques na Estação de Piscicultura do reservatório da Usina Hidrelétrica (UHE) de Volta Grande, Minas Gerais, Brasil. Neste ambiente já foi detectada ocorrência de espécies tóxicas de cianobactérias (Lopes, 2013; Laux, 2016). Os tanques da piscicultura recebem constantemente águas vindas do reservatório da UHE. Em dois destes tanques, foram instalados seis mesocosmos estruturados em sacos plásticos de 60 litros, sustentados por tubos de PVC, com uma borda superior de 30 cm acima da superfície da água, para evitar que não houvesse entrada de água externa ao mesocosmo ao longo do tratamento experimental. Os sacos plásticos foram preenchidos com 50 litros de água dos tanques. Além disso, foram realizados arrastos horizontais no reservatório, com rede de plâncton de 20 micra. Estas amostras concentradas foram colocadas num mesmo recipiente, e em seguida porções idênticas foram colocadas em cada um dos mesocosmos, com o objetivo de se reproduzir a comunidade de fitoplâncton e zooplâncton que ocorre naturalmente no reservatório de Volta Grande.

Para o tratamento experimental, foram utilizados seis mesocosmos: em três deles (grupo teste) foram acrescentados 50 mexilhões dourado (comprimento valvar de  $19 \pm 3$  mm), com uma densidade final de aproximadamente 1 ind/litro; outros três permaneceram sem mexilhões (grupo controle). Além disso, com o mesmo procedimento, foi montado um mesocosmo que foi utilizado no início do experimento, para coleta e medição de todos os parâmetros a serem avaliados (comunidade planctônica e parâmetros físico-químicos da água), medidas que foram utilizadas para caracterizar o momento inicial (=tempo zero).

Amostras de água para análises físicas, químicas e biológicas foram coletadas nos intervalos de 0, 3, 6, 9 e 12 dias de experimento. Nestes intervalos de tempo foram analisados pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido, clorofila-a, nitrato, fósforo solúvel, amônio e turbidez da água, além de análises qualitativas e quantitativas da comunidade fitoplanctônica. Análises qualitativas e quantitativas da comunidade zooplanctônica foram realizadas no início e no fim dos experimentos.

As análises de pH, condutividade elétrica, oxigênio dissolvido e clorofila foram medidas “*in situ*” através de sonda multiparâmetros YSI MOD Professional Plus (Yellow Spring Instrument).

As demais amostras foram coletadas com béqueres, filtradas no campo em filtros de fibra de vidro (Marca Macherey Nagel) e mantidas congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , para análises *a posteriore* de nitrato, fósforo solúvel, amônio.

Para as análises biológicas, amostras de fitoplâncton foram imediatamente fixadas com uma solução de lugol acético, e as de zooplâncton com uma solução de formol (concentração final de 4%). As análises químicas foram realizadas no laboratório de Ficologia do ICB - UFMG.



Figura 1: Estrutura do mesocosmo instalado para o experimento.



Figura 2: Adição dos concentrados da comunidade planctônica, coletados através de redes de plâncton de 20 micra.

## **2.2.2 - Análises laboratoriais**

### ***2.2.2.1 Nutrientes***

Para as análises químicas dos nutrientes dissolvidos usou-se a metodologia descrita em APHA (2005). As análises foram espectrofotométricas, e foram realizadas em espectrofotômetro (Perkin Elmer lambda 25) no Laboratório de Ficologia da UFMG. Foram realizadas análises de amônio, nitrato e fósforo solúvel.

### ***2.2.2.2 Comunidade zooplanctônica***

A comunidade zooplanctônica foi avaliada qualitativamente e quantitativamente. A determinação qualitativa do zooplâncton foi realizada observando-se alíquotas da amostra em um microscópio binocular, e identificando-se os organismos, sempre que possível até o nível de espécie, por meio de chaves de classificação.

A determinação quantitativa do zooplâncton foi realizada por contagem de organismos, para o cálculo de suas densidades. Foi coletada uma amostra inicial, obtida a partir da filtração em rede com poro de 35 micra, de todo o volume do mesocosmo utilizado para avaliação de todos os parâmetros do tempo zero, cujo volume de filtração foi registrado (50 litros).

As amostras finais foram obtidas da mesma forma, isto é, filtrando-se a água de cada mesocosmo experimental após coleta das amostras para análises dos demais parâmetros. Os volumes filtrados foram também anotados e computados.

Para contagem dos indivíduos, sub-amostras foram analisadas em câmara de Sedgwick-Rafter (volume de um ml), sendo contados no mínimo 200 indivíduos por amostra. A densidade de cada espécie foi calculada e expressa em número de indivíduos por litro.

### **2.2.2.3 - Comunidade fitoplanctônica**

Foram realizadas análises qualitativas e quantitativas da comunidade fitoplanctônica. Para a análise qualitativa os organismos foram medidos e identificados até o menor nível taxonômico possível, com base em chaves taxonômicas. Quando necessário a mucilagem foi evidenciada utilizando-se tinta nanquim. A análise quantitativa do fitoplâncton foi realizada transferindo-se 1L da amostra preservada, para proveta de vidro de 1000mL deixando-a em repouso tampada com papel alumínio por no mínimo 24 horas. Após esse tempo, a amostra foi concentrada por meio de sifonamento, vagorosamente, retirando-se o sobrenadante. O volume do concentrado foi anotado. Uma sub-amostra de 1 ml da amostra concentrada, foi transferida para a câmara Sedgwick-Rafter, e observada ao microscópio, utilizando o retículo de Whipple. A contagem foi feita por faixas ou por campos segundo a distribuição de Poisson, a qual obtém um intervalo de confiança de  $95 \pm 20\%$ , quando contados pelos menos 100 indivíduos do organismo dominante.

Para avaliar a estrutura da comunidade em uma base de biovolume, foram medidos pelo menos 20 indivíduos de cada espécie, e o biovolume específico foi calculado usando os modelos geométricos similares da forma de cada célula (Rott, 1981).

### **2.2.3 - Análises estatísticas**

Os testes estatísticos foram realizados no programa *Statistica 7.0*. Foi testada a variável explicativa (presença do mexilhão-dourado) em função da variação temporal (dias de experimento) e das variáveis respostas (concentração de nutrientes, densidades de fitoplâncton e zooplâncton, e variáveis físico-químicas). Para avaliar a influência da presença do mexilhão-dourado nas variáveis respostas, foi realizado o teste *t* de *student*,

observando-se os pressupostos de homogeneidade de variância dos dados. Para avaliação temporal da presença do mexilhão-dourado nas variáveis respostas, foi realizada uma Análise de Variância de Medidas Repetidas, já que os dados partiram de um mesmo mesocosmo analisado em tempos diferentes. Também para este teste verificou-se os pressupostos de homogeneidade de variância dos dados.

## **2.4 - RESULTADOS**

### **2.4.1 - Parâmetros físicos e químicos**

O oxigênio dissolvido (OD), que estava em 9.5 mg/L no início dos testes, reduziu significativamente ao longo do experimento, em todos os mesocosmos, com ou sem mexilhões, variando de 7 a 7.8 mg/L no último dia de experimento, sendo o menor valor observado 5.4 mg/L. O pH de 7.9 no início do experimento variou entre 7.9 e 8.3 no último dia de amostragem, no entanto evidenciou redução ao longo do período monitorado, chegando a 5.9. Já a condutividade elétrica foi maior ao final dos experimentos, com valor de 29  $\mu$ S no início e variando entre 43 e 45  $\mu$ S no último dia de experimento. A temperatura da água se mostrou bastante estável, com 22°C no início do experimento e variando entre 22.8 e 22.9°C no último dia, com oscilações entre 21 e 23.1°C ao longo do período de estudo.

Tabela 1 – Média e desvio padrão dos parâmetros físico-químicos das águas nos tanques com e sem mexilhão-dourado, antes e após os experimentos.

|               |            | Antes | Depois (com mexilhões) | Depois (sem mexilhões) |
|---------------|------------|-------|------------------------|------------------------|
| OD            | Média      | 9.5   | 6.81                   | 7.44                   |
|               | Desv. Pad. | 0     | 0.71                   | 0.39                   |
| pH            | Média      | 7.9   | 7.04                   | 7.28                   |
|               | Desv. Pad. | 0     | 0.98                   | 0.72                   |
| Temperatura   | Média      | 22    | 22.43                  | 22.58                  |
|               | Desv. Pad. | 0     | 0.58                   | 0.49                   |
| Condutividade | Média      | 29    | 41.75                  | 43.00                  |
|               | Desv. Pad. | 0     | 2.42                   | 1.35                   |

Os nutrientes da água variaram ao longo do experimento. Os gráficos, representados nas figuras 3 a 5, indicam as variações das concentrações de amônio, fósforo solúvel e nitrato ao longo do experimento, agrupando os mesocosmos com e sem mexilhões.

A figura 3 mostra a variação significativa da concentração de amônio nos mesocosmos onde havia a presença do mexilhão-dourado ( $p = 0,003$ ). Nos mesocosmos com mexilhões o amônio variou de 2.4 a 69.87  $\mu\text{g/L}$  e média de 29.70  $\mu\text{g/L}$ . Sem mexilhões a variação foi de 1.06 a 4.50  $\mu\text{g/L}$  e média de 1.19  $\mu\text{g/L}$ .

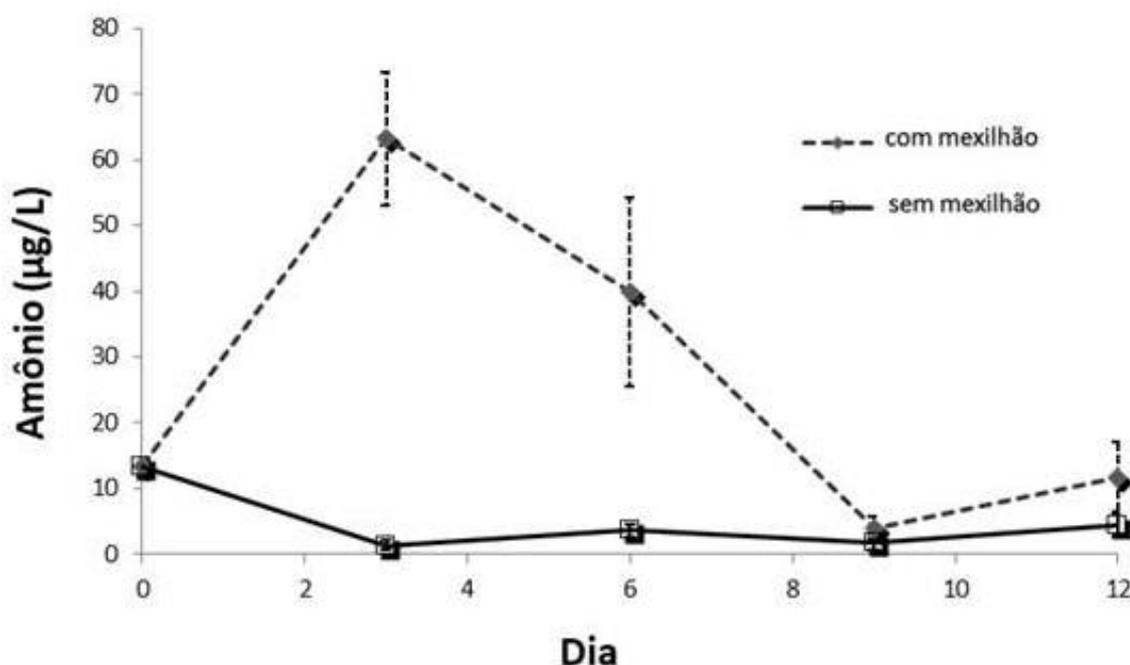


Figura 3: Variação do amônio ( $\mu\text{g/L}$ ) na água dos mesocosmos com e sem mexilhões, ao longo do experimento.

O nitrato (figura 4) não mostrou variação significativa entre os mesocosmos com e sem mexilhões ( $p=0.64$ ). As concentrações de nitrato foram para zero ao longo do experimento, a partir do nono dia. No grupo com mexilhões, os valores variaram de 0 a 135.17  $\mu\text{g/L}$  e média de 55.84  $\mu\text{g/L}$ . Nos mesocosmos sem mexilhões o nitrato variou de 0 a 148,57  $\mu\text{g/L}$ , e média de 42.12  $\mu\text{g/L}$  (Figura 4). O único dia que apresentou diferença significativa foi o dia 6, onde a presença do molusco mostrou causar um aumento de mais de duas vezes na concentração de nitrato (107.95  $\mu\text{g/L}$  com mexilhão, 40.37  $\mu\text{g/L}$  sem mexilhão).

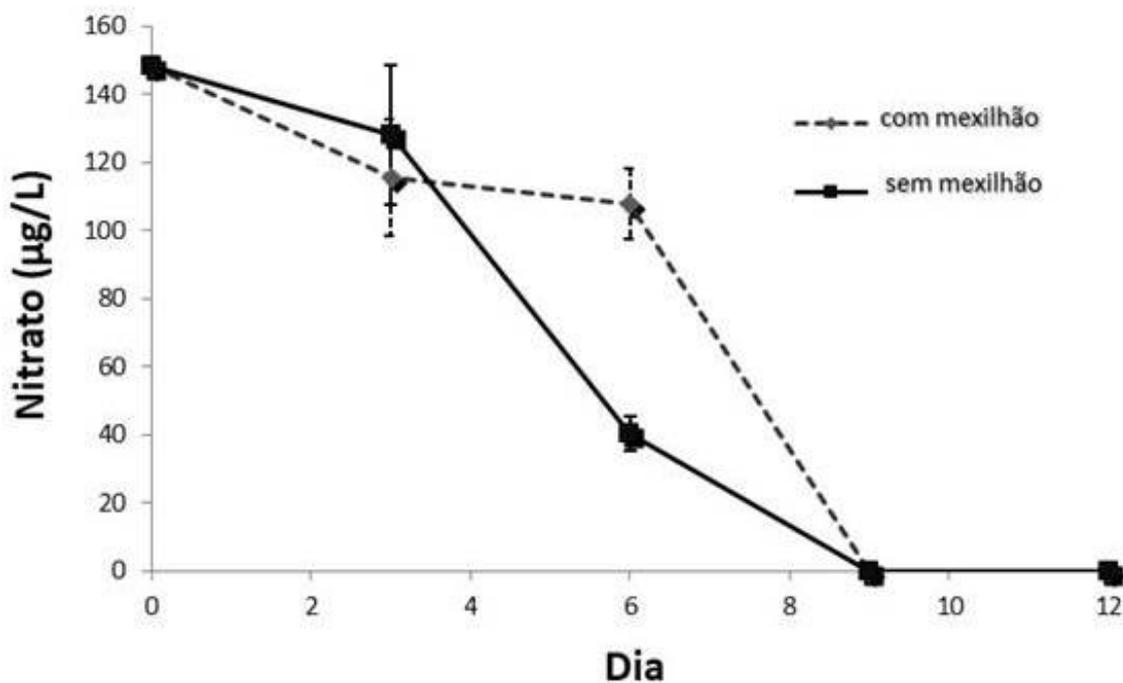


Figura 4: Variação do nitrato ( $\mu\text{g/L}$ ) na água dos mesocosmos com e sem mexilhões, ao longo do experimento.

O fósforo solúvel foi significativamente maior na presença do mexilhão-dourado ( $p=0.006$ ). Nos mesocosmos com mexilhões a variação foi de 9.98 a 40.2  $\mu\text{g/L}$ , com média de 23.13  $\mu\text{g/L}$ . Sem a presença dos mexilhões as concentrações de fósforo solúvel variaram de 6.09 a 15.35  $\mu\text{g/L}$ , e média de 10.71  $\mu\text{g/L}$  (Figura 5).

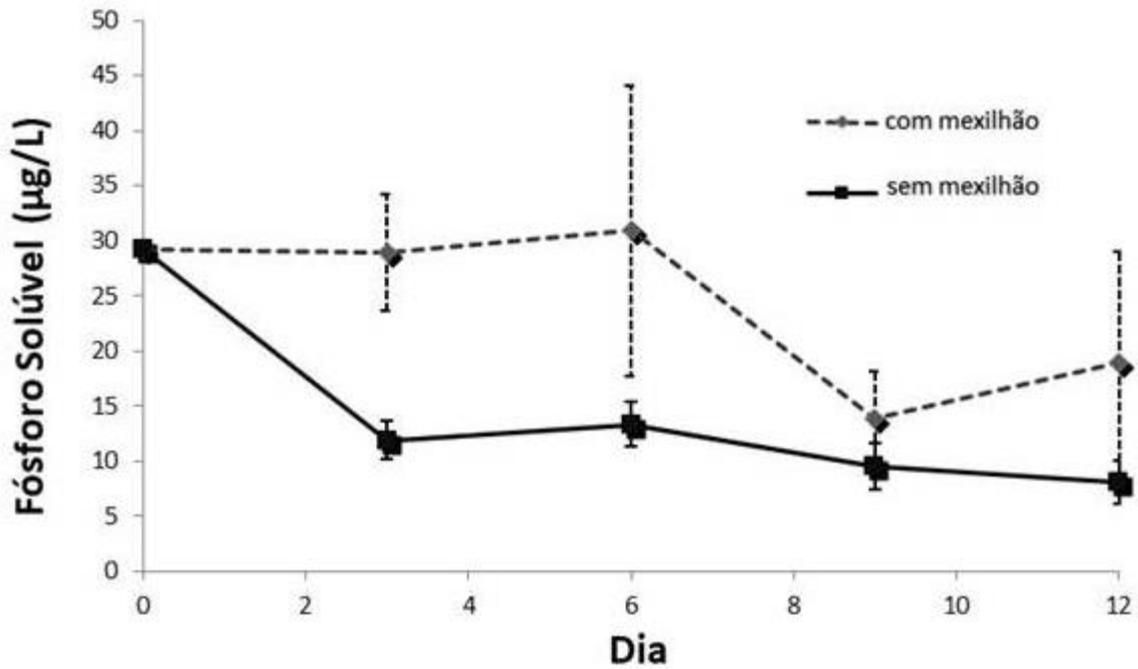


Figura 5: Variação do fósforo solúvel ( $\mu\text{g/L}$ ) na água dos mesocosmos com e sem mexilhões, ao longo do experimento.

## 2.4.2 - Parâmetros biológicos

### 2.4.2.1 *Clorofila-a*

A clorofila-a variou significativamente em função da presença do mexilhão-dourado, aumentando suas concentrações ao longo do experimento, naqueles mesocosmos em que havia a presença do bivalve (Figura 6).

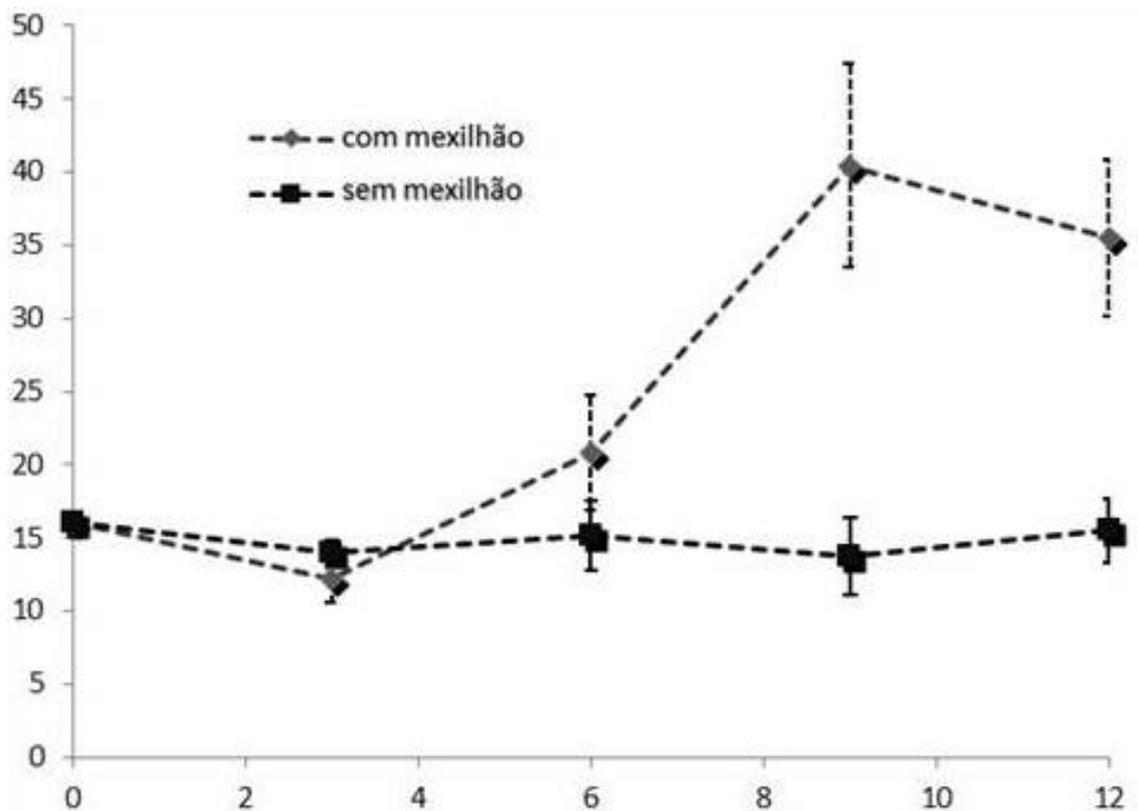


Figura 6: Variação da clorofila-a ( $\mu\text{g/L}$ ) ao longo do experimento nos mesocosmos com e sem mexilhões dourado.

Nos grupos com mexilhões as concentrações de clorofila-a na água variaram de 10.59 a 44.70  $\mu\text{g/L}$ , com média de 27.22  $\mu\text{g/L}$ . Nos grupos testados sem a presença do mexilhão-dourado as concentrações foram de 11.55 a 17.95  $\mu\text{g/L}$  e média de 14.58  $\mu\text{g/L}$ .

#### 2.4.2.2 Fitoplâncton

A análise da comunidade fitoplanctônica evidenciou 128 diferentes taxa, que foram identificados ao longo do experimento. A comunidade inicial era composta essencialmente de fitoflagelados que respondiam por aproximadamente 45% da densidade dos organismos, seguida por organismos da Classe Bacillariophyceae (21%), Cyanophyceae (15%) e Cryptophyceae (11%). A figura 7 mostra a composição percentual dos principais grupos de fitoplâncton identificados no início e no final do experimento, nos mesocosmos com e sem mexilhões.

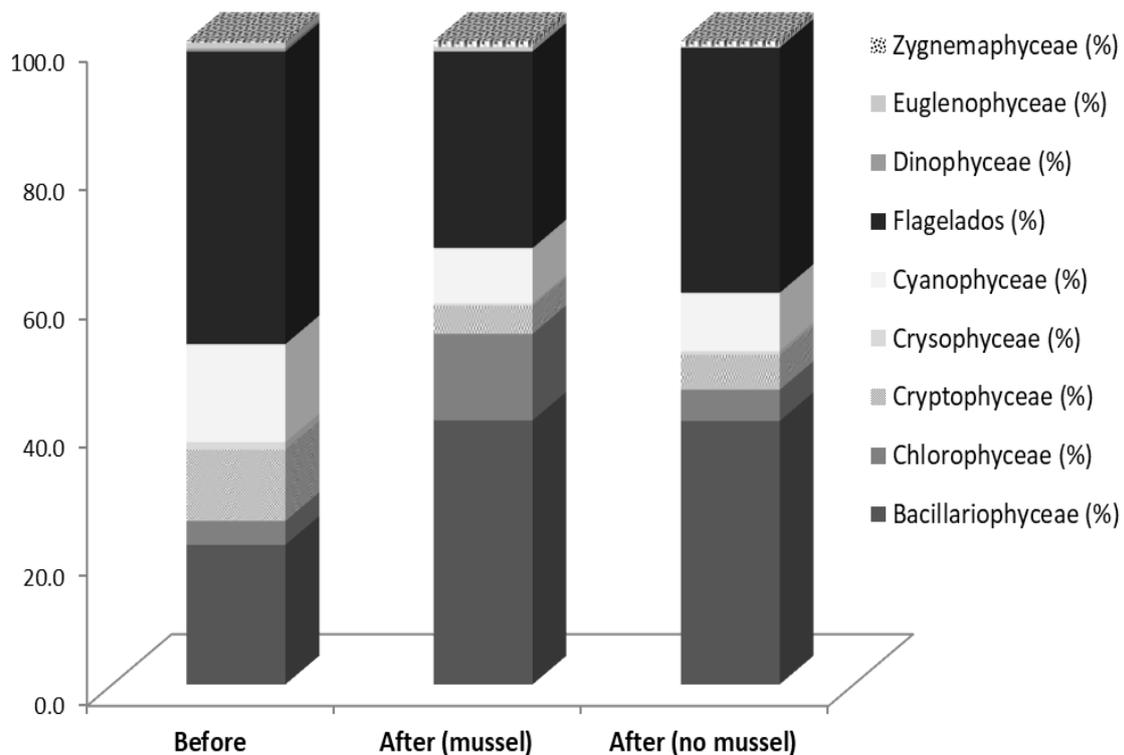


Figura 7: Composição percentual da comunidade fitoplanctônica antes e após o experimento, nos mesocosmos com e sem mexilhões-dourados.

Ao final do experimento, mesmo entre os dois tratamentos, a dominância foi alterada, sendo a Classe Bacillariophyceae a mais abundante, compondo 41% no grupo teste e 40% no controle, seguidos por Flagelados (30% teste e 38% controle).

As Chlorophyceae foram mais abundantes no grupo teste (com mexilhão) no final do período experimental, chegando a 13% da densidade total da comunidade, sendo o terceiro grupo mais abundante nestes mesocosmos com mexilhões, enquanto os mesocosmos sem mexilhões tiveram as Cyanophyceae como o terceiro grupo mais abundante (9%). A Classe Dinophyceae, foi registrada no início do experimento, mas não foi mais observada em nenhum dos mesocosmos ao final dos testes.

Nos mesocosmos com mexilhões houve aumento das porcentagens de Bacillariophyceae (de 21.71 para 41.04%), Chlorophyceae (de 3.70 para 13.45%) e Zygnemaphyceae (de 0.23 para 0.93%). Reduziram as porcentagens de Cryptophyceae (de 11.09 para 4.37%), Crysophyceae (de 1.15 para 0.36%), Cyanophyceae (de 15.24

para 8.59%), fitoflagelados (de 45.50 para 30.59%), Dinophyceae (de 0.46 para 0%) e Euglenophyceae (de 0.92 para 0.67%).

Os resultados mostram que nos mesocosmos sem mexilhões houve aumento das porcentagens de Bacillariophyceae (de 21.71 para 40.96%), Chlorophyceae (de 3.70 para 4.85%) e Zygnemaphyceae (de 0.23 para 0.87%). Reduziram as porcentagens de Cryptophyceae (de 11.09 para 5.42%), Crysophyceae (de 1.15 para 0.58%), Cyanophyceae (de 15.24 para 9.06%), fitoflagelados (de 45.50 para 38.12%), Dinophyceae (de 0.46 para 0%) e Euglenophyceae (de 0.92 para 0.14%).

Nos grupos com mexilhão-dourado observa-se que as porcentagens de Chlorophyceae, Bacillariophyceae, Euglenophyceae e Zygnemaphyceae foram maiores do que no grupo controle, sem mexilhão. Enquanto as porcentagens de Cryptophyceae, Crysophyceae, Cyanophyceae e fitoflagelados foram menores na presença do molusco, quando comparado ao grupo controle.

Houve variação da riqueza fitoplanctônica em função do dia do experimento e da presença do mexilhão-dourado ( $F(4, 20)=6.2700$ ,  $p=0.001$ ). Os resultados evidenciaram que a riqueza da comunidade de fitoplâncton foi significativamente maior quando o mexilhão-dourado não estava presente ( $p=0.001$ . Figura 8).

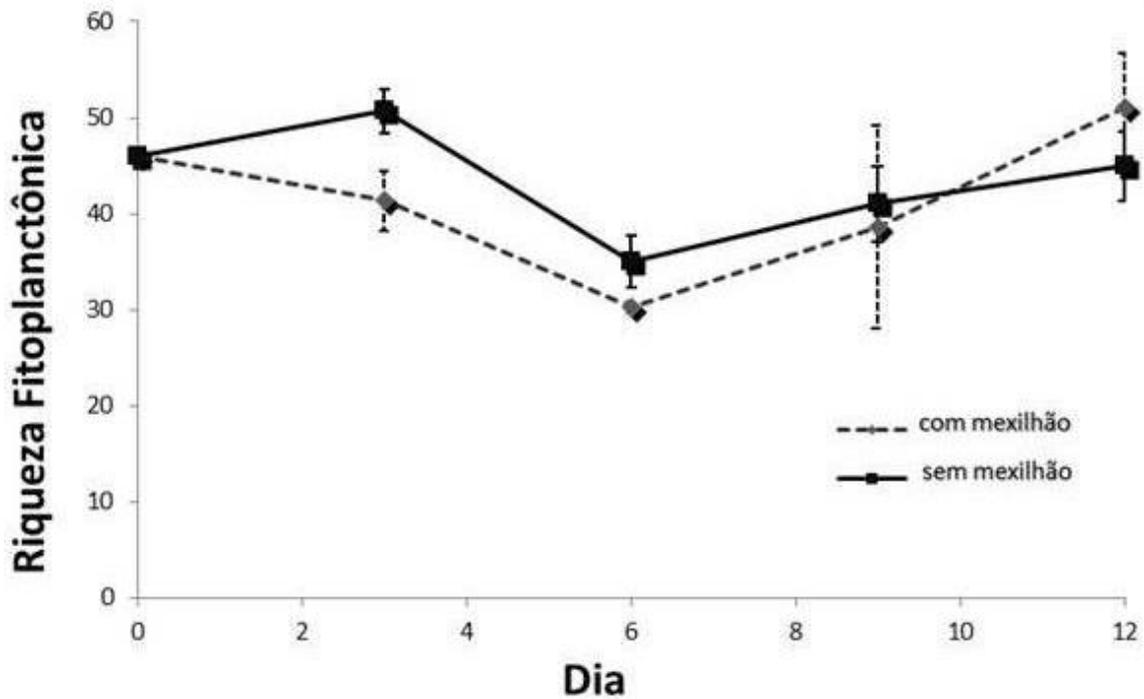


Figura 8: Variação da riqueza da comunidade fitoplanctônica ao longo dos experimentos, nos mesocosmos com e sem mexilhões-dourados ( $p=0.001$ ).

O biovolume total do fitoplâncton também variou ao longo do experimento, com biomassa maior nos mesocosmos com mexilhões dourados ( $F(4, 20)=13.309$ ,  $p<0.001$ ). Os resultados mostram que, na presença do mexilhão-dourado, houve maior biovolume do fitoplâncton (Figura 9).

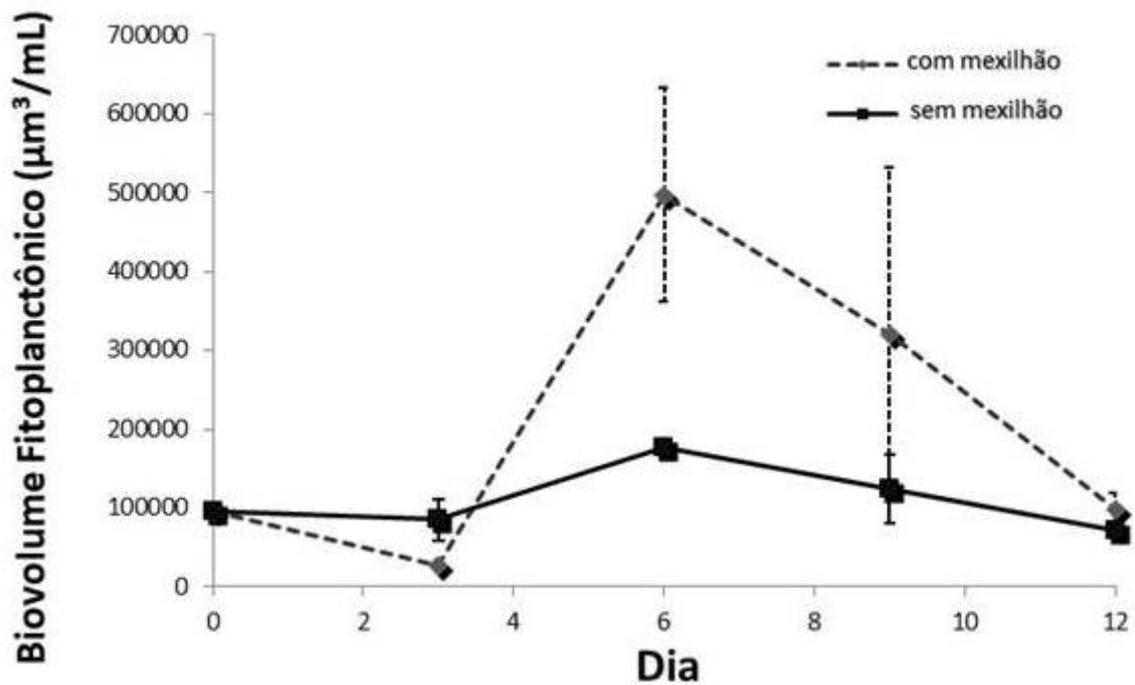


Figura 9: Variação do biovolume da comunidade fitoplanctônica ao longo dos experimentos, nos mesocosmos com e sem mexilhões-dourados ( $p < 0.001$ ).

As densidades de Bacillariophyceae e Chlorophyceae foram significativamente maiores na presença do bivalve (Figura 10, A e B). As variações dos demais grupos ao longo do experimento são apresentadas na Figura 10 letras C, D, E, F, G e H, no entanto não apresentaram diferenças significativas.

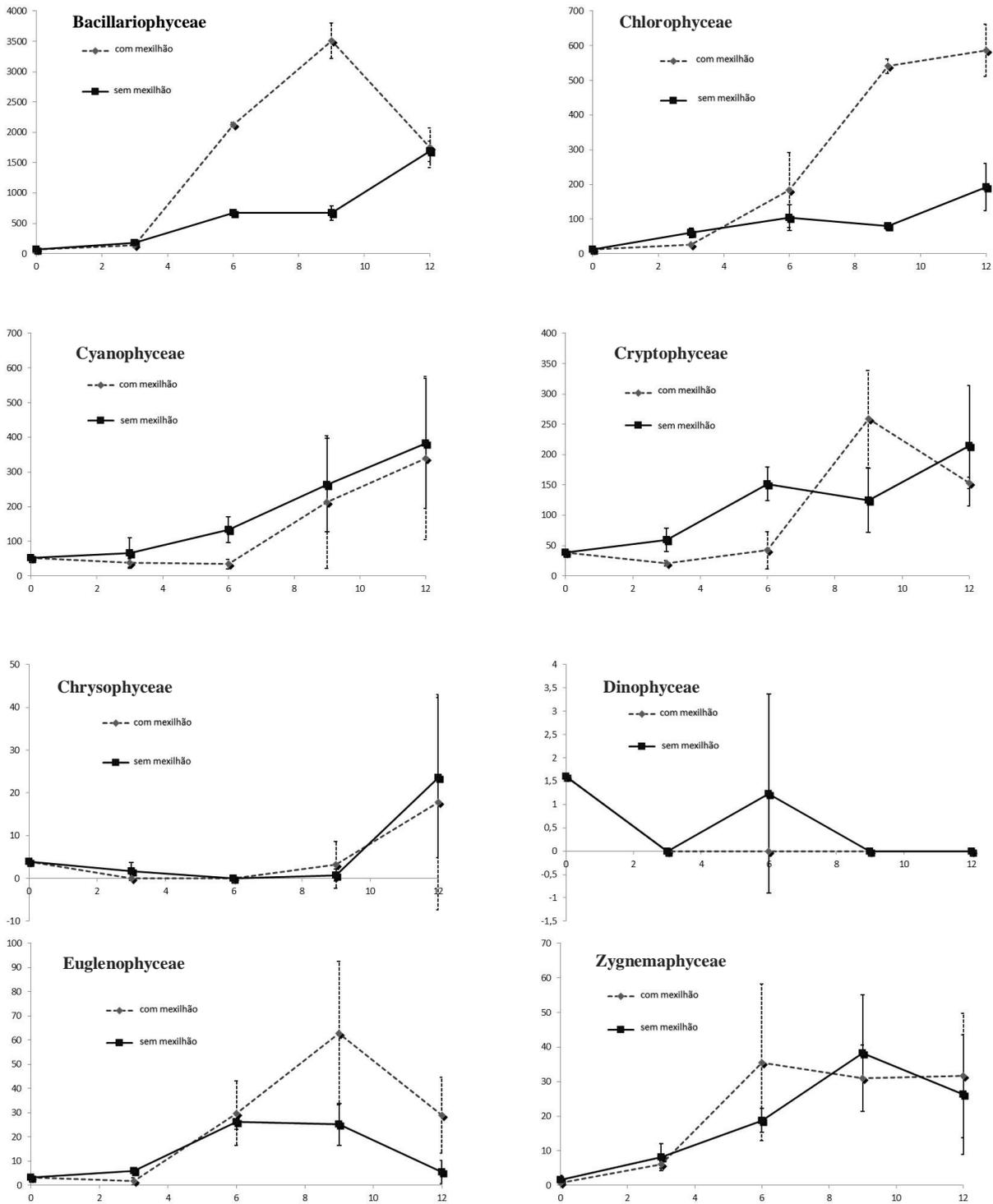


Figura 10: Variação da densidade dos diferentes grupos fitoplanctônicos ao longo dos experimentos, nos mesocosmos com e sem mexilhões.

A análise de cluster evidenciou que a composição da comunidade fitoplanctônica foi diferente nos grupos em que havia o mexilhão-dourado (Figura 11), com separação dos mesocosmos tratamento, dos mesocosmos controle. Diferentes análises de cluster

foram realizadas para cada dia amostrado. As análises evidenciaram que a comunidade que era a mesma, no início do experimento (dia 0 – Figura 11), já começou a se diferenciar a partir da primeira amostragem, no terceiro dia de experimento (dia 3 – Figura 11), e segregou, em função da presença do mexilhão-dourado, a partir do dia 6 – Figura 11, até o último dia de experimento. A figura 11 mostra o arranjo das análises de cluster do início ao fim dos experimentos, evidenciando a diferença da composição da comunidade fitoplanctônica entre os mesocosmos com e sem mexilhões dourados, sendo que os números 1, 2 e 3 representam cada uma das réplicas com e sem mexilhões.

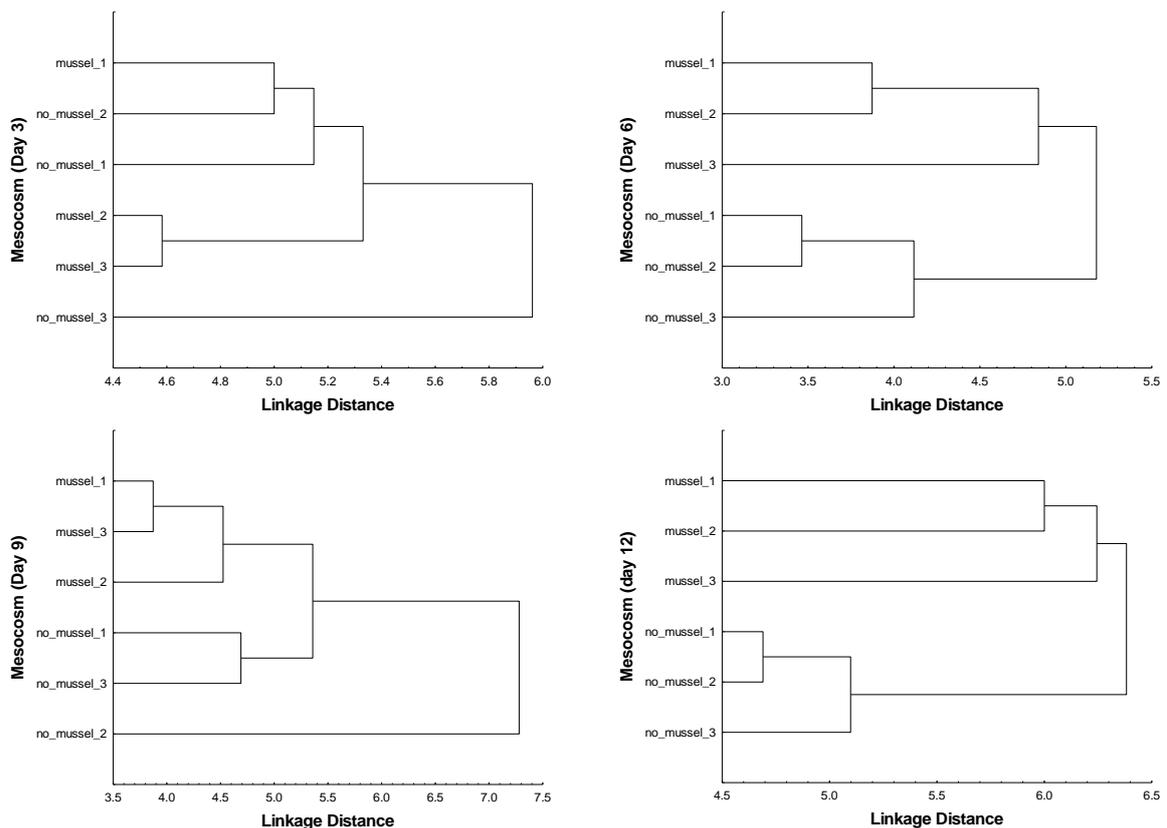


Figura 11: Análise de cluster a partir da composição qualitativa da comunidade fitoplanctônica, evidenciando a separação dos mesocosmos com e sem mexilhões dourado, nos diferentes dias de amostragem. Números 1, 2 e 3 correspondentes a cada uma das réplicas com e sem o mexilhão-dourado.

#### 2.4.2.3 Zooplâncton

No conjunto dos mesocosmos avaliados no experimento, a comunidade zooplanctônica esteve representada por 75 táxons, além de representantes

meroplancônicos de Ostracoda, Chironomidae e Nematodea. O grupo Rotífera apresentou a maior riqueza, seguido por Crustácea e Protozoa (Figura 12).

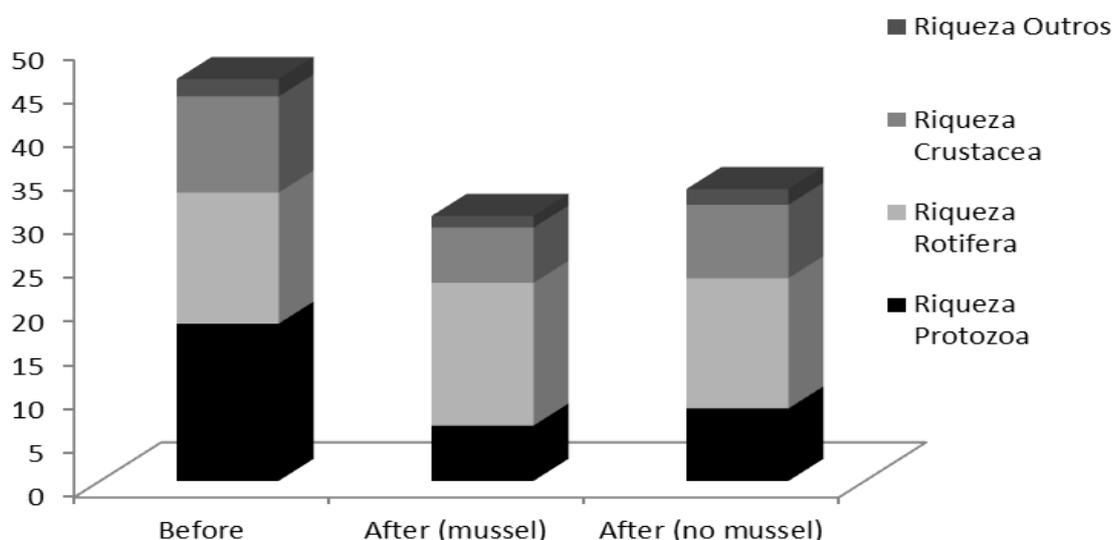


Figura 12 – Riqueza da comunidade zooplancônica antes do experimento e ao fim nos mesocosmos com e sem mexilhões dourados.

A riqueza zooplancônica total dos pontos variou de 29 a 37 táxons/amostra. Em geral, os valores de riqueza de espécies registradas não variaram entre os mesocosmos analisados.

Entre as 12 famílias de rotíferos a maior representatividade coube a Lecanidae com 12 espécies. Das cinco famílias de crustáceos distribuíram-se de forma semelhante entre Sisidae, Daphnidade, Moinidae, Chydoridae, Machrothricidae, Cyclopidae e Diaptomidae, além dos estágios de nauplius e copepodito.

A maior densidade dentre os grupos foi observada para os rotíferos. No conjunto dos mesocosmos avaliados, a densidade zooplancônica apresentou um intervalo de variação com densidade de organismos mínima de 328,5 ind./L e máxima de 696,75 ind./L. A densidade percentual dos principais grupos de zooplânctons compõem o gráfico da Figura 13.

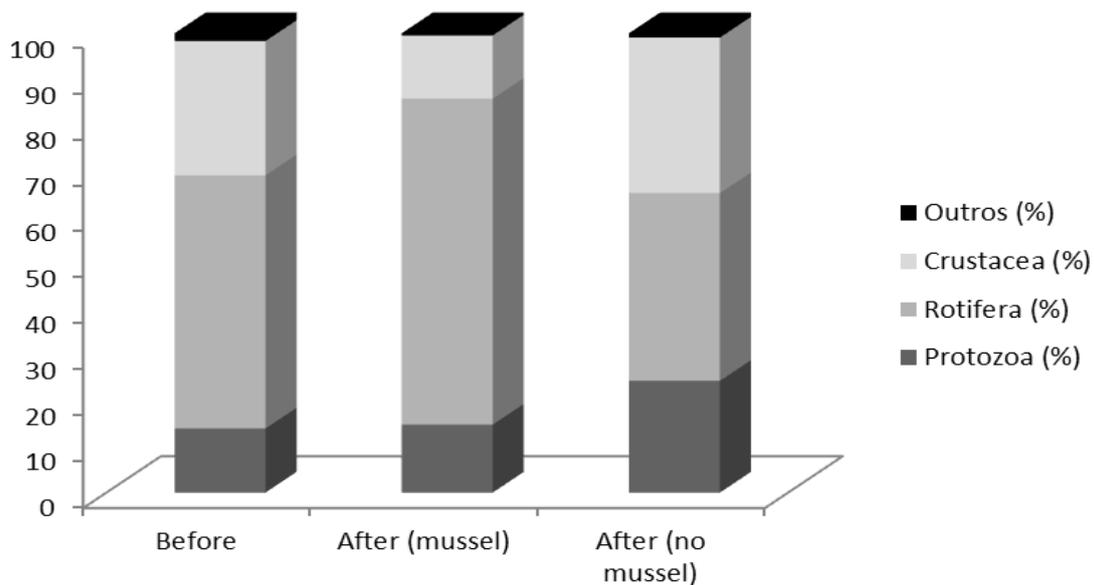


Figura 13 – Densidade relativa percentual da comunidade zooplânctônica antes e após os experimentos nos mesocosmos com e sem mexilhões dourados.

O grupo Crustacea foi menor na presença do mexilhão-dourado ( $P=0.049$ ), enquanto o grupo Rotífera foi maior ( $P=0.016$ ). No total das amostras as maiores densidades relativas foram das espécies *Arcella hemisphaerica* (Protozoa), *Centropyxis aculeata* (Protozoa), *Netzelia oviformis* (Protozoa), *Lecane bulla* (Rotifera), *Lecane lunaris* (Rotifera) e *Euchlanis meneta* (Rotifera) as formas jovens de Cyclopoida e Calanoida, com ocorrência em mais de 50% das amostras. Os demais táxons mostraram ocorrência comum a rara. Os valores de densidade e riqueza no grupo dos protozoários obtidos no experimento, não apresentaram diferenças significativas entre o controle e o tratamento.

A análise de cluster mostrou que a composição da comunidade não variou significativamente em função da presença do mexilhão-dourado (Figura 14).

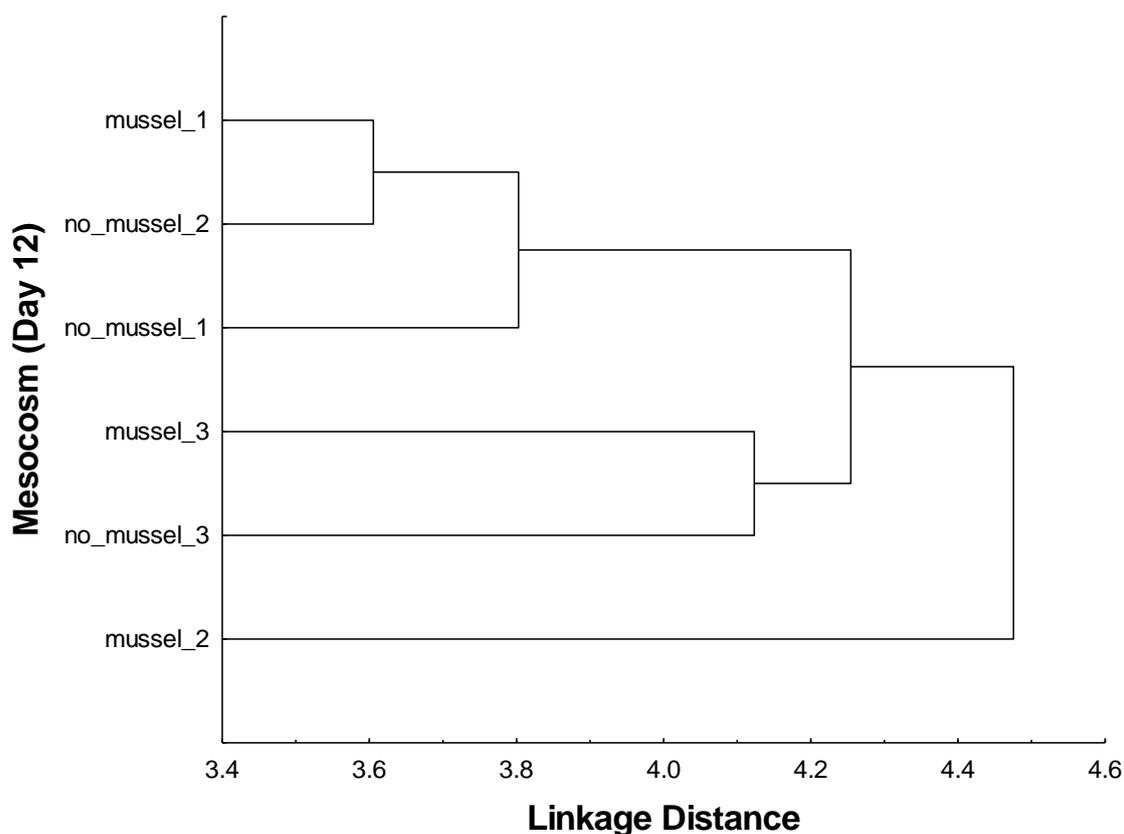


Figura 14: Análise de cluster baseada na composição qualitativa da comunidade zooplânctônica, nos mesocosmos com e sem mexilhões dourado. Números 1, 2 e 3 correspondentes a cada uma das réplicas com e sem o mexilhão-dourado.

## 2.5 - DISCUSSÃO

Os nutrientes, fósforo solúvel e amônio, foram maiores na presença do mexilhão-dourado, confirmando a hipótese de que esses moluscos promovem *input* significativo de nutrientes na água.

Outros trabalhos observaram o mesmo efeito tanto em experimentos laboratoriais como em ambientes invadidos pelo mexilhão-dourado (Karatayev *et al.*, 2002; Boltovskoy *et al.* 2009; Kawase, 2011; Cataldo *et al.*, 2012). O metabolismo ativo destes animais, observado pela alta taxa de filtração e consequente produção de excretas, promove o incremento de nutrientes dissolvidos na água. Esses efeitos também são apontados para os dreissenídeos invasores da América do Norte e Europa, mexilhão-quagga e mexilhão-zebra (revisado em Vanderploeg *et al.*, 2002; Karatayev *et*

*al.*, 2002, 2007a, b; Higgins & Zanden, 2010; Kelley *et al.*, 2010; Nalepa, 2010; De Stasio *et al.*, 2014). Os nutrientes, por sua vez, são essenciais para a produtividade primária dos ambientes aquáticos. O excesso de fósforo na água, por exemplo, tem sido usualmente relatado como um dos principais problemas de qualidade de águas e de crescimento de algas (Conley *et al.*, 2009). Dessa forma, o *input* de nutrientes nos ambientes invadidos pelo mexilhão-dourado, assim como pelos mexilhões quagga e zebra, é apontado como uma das causas do aumento de florações de cianobactérias em locais invadidos (Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2002; Conroy *et al.*, 2005a, b; Bykova *et al.*, 2006; Knoll *et al.*, 2008; Sarnelle *et al.*, 2010; Cataldo *et al.*, 2012).

O declínio dos nutrientes na água, a partir do sexto dia de experimento está, provavelmente, relacionado ao aumento da produtividade primária nos mesocosmos, refletido na concentração de clorofila-a. A partir do sexto dia de experimento, foi possível observar o aumento na concentração de clorofila-a apenas nos mesocosmos com a presença do mexilhão-dourado (Figura 6). A clorofila-a é um importante indicador da biomassa fitoplanctônica e produtividade primária de um ambiente aquático. Vários trabalhos têm mostrado que, assim como observado nos locais invadidos pelo mexilhão-zebra (Lavrentyev *et al.*, 1995; Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001; Nicholls *et al.* 2002; Juhel *et al.*, 2006; De Stasio *et al.* 2014), os locais invadidos pelo mexilhão-dourado têm causado aumento na biomassa de *Microcystis aeruginosa* (Cataldo *et al.*, 2012), e conseqüentemente aumento das concentrações de clorofila-a na água. A clorofila-a, portanto não deve ser diretamente um parâmetro limitante ao desenvolvimento do bivalve, mas pode refletir efeitos do aumento da produtividade primária influenciadas pela presença do invasor. Neste experimento, no entanto, não houve variação do biovolume de *M. aeruginosa* em

função da presença do mexilhão-dourado, nem mesmo do grupo Cyanophyceae, talvez porque as espécies encontradas pertencem a um grupo conhecido como picocianobactérias, que não dominam em águas ricas em nutrientes. Por outro lado, no sexto dia de experimento, assim como observado para clorofila-a, também houve aumento nas densidades de praticamente todos os grandes grupos de fitoplâncton monitorados (Bacillariophyceae, Chlorophyceae, Cyanophyceae, Cryptophyceae, Euglenophyceae e Zygnemaphyceae) (Figura 10). Importante considerar que esse aumento, que se deu em todos os tanques testados, e foi significativamente maior nos mesocosmos com mexilhões dourados apenas para as classes Bacillariophyceae e Chlorophyceae. O crescimento maior destes grupos na presença do mexilhão-dourado refletiu no aumento da clorofila-a, a partir do sexto dia de experimento, momento em que os nutrientes declinaram fortemente. Desta forma, verificamos que os efeitos do metabolismo do mexilhão-dourado na estrutura trófica e nas características da água, são distintos em função do tempo. Em um primeiro momento há o incremento de nutrientes na água, esse aumento propicia a maior produtividade primária que, por sua vez, aumenta a demanda desses mesmos nutrientes.

No último dia de experimento foi possível observar tendência de aumento de amônio e fósforo, que poderiam indicar novo ciclo de aumento destes nutrientes, especialmente nos tanques com mexilhões dourados. Apesar da relação positiva de nitrato e a presença do mexilhão-dourado observada nos experimentos laboratoriais realizados nesta tese, e também alguns trabalhos disponíveis na literatura (por exemplo: Cataldo *et al.*, 2012), a relação negativa encontrada pode estar associada ao esgotamento no uso deste nutriente pelas algas presentes, por ser a forma nitrogenada frequentemente usada pelos produtores primários (Ruckert & Giani, 2004; Sanz-Luque *et al.*, 2015). Ao mesmo tempo, pode também ter ocorrido mudança na comunidade

bacteriana, e com isso o ciclo do nitrogênio e os processos de nitrificação-denitrificação podem ter sido alterados. Por exemplo, um aumento do processo de denitrificação poderia causar uma diminuição na concentração do nitrato (Ward, 1996), observada nos mesocosmos.

O aumento do biovolume total de fitoplâncton em função da presença do mexilhão-dourado observado neste experimento é aparentemente contraditório a alguns trabalhos (exemplo Cataldo *et al.*, 2012; Frau *et al.*, 2016) e contrário ainda aos resultados observados em campo, discutidos no capítulo três desta tese. Higgins & Zanden (2010) através de uma meta-análise de diversos trabalhos e estudos de monitoramento, avaliaram os impactos causados nos ecossistemas invadidos pelos dreissenídeos mexilhão-zebra e mexilhão-quagga. Os estudos de Higgins & Zanden (2010) mostram claramente que os grupos de fitoplâncton (incluindo cianobactérias) diminuem a biomassa ou permanecem inalterados após as invasões pelos bivalves na grande maioria dos ecossistemas. No entanto, um crescente número de evidências indica que, mesmo que esses declínios em geral estejam ocorrendo, algumas espécies individuais de cianobactérias aumentam em abundância em alguns, mas não em todos, os ecossistemas (Higgins & Zanden, 2010). Alguns trabalhos descrevem que há um padrão de crescimento da biomassa de *Microcystis aeruginosa*, *Aphanizomenon* spp., ou *Anabaena* spp., após a invasão desses mexilhões em alguns lagos (Vanderploeg *et al.*, 2001, Raikow, 2004; Knoll *et al.*, 2008). Por que essas espécies aumentam suas abundâncias em alguns ambientes invadidos pelos dreissenídeos não é totalmente compreendida e merecem maior elucidação (Higgins & Zanden, 2010).

Nossos resultados mostraram um aumento das concentrações de clorofila-a e do biovolume fitoplanctônico nos tanques com mexilhões dourados. As Cyanophyceae não variaram entre os tanques controle e teste. É importante, porém lembrar que existem

vários tipos de cianobactérias, e que nem todas são favorecidas pelo aumento de nutrientes. No caso do reservatório de Volta Grande, por exemplo, foram registradas cianobactérias do grupo “pico-cianobactéria” (Lopes, 2013; Laux, 2016) isto é, organismos com células pequenas, de 0.2 a 2 µm de diâmetro (Sieburth *et al.*, 1978). Embora de distribuição cosmopolita, estes organismos são em geral mais dominantes em ambientes oligotróficos (Callieri & Stockner, 2002). Num experimento realizado por Cataldo *et al.* (2012), em tanques experimentais, na presença de mexilhão-dourado, as concentrações de clorofila-a e densidades de *M. aeruginosa* caíram nas duas primeiras semanas de experimento e somente começaram a crescer entre a segunda e terceira semana. Por outro lado, os mesocosmos por eles utilizados eram bem maiores, e seria de se esperar que os efeitos demorassem mais tempo a aparecer. Os resultados deste capítulo também diferem dos apresentados no Capítulo 1 desta tese, quando *M. aeruginosa* foi maior na presença do mexilhão-dourado. Mas, na ausência da espécie, pudemos mesmo assim observar aumento da biomassa do fitoplâncton e da clorofila-a.

Nossos resultados revelam, portanto, que o mexilhão-dourado promove *input* de nutrientes necessários para produtividade primária dos ambientes aquáticos, mas através da filtração seletiva, é capaz de alterar a dinâmica populacional das comunidades dos locais invadidos, favorecendo algumas espécies pela exclusão competitiva e aumento na disponibilidade de nutrientes.

Diante das contradições quanto à filtração seletiva do mexilhão-dourado, apontada na revisão de Boltovskoy *et al.* (2015), Frau *et al.* (2016) desenvolveram experimentos de 12 horas que permitiram elucidar a filtração seletiva destes bivalves. O trabalho de Frau *et al.* (2016) mostrou que o mexilhão-dourado influenciou negativamente as densidades do fitoplâncton e do zooplâncton, com exceção de alguns grupos do fitoplâncton (*Chlamydomonas*, *Cryptomonas* e *Euglenophyceae*) e do

zooplâncton (Copepoda). Para *Chlamydomonas*, Frau *et al.* (2016) observaram que, apesar de terem as densidades reduzidas, não foram encontradas no estômago dos bivalves, o que permitiu a conclusão pelos autores de que esses organismos foram expelidos nas pseudofezes. Nossos estudos mostraram que, apesar de não ter havido aumento de *Chlamydomonas* na presença do mexilhão-dourado, a classe Chlorophyceae, à qual este gênero pertence, aumentou significativamente na presença do bivalve. *Chlamydomonas* também foi negativamente selecionado por *Dreissena polymorpha* no trabalho de Dionísio Pires & Van Donk (2002). Os autores atribuíram essa seleção negativa à espessura da parede da célula de *Chlamydomonas*, também argumentado por Frau *et al.* (2016) para os resultados observados com o mexilhão-dourado. *Cryptomonas* (Cryptophyceae) e Euglenophyceae não variaram nos nossos estudos, assim como nos estudos de Frau *et al.* (2016), onde estes dois grupos fitoplanctônicos foram os únicos a não terem suas densidades fortemente impactadas pela presença do mexilhão-dourado.

A filtração seletiva pelo mexilhão-dourado também foi discutida nos trabalhos de Cataldo *et al.* (2012) e Rückert *et al.* (2004), que não verificaram filtração seletiva, enquanto Gazulha *et al.* (2012a, b) apontaram preferência alimentar por células pequenas, unicelulares, que foram mais aceitas do que as filamentosas, e nas pseudofezes foram mais comumente encontradas colônias de *Microcystis* sp. e de cianobactérias filamentosas. Nossos resultados, portanto, sugerem que, o mexilhão-dourado pôde alterar significativamente a comunidade nos tanques testados, revelado pelo aumento das concentrações de clorofila-a, aumento da densidade e biovolume da comunidade fitoplanctônica e maior riqueza de espécies do fitoplâncton. Além disso, observou-se que a comunidade, que inicialmente era a mesma em todos os mesocosmos, se diferenciou em função da presença do bivalve, indicada pela análise de Cluster

(Figura 11). A pressão seletiva associada às alterações na qualidade da água causadas pela ativa filtração do organismo podem ter contribuído para alterações na comunidade fitoplanctônica e aumento do biovolume e riqueza de espécies. Dentre as variações na estrutura da comunidade, os resultados evidenciaram que as Chlorophyceae e Euglenophyceae foram mais abundantes na presença dos mexilhões. As clorófitas são, em geral, os primeiros grupos fitoplanctônicos a crescerem em experimentos em mesocosmos, funcionando como grupos pioneiros em ambientes concentrados e com condições ambientais mais estáveis.

Nesse sentido e em função do período de exposição deste experimento (12 dias), é provável que este aumento tenha sido incrementado pela maior concentração de nutrientes, consequência do metabolismo do mexilhão-dourado. Já as euglenofíceas são organismos que demandam maior quantidade de matéria orgânica nas águas para seu crescimento, já que, comparado aos demais organismos fitoplanctônicos, não são considerados bons fotossintetizantes.

Para zooplâncton, os resultados não evidenciaram efeitos significativos na estrutura da comunidade, apesar de haver aumento de rotíferos na presença do mexilhão-dourado e redução de crustáceos na ausência do bivalve, diferentemente dos trabalhos de Rojas Molina *et al.* (2010), Fachini *et al.* (2012) e Frau *et al.* (2016). Os estudos anteriores apontaram inclusive os rotíferos como o grupo mais comumente consumido pelos mexilhões. Entre as 12 famílias de rotíferos observadas neste trabalho, a maior representatividade coube a Lecanidae com 12 espécies, sendo esta família considerada como uma das mais frequentes e típicas de ambientes tropicais. As cinco famílias de crustáceos distribuíram-se de forma semelhante entre Sisidae, Daphnidade, Moinidae, Chydoridae, Machrothricidae, Cyclopidae e Diaptomidae, além dos estágios de *nauplius* e copepodito. As maiores contribuições em número de táxons nas famílias

de protistas sobressaíram Diffugiidae com 06 táxons e Arcellidae com 06 táxons. Estes organismos são os principais consumidores de bactérias, picoplâncton e nanoplâncton, sendo importantes nas cadeias tróficas e na ciclagem de nutrientes, através da bacterivoria, algivoria, carnivoria, omnivoria. Outros trabalhos que avaliaram os impactos do mexilhão-dourado na comunidade zooplanctônica mostraram que os rotíferos diminuíram sua abundância após a invasão, enquanto cladóceros e copépodes não foram afetados (Rojas Molina & Jose De Paggi, 2008). Um efeito semelhante também foi relatado para o mexilhão-zebra (MacIsaac *et al.*, 1995). O trabalho de Frau *et al.* (2016) também mostrou que Rotifera foi um dos principais grupos de organismos consumidos pelo mexilhão-dourado, representando um importante biovolume total observado na dieta. Apesar disso, o consumo de fitoplâncton não variou em função da presença dos rotíferos. Os rotíferos são selecionados, de acordo com esses autores, devido à maior qualidade nutricional, e relativa baixa mobilidade, sendo incapazes de fugir da predação pelo bivalve. Os resultados contrários, encontrados nos experimentos desta tese, podem indicar que essa preferência alimentar pode ocorrer de maneira diferente em função da composição da comunidade ou mesmo ainda em função das diferentes espécies de rotíferos que compõe um determinado ecossistema habitado pelo mexilhão-dourado. É importante destacar que variações nas comunidades zooplanctônicas afetarão a comunidade fitoplanctônica, podendo favorecer ou não o crescimento de alguns grupos.

Os demais parâmetros físicos e químicos da água monitorados variaram entre início e fim dos experimentos, mas não variaram em função da presença do mexilhão-dourado. As variações observadas, portanto, ocorrem em função das águas paradas e sem renovação por doze dias. Importante salientar, no entanto, que as alterações nas águas não foram importantes para afetar as comunidades planctônicas e também os

mexilhões. Os valores de OD estiveram quase que predominantemente acima de 7 mg/L, indicando que as águas permaneceram bem oxigenadas ao longo de todo o experimento. Os valores de pH ao longo de todo o experimento sempre estiveram entre 5.9 e 8.3. O pH permaneceu, portanto, ao longo do experimento com valores aceitáveis para a sobrevivência do mexilhão. Segundo Devercelli & Peruchet (2008), Pareschi *et al.*, (2008) existe um elevado potencial de infestação quando os valores de condutividade elétrica da água estão entre 30  $\mu\text{S/cm}$  e 3.800  $\mu\text{S/cm}$ , sendo que os valores de condutividade elétrica ao longo do experimento estiveram estáveis, próximos de 40  $\mu\text{S/cm}$ . Desta forma podemos dizer que as variáveis físico-químicas monitoradas *in situ* ao longo do experimento (temperatura, OD, pH e condutividade elétrica), estiveram dentro do espectro que permitem sobrevivência e desenvolvimento do bivalve. Importante salientar ainda que, apesar do aumento da densidade fitoplanctônica, associado à falta de renovação das águas nos mesocosmos ao longo dos dias de experimento, estes parâmetros se mantiveram relativamente estáveis e próximos dos comumente encontrados em águas tropicais. Nesse sentido, estas variáveis físicas e químicas da água não foram significativamente alteradas direta ou indiretamente pela presença do mexilhão-dourado.

Vanderploeg *et al.* (2017) descreve que a excreção e os impactos dos mexilhões zebra e quagga são altamente dependentes do contexto, variando com a composição de algas, estequiometria e abundância do seston, e taxa de filtração. Tendência parecida é observada para o mexilhão-dourado, conforme observado nos capítulos 1, 2 e 3 desta tese e nos dados da literatura (Rückert *et al.*, 2004; Cataldo *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012a, b; Frau *et al.*, 2016). A capacidade seletiva dos mexilhões e os efeitos sobre a disponibilidade de nutrientes e penetração da luz estão entre as mais relevantes modificações nos ambientes invadidos. Para o mexilhão-zebra, Conroy *et al.* (2005b)

argumentaram que o *input* de nutrientes é mais importante que a filtração seletiva, já que os mexilhões estão no fundo do lago, o que pode limitar a filtração seletiva, enquanto a excreção é contínua. Karatayev *et al.* (2015) mostra que os mexilhões quagga e zebra se distribuem de maneira diferente nos lagos invadidos, sendo que, enquanto o mexilhão-quagga pode ocupar toda a extensão do lago (zonas pelágicas e litorâneas) o mexilhão-zebra está mais restrito à região litorânea. Nossos resultados de campo, apresentados no capítulo 3 desta tese, mostram que o mexilhão-dourado também pode ser observado em toda a extensão do reservatório monitorado. Tanto o mexilhão-zebra quanto o mexilhão-quagga aumentam as concentrações de nitrato, amônia e fosfato (Karatayev *et al.*, 2015), assim como observado nos experimentos realizados nesta tese. O aumento da concentração destes nutrientes não parece, portanto, ser controversa com os resultados disponíveis na literatura. No entanto, como discutido no capítulo 1 e observado nos experimentos desta tese, o aumento das concentrações de nutrientes não são a causa única para crescimento do fitoplâncton e ocorrência de florações de cianobactérias, já que, em muitos casos esse crescimento não foi observado, muitas vezes sendo inclusive reduzidos pela pressão de filtração dos bivalves. Neste sentido, o aumento na concentração de nutrientes nas águas dos ambientes invadidos pelo mexilhão-dourado deve ser esperado, no entanto a alteração na dinâmica da comunidade planctônica, especialmente a do fitoplâncton poderá variar em função da estrutura e composição da comunidade local.

## 2.6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

As alterações observadas na concentração de nutrientes na água e na composição fitoplanctônica em função da presença do mexilhão-dourado se mostraram significativas. Isso permite prever que aqueles ambientes invadidos pelo bivalve poderão sofrer alterações relevantes na sua estrutura trófica. As alterações se mostraram estar essencialmente relacionadas à alta taxa de filtração e excreção dos organismos. Essas atividades causam mudanças diretas na estrutura trófica, pela frequente atividade de filtração do organismo, potencializada pela alta densidade populacional atingida. Causam ainda mudanças indiretas, já que a alta atividade metabólica promove aumento das concentrações de nutrientes nas águas, que conseqüentemente favorecem alguns grupos do plâncton enquanto outros são prejudicados. Por outro lado, há muito que se entender das conseqüências da presença desses organismos, em especial nos locais com densidades populacionais muito altas, no que diz respeito ao aspecto temporal. O aumento na concentração de nutrientes nos ambientes com a presença do mexilhão-dourado não ocorrerá de maneira constante, já que a promoção do crescimento fitoplanctônico demandará os mesmos nutrientes para a produção primária, o que poderá levar a uma forte oscilação temporal das concentrações de nutrientes na água. Nesse sentido, é importante entender como essa variação se dará em uma escala temporal de meses ou anos após a invasão. Além disso, destaca-se que, algumas controvérsias em experimentos semelhantes, quanto aos grupos mais favorecidos ou prejudicados na presença do mexilhão-dourado, podem revelar que a estrutura geral da comunidade aquática presente no momento da invasão poderá afetar de maneira significativa os impactos que irão ocorrer nesta mesma comunidade. Por exemplo, a redução na densidade de rotíferos na presença do mexilhão-dourado, observada nos

trabalhos de Rojas Molina e Jose De Paggi (2008) e de Frau *et al* (2016), não foi observada neste trabalho. Além disso, o aumento nas concentrações de cianobactérias tóxicas, observado nos trabalhos de Boltovskoy *et al.* (2009), Fachini *et al.* (2012), Gazulha *et al.* (2012a, b), Frau *et al.* (2016), não foi detectada nos trabalhos de Rückert *et al.* (2004), Rojas Molina *et al.* (2010) e também neste experimento. Essa contradição em alguns resultados pode, na verdade, ser apenas reflexo da composição da comunidade, com diferentes gêneros e espécies, diferentes densidades de organismos, além de variações ambientais intrínsecas de cada ambiente testado. Dessa forma, o que se pode concluir até o momento é que a invasão do mexilhão-dourado causa alterações significativas na disponibilidade de nutrientes da água e na comunidade planctônica, em especial no fitoplâncton. Estes impactos irão variar significativamente em função da escala temporal e da composição da comunidade em cada ambiente invadido.

## 2.7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

APHA. American Public Health Association, 2005. “Standard methods for examination of water and wastewater”, Washington, DC.

Barbosa, N. P. U., F. A. Silva, M. D. Oliveira, M. A. S. Neto, M. D. Carvalho & A. V. Cardoso, 2016. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae): first record in the São Francisco River basin, Brazil. Check List 12: 1–6.

Boltovskoy, D., F. Sylvester, A. Otaegui, V. Leytes & D. Cataldo, 2009. Environmental modulation of the reproductive activity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* in South America. Austral Ecology 34: 719–730.

Boltovskoy, D., N. Correa, F. Bordet, V. Leites & D. Cataldo, 2013. Toxic Microcystis

- (cyanobacteria) inhibit recruitment of the bloom-enhancing invasive bivalve *Limnoperna fortunei*. *Freshwater Biology* 58: 1968–1981.
- Boltovskoy, D. & N. Correa, 2015. Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Golden Mussel) in South America. *Hydrobiologia* 746: 81–95.
- Bykova, O., Laursen, A., Bostan, V., Bautista, J., and McCarthy, L., 2006. Do zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) alter lake water chemistry in a way that favors *Microcystis* growth? *Science of the Total Environment*. 371, 362-372.
- Callieri, C. & J.S. Stockner. 2002. Freshwater Autotrophic Picoplankton: a Review. *Journal of Limnology* 61: 1–14.
- Cataldo, D., A. Vinocur, I. O'Farrell, E. Paolucci, V. Leites & D. Boltovskoy, 2012. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia*, 680, 1: 25-38.
- Conley, D.J., Paerl, H.W., Howarth, R.W., Boesch, D.F., Seitzinger, S.P., Havens, K.E., Lancelot, C., Likens, G.E., 2009. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Science* 323, 1014e1015.
- Conroy, J.D., Kane, D.D., Dolan, D.M., Edwards, W.J., Charlton, M.N., and Culver, D.A., 2005a. Temporal trends in Lake Erie plankton biomass: roles of external phosphorus loading and dreissenid mussels. *Journal of Great Lakes Research*. 31(Suppl. 2), 89-110.
- Conroy, J.D., Edwards, W.J., Pontius, R.A., Kane, D.D., Zhang, H., Shea, J.F., Richey, J.N., and Culver, D.A., 2005b. Soluble nitrogen and phosphorus excretion of exotic freshwater mussels (*Dreissena* spp.): potential impacts for nutrient remineralization in western Lake Erie. *Freshwater Biology*. 50, 1146-1162.

- Darrigran, G. & G. Pastorino, 2004. Distribution of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), (Family Mytilidae) after 10 years invading America. J Conchol Special Publication 3: 95–102.
- De Stasio, B. T., M. B. Schrimpf, & B. H. Cornwell, 2014. Phytoplankton Communities in Green Bay, Lake Michigan after Invasion by Dreissenid Mussels: Increased Dominance by Cyanobacteria. Diversity 6: 681-704.
- Dextrase, A.J. & N.E. Madrak, 2006. Impacts of alien invasive species on freshwater fauna at risk in Canada. Biological Invasions 8: 13–24.
- Devercelli, M. & E. Peruchet, 2008. Trends in chlorophyll a concentration in urban water bodies within different man- used basins. Annales de Limnologie — International Journal of Limnology 44: 75–84.
- Dionisio Pires, L. M. & Van Donk, 2002. Comparing grazing by *Dreissena polymorpha* on phytoplankton in the presence of toxic and non-toxic cyanobacteria. Freshwater Biology 47: 1855-1865.
- Fachini, A., V. Gazulha, C. S. Pedroso, 2012. Os impactos do mexilhão-dourado sobre a comunidade planctônica CAPÍTULO 23 In: Mansur, M.C., C.P. Santos, D. Pereira, I. C. Paz, M. L.Zurita, M. T. Rodriguez, M. V. Nehrke & P. E. Bergonci, 2012. Moluscos Límnicos Invasores No Brasil: Biologia, Prevenção E Controle. Porto Alegre: Redes Editora 255-261.
- Frau, D., F. R. Molina, & G. Mayora, 2016. Feeding selectivity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on a natural phytoplankton assemblage: what really matters? Limnology 17: 47–57.
- Gazulha, V., M. C. D. Mansur, L. F. Cybis & S. M. F. O. Azevedo, 2012a. Feeding behavior of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) under exposure to toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. Brazilian journal of

- biology. *Revista brasileira de biologia*. 72, 1: 41-9.
- Gazulha, V., M. C. D. Mansur, L. F. Cybis & S. M. F. O. Azevedo, 2012b. Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Brazilian journal of biology*. *Revista brasileira de biologia*. 72, 1: 33-9.
- Hamilton, S.K.; Sippel, S.J.; Calheiros, D.F.; Melack, J.M. 1997. An anoxic event and other biogeochemical effects of the Pantanal wetland on the Paraguay River. *Limnology and Oceanography* 42(2):257-272.
- Hecky, R. E., R. E. H. Smith, D. R. Barton, S. J. Guildford, W. D. Taylor, M. N. Charlton & E. T. Howell, 2004. The near shore phosphorus shunt: a consequence of ecosystem engineering by dreissenids in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61: 1285–1293.
- Higgins, S.N., & Vander Zanden, M.J., 2010. What a difference a species makes: a meta-analysis of dreissenid mussel impacts on freshwater ecosystems. *Ecological Monographs*. 80, 179-196.
- Juhel, G., J. Davenport, J. O'Halloran, S. Culloty, R. Ramsay, K. James, A. Furey & O. Allis. 2006. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. *J. Exp. Biol.* 209: 810–816.
- Karatayev, A. Y., L. E. Burlakova & D. K. Padilla, 2002. Impacts of zebra mussels on aquatic communities and their role as ecosystem engineers. In: Leppäkoski, E., S. Gollasch & S. Olenin, editors. *Invasive aquatic species of Europe: distribution, impacts and management*. *Monographiae biologicae series*. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers. 433–446.
- Karatayev, A. Y., D. Boltovskoy, D. K. Padilla & L. E. BURLAKOVA, 2007a. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels,

- contrasts, potential spread and invasion impacts. 26, 1: 205-213.
- Karatayev, A. Y., D. K. Padilla, D. Minchin, D. Boltovskoy & L. E. Burlakova, 2007b. Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. *Biological Invasions* 9: 161–180.
- Karatayev, A. Y., L. E. Burlakova & D. K. Padilla, 2015. Zebra versus quagga mussels: a review of their spread, population dynamics, and ecosystem impacts. *Hydrobiologia* 746: 97–112.
- Kawase, M., 2011. Feeding and filtration in *Limnoperna lacustris*. Available via [http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo\\_05/amckiyo-no05-05.pdf](http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo_05/amckiyo-no05-05.pdf). Accessed 11 Feb 2014 [In Japanese]
- Kelley, D.W., Herborg, L.M. and MacIsaac, H.J., 2010. Ecosystem changes associated with *Dreissena* invasions: recent developments and emerging issues. In: van der Velde, G., S. Rajagopal and A. Bij de Vaate (eds), *The zebra mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden: 199–209.
- Knoll, L.B., Sarnelle, O., Hamilton, S.K., Carrie, E.H., Wilson, A.E., Rose, A.E., and Morgan, M.R., Invasive zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) increase cyanobacterial toxin concentrations in low-nutrient lakes, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 2008, vol. 65, no. 3, pp. 448– 455.
- Laux, M. 2016. Avaliação da diversidade genética da comunidade planctônica de reservatórios de água doce tropicais, através de análise metagenômica. Tese de doutorado, Programa em Biologia Vegetal, UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 182 pp.
- Lavrentyev, P. J., W. S. Gardner, J. F. Cavaletto & J. R. Beaver, 1995. Effects of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha Pallas*) on protozoa and phytoplankton from Saginaw Bay, Lake Huron. *Journal of Great Lakes Research*, 21: 545-557.
- Lopes, A.M.M.B. 2013. Composição da comunidade de cianobactérias e outros grupos

- microbianos em dois reservatórios tropicais– Tese de doutorado, Programa em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 134 pp.
- MacIsaac, H. J., C. J. Lonner & J. H. Leach, 1995. Suppression of microzooplankton by zebra mussels: importance of mussel size. *Freshwater Biology* 34: 379–387.
- Makarewicz, J.C., T. W. Lewis & P. Bertram, 1999. Phytoplankton composition and biomass in the offshore waters of Lake Erie: pre and post *Dreissena* introduction (1983-1993). *Journal of Great Lakes Research*, vol. 25: 135-148.
- Mansur MCD, Richinitti LMZ, Santos CP, 1999. [*Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), molusco bivalve invasor, na bacia do Guaíba, RS, Brasil]. [Article in Portuguese]. *Biociências* 7:147-150.
- Mansur, M. C. D., C. D. Santos, G. Darrigran, I. Heydrich, C. T. Callil & F. R. Cardoso, 2003. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no delta do Jacuí, no lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20, 1: 75-84.
- Mansur, M.C.D.; Santos, C.P.; Pereira, D.; Bergonci, P.E.A.; Callil, C.T. 2012. Cap. 7 Moluscos Límnicos – Bivalves. p. 131-179. In: Informe sobre as Espécies Exóticas Invasoras de Águas Continentais no Brasil. Brasília, Ministério do Meio Ambiente – MMA.
- Nalepa, T.F., 2010. An overview of the spread, distribution, and ecological impacts of the quagga mussel, *Dreissena rostriformis bugensis*, with possible implications to the Colorado River system. Proceedings, Colorado River basin science and resource management symposium. coming together, coordination of science and restoration activities for the Colorado river ecosystem, Scottsdale, AZ November 18–20, 2008. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report: 2010–5135

- Nicholls, K.H., L. Heintsch & E. Carney, 2002. Univariate step-trend and multivariate assessments of the apparent effects of P loading reductions and zebra mussels on the phytoplankton of the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 28: 15-31.
- Oliveira, M.D.; Takeda, A.M.; Barros, L.F.; Barbosa, S.D.; Rezende, E.K. 2006. Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of the Pantanal wetland, Brazil. *Biological Invasions* 8(1):97-104.
- O'Neill, C.R. Jr., 2008. The Silent Invasion: Finding Solutions to Minimize the Impacts of Invasive Quagga Mussels on Water Rates, Water Infrastructure and the Environment. Hearing of the U.S. House of Representatives Committee on Natural Resources—Subcommittee on Water and Power, Washington, D.C. Available at: <http://naturalresources.house.gov/uploadedfiles/oneilltestimony06.24.08.pdf>.
- Pareschi, D. C., Matsumura-Tundisi, T., Medeiros, GR., Luzia, A. P., Tundisi, J. G. 2008. First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). *Braz. J. Biol.*, 68(4, Suppl.): 1107-1114.
- Pastorino, G.; Darrigran, G.; Martin, S. & Lunaschi, L. 1993. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor em águas Del Rio de la Plata. *Neotropica*, 39 (101-102): 34.
- Raikow D.E., Sarnelle O., Wilson A.E. & Hamilton S.K. (2004) Dominance of the noxious cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in low nutrient lakes is associated with exotic zebra mussels. *Limnology and Oceanography*, 49, 482–487.
- Ricciardi, A. Global range expansion of the Asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): Another fouling threat to freshwater systems. *Biofouling*, Chur, v. 13, n.2, p. 97-106, 1998.
- Rojas Molina, F. & S. Jose ´ De Paggi, 2008. Zooplankton in the Parana river floodplain

- (South America) before and after the invasion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia).  
Wetlands 28: 695–702.
- Rojas Molina, F., J. C. Paggi & M. Devercelli, 2010. Zooplanktophagy in the natural diet and selectivity of the invasive mollusk *Limnoperna fortunei*. Biological Invasions 12: 1647–1659.
- Rott, E. 1981. Some results from phytoplankton counting intercalibrations. Schweiz. Z. Hydrol. 43: 34–62.
- Ruckert, G. V., M. C. S. Campos, & M. E. Rolla, Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857 ): taxas de filtração com ênfase ao uso de Cyanobacteria. 4, 2004.
- Ruckert, G. & Giani, A. 2004. Effect of nitrate and ammonium on the growth and protein concentration of *Microcystis viridis* Lemmermann (Cyanobacteria). Brazilian Journal of Botany 27: 325-331.
- Sanz-Luque, E., Chamizo-Ampudia, A., Llamas, A., Galvan, A. & Fernandez, E. 2015. Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. Frontiers in Plant Science 6: article 899.
- Sarnelle O., Morrison J., Kaul R., Horst G., Wandell H. & Bednarz R. (2010) Citizen monitoring: testing hypotheses about the interactive influences of eutrophication and mussel invasion on a cyanobacterial toxin in lakes. Water Research, 44, 141–150.
- Sieburth, J., Smetacek, V. & Lenz, J. 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. Limnology Oceanography 23(6):1256-1263.
- Sylvester, F., Dorado, J., Boltovskoy, D., Juarez & Cataldo, D. Filtration rates of the invasive pest bivalve *Limnoperna fortunei* as a function of Size and Temperature. Hydrobiologia, 534(1-3), 71–80, 2005. doi:10.1007/s10750-004-1322-3

- Sylvester, F., D. Boltovskoy, D. Cataldo, 2006. Tasas de clareado: ritmos e impacto. In G. Darrigran & C. Damborenea, (Eds.). Bioinvasión del mejillón dorado en el continente americano. La Plata: Edulp.
- Sylvester F., D. Boltovskoy, D. Cataldo, 2007 The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* enhances benthic invertebrate densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia* 589: 15–27.
- Spaccesi, F. G. & A. Rodrigues Capitulo, 2012. Benthic communities on hard substrates covered by *Limnoperna fortunei* Dunker (Bivalvia, Mytilidae) at an estuarine beach (Río de la Plata, Argentina). *Journal of Limnology* 71: 144–153.
- Vanderploeg, H. A., J. R. Liebig, W. W. Carmichael, M. A. Agy, T. H. Johengen, G. L. Fahnenstiel, & T. F. Nalepa, 2001. Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* Blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58, 6: 1208-1221.
- Vanderploeg, H. A., T. F. Nalepa, D. J. Jude, E. L. Mills, K. T. Holeck, J. R. Liebig, I. A. Grigorovich & H. Ojaveer, 2002. Dispersal and emerging ecological impacts of Ponto Caspian species in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59: 1209–1228.
- Vanderploeg, Henry A., Orlando Sarnelle, James R. Liebig, Nancy R. Morehead, Sander D. Robinson, Thomash. Johengen and Geoffrey P. Horst, 2017. Seston quality drives feeding, stoichiometry and excretion of zebra mussels. *Freshwater Biology* 62: 664–680.
- Ward, B.B. 1996. Nitrification and denitrification: probing the nitrogen cycle in aquatic environments. *Microbial Ecology* 32:247-261

## CAPÍTULO 3

### **Variações limnológicas no reservatório da UHE Volta Grande após a invasão pelo mexilhão-dourado**

---

#### *Abstract*

Esta fase do trabalho teve por objetivo monitorar as características físicas, químicas e biológicas das águas do reservatório de Volta Grande (MG) nos primeiros anos após a invasão do mexilhão-dourado e compará-las com dados prévios à invasão. A hipótese de trabalho era a de que o mexilhão-dourado iria alterar as características ambientais do reservatório em duas fases, contribuindo para o aumento de nutrientes, aumento da penetração de luz (fase 1) e subsequente promoção de florações de cianobactérias tóxicas (fase 2). Os resultados corroboraram em parte a hipótese, já que revelaram que, após a invasão pelo mexilhão-dourado, houve aumento da zona fótica, do pH, condutividade elétrica, nitrito, nitrato, amônio, e houve também redução do oxigênio dissolvido, houve redução da biomassa algal e não houve variação nas densidades de cianobactérias tóxicas. Altas densidades populacionais de mexilhão-dourado foram observadas em todo o corpo do reservatório, mas com densidades mais elevadas na margem esquerda. As altas densidades populacionais associadas à intensa atividade metabólica destes bivalves podem estar contribuindo para as alterações observadas nas características limnológicas das águas do reservatório. Estas variações podem ter contribuído para as importantes variações limnológicas observadas no reservatório, com influências direta e indireta em toda biota que compõe esse ecossistema. Este trabalho permitiu confirmar em campo, impactos do mexilhão-dourado reportados na literatura em tratamentos experimentais. Três anos de invasão promoveram alterações significativas na ecologia do reservatório, sendo que os dados observados podem servir

de base para modelos preditivos, que auxiliem em formular estratégias de manejo dos impactos esperados nos locais invadidos pelo mexilhão-dourado.

*Palavras-chave:* *Limnoperna fortunei*, biomassa algal; clarificação da água; aumento de nutrientes.

### 3.1 - INTRODUÇÃO

O primeiro registro da espécie *Limnoperna fortunei* na América do Sul ocorreu no Rio da Prata, balneário de Bagliardi, Argentina (Pastorino *et al.*, 1993). Após este primeiro registro, o mexilhão-dourado tem colonizado diversos ambientes na bacia do rio da Paraná, e recentemente também foi detectado na bacia do rio São Francisco no reservatório de Sobradinho, um dos mais importantes do país (Barbosa, *et al.* 2016). Diversos reservatórios de hidrelétricas nos rios Grande, Paranaíba e Paraná foram colonizados pelo mexilhão-dourado a partir de 1998 (Mansur *et al.*, 1999; Mansur *et al.*, 2003). No ano de 2012, o organismo foi registrado pela primeira vez no reservatório de Volta Grande, localizado no rio Grande, bacia do rio Paraná. O mexilhão-dourado apresenta elevada capacidade de adaptação aos diferentes ecossistemas aquáticos, podendo aderir a quase todo tipo de substrato natural ou artificial. As incrustações formadas pelo mexilhão-dourado são volumosas, onde vários indivíduos se sobrepõem fixando-se ao substrato e entre si, pelos fios de bisso, formando assim macro aglomerados compactos (Mansur *et al.*, 2012). Densidades populacionais de *L. fortunei*, com mais de 200 mil indivíduos por metro quadrado foram reportadas (Sylvester *et al.*, 2007; Spaccesi & Rodrigues Capitulo, 2012).

As populações do mexilhão-dourado continuam crescendo em taxas alarmantes, tornando-o não apenas uma das maiores pragas biológicas no Brasil (Mansur *et al.*, 2003; Barbosa *et al.*, 2016), mas também a espécie invasora de água doce mais agressiva em toda a América do Sul (Darrigran e Damborenea, 2011).

A introdução e o estabelecimento desta espécie invasora são preocupantes porque, assim como os bivalves invasores *Dreissena polymorpha* e *Dreissena bugensis*, que invadiram Europa e América do Norte (Revisado em Karatayev *et al.*, 2015),

diversos impactos ambientais têm sido atribuídos à introdução destes invasores (Karatayev *et al.*, 1997; Strayer *et al.*, 1999; Karatayev *et al.*, 2002; Kelly *et al.*, 2010; Van der Velde *et al.*, 2010; Kawase, 2011; Cataldo *et al.*, 2012; Gazulha *et al.*, 2012b; Frau *et al.*, 2016;). Alguns trabalhos mostraram que a invasão do mexilhão-dourado reduz significativamente a turbidez e a matéria orgânica em suspensão na coluna de água e ao mesmo tempo aumenta as concentrações de amônia, nitrato e fosfato (Kawase, 2011; Cataldo *et al.*, 2012). Efeitos também observados para *Dreissena* (Karatayev *et al.*, 2002). Além dos impactos nas propriedades físicas e químicas da água, alterações adversas nas comunidades hidrobiológicas são também reportadas. O favorecimento ao crescimento do perifíton e de macrófitas aquáticas pela invasão do mexilhão-zebra, também foi reportada para o mexilhão-dourado (Cataldo *et al.*, 2012a; Boltovskoy *et al.*, 2009). No reservatório de Rio Tercero, na Argentina, a macrófita *Callitrichoides elodea* aparentemente se tornou muito mais abundante depois que o corpo d'água foi invadido pelo mexilhão-dourado (Boltovskoy *et al.*, 2009). Para a comunidade zooplantônica, observou-se que os Rotíferos caíram em abundância após a invasão, enquanto cladóceros e copépodes não foram afetados (Rojas Molina & Jose De Paggi, 2008). Efeito também relatado para o mexilhão-zebra (MacIsaac *et al.*, 1995). A chegada dos mexilhões tem favorecido a comunidade zoobentônica, como relatado em diversos trabalhos que evidenciaram aumento da diversidade e aumento da biomassa destas comunidades (Burlakova *et al.*, 2012; revisado em Karatayev *et al.*, 2015). Como notado por Burlakova *et al.*, (2012), agregados formados pelos mexilhões formam uma camada de substratos nos fundos de rios, lagos e reservatórios, criando habitat para espécies que seriam pouco frequentes, especialmente nos ambientes com predominância de sedimentos finos, proporcionando-lhes abrigo e alimento, e conseqüentemente aumentando a diversidade e biomassa de macroinvertebrados

benéficos nestes locais. Dentre as modificações provocadas pelos bivalves invasores nos ambientes que invadem, os impactos sobre a comunidade fitoplanctônica e de cianobactérias são as mais investigadas e discutidas na literatura.

Em Saginaw Bay e Lago Erie, localizados na região dos Grandes Lagos na América do Norte, ocorrências de *Blooms* de *Microcystis aeruginosa*, que não eram mais registradas após o controle da entrada de fósforo no sistema, voltaram a ocorrer após o estabelecimento do mexilhão-zebra (Vanderploeg *et al.*, 2001). Neste mesmo trabalho, Vanderploeg *et al.* (2001) observaram filtração seletiva pelo mexilhão-zebra, que eliminava através das pseudofezes, as microcistinas tóxicas. Fator que poderia contribuir para o Bloom destes organismos.

Alguns trabalhos experimentais em laboratório observaram a interação do mexilhão-dourado com populações de cianobactérias. O primeiro trabalho avaliou as taxas de filtração de *L. fortunei* sobre as espécies *Selenastrum capricornutum*, *Microcystis viridis* e *Pseudanabaena* sp. (Rückert *et al.*, 2004), e mostraram que não houve variação nas taxas de filtração pelo mexilhão-dourado entre estas diferentes espécies (Rückert *et al.*, 2004). Outros trabalhos mostraram que o mexilhão-dourado filtrava as células individuais de *Microcystis* sp. tóxicas (Gazulha *et al.*, 2012a), mas assim como o mexilhão-zebra, expelia através das pseudofezes as colônias destes organismos e também as células filamentosas de *Planktothrix* (Gazulha *et al.*, 2012b).

Cataldo *et al.*, 2012, fizeram testes em escala de mesocosmos no reservatório de Salto Grande no Uruguai. Tanques de 400 litros foram colocados com mexilhões junto à *Microcystis* sp.. O trabalho mostrou que a amônia e o fosfato aumentaram nos tanques colonizados pelo mexilhão. A população de *Microcystis* sp. teve crescimento significativamente maior nos tanques com mexilhões comparados àqueles não colonizados. Segundo esses autores, esse fato ocorre provavelmente porque os

mexilhões modificaram as concentrações de nutrientes da água, e ao mesmo tempo promoveram um aumento de *Microcystis* sp. coloniais, em comparação às células solitárias, favorecendo desta forma a ocorrência de florações de cianobactérias.

A filtração seletiva associada ao aumento da concentração de nutrientes após a invasão pelos mexilhões Quaga e Zebra, tem sido identificado como as causas das florações tóxicas de *M. aeruginosa* na América do Norte e Europa (Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2009; Conroy *et al.*, 2005a, b; Bykova *et al.*, 2006; De Stasio *et al.*, 2014). Por outro lado, outros trabalhos mostraram que o mexilhão-zebra apresentava ativo consumo e conseqüente redução das densidades populacionais de *M. aeruginosa* (Dionísio Pires *et al.*, 2004, 2005, 2010; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2013, 2017). Os trabalhos de Sarnelle *et al.* (2005; 2012), mostraram que o efeito positivo do mexilhão-zebra sobre as populações de cianobactérias tóxicas ocorria apenas nos locais com baixa ou até moderadas concentrações de fósforo, mas que não ocorria nos locais com alta concentração deste nutriente. Vanderploeg *et al.* (2013) mostraram que o consumo e impactos do mexilhão-zebra sobre as populações de cianobactérias podem variar em função da linhagem destas cianobactérias.

Muitos estudos que avaliaram os impactos causados pelo mexilhão-dourado foram realizados em laboratório ou em estrutura de mesocosmo. No entanto, a única pesquisa de campo em longo prazo disponível na literatura é a desenvolvida por Boltovskoy *et al.* (2009) em Embalse de Río, na Argentina central, entre os anos de 1996 e 2008. No período estudado, os autores observaram que a amônia aumentou 400%, o nitrogênio total 300% e o fosfato dobrou. Portanto, os efeitos potenciais que a invasão do mexilhão-dourado poderá causar nos reservatórios invadidos são de grande relevância ambiental e econômica, considerando que boa parte das bacias invadidas na América do Sul é composta de reservatórios em cascata.

A bacia do Rio Grande é a segunda maior do estado de Minas Gerais e drena 15% de sua área, sendo que 60% da área da bacia estão em território mineiro e o restante no estado de São Paulo. Estudos realizados nos anos de 2011 e 2012, portanto antes da invasão pelo bivalve, que se deu no ano de 2012, mostravam registros de espécies não tóxicas de cianobactérias (p. ex. pertencentes aos gêneros *Chroococcus*, *Aphanocapsa*, *Aphanotece*, etc.), que eram naquela época as mais abundantes no ambiente. Também foram registradas espécies potencialmente tóxicas de cianobactérias (na sua maioria pertencente ao gênero *Microcystis*), que até aquele momento eram detectadas em densidades baixas (Giani *et al.*, dados não publicados). Estes estudos também indicaram concentrações baixas e médias de nitrato, fosfato e fósforo total nas águas do reservatório.

Este trabalho teve por objetivo monitorar as características físicas, químicas e biológicas das águas do reservatório de Volta Grande nos primeiros anos após a invasão do mexilhão-dourado e comparar os dados obtidos após a invasão com os dados observados antes do registro da espécie. Para isso, foi utilizado o mesmo método de amostragem dos estudos anteriores de Giani *et al.* (dados não publicados), sendo algumas das estações de coleta mantidas, e outras foram acrescentadas. Os dados do período anterior à invasão foram usados para comparação com os obtidos neste estudo. A hipótese de trabalho testada era a de que o mexilhão-dourado iria alterar a qualidade da água do reservatório, contribuindo para o aumento da concentração de nutrientes e aumento da penetração de luz em um primeiro momento. Essas alterações poderiam, potencialmente, levar a um aumento das densidades populacionais de cianobactérias, em um segundo momento.

### **3.2 - ÁREA DE ESTUDO**

A região do alto Rio Paraná está localizada no Brasil, no norte-noroeste do Estado do Paraná, no sul-sudeste de Mato Grosso do Sul, no sul de Goiás, no sudoeste de Minas Gerais, na porção ocidental do Estado de São Paulo, e uma estreita área do Paraguai oriental. De acordo com Zalán *et al.* (1986) esta bacia está inserida na bacia sedimentar do Paraná e apresenta cerca de 1.900 km de comprimento. O trecho da bacia em estudo (mapa da Figura 1), corresponde às sub-bacias do rio Grande e rio Paranaíba na divisa de estados, entre Goiás, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e São Paulo, parte alta da bacia do rio Paraná, e baixa das sub-bacias dos rios Paranaíba e Grande. É uma região com grande disponibilidade hídrica, que é bastante utilizada para produção e geração de energia elétrica por meio de uma cadeia de hidrelétricas, além de agricultura e pecuária extensivas. A bacia do rio Grande é a segunda maior do estado de Minas Gerais, onde encontra-se o reservatório de Volta Grande, que abrange os municípios de: Conceição das Alagoas, Água Comprida e Uberaba, no estado de Minas Gerais, e Miguelópolis, Ituverava, Aramina e Igapava, no estado de São Paulo. O reservatório da UHE Volta Grande, área de estudo deste trabalho, encontra-se na divisa entre os estados de Minas Gerais e São Paulo.

### **3.3 - MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.3.1 - Estabelecimento da rede amostral**

Foram estabelecidas cinco estações amostrais, distribuídas no corpo do reservatório de Volta Grande, próximas às estações monitoradas no trabalho de Giani *et al.*, (dados não publicados), a fim de comparação com os dados históricos antes da invasão pelo mexilhão-dourado (Figura 1).

Toda a metodologia de coleta e transporte levaram em consideração os procedimentos de biossegurança para que não houvesse risco de contaminação tanto de cianobactérias quanto de mexilhão-dourado em novos ambientes. A rede de amostragem foi proposta a partir da análise cartográfica devidamente avaliada e redimensionada durante o reconhecimento de campo, no qual foram visitadas e percorridas as respectivas áreas de influência. Em todas as estações realizou-se a localização precisa com obtenção das coordenadas geográficas dos pontos (latitude, longitude obtidas por meio de GPS modelo MAP 62 SX marca GARMIM), efetuou-se a documentação fotográfica e a caracterização física dos habitats por meio do preenchimento de fichas de campo.

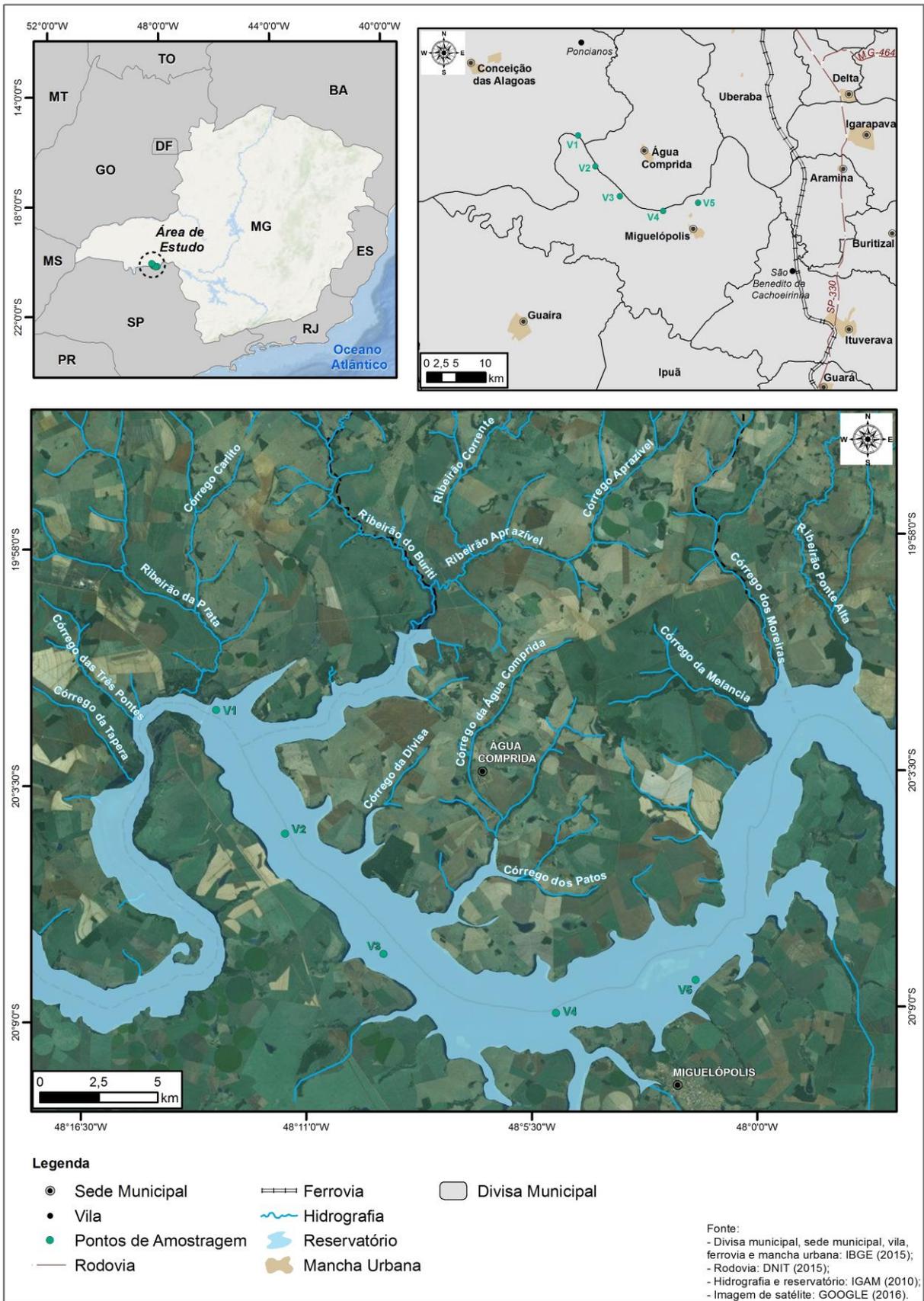


Figura 1: Mapa das estações que compõem a rede amostral no reservatório de Volta Grande.

### **3.3.2 - Amostragem e análise dos parâmetros físicos e químicos da água**

Em cada estação amostral foram coletados parâmetros físico-químicos das águas, para a determinação da qualidade da água e para caracterização dos ambientes. Os parâmetros oxigênio dissolvido, pH, temperatura e condutividade elétrica foram determinados "in situ", através de sonda multiparamétrica da marca YSI modelo Professional Plus. Para os demais parâmetros, turbidez, fósforo total e dissolvido, nitrogênio total e série nitrogenada (amônio, nitrato, nitrito), foram coletadas amostras de água, que após serem refrigeradas, foram enviadas ao laboratório para análise, sempre seguindo os métodos de coleta, preservação, armazenamento e análise descritos nas normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT e do “*Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*”.

### **3.3.3 - Amostragem de parâmetros biológicos**

Os organismos fitoplancônicos foram coletados através de redes de plâncton com tamanho de poros de 20 micra, em arrastos horizontais por 3 minutos, para análises qualitativas. Para análises quantitativas foram coletados 500 ml de água através de mangueira de silicone, integrando a zona eufótica (calculada pela profundidade do disco de Secchi). As amostras foram armazenadas em frascos de 250 ml e imediatamente fixadas com lugol acético. As larvas de mexilhão-dourado foram coletadas através de rede de plâncton de poros de 35 micras em arrastos verticais, sendo cinco arrastos de 10 metros de profundidade, e também arrastos horizontais por 3 minutos, com o volume de água medido por fluxômetro acoplado na rede coletora. As amostras foram fixadas com etanol 70%.

A análise qualitativa do fitoplâncton foi realizada pipetando-se uma pequena alíquota da amostra preservada e depositando em lâmina de vidro, cobrindo-a com uma

lamínula e o material foi levado ao microscópio, sendo observado nos aumentos 40, 100, 200 e 1000X, utilizando-se óleo de imersão para o último aumento. Os organismos foram observados utilizando-se a ocular de medição a fim de realizar a identificação até o menor nível taxonômico possível, com base em chaves taxonômicas de referência como, por exemplo: Bicudo & Bicudo (1970), Bicudo & Menezes (2006), Sant'anna *et al.* (2006) e Bourrelly (1981). Quando necessária a mucilagem foi evidenciada utilizando-se a tinta nanquim. A análise quantitativa do fitoplâncton e contagem de cianobactérias foi realizada transferindo-se 1L da amostra preservada, para proveta de vidro de 1000mL deixando-a em repouso tampada com papel alumínio por no mínimo 24 horas. Após esse tempo, a amostra foi concentrada por meio de sifonamento, vagarosamente, retirando-se o sobrenadante. Para a quantificação do fitoplâncton foi transferido 1 ml da amostra concentrada para a câmara Sedgwick-Rafter e levou-se ao microscópio, utilizando o retículo de Whipple. A contagem foi feita por faixas ou por campos segundo a distribuição de Poisson, a qual obtém um intervalo de confiança de  $95 \pm 20\%$  para 100 organismos predominantes. As análises das densidades larvais de mexilhão-dourado foram realizadas através de microscopia óptica, com microscópio invertido LABOVERT FS da marca Leitz no aumento de 4X com a objetiva de 0, 12. Para a identificação das larvas colocou-se parte da amostra contida em tubo Falcon numa placa acrílica quadriculada. Todos os quadrados foram verificados, o que permitiu analisar todo o volume filtrado durante a coleta. Foram tomadas medidas qualitativas, da presença ou ausência de larvas na amostra, como também quantitativa e de densidades larvais presentes na amostra. A densidade de organismos foi obtida a partir do volume filtrado medido durante a amostragem. Ao final da análise de cada amostra, a placa foi criteriosamente lavada com água destilada e álcool 70%, certificando-se de que não permaneceram larvas aderidas, garantido que não houvesse contaminação

cruzada entre amostras. Durante a amostragem de janeiro de 2015 foram coletados adultos de *L. fortunei*, para estimativa das densidades. Em cada estação amostral, previamente marcada, foram realizados três transectos longitudinais, contemplando amostragens nas margens e no centro do reservatório. Em cada estação foram coletadas nove amostras, totalizando quarenta e cinco ao longo da rede amostral. As amostras foram coletadas através de draga de Eckman, fixadas com álcool 70% e enviadas para o laboratório para análise sob estereomicroscopia. Os organismos foram contados e medidos através de um paquímetro digital.

### **3.3.4 Análise estatística dos dados**

Os dados foram analisados entre as estações amostrais, no intuito de avaliar sua distribuição espacial e as características do reservatório como um todo; entre as coletas, para avaliação das variações sazonais e possíveis tendências no tempo; e também foi feita a confrontação dos dados ambientais de antes da invasão pelo mexilhão-dourado e após a invasão, buscando entender possíveis variações que pudessem estar correlacionadas com a invasão pelo bivalve. O tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o *software Statistica*, versão 7.0. Para os casos em que havia distribuição normal dos dados, foi utilizado o teste de Análise de Variância de Um Fator, também chamada de ANOVA *One Way*. Nos casos em que a variável independente possuía somente até dois níveis de variação, foi utilizado o teste *t* de *Student*.

## 3.4 - RESULTADOS

### 3.4.1 Parâmetros físicos e químicos

Os parâmetros físicos e químicos das águas, monitorados ao longo das nove coletas mensais, assim como os obtidos antes da invasão pelo mexilhão-dourado são apresentados e discutidos a seguir. Os resultados mostram que os parâmetros não variaram significativamente entre as estações amostradas, revelando homogeneidade das características das águas do reservatório, dentro do trecho monitorado. A única exceção se deu para o parâmetro de zona fótica, que apresentou maior clarificação das águas quanto mais próxima do barramento era a estação amostral. Os resultados mostraram ainda que, zona fótica, pH, condutividade elétrica e os nutrientes nitrito, nitrato e amônio subiram significativamente após a invasão do mexilhão-dourado. O oxigênio dissolvido reduziu após a invasão do bivalve, enquanto temperatura, e os nutrientes fosfatados (Fósforo Total e Fósforo Solúvel), não variaram de forma significativa após a invasão pelo bivalve.

As figuras de dois a oito mostram a comparação dos dados monitorados antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado.

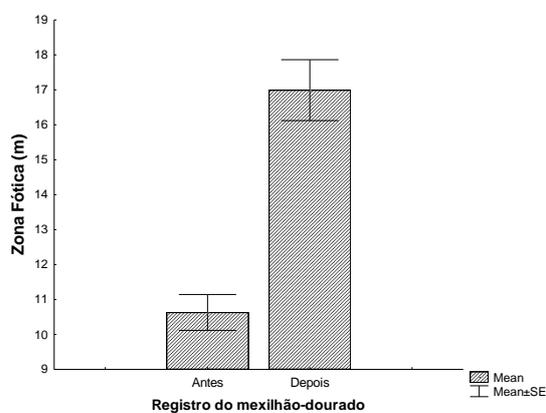


Figura 2: Variação da zona fótica no reservatório de Volta Grande, antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

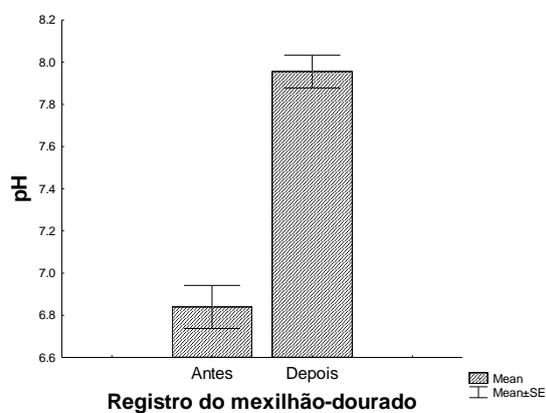


Figura 3: Variação do pH da água antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

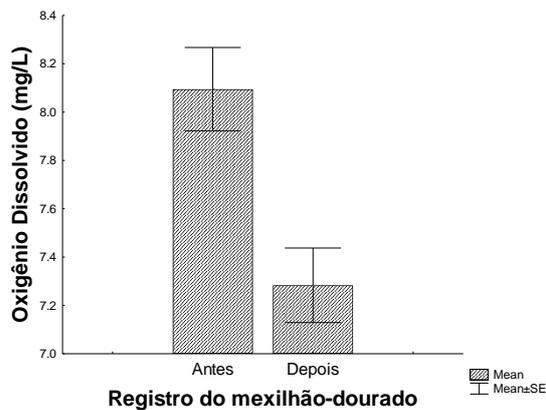


Figura 4: Variação do Oxigênio Dissolvido na água antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

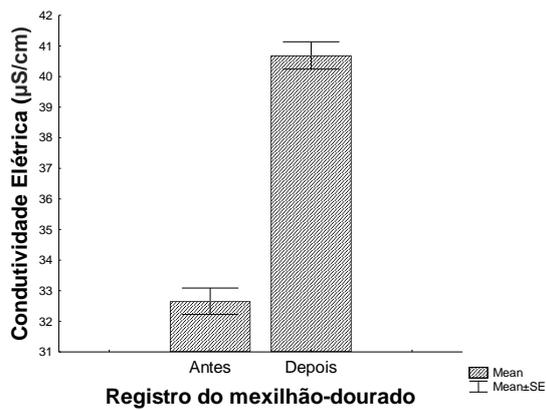


Figura 5: Variação da Condutividade Elétrica da água entre as coletas ( $P < 0.001$ ).

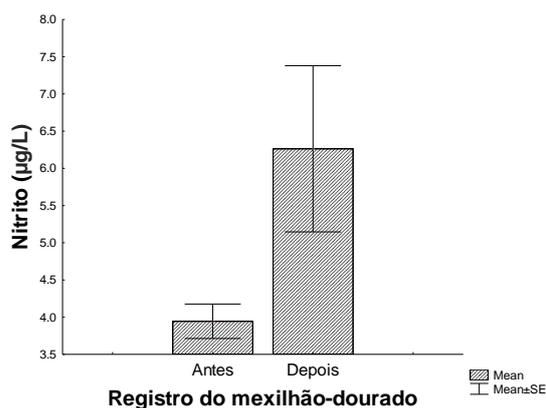


Figura 6: Variação Nitrito na água antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

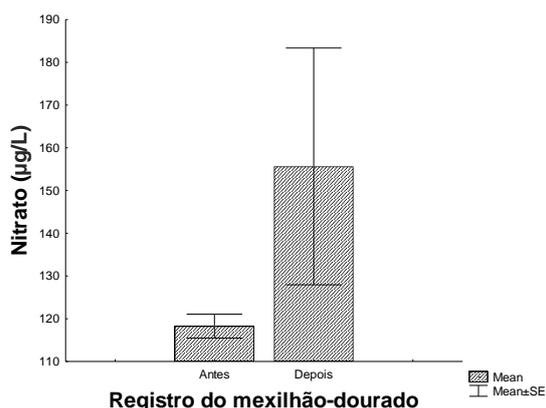


Figura 7: Variação Nitrato na água antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

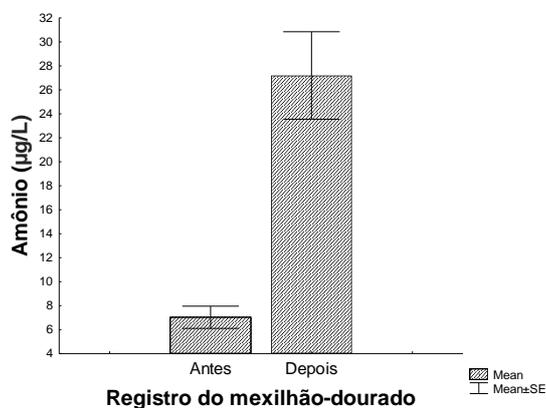


Figura 8: Variação do Amônio na água antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

As figuras de 9 a 20 mostram as variações dos dados monitorados no reservatório de Volta Grande, entre junho de 2013 e janeiro de 2015, que correspondem aos primeiros anos de invasão do molusco.

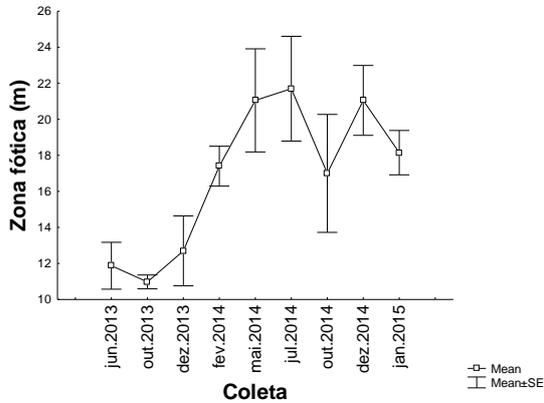


Figura 9: Variação da zona fótica entre as coletas.

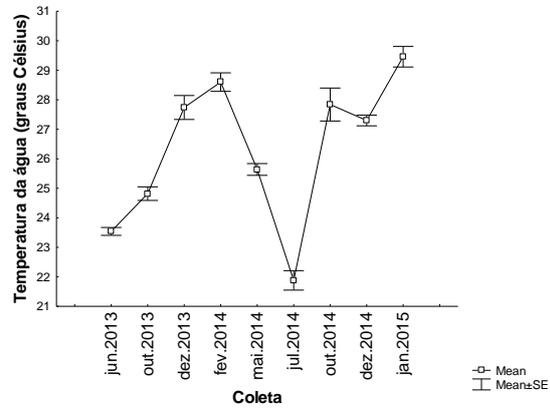


Figura 10: Variação da Temperatura da água entre as coletas ( $p < 0.001$ ).

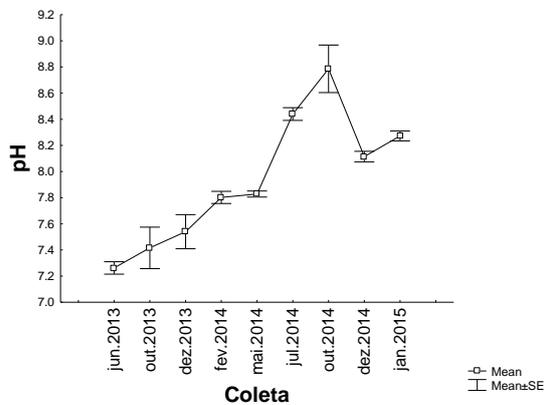


Figura 11: Variação do pH da água entre as coletas ( $P < 0.001$ ).

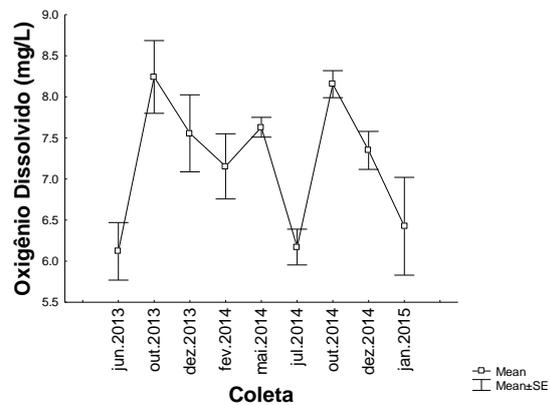


Figura 12: Variação do Oxigênio Dissolvido na água entre as coletas.

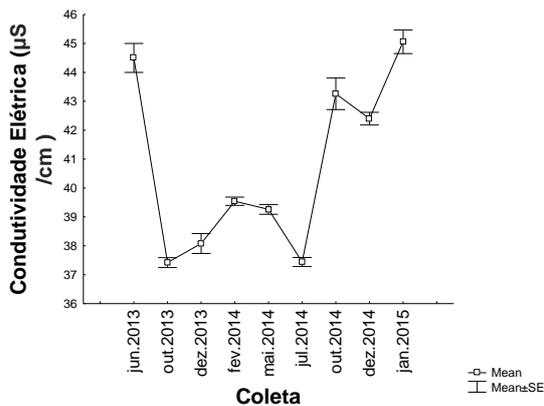


Figura 13: Variação da Condutividade Elétrica da água entre as coletas.

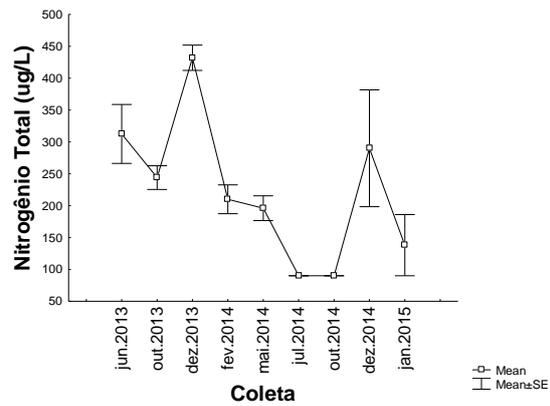


Figura 14: Variação do Nitrogênio Total da água entre as coletas.

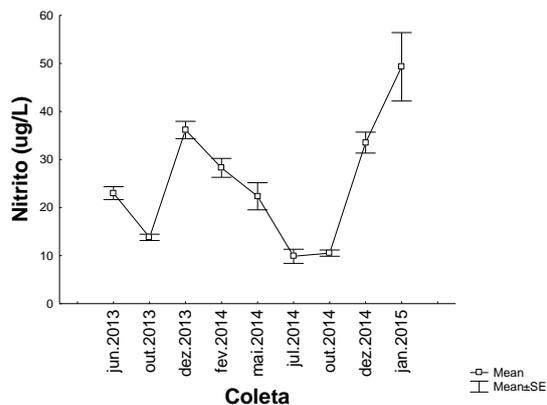


Figura 15: Variação Nitrito na água entre as coletas (P<0.001).

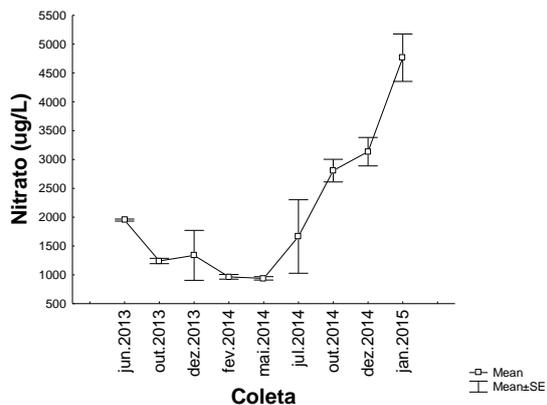


Figura 16: Variação Nitrato na água entre as coletas (P<0.001).

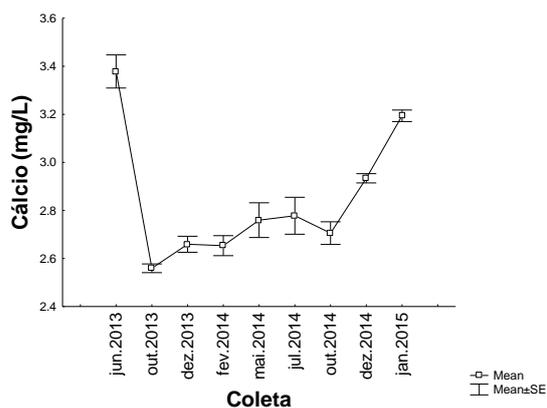


Figura 17: Variação do Cálcio Dissolvido na água entre as coletas.

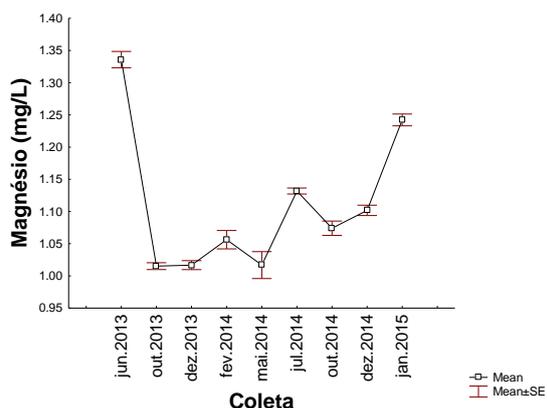


Figura 18: Variação do Magnésio Dissolvido na água entre as coletas.

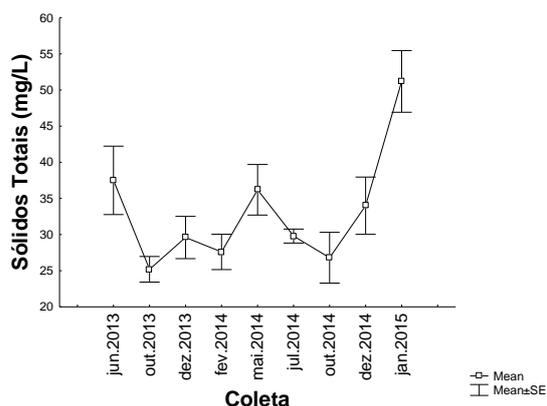


Figura 19: Variação dos Sólidos Totais da água entre as coletas.

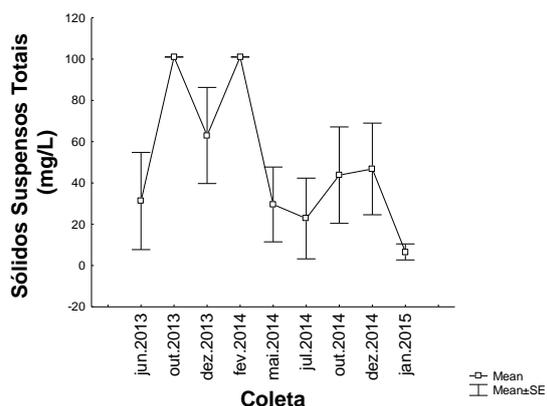


Figura 20: Variação dos Sólidos Suspensos Totais na água entre as coletas.

### 3.4.2 - Parâmetros hidrobiológicos

#### 3.4.2.1 Clorofila-*a* (BIOMASSA)

Os resultados evidenciaram baixas concentrações de Clorofila *a* em todas as estações amostrais e ao longo do período monitorado (Figura 21). Houve forte redução na Clorofila *a* nas águas do reservatório de Volta Grande, após a invasão pelo mexilhão-dourado (Figura 22).

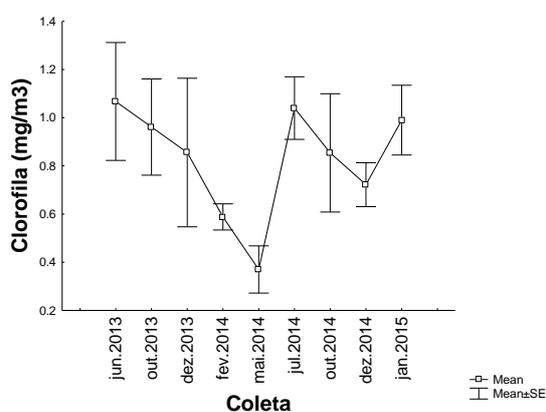


Figura 21: Variação das concentrações de Clorofila *a* entre as coletas.

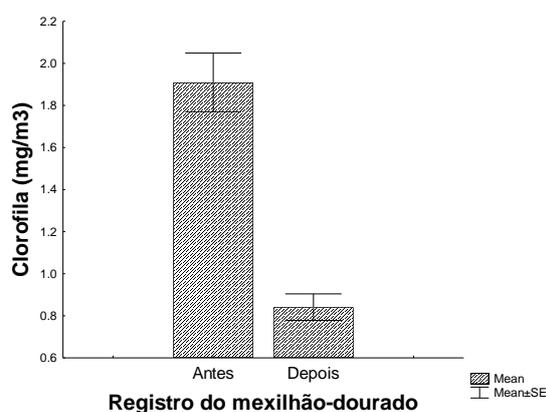


Figura 22: Variação das concentrações de Clorofila *a* antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0,001$ ).

#### 3.4.2.2 Biovolume planctônico (Cianobactérias e fitoplâncton)

Não houve variação do biovolume de cianobactérias medidas antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $p = 0,428$ ). Já o biovolume total de fitoplâncton reduziu significativamente após a invasão do bivalve, como exposto no gráfico da figura 23.

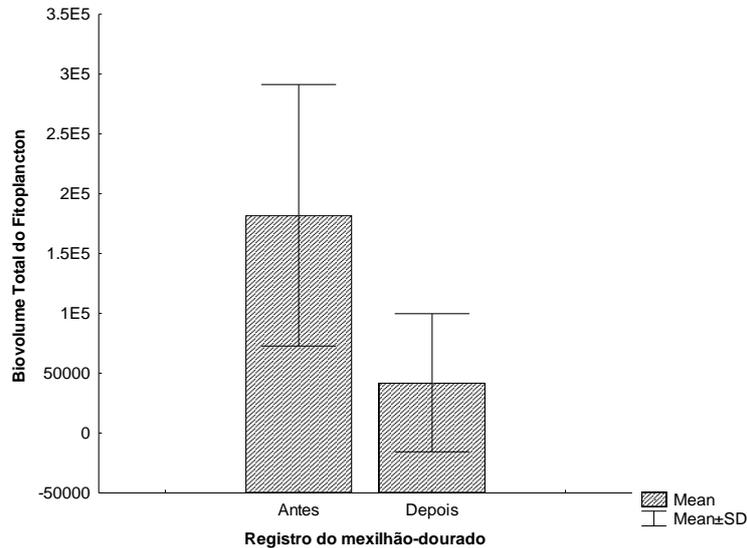


Figura 23: Variação do biovolume fitoplanctônico antes e após a invasão pelo mexilhão-dourado ( $P < 0.001$ ).

### 3.4.2.3 Densidades larvais de mexilhão-dourado

A densidade de larvas de mexilhão-dourado foi avaliada a partir de junho de 2013. O gráfico da figura 24 evidencia o alto desvio padrão nos dados observados, sem, portanto, evidenciar tendências ao longo do período monitorado e variações sazonais. Também não foi observada correlação com os demais dados físicos, químicos e biológicos avaliados nesta fase do estudo.

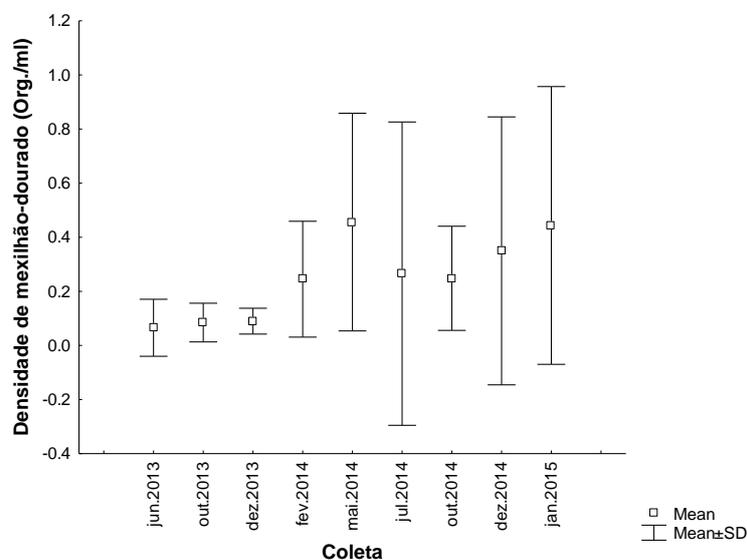


Figura 24: Variação das densidades larvais de mexilhão-dourado entre as coletas.

Os resultados indicaram densidade média de 94 ind./m<sup>2</sup>, com comprimento médio de 9,7 cm. Não houve variação da densidade de adultos entre as estações amostrais, no entanto houve variação significativa de organismos na margem esquerda, comparado à margem direita e centro (Figura 25) e também variação do comprimento valvar entre os mexilhões de margem e centro (Figura 26).

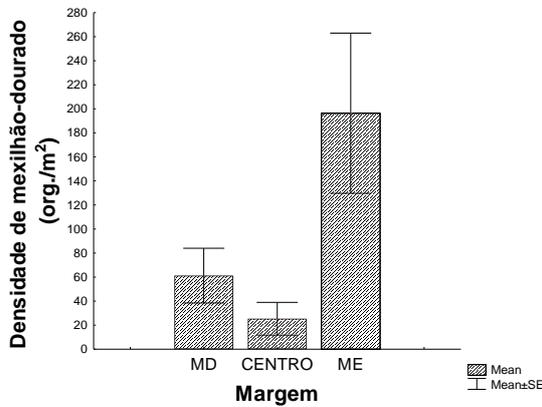


Figura 25: Densidade de adultos de *L. fortunei* (Indiv./m<sup>2</sup>) nas margens direita (MD), esquerda (ME) e centro ( $p < 0.001$ ).

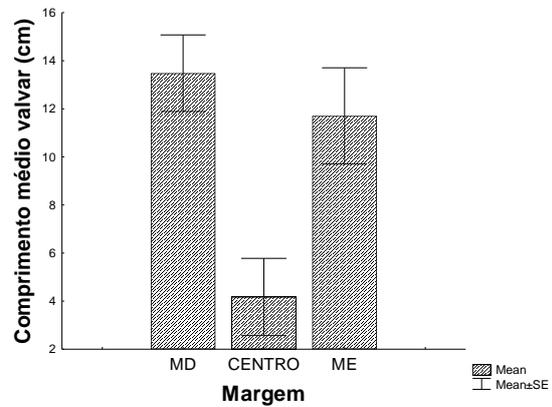


Figura 26: Comprimento médio valvar das conchas de adultos de *L. fortunei* (cm) nas margens direita (MD), esquerda (ME) e centro ( $p < 0.001$ ).

A composição da comunidade fitoplanctônica antes e após a invasão do mexilhão-dourado é apresentada nos gráficos das figuras 27 e 28. Os resultados mostram menor dominância de grupos antes da invasão pelo molusco, e aumento da dominância de organismos Criptófitos. Houve redução de organismos Crisófitos, Euglenófitos e Dinófitos.

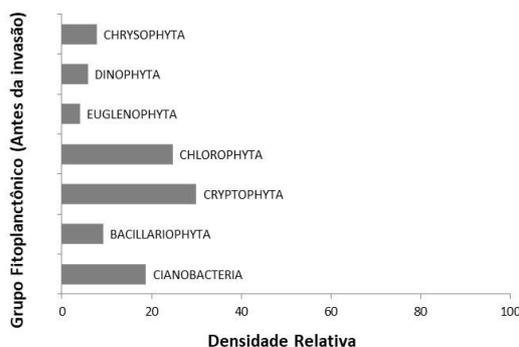


Figura 27: Densidade relativa média dos principais grupos fitoplanctônicos antes da invasão pelo mexilhão-dourado.

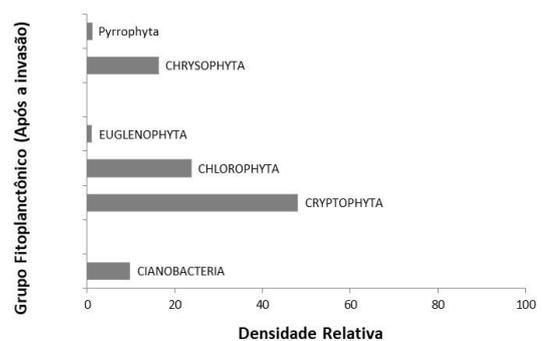


Figura 28: Densidade relativa média dos principais grupos fitoplanctônicos após a invasão pelo mexilhão-dourado.

A riqueza de organismos fitoplanctônicos, monitorada após a invasão indicam uma tendência de queda, apontada no gráfico da figura 29.

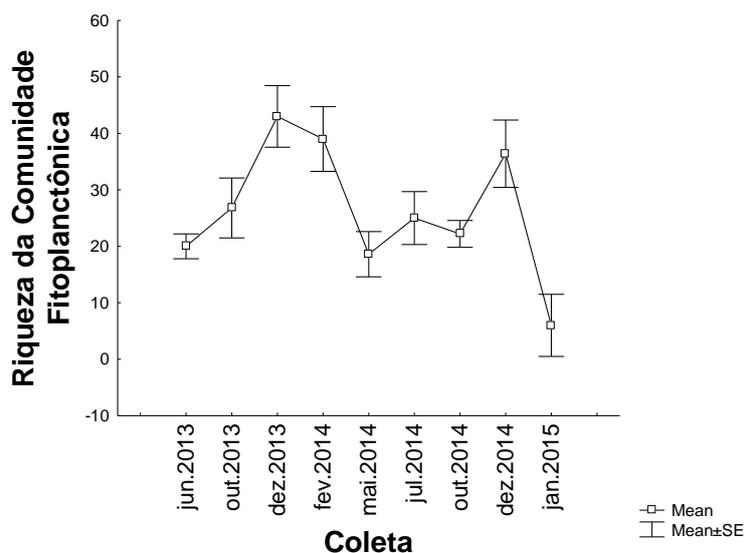


Figura 29: Riqueza da comunidade fitoplanctônica observada no reservatório de Volta Grande entre as coletas.

### 3.5 – DISCUSSÃO

Alterações importantes nas características físicas, químicas e hidrobiológicas foram observadas após a invasão pelo mexilhão-dourado. Os resultados mostraram que a concentração de nutrientes e a transparência das águas aumentaram após a invasão pelo mexilhão-dourado, enquanto a biomassa algal, concentração de clorofila, e riqueza de fitoplâncton diminuíram. É importante destacar inicialmente que, o reservatório de Volta Grande, afetado pela invasão do mexilhão-dourado, é um ecossistema sujeito a outros de impactos antrópicos. Salienta-se então que, variações que ocorrerem no reservatório podem tanto sido originados por outros fatores.

A hipótese de que ocorreria um aumento na concentração de nutrientes após a invasão se concretizou, corroborando com as observações Cataldo *et al.* (2012) e Kawase, (2011), que também observaram aumento nas concentrações de amônio, nitrato

e fosfato como consequência da presença de *L. fortunei*. Diversos trabalhos mostraram o mesmo efeito na presença do mexilhão-zebra (revisado em Vanderploeg *et al.*, 2002, 2017; Karatayev *et al.*, 2002, 2007a, b; Higgins & Vander Zanden, 2010; Kelley *et al.*, 2010; Nalepa, 2010; De Stasio *et al.*, 2014). O aumento das concentrações de nutrientes provocado pela introdução dos bivalves invasores parece, portanto, ser conclusiva e esperada para diferentes ecossistemas, mesmo em ambientes de grande porte e volume de águas, como no caso do reservatório de Volta Grande. O processo de excreção do mexilhão-zebra converte material orgânico particulado, que é biologicamente inutilizável para vários organismos, em formas dissolvidas disponíveis biologicamente, desta forma podendo afetar a ciclagem de carbono e nutrientes, quando a densidade dos invasores estiver alta (James *et al.*, 2001). O processo de filtração dos moluscos promove seletividade alimentar em diferentes níveis (Shumway *et al.*, 1985; Baker *et al.*, 2000). Em todas as etapas de pré-ingestão, algumas partículas negativamente selecionadas são envolvidas em muco que, através do sifão inalante, são expelidas pelo organismo em forma de pseudofeces (Gazulha *et al.*, 2012b). Considerados organismos com ciclo de vida curto, Boltovskoy & Cataldo (1999) estimaram a longevidade do mexilhão-dourado em até aproximadamente três anos de idade para localidades da América do Sul. Desta forma, podemos verificar que o mexilhão-dourado, promove o aporte de nutrientes na água de diferentes maneiras, seja pela constante atividade de filtração, produção de pseudofeces e excretas, como também pela própria morte de indivíduos. Além disso, a própria redução da biomassa algal, observada após a invasão pelo molusco, reduz a demanda de nutrientes e conseqüentemente aumenta sua disponibilidade e concentrações nas águas.

Apesar do aumento das concentrações de nutrientes, a hipótese de que populações de cianobactérias aumentariam após a invasão, como consequência do

aumento de nutrientes e sucesso competitivo provocado pela filtração seletiva do mexilhão-dourado, não foi observado em Volta Grande, no período monitorado. É importante, porém destacar que, 1 – as concentrações de nutrientes na água apesar de ter aumentado significativamente após a invasão, podem ainda ser consideradas bastante baixas no sentido de promover florações de cianobactérias. e, 2 - existem vários tipos de cianobactérias, e que nem todas são favorecidas pelo aumento de nutrientes, por exemplo as que constituem o grupo das picocianobactérias.

Vanderploeg *et al.*, 2013 mostraram que os efeitos do mexilhão-zebra sobre cianobactérias tóxicas variam em função da linhagem, alterando principalmente a filtração seletiva pelo bivalve. No caso do reservatório de Volta Grande, foram registradas cianobactérias do grupo “picocianobactéria” (Lopes, 2013; Laux, 2016). Vanderploeg *et al.* (2017) descreve que a excreção e os impactos dos mexilhões zebra e quagga são altamente dependentes do contexto, variando com a composição de algas, estequiometria e abundância do seston, e taxa de filtração. Sarnelle *et al.* (2012), verificaram que os diversos trabalhos que reportavam o aumento das cianobactérias em função da presença do mexilhão-zebra estavam associados a locais oligotróficos, com baixas concentrações de fósforo na água. No reservatório de Volta Grande, apesar das baixas concentrações de fósforo e da presença do bivalve invasor, as densidades de cianobactérias potencialmente tóxicas não aumentaram no período monitorado.

Chama-se a atenção de que, além do aumento da concentração de nutrientes, houve significativa redução da biomassa algal e maior predominância de alguns grupos fitoplanctônicos após a invasão pelo bivalve. Ou seja, ambos os fatores descritos por trabalhos anteriores como causas de florações de cianobactérias tóxicas associadas à invasão por bivalves de água doce. Aumento na concentração de nutrientes (Lavrentyev *et al.*, 1995; Makarewicz *et al.*, 1999; Vanderploeg *et al.*, 2001, 2013; Nicholls *et al.*,

2002; Juhel *et al.*, 2006; Cataldo *et al.* 2012), filtração seletiva (Vanderploeg *et al.*, 2001; Frau *et al.*, 2016; Silva & Giani 2018). A densidade média de adultos de *L. fortunei*, observada em Volta Grande foi de 94 Ind./m<sup>2</sup>, com locais de picos de até 280 Ind./m<sup>2</sup>, ou seja, todos com médias muito abaixo do descrito para algumas localidades invadidas, que chegam a 200 mil Ind./m<sup>2</sup> (Sylvester *et al.*, 2007; Spaccesi & Rodrigues Capitulo, 2012). Considerando que os resultados obtidos neste trabalho descrevem os primeiros anos de invasão pelo bivalve, é possível que as densidades do molusco aumentem de maneira muito importante e que por consequência potencializem os impactos observados, aumento da penetração de luz e de nutrientes da água, redução na biomassa algal e favorecimento de grupos planctônicos. Todas, alterações que poderiam culminar em florações de cianobactérias tóxicas nos próximos anos de invasão.

Dentre as variações importantes observadas nas águas de Volta Grande, destaca-se o aumento da zona fótica. A zona fótica da água corresponde à profundidade na qual temos 1% de penetração de luz e, portanto, é considerado o limite para produção primária da maioria das espécies. Os resultados evidenciaram que após as três primeiras coletas, a partir de fevereiro de 2014, portanto após a invasão pelo molusco, as águas apresentaram maior penetração da luz, mesmo quando consideramos sazonalidade, que em geral influenciam fortemente na variação deste parâmetro. As águas no reservatório de Volta Grande, mesmo com águas historicamente com alto grau de transparência, aumentaram a zona fótica em todas as estações amostrais monitoradas após a invasão pelo mexilhão-dourado. O aumento da penetração da luz causado pelo mexilhão-dourado também foi apontado nos trabalhos de Boltovskoy *et al.* (2009), Kawase (2011).

O aumento da zona fótica também já foi descrito como consequência da invasão por dreissenídeos nos estudos de Strayer *et al.* (1999), Vanderploeg *et al.* (2002),

Higgins & Vander Zanden (2010) Geisler *et al.* (2016). Este último trabalho (Geisler *et al.*, 2016) registrou o aumento da zona fótica nas águas de 53 lagos da América do Norte e Europa, invadidos por mexilhões dreissenídeos, e os autores desenvolveram um modelo preditivo baseado neste aumento da penetração da luz. O modelo desenvolvido por Geisler *et al.* (2016) revela que os aumentos na transparência das águas são diferentes para as zonas litorâneas e pelágicas, aumentando entre 50-78% dos valores registrados antes da invasão na zona litorânea, embora com diferenças menos pronunciadas na zona pelágica, onde aumentos de 31-49% foram observados (Yu & Culver 1999, Higgins & Vander Zanden, 2010). O aumento da zona fótica foi maior nos lagos em que havia a invasão dos mexilhões quagga e zebra ao mesmo tempo (Geisler *et al.*, 2016). De acordo com esses autores, isso ocorreu porque, enquanto o mexilhão-zebra coloniza em grande número apenas a área litorânea, os mexilhões quagga tendem a ser encontrados em águas mais profundas e mais frias dos lagos (Vanderploeg *et al.*, 2002), além das áreas litorais. Os dados observados neste trabalho mostraram que o mexilhão-dourado provocou um aumento médio de 59% na zona fótica do reservatório. O mexilhão-dourado estava presente tanto nas regiões litorâneas como as pelágicas do reservatório, apesar de densidades maiores terem sido encontradas nas margens do reservatório, e em especial na margem esquerda. Destaca-se, no entanto, que todas as coletas de água, para análises químicas, físicas e biológicas deste trabalho, ocorreram sempre na região pelágica, seguindo mesma metodologia do monitoramento realizado antes da invasão pelo mexilhão-dourado. Apenas para a amostragem de adultos, a metodologia adotada incluiu coleta de margem. Dessa forma, é possível que os efeitos observados neste trabalho, nas características físicas e químicas das águas, possam ainda ser mais severos nas áreas litorâneas, onde a densidade populacional dos bivalves era ainda maior e onde os volumes de águas são menores.

Em uma análise de nove anos de dados no reservatório de Salto Grande (Argentina / Uruguai) (Boltovskoy *et al.*, 2013) observaram que as populações favorecidas pela invasão do mexilhão-dourado em Salto Grande eram compostas predominantemente por cianobactérias tóxicas, sendo que, por outro lado, 10-20  $\mu\text{g L}^{-1}$  de microcistina LR seriam capazes de matar até 100% das larvas em 48 h. Desta forma, a própria população de cianobactérias favorecida pelo invasor, promoveria, em um determinado momento, o seu equilíbrio populacional. No entanto, Boltovskoy *et al.* (2013) verificaram que o número de larvas do mexilhão-dourado aumentava à medida que as florações declinavam, indicando que, apesar de letais às larvas, as toxinas não eram capazes de eliminar a população de mexilhões invasores adultos, que se restabeleciam após as florações. Das premissas desse modelo, discutido por Boltovskoy *et al.* (2013), os dados observados no reservatório de Volta Grande confirmaram aumento da penetração de luz, aumento de nutrientes, redução na densidade populacional e riqueza do fitoplâncton, no entanto não houve incremento nas populações de cianobactérias. Destaca-se que os dados observados neste reservatório evidenciaram que as águas do reservatório de Volta Grande têm concentrações de nutrientes bastante baixas, apesar do aumento após a invasão pelo mexilhão-dourado, e poderia, por isso, servir como fator limitante ao incremento populacional da cianobactéria, esperada pelo modelo. As concentrações de fósforo na água, por exemplo, medido nas formas de ortofosfato e fósforo total, foram baixas e muitas vezes abaixo do limite de detecção, além de não evidenciarem aumento significativo após a invasão pelo mexilhão-dourado. O fósforo é um elemento indispensável para o crescimento de algas e microrganismos (Wetzel, 2001).

A redução da oxigenação das águas evidenciada após a invasão pelo mexilhão-dourado reflete, provavelmente, diferentes fatores externos, mas também à demanda de

oxigênio destes organismos em função da sua atividade metabólica. Destaca-se ainda, que a atividade metabólica dos bivalves tende a aumentar a deposição de séston e conseqüentemente a deposição de matéria orgânica que pode contribuir para a redução da disponibilidade de oxigênio na água. A matéria orgânica pode ainda ser incrementada pelos próprios mexilhões mortos, que com ciclo de vida de até três anos (Boltovskoy & Cataldo, 1999) promovem alta quantidade de deposição de organismos mortos. Desta forma o mexilhão-dourado poderia contribuir para a redução da disponibilidade de oxigênio nas águas por diferentes maneiras. 1 - Diretamente, pela sua própria demanda metabólica; 2 - indiretamente, pelo incremento de matéria orgânica nas águas; e 3 – pela redução da biomassa algal. Importante destacar, no entanto que as águas do reservatório continuam bem oxigenadas. Os valores de referência descritos na literatura para oxigênio dissolvido (OD) mostram que os adultos de *L. fortunei* não são capazes de sobreviver em níveis menores que 1 mg/L (<10%). As larvas D possuem baixo potencial de sobrevivência e dispersão entre 1 mg/L e 3 mg/L (10-20%). Um alto potencial de dispersão e sobrevivência é encontrado quando os valores são maiores ou iguais a 7 mg/L (> 50%) (Ricciardi 1998; Devercelli & Peruchet 2008). Portanto, os valores de OD observados ao longo das estações que compõem a rede amostral, e mesmo após a forte redução com a invasão pelo molusco, são valores ótimos ao desenvolvimento de larvas e adultos dos mexilhões.

O mesmo observa-se para pH. A influência do pH em *Limnoperna fortunei* é descrita nos trabalhos de Hamilton *et al* 1997, Ricciardi 1998, Oliveira *et al.* 2006, Pareschi *et al.* 2008, Devercelli & Peruchet 2008. Os valores descritos nestes trabalhos indicam que não há potencial para a sobrevivência de adultos de *L. fortunei* quando pH estão abaixo de 3 e acima de 10. Em relação às larvas D, esses valores estão no intervalo entre 3 e 5. Os valores de pH entre 7 e 9 apresentam um alto potencial para a

infestação de *L. fortunei*. Os resultados mostraram uma evidente alcalinização das águas ao longo do tempo e após a invasão pelo mexilhão-dourado. Apesar disso, os valores de pH observados ao longo do período monitorado estão dentro da faixa ótima para desenvolvimento das populações de *L. fortunei*.

Strayer (2010) descreveu duas classes de interações entre os efeitos de aparecimento de espécies invasoras e de outros distúrbios em um ambiente aberto. A primeira diz que a existência ou intensidade de outros distúrbios podem tornar mais fácil ou mais difícil a invasão pelas espécies exóticas e seu consequente estabelecimento, e não foi observada no reservatório de Volta Grande. Dentre todos os parâmetros físicos, químicos e biológicos analisados, apenas as baixas concentrações de cálcio poderiam dificultar a colonização do invasor. No entanto, conforme já observado no trabalho de Oliveira *et al.* (2010) o mexilhão-dourado tem se adaptado à baixa concentração de cálcio em algumas localidades no Brasil. Os demais parâmetros monitorados estavam dentro dos limites de sobrevivência e dispersão pelo organismo, o que indica que a colonização pelo organismo não tem sido dificultada. A segunda classe de interação descrita por Strayer (2010) diz que as espécies exóticas e outros fatores de stress podem determinar conjuntamente novas condições ecológicas. Os resultados observados no presente trabalho indicam que a invasão do mexilhão-dourado pode ter contribuído para alterações relevantes no reservatório de Volta Grande, especialmente de propriedades limnológicas que poderão, em cascata, alterar a ecologia do reservatório.

### 3.6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

A disponibilidade de dados prévios das características físicas, químicas e biológicas do reservatório de Volta Grande foi essencial para verificação, em campo, das potenciais consequências dos primeiros anos de invasão pelo mexilhão-dourado. Observações conclusivas em ambientes abertos são extremamente difíceis, assim como extrapolações preditivas de observações feitas em laboratório para efeitos em campo. Os impactos associados à invasão do mexilhão-dourado, assim como de outros bivalves invasores têm sido largamente estudados em ambientes controlados. No entanto poucos trabalhos acompanham estes impactos em campo. Dessa forma, as alterações observadas neste trabalho (aumento da zona fótica, do pH, da condutividade elétrica, do nitrito, nitrato e amônio e redução do oxigênio dissolvido, clorofila-*a* e biomassa algal) já vinham sendo reportadas em ambientes controlados, e em ambientes abertos, como por exemplo no Reservatório de Río Tercero, sendo este o único ambiente aberto estudado em longo prazo após a invasão pelo mexilhão-dourado. Os efeitos observados em Volta Grande confirmaram resultados já reportados e bastante discutidos na literatura sendo algumas das hipóteses propostas neste trabalho confirmadas com exceção do esperado aumento de *M. aeruginosa*. Os efeitos constatados pela invasão do mexilhão-dourado no reservatório de Volta Grande são altamente relevantes do ponto de vista limnológico, no entanto a escala temporal precisa ser ampliada no intuito de se entender melhor a dinâmica sucessional dos impactos causados por esta importante alteração nos ambientes invadidos. Considerando o rápido avanço do mexilhão-dourado na América do Sul e seus potenciais impactos, estes resultados poderão servir de ferramenta para modelos preditivos que possibilitem ações mitigadoras e de controle de suas populações, no entanto estudos ecológicos de longa duração são ainda essenciais para melhor aprimoramento de ações de manejo e desenvolvimento de modelos preditivos.

### 3.7 - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Baker, S. M.; Levinton, J. S. & Ward, J. E. (2000). Particle transport in the zebra mussel *Dreissena polymorpha* (Pallas). *Biological Bulletin* 199: 116-125.
- Baker, S., Levinton, J., 2003. Selective feeding by three native North American freshwater mussels implies food competition with zebra mussels. *Hydrobiologia* 505, 97–105. doi:10.1023/B:HYDR.0000007298.52250.99.
- Barbosa, N.P.U., Silva, F.A., Oliveira, M.D., Neto, M.A.S., Carvalho, M.D., and Cardoso, A.V., 2016. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mollusca, Bivalvia, Mytilidae): first record in the São Francisco river basin, Brazil. *Check List*. 12, 1-6.
- Bastviken, D.T.E., Caraco, N.F. and Cole, J.J., 1998. Experimental measurements of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) impacts on phytoplankton community composition. *Freshwat Biology*. 39, 375-386.
- Bicudo, C.E.M. & Bicudo, R.M.T. 1970. Algas de águas continentais brasileiras: chave ilustrada para identificação de gêneros. Fundação Brasileira para o Desenvolvimento do Ensino das Ciências, São Paulo.
- Bicudo, C.E.M. & Menezes, M. 2006. Técnicas para coleta, fixação, preservação e estudo. In *Gêneros de algas continentais do Brasil (chave para identificação e descrições)*. (Bicudo, C.E.M.; Menezes, M. Orgs.). São Carlos, p. 7-11.
- Boltovskoy, D. & Cataldo, D. H. 1999. Population dynamics of *Limnoperna fortunei*, an invasive fouling mollusc, in the lower Parana river (Argentina). *Biofouling* 14 (3): 255-263.
- Boltovskoy, D., Correa, N., 2015. Ecosystem impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (golden mussel) in South America. *Hydrobiologia* 746, 81–95. doi:10.1007/s10750-014-1882-9.

- Boltovskoy, D., Correa, N., Bordet, F., Leites, V., Cataldo, D., 2013. Toxic *Microcystis* (cianobactéria) inhibit recruitment of the bloom-enhancing invasive bivalve *Limnoperna fortunei*. *Freshw. Biol.* 58, 1968–1981. doi:10.1111/fwb.12184
- Boltovskoy, D., Sylvester, F., Otaegui, A., Leites, V., Cataldo, D.H., 2009. Environmental modulation of reproductive activity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei*: Implications for antifouling strategies. *Austral Ecol.* 34, 719–730. doi:10.1111/j.1442-9993.2009.01974.x
- Bourrelly, P.C. 1981. Les algues d'eau douce: initiation à la systématique. Les algues jaunes et brunes, Chrysophycées, Paheophycées, Xanthophycées et Diatomées. Éditions N. Boubée é Cie, Paris, v.2.
- Burlakova, L. E., A. Y. Karatayev & V. A. Karatayev, 2012. Invasive mussels induce community changes by increasing habitat complexity. *Hydrobiologia* 685: 121–134.
- Bykova, O., Laursen, A., Bostan, V., Bautista, J., and McCarthy, L., 2006. Do zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) alter lake water chemistry in a way that favors *Microcystis* growth? *Science of the Total Environment.* 371, 362-372.
- Callieri, C. & J.S. Stockner. 2002. Freshwater Autotrophic Picoplankton: a Review. *Journal of Limnology* 61: 1–14.
- Cataldo, D., Vinocur, A., O'Farrell, I., Paolucci, E., Leites, V., Boltovskoy, D., 2012. The introduced bivalve *Limnoperna fortunei* boosts *Microcystis* growth in Salto Grande reservoir (Argentina): evidence from mesocosm experiments. *Hydrobiologia* 680, 25–38. doi:10.1007/s10750-011-0897-8.
- Conroy, J.D., Kane, D.D., Dolan, D.M., Edwards, W.J., Charlton, M.N., and Culver, D.A., 2005a. Temporal trends in Lake Erie plankton biomass: roles of external phosphorus loading and dreissenid mussels. *Journal of Great Lakes Research.*

31(Suppl. 2), 89-110.

- Conroy, J.D., Edwards, W.J., Pontius, R.A., Kane, D.D., Zhang, H., Shea, J.F., Richey, J.N., and Culver, D.A., 2005b. Soluble nitrogen and phosphorus excretion of exotic freshwater mussels (*Dreissena* spp.): potential impacts for nutrient remineralization in western Lake Erie. *Freshwater Biology*. 50, 1146-1162.
- Darrigran, G., Damborenea, C. 2011. Ecosystem Engineering Impact of *Limnoperna* fortune in South America. *Zoological Science* 28: 1–7.
- De Stasio, B., Schrimpf, M., Cornwell, B., 2014. Phytoplankton Communities in Green Bay, Lake Michigan after Invasion by Dreissenid Mussels: Increased Dominance by Cyanobacteria. *Diversity* 6, 681–704. doi:10.3390/d6040681
- Devercelli, M. & E. Peruchet, 2008. Trends in chlorophyll a concentration in urban water bodies within different man- used basins. *Annales de Limnologie — International Journal of Limnology* 44: 75–84.
- Dionisio Pires, L. M., Karlssonb, K. M., Meriluotob, J. A. O., Kardinaalc, E., Visserc, P. M., Siewertsena, K., Van Donk, E., Ibelings, B. W. 2004. Assimilation and depuration of microcystin–LR by the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*. *Aquatic Toxicology* Volume 69, Issue 4, 20 September 2004, Pages 385–396.
- Dionisio Pires, L.M., Bontes, B.M., Van Donk, E., Ibelings, B.W., 2005. Grazing on colonial and filamentous, toxic and non-toxic cyanobacteria by the zebra mussel *Dreissena polymorpha*. *J. Plankton Res.* 27, 331–339. doi:10.1093/plankt/fbi008
- Dionisio Pires, L.M., Ibelings, B.W., and Van Donk, E., 2010. Zebra mussels as a potential tool in the restoration of eutrophic shallow lakes dominated by toxic cyanobacteria. *The Zebra Mussel in Europe*. Backhuys Publishers. Leiden, 331-342.
- Downing, J.A., Watson, S.B., and McCauley, E., 2001. Predicting cyanobacteria

- dominance in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 58, 1905-1908.
- Dunker, G., 1857. *Mytilacea nova collections Cumingianæ*. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 24, 358-366.
- Frau, D., Molina, F.R., Mayora, G., 2016. Feeding selectivity of the invasive mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on a natural phytoplankton assemblage: what really matters? *Limnology* 17, 47–57. doi:10.1007/s10201-015-0459-2
- Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012a. Feeding behavior of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) under exposure to toxic cyanobacteria *Microcystis aeruginosa*. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de biologia*. 72(1), 41-9.
- Gazulha, V., Mansur, M.C.D., Cybis, L.F., and Azevedo, S.M.F.O., 2012b. Grazing impacts of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) on single-celled, colonial and filamentous cyanobacteria. *Brazilian journal of biology. Revista Brasileira de Biologia*. 72(1), 33-9.
- Geisler, M. E., Rennie, M. D., Gillis, D. M., Higgins, S. N., 2016. A predictive model for water clarity following dreissenid invasion. *Biol. Invasions*. 18:1989–2006.
- Giani, A., Bird, D., Prairie, Y., and Lawrence, J., 2005. Empirical study of cyanobacterial toxicity along a trophic gradient of lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 62, 1-10.
- Hamilton, S.K.; Sippel, S.J.; Calheiros, D.F.; Melack, J.M. 1997. An anoxic event and other biogeochemical effects of the Pantanal wetland on the Paraguay River. *Limnology and Oceanography* 42(2):257-272.
- Hecky, R.E., Smith, R.E.H., Barton, D.R., Guildford, S.J., Taylor, W.D., Charlton, M.N., and Howell, E.T., 2004. The near shore phosphorus shunt: a consequence of

- ecosystem engineering by dreissenids in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 61, 1285-1293.
- Higgins, S.N., and Vander Zanden, M.J., 2010. What a difference a species makes: a meta-analysis of dreissenid mussel impacts on freshwater ecosystems. *Ecological Monographs*. 80, 179-196.
- James, W.F., Barko, J.W., Eakin, H.L., 2001. Phosphorus recycling by zebra mussels in relation to density and food resource availability. *Hydrobiologia* 455, 55–60.
- Juhel, G., Davenport, J., O'Halloran, J., Culloty, S., Ramsay, R., James, K., Furey, A., and Allis, O., 2006. Pseudodiarrhoea in zebra mussels *Dreissena polymorpha* (Pallas) exposed to microcystins. *Journal Experimental Biology*. 209, 810-816.
- Karatayev, A. Y., Burlakova, L. E., Padilla, D. K. 1997. The effects of *Dreissena polymorpha* (Pallas) invasion on aquatic communities in Eastern Europe. *J. Shellfish Res.* 16:187–203.
- Karatayev, A.Y., Burlakova, L.E., and Padilla, D.K., 2002. Impacts of zebra mussels on aquatic communities and their role as ecosystem engineers. In: Leppäkoski, E., S. Gollasch and S. Olenin, editors. *Invasive aquatic species of Europe: distribution, impacts and management*. *Monographiae biologicae series*. Dordrecht: Kluwer Scientific Publishers 433–446
- Karatayev, A.Y., Boltovskoy, D., Padilla, D.K., and Burlakova, L.E., 2007a. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. *Journal of Shellfish Research*. 26(1), 205-213.
- Karatayev, A.Y., Padilla, D.K., Minchin, D., Boltovskoy, D., and Burlakova, L.E., 2007b. Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. *Biological Invasions*. 9, 161–180.

- Karatayev, A.Y., Burlakova, L.E., Padilla, D.K., 2015. Zebra versus quagga mussels: a review of their spread, population dynamics, and ecosystem impacts. *Hydrobiologia* 97–112. doi:10.1007/s10750-014-1901-x
- Kawase, M., 2011. Feeding and filtration in *Limnoperna lacustris*. Available via [http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo\\_05/amckiyo-no05-05.pdf](http://www.mizuho-c.ac.jp/images/library/kiyo_05/amckiyo-no05-05.pdf). Accessed 11 Feb 2014 [In Japanese]
- Kelley, D.W., Herborg, L.M. and MacIsaac, H.J., 2010. Ecosystem changes associated with *Dreissena* invasions: recent developments and emerging issues. In: van der Velde, G., S. Rajagopal and A. Bij de Vaate (eds), *The zebra mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden: 199–209.
- Kimura, T. 1994. The earliest record of *Limnoperna fortunei* (Dunker) from Japan. *Chiribotan* 25: 34–35.
- Kojima, S. 1982. The trouble by fresh water shell (*Limnoperna fortunei*) and its control. *Japanese Journal of Water Treatment Biology* 18: 29–33.
- Laux, M. 2016. Avaliação da diversidade genética da comunidade planctônica de reservatórios de água doce tropicais, através de análise metagenômica. Tese de doutorado, Programa em Biologia Vegetal, UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 182 pp
- Lavrentyev, P.J., Gardner, W.S., Cavaletto, J.F., and Beaver, J.R., 1995. Effects of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) on protozoa and phytoplankton from Saginaw Bay, Lake Huron. *Journal of Great Lakes Research*. 21, 545-557.
- Leonard, J.A., and Paerl, H.W., 2005. Zooplankton community structure, microzooplankton grazing impact and seston energy content in the St. Johns River system, Florida as influenced by the cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. *Hydrobiologia*. 537, 89-97.
- Lopes, A.M.M.B. 2013. Composição da comunidade de cianobactérias e outros grupos

- microbianos em dois reservatórios tropicais– Tese de doutorado, Programa em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, UFMG, Belo Horizonte, Brasil, 134 pp.
- MacIsaac, H. J., C. J. Lonner & J. H. Leach, 1995. Suppression of microzooplankton by zebra mussels: importance of mussel size. *Freshwater Biology* 34: 379–387.
- Makarewicz, J.C., Lewis, T.W., and Bertram, P., 1999. Phytoplankton composition and biomass in the offshore waters of Lake Erie: pre and post *Dreissena* introduction (1983-1993). *Journal of Great Lakes Research*. 25, 135-148.
- Mansur MCD, Richinitti LMZ, Santos CP, 1999. [*Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), molusco bivalve invasor, na bacia do Guaíba, RS, Brasil]. [Article in Portuguese]. *Biociências* 7:147-150.
- Mansur, M.C.D., Santos, C.D., Darrigran, G., Heydrich, I., Callil, C.T., and Cardoso, F.R., 2003. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no delta do Jacuí, no lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia*. 20(1), 75-84.
- Morton, B. 1975. The colonization of Hong Kong's raw water supply system by *Limnoperna fortunei* (Dunker 1857) (Bivalvia: Mytilacea) from China. *Malacological Review* 8: 91–105.
- Nalepa, T.F., 2010. An overview of the spread, distribution, and ecological impacts of the quagga mussel, *Dreissena rostriformis bugensis*, with possible implications to the Colorado River system. Proceedings, Colorado river basin science and resource management symposium. coming together, coordination of science and restoration activities for the Colorado river ecosystem, Scottsdale, AZ November 18–20, 2008. U.S. Geological Survey Scientific Investigations Report: 2010–5135

- Nicholls, K.H., Heintsch, L., and Carney, E., 2002. Univariate step-trend and multivariate assessments of the apparent effects of P loading reductions and zebra mussels on the phytoplankton of the Bay of Quinte, Lake Ontario. *Journal of Great Lakes Research*. 28, 15-31.
- Oliveira, M.D.; Takeda, A.M.; Barros, L.F.; Barbosa, S.D.; Rezende, E.K. 2006. Invasion by *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) of the Pantanal wetland, Brazil.
- Oliveira, M.D.; Hamilton, S.K.; Jacobi, C.M. 2010. Forecasting the expansion of the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei* in Brazilian and North American rivers based on its occurrence in the Paraguay River and Pantanal wetland of Brazil. *Aquatic Invasions* 5(1):59-73.
- Pastorino, G.; Darrigran, G.; Martin, S. & Lunaschi, L. 1993. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor em águas Del Rio de la Plata. *Neotropica*, 39 (101-102): 34.
- Pareschi, D. C., Matsumura-Tundisi, T., Medeiros, GR., Luzia, A. P., Tundisi, J. G. 2008. First occurrence of *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) in the Rio Tietê watershed (São Paulo State, Brazil). *Braz. J. Biol.*, 68(4, Suppl.): 1107-1114.
- Ricciardi, A. Global range expansion of the Asian mussel *Limnoperna fortunei* (Mytilidae): Another fouling threat to freshwater systems. *Biofouling*, Chur, v. 13, n.2, p. 97-106, 1998.
- Rojas Molina, F. & S. Jose ´ De Paggi, 2008. Zooplankton in the Parana river floodplain (South America) before and after the invasion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia). *Wetlands* 28: 695–702.
- Rückert, G.V., Campos, M.C.S., and Rolla, M.E., 2004. Alimentação de *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857): taxas de filtração com ênfase ao uso de cianobactéria.

Acta Scientiarum Biological Sciences. 26, 421-429.

Sant'Anna, C.L.; Azevedo, M.T.P.; Agujaro, L.F.; Carvalho, M.C.; Carvalho, L.R. & Souza, R.C.R. 2006. Manual ilustrado para identificação e contagem de cianobactérias planctônicas de águas continentais brasileiras. Rio de Janeiro: Interciência.

Sarnelle, O., Wilson, A.E., Hamilton, S.K., Knoll, L.B., and Raikow, D.E., 2005. Complex interactions between the zebra mussel, *Dreissena polymorpha*, and the harmful phytoplankter, *Microcystis aeruginosa*. *Limnology and Oceanography*. 50, 896-904.

Sarnelle, O., Whitea, J.D., Horst, G.P., and Hamilton, S.K., 2012. Phosphorus addition reverses the positive effect of zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) on the toxic cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*. 46(11), 3471-8.

Shumway SE, Cucci TL, Newell RC, Yentsch CM (1985) Particle selection, ingestion and absorption in filter-feeding bivalves. *J Exp Mar Biol Ecol* 91:11–92

Sieburth, J., Smetacek, V. & Lenz, J. 1978. Pelagic ecosystem structure: heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology Oceanography* 23(6):1256-1263.

Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2006. Tasas de clareado: ritmos e impacto. In G. Darrigran and C. Damborenea, (Eds.). *Bioinvasión del mejillón dorado en el continente americano*. Edulp., La Plata

Sylvester, F., Boltovskoy, D., and Cataldo, D., 2007. The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* enhances benthic invertebrate densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia*. 589, 15-27.

Smith, V.H., 1983. Low nitrogen to phosphorus ratios favor dominance by blue-green algae in lake phytoplankton. *Science*. 221, 669-671.

- Smith, T.E., Stevenson, R.J., Caraco, N.F., Cole, J.J., 1998. Changes in phytoplankton community structure during the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) invasion of the Hudson River (New York) 20, 1567-1579.
- Sommer, U., Gliwicz, Z., Lampert, W., and Duncan, A., 1986. The PEG-model of seasonal succession of planktonic events in fresh waters. *Archiv für Hydrobiologie*. 106, 433-471.
- Spaccesi, F.G., and Capitolo, R.A., 2012. Benthic communities on hard substrates covered by *Limnoperna fortunei* Dunker (Bivalvia, Mytilidae) at an estuarine beach (Río de la Plata, Argentina). *Journal of Limnology*. 71, 144-153.
- Strayer, D.L., Caraco, N.F., Cole, J.J., Findlay, S., and Pace, M.L., 1999. Transformation of freshwater ecosystems by bivalves - a case study of zebra mussels in the Hudson River. *BioScience*. 49, 19-28.
- Strayer, D. L. 2010. Alien species in freshwaters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. *Freshwater Biology* 55:152–174.
- Tan, T.-H., J.-Y. Pai and K. C. Hsha. 1987. The recovery of fouling clam, *Limnoperna fortunei* from Taiwan. *Bulletin of Malacology, Republic of China* 13: 97–100.
- Vanderploeg, H. A., Liebig, J.R., Carmichael, W.W., Agy, M. a., Johengen, T.H., Fahnenstiel, G.L., Nalepa, T.F., 2001. Zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) selective filtration promoted toxic *Microcystis* blooms in Saginaw Bay (Lake Huron) and Lake Erie. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 58, 1208–1221. doi:10.1139/cjfas-58-6-1208.
- Vanderploeg, H.A., Nalepa, T.F., Jude, D.J., Mills, E.L., Holeck, K.T., Liebig, J.R., Grigorovich, I.A., & Ojaveer, H. (2002). Dispersal and emerging ecological impacts of Ponto Caspian species in the Laurentian Great Lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 59:1209–1228

- Vanderploeg, H. A., Johengen, T.H., and Liebig, J.R., 2009. Feedback between zebra mussel selective feeding and algal composition affects mussel condition: did the regime changer pay a price for its success? *Freshwater Biology*. 54, 47-63.
- Vanderploeg H.A., Wilson A.E., Johengen T.H., Dyble Bres- sie J., Sarnelle O., Liebig J.R. *et al.*, 2013 Role of selective grazing by dreissenid mussels in promoting toxic *Microcystis* blooms and other changes in phytoplankton com- position in the Great Lakes. In: *Quagga and Zebra Mussels: Biology, Impacts, and Control*, Second Edition, 2nd edn (Eds T.F. Nalepa & D.W. Schloesser), pp. 509–523 (Chapter 32). CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Vanderploeg H.A., Sarnele O., Liebig J. R., Morehead N. R., Robinson S. D., Johengen T. H. and Horst G. P., 2017. Seston quality drives feeding, stoichiometry and excretion of zebra mussels. *Freshwater Biology*. 62, 664-680.
- Van der Velde, G., S. Rajagopal & A. Bij De Vaate (eds), 2010. *The Zebra Mussel in Europe*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Wetzel, R.G. 2001. *Limnology*. Academic Press, New York. 1006 pp.
- Yu N. & Culver D.A. (1999) Estimating the effective clear- ance rate and refiltration by zebra mussels, *Dreissena poly- morpha*, in a stratified reservoir. *Freshwater Biology*, 41, 481–492.

## CONCLUSÕES

---

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram responder parcialmente as perguntas originadas pelas nossas hipóteses, que eram de avaliar a dinâmica da comunidade fitoplanctônica, em especial as populações de cianobactérias tóxicas, em resposta a invasão do mexilhão-dourado. Dentre as hipóteses testadas, a primeira, de que o crescimento populacional de *Microcystis aeruginosa* em locais colonizados pelo mexilhão-dourado seria acelerado, e que as diferenças na concentração de nutrientes na água, em especial nitrogênio, amônio e fósforo, seriam a causa das mudanças nesse padrão, foram parcialmente confirmadas. Não resta dúvida que a invasão do mexilhão-dourado promoveu o incremento de nutrientes na água, mesmo considerando o grande volume de água, como o observado no Reservatório da UHE Volta Grande. No entanto, apesar do aumento de nutrientes na presença do mexilhão ter sido observado tanto nas escalas laboratoriais, mesocosmo e ambiente aberto, e ter sido estatisticamente significativa na maioria dos casos, esse aumento nem sempre resultou em um aumento no crescimento da *M. aeruginosa*. No laboratório as *M. aeruginosa* foram mais abundantes na presença do mexilhão-dourado, apenas quando foi adicionado um competidor (alga verde). Nas demais escalas de trabalho, (mesocosmo e ambiente aberto), as densidades de *M. aeruginosa* não foram significativamente maiores na presença do mexilhão-dourado, mesmo com o aumento na concentração de nutrientes. Desta forma pudemos concluir que o aumento de nutrientes é realmente esperado na presença do molusco, mas o crescimento de cianobactérias tóxicas pode variar, em função da composição da comunidade planctônica, e provavelmente, do tempo necessário para que a floração de cianobactéria venha de fato a acontecer. A segunda hipótese, testada, de que as comunidades de algas fitoplanctônicas e cianobactérias do

reservatório de Volta Grande sofreriam alterações importantes a partir da invasão pelo mexilhão-dourado, refletindo no aumento das densidades de espécies fitoplanctônicas oportunistas e redução da diversidade da comunidade, foram confirmadas em parte. Verificamos alteração na comunidade fitoplanctônica presente no reservatório de Volta Grande, quando testada em mesocosmo e também em ambiente aberto. Houve aumento de Bacillariophyceae e Chlorophyceae na presença do mexilhão-dourado, redução da riqueza de espécies fitoplanctônicas, e redução da biomassa algal no reservatório, após a invasão pelo molusco. No entanto, não houve aumento das cianobactérias tóxicas. Ficou evidente, porém a capacidade do molusco em reduzir a biomassa algal, reduzindo a diversidade e alterando aspectos físicos e químicos da água tais como transparência da água, concentrações de nutrientes, pH, oxigênio dissolvido, condutividade elétrica, concentração de clorofila, etc., mudanças que irão se refletir em todo o metabolismo aquático. O período monitorado após a invasão, que abrangeu apenas os primeiros três anos a partir do primeiro registro do invasor, pode não ter sido suficiente para verificar aumento das populações de cianobactérias tóxicas, ou mesmo esse crescimento não ocorreu em função da composição da comunidade fitoplanctônica previamente presente naquele reservatório. As alterações causadas pelo mexilhão-dourado nos locais invadidos seguem ciclos temporais evidentes, e os dados de campo podem ter evidenciado apenas o primeiro ciclo, onde há aumento da transparência da água e incremento de nutrientes sem, porém, ter tido o tempo suficiente para que isso se traduzisse em aparecimento de florações de cianobactérias, que ocorreriam após o declínio da diversidade e abundância de espécies competidoras, como observado nos experimentos laboratoriais desta tese. Neste sentido, estudos de longa duração são fortemente recomendados. A terceira hipótese testada, de que a presença do mexilhão-dourado iria alterar a qualidade da água dos ambientes invadidos, incrementando a

concentração dos nutrientes (nitrogênio, amônio e fósforo), porém reduzindo a turbidez da água, foram confirmadas, tanto nas escalas laboratoriais, de mesocosmo e em ambiente aberto. As exceções se deram apenas para a concentração do amônio em laboratório, que não variou de forma significativa, provavelmente em função do alto desvio padrão dos dados analisados, e do nitrato, nos experimentos mesocosmos, cuja concentração desceu para zero ao longo dos experimentos, provavelmente devido a efeitos de interação com a comunidade bacteriana, neste ambiente fechado. De forma geral, porém, ficaram evidentes o incremento de nutrientes da água provocado pela invasão do mexilhão-dourado, além de alterações importantes para toda a ecologia dos ambientes aquáticos, tais como aumento da zona fótica e alteração na comunidade planctônica.

Este trabalho permitiu concluir que os efeitos da invasão pelo mexilhão-dourado vão muito além dos impactos econômicos, com modificações importantes na qualidade das águas e na estrutura trófica dos ambientes invadidos. Estes efeitos, no entanto, podem ser cíclicos, com variações temporais altamente significativos. A intensa atividade de filtração do bivalve é seletiva e por isso, além dos efeitos indiretos, tais como aumento da transparência das águas e incremento de nutrientes, estes organismos afetam diretamente a comunidade planctônica, já que a pressão seletiva pode favorecer alguns grupos por exclusão competitiva. A filtração seletiva do mexilhão-dourado, no entanto, se mostra novamente bastante complexa e altamente variável. Os dados observados, tanto nesta tese quanto em diversos trabalhos publicados, mostram que essa seletividade promovida pelo bivalve é diversa, sendo que, grupos altamente selecionados em alguns locais, podem ser predados em outros. A composição da comunidade, portanto, associada às variações temporais são portanto, essenciais para a predição dos impactos, mostrando ser fundamental para entender o processo complexo

das interações biológicas. Não há dúvida, no entanto, que as modificações promovidas pelo bivalve são altamente significativas e capazes de alterar as características de ambientes de grande porte, sendo, portanto, um distúrbio ambiental extremamente importante e que tem rapidamente se espalhado para diferentes ambientes, atingindo inclusive, locais de alta relevância ecológica.

Novos registros do mexilhão-dourado têm sido reportados em diferentes bacias hidrográficas brasileiras, além de modelos preditivos que mostram o potencial invasivo desta espécie em diversas regiões da América do Sul e mesmo em outros continentes, revelando risco de invasão em áreas de grande relevância ecológica e econômica. Estudos de longa duração são, portanto, essenciais para dimensionarmos possíveis impactos, especialmente na teia trófica dos ambientes invadidos.