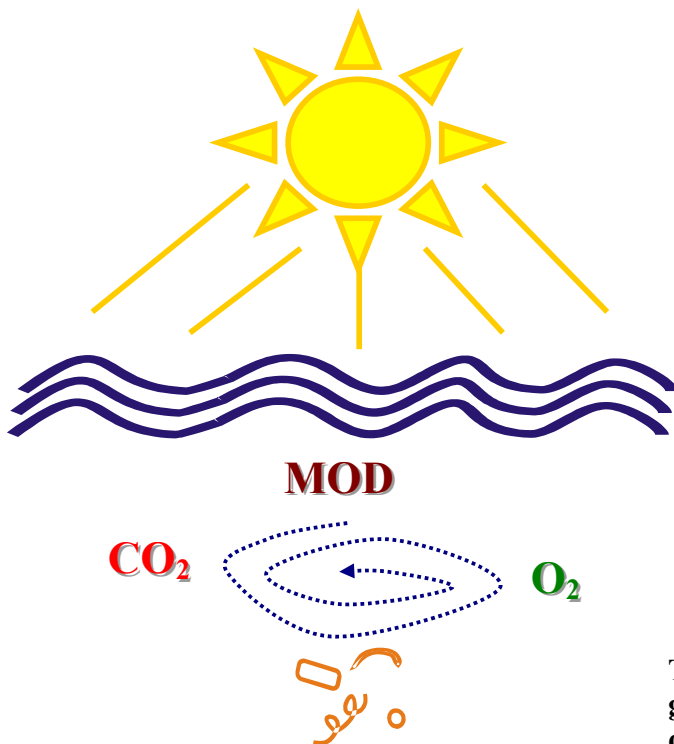


Universidade Federal do Rio de Janeiro
Instituto de Biologia
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

**FOTO-DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA EM
LAGOAS COSTEIRAS TROPICAIS E SUAS INTERAÇÕES COM A
DEGRADAÇÃO BACTERIANA.**



ANDRÉ MEGALI AMADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de A. Esteves
Co-orientador: Prof. Dr. Vinicius F. Farjalla
Co-orientador: Prof. Dr. James B. Cotner

Rio de Janeiro – RJ

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em Ecologia

FOTO-DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA EM LAGOAS
COSTEIRAS TROPICAIS E SUAS INTERAÇÕES COM A DEGRADAÇÃO
BACTERINA.

ANDRÉ MEGALI AMADO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de A. Esteves

Co-orientador: Prof. Dr. Vinicius F. Farjalla

Co-orientador: Prof. Dr. James B. Cotner

Rio de Janeiro – RJ

2008

FOTO-DEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA EM LAGOAS
COSTEIRAS TROPICAIS E SUAS RELAÇÕES COM A DEGRADAÇÃO
BACTERIANA

André Megali Amado

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências Biológicas (Ecologia).

Prof. Dr. Francisco de Assis Esteves

Prof. Dr. Fabio Roland

Profª. Dra. Renata de Fátima Panosso

Prof. Dr. Francisco Antônio Rodrigues Barbosa

Profª. Dra. Leda Cristina Santana Mendonça-Hagler

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL
MAIO DE 2008

FICHA CATALOGRÁFICA

AMADO, ANDRÉ MEGALI

Foto-degradação da matéria orgânica dissolvida em lagoas costeiras tropicais e suas relações com a degradação bacteriana [Rio de Janeiro] 2008.

xi, 169 p. 29,7cm (Instituto de Biologia/UFRJ, Dr.Sc., Ecologia, 2008)

Tese de Doutorado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, PPGE

1.Foto-degradação. 2.Bactérias 3.MOD 4.Limnologia
I. IB/UFRJ II. Título (série)



An ode to a bacterium
--J.B. Cotner
in commemoration of the dissertation and Ph.D. of
Andre Megali Amado

Sure, they have only one cell,
But it does not require a Ph.D. in limnology to
tell,
That these little critters worked like hell,
To manufacture this, our planet, so swell.

We all arose from the seeds they planted,
From the DNA, RNA and lipids we all take for
granted,
To the methane above us that oxygen supplanted,
And the genetic code to all that they graciously
granted.

Where would we be without their sweet impact,
It would be a world on a suicide pact,
No respiration in the oceans for sure,
And for those in the lakes, little DOM to allure.

Yes, my friends, we love them all,
From E. coli and Salmonella to which we can
fall,
To Pseudomonas and Caulobacter, all of them
small
But in their shadow we ultimately pall.

Dr. Amado, as I assume he will be called,
With this document has enthralled
And left us to know more of the bugs
That cover the Earth and have given it worth.

*Dedico essa tese à minha esposa,
Bruna Q. Vargas.*

Agradecimentos

Agradeço ao Prof. Francisco Esteves pela confiança e oportunidades de aprendizado e crescimento ao longo de mais de 9 anos de convivência. Agradeço também ao Prof. Vinicius Farjalla, que junto com o Chico, foi um grande parceiro, sempre pronto para orientar e ajudar em todos os momentos. Essa tese é o resultado de um trabalho de equipe.

Por falar em equipe, agradeço em especial ao Albert Suhett, sempre pronto a colaborar, ajudar, questionar e incentivar. Agradeço também a todos os membros do laboratório de limnologia da UFRJ, que convivi em todos esses anos. Com certeza aprendi muito com cada um de vocês. Não quero citar nomes para não ser injusto se esquecer de alguém. Entretanto, não posso deixar de citar o Cláudio, Rose, Mário e Andresson, sempre dispostos a ajudar.

Thanks Jim, for accepting me and for giving me all the conditions to learn and work as better as I could during the year I spent in Minnesota. Thanks for the chats, all the homebrewed we had, the jokes, the fun, the hardworking, Itasca, Superior cruises, Christmas, Thanksgiving, all the feasts, baseball, the family you gave to Bruna and I, and everything else. I could spent many pages to tell all the good experiences we had with you, Sehoja, Lachlan, Flannery, Shynia, Rebecca, Kyle and Bies. I'd like to specially thank Rose, Meghan, Kris, Andrea, Ed, Ted, Thad, and everybody else in the lab and in the EEB, that hosted me so nicely. You guys were really great.

Agradeço à Lena e Inês, e todos no NUPEM-UFRJ que fizeram com que me sentisse em casa nos momentos mais complicados.

Agradeço à Marcinha e D. Sueli, sempre dispostas a resolver os problemas mais complicados e urgências que sempre aparecem.

Agradeço às preciosas contribuições da banca e da pré-banca para a melhoria desse trabalho.

Agradeço ao Dr. Rodolfo Paranhos pelas ajudas com a citometria de fluxo.

Agradeço ainda ao CNPq, pela concessão das bolsas de doutorado e doutorado Sandwich.

Agradeço aos meus pais Cezar e Valéria, e ao meu irmão Daniel, pelos exemplos que sempre foram pra mim, pelos incentivos, amor, carinho e confiança. Tudo isso sempre será muito valioso pra mim. Muito Obrigado por TUDO!

Por fim, agradeço a minha esposa, Bruna, por todo amor, apoio e compreensão ao longo de todo esse tempo. Com muita garra enfrentamos momentos muito difíceis juntos, para fazer essa tese acontecer. Muita história pra contar! Por todos esses momentos, dedico essa tese a você. Muito Obrigado!

Sumário:

Resumo	x
Abstract.....	xi
Introdução	1
1. <i>Histórico dos estudos do processo de foto-degradação</i>	2
2. <i>Estado arte dos estudos a cerca do processo de foto-degradação e suas relações com a degradação bacteriana</i>	3
3. <i>Degradação da matéria orgânica dissolvida em ecossistemas aquáticos: o papel da foto-degradação</i>	7
4. <i>Fatores reguladores do processo de foto-degradação da MOD</i>	9
5. <i>Hipóteses</i>	13
6. <i>Objetivos</i>	13
Capítulo 1: <i>Altas taxas de foto-degradação e o efeito ambíguo da coloração da MOD em lagoas costeiras tropicais</i>	14
Capítulo 2: <i>Mudanças sazonais nas taxas de foto-oxidação do carbono orgânico dissolvido em uma lagoa húmica tropical: o papel das chuvas como principal regulador</i>	54
Capítulo 3: <i>Interações contrastantes determinam a decomposição da matéria orgânica dissolvida em ecossistemas aquáticos tropicais</i>	79
Capítulo 4: <i>Relações entre a foto-degradação e a degradação microbiana da MOD: papel do oxigênio singleto</i>	109
Discussão Geral	149
Conclusões finais	159
Referências	161
Anexo 1	169

Resumo

Nas últimas décadas, muito foi estudado sobre o processo de foto-degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) e suas conseqüências para a degradação bacteriana. Entretanto, poucos desses estudos foram realizados na região tropical do planeta, onde as incidências das radiações solares são mais fortes ao longo de todo ano. Os objetivos dessa tese foram estudar o processo de foto-degradação em lagoas costeiras trópicas, avaliando os fatores reguladores do processo e seus padrões sazonais. Ainda, fornecer subsídios para o entendimento dos mecanismos que determinam as relações entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD. Foram realizados inúmeros experimentos de exposição de MOD à foto-degradação e, em seqüência à degradação bacteriana, com diferentes abordagens. Foram estudados inúmeros ecossistemas tropicais, padrões internacionais de MOD e o lago Superior (EUA). Mostramos efeitos ambíguos da coloração da MOD em ambientes tropicais nos quais a coloração escura pode apresentar o aumento da foto-degradação em águas mais claras e redução em águas mais escuras pelo auto-sombreamento. A coloração escura da MOD somada às altas intensidades solares os trópicos resultaram nas maiores taxas de foto-degradação já registradas na literatura (cerca de $400 \mu\text{M.C.d}^{-1}$). Identificamos um padrão anual de pulsos na foto-reatividade com a entrada de MOD nos ecossistemas, de acordo com o período de chuvas e pulso de inundação na região tropical. Ainda, a foto-degradação e a degradação bacteriana podem apresentar cooperação pela decomposição de MOD alóctone e competição pela MOD autóctone. Por fim, sugerimos que os efeitos da foto-degradação da MOD para as bactérias são o resultado de um balanço entre a produção ou consumo bio-disponíveis e pela produção de peróxidos direta, ou indiretamente por espécies reativas de oxigênio.

Abstract

The photochemical and microbial degradation of dissolved organic matter (DOM) has been discussed in many studies in the last decades. However, only a few studies were developed in the tropical region of the planet, where the sunlight intensities are the highest over the year. The aims of this work were to evaluate the photochemical degradation processes tropical coastal lagoons, with special attention to the regulating factors and seasonal patterns. Besides, we aimed at a better understanding of the mechanisms that drive the interactions between photochemical and bacterial degradation of DOM. We performed several photochemical and microbial degradation experiments with different approaches. We studied many tropical ecosystems, international DOM standards and lake Superior (U.S.A.). We showed that water color has ambiguous effects to photochemical degradation in tropical systems, once it increases the process in clearwaters and decrease it in high humic systems due to self-shading. The dark DOM plus the high sunlight incidence in the tropics resulted in the highest photochemical degradation rates registered in the literature (around 400 $\mu\text{M.C.d}^{-1}$). We identified a seasonal pulse-like pattern of photo-reactivity driven by the rainfall regime or flood pulse in the tropical region. We showed that photochemical and bacterial degradation present complementary pathways to DOM degradation in humic systems and compete in algal-DOM rich systems. We then suggested that the effects of DOM photochemical degradation to bacterial responses result from a balance between production and consumption of labile DOM molecules and the production of hydrogen peroxides, directly or via reactive oxygen species, such as singlet oxygen.

Introdução

1. Histórico dos estudos do processo de foto-degradação:

Após o pioneiro trabalho de Whipple, publicado em 1899, registrando o fenômeno da foto-degradação ou “*photo-bleaching*” (STROME & MILLER, 1978), diversos estudos a cerca dos efeitos da radiação luminosa, sobretudo da radiação ultravioleta, sobre a matéria orgânica dissolvida (MOD) começaram a ser realizados ainda no início do século, com a finalidade de promover o tratamento de água. Desde então, até mais recentemente, estudos vêm mostrando o papel dessas radiações no clareamento de águas residuais e na melhora na qualidade das mesmas (MORAN & ZEPP, 1997). Mais recentemente, outras abordagens como a degradação de óleos e compostos fenólicos (TURUNEN *et al.*, 1999; ANDREOZZI *et al.*, 2000; KUBAT *et al.*, 2000), também foram estudadas em função da industrialização e acidentes com petroleiros.

A partir da década de 70, retornou-se então, ao enfoque das radiações solares e da foto-degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) no processo de decomposição e ciclagem de nutrientes (STROME & MILLER, 1978; GELLER, 1986). Já na década de 90, o tema foto-oxidação passou a ter maior apelo, diante da temática da redução da camada de ozônio, aumento das radiações ultravioleta B e acúmulo de CO₂ na atmosfera (Figura 2). Dessa forma, diversos estudos enfocando a relação entre o carbono orgânico dissolvido (COD), a produção de dióxido de carbono e as radiações ultra-violeta começaram a ser desenvolvidos (LINDELL *et al.*, 1995; GRANÉLI *et al.*, 1996; LINDELL, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1998) bem como os efeitos dessas radiações sobre toda a biota (BOTHWELL *et al.*, 1994; BOELEN *et al.*, 2001; WANGBERG *et al.*, 2001; YAKOVLEVA & TITLYANOV, 2001; ROHDE, 2005). Atualmente, a chuva ácida, também resultante da atividade industrial, passou a ser considerada, uma vez que alterações no pH alteram também, as condições

químicas da água e da matéria orgânica dissolvida (MOD), podendo assim, alterar o processo de foto-oxidação da mesma (GENNINGS *et al.*, 2001; ANESIO & GRANALI, 2003).

2. Estado arte dos estudos a cerca do processo de foto-degradação e suas relações com a degradação bacteriana:

Para avaliar o perfil dos estudos feitos acerca da foto-degradação da MOD ou COD ao longo das últimas décadas, realizamos uma pesquisa buscando na base de dados da “*Web of Science*” (www.isiknowledge.com) trabalhos relacionados ao tema. Assim, fizemos uma busca direcionada em 20 jornais científicos de grande circulação relacionados ao assunto, como por exemplo, limnologia, oceanografia, ciclos biogeoquímicos, ecologia microbiana, fotoquímica, entre outros (*Science, Nature, Limnology and Oceanography, Biogeochemistry, Hydrobiologia, Archiv fur Hydrobiologie, Aquatic Microbial Ecology, Microbial Ecology, FEMS Microbial Ecology, Ecology, Ecology Letters, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Freshwater Biology, Marine Chemistry, Photochemical & Photobiological Sciences, Aquatic Sciences, Photochemistry and Photobiology, Amazoniana, Global Change Biology, Journal of Great Lakes Research*).

Combinando as revistas selecionadas e a busca da palavra-chave “*solar radiation*” ou “*sunlight*” foram encontrados 321 registros entre os anos de 1945 e 2005. Avaliando esses registros pelos anos de publicação, fica claro o aumento de quase 80 % no número de publicações na década de 90 em relação às anteriores (Fig. 1). Esse aumento parece ser resultado direto dos encontros internacionais voltados à discussão do tema “Aquecimento Global” (Rio-92, Kyoto-97), uma vez que a intensificação dos estudos foi registrada a partir da segunda metade da década de 90

(Fig. 2). É importante ressaltar, avaliando os gráficos das figuras 1 e 2, que a média anual de estudos acerca desse tema não apresenta tendência crescente após o ano 2000.

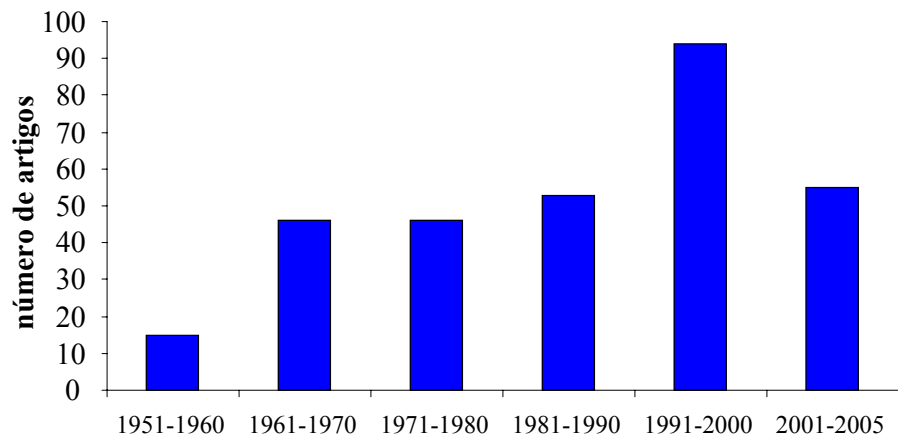


Figura 1: Número de artigos por década com as palavras-chave “*solar radiation*” ou “*sunlight*” no título, no grupo de revistas científicas selecionadas.

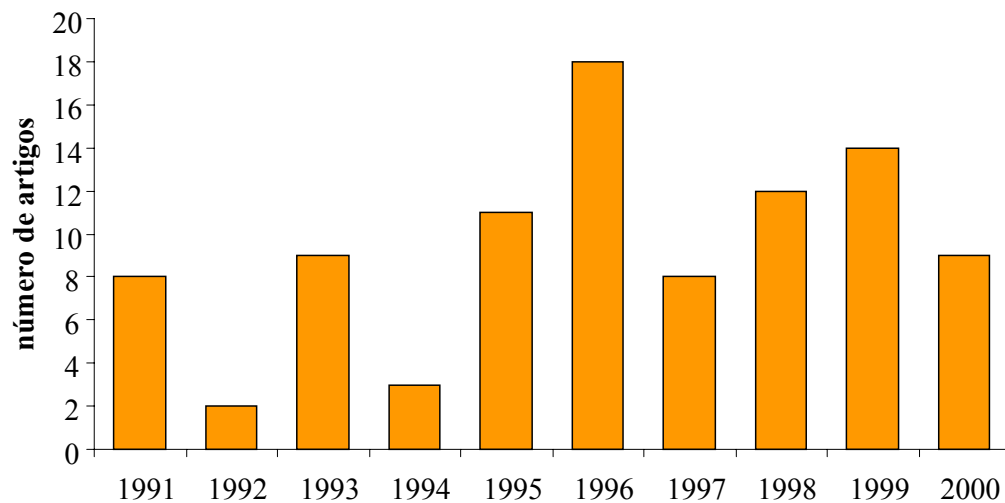


Figura 2: Número de artigos por ano com as palavras-chave “*solar radiation*” ou “*sunlight*” no título, no grupo de revistas científicas selecionadas, na década de 90.

Outra abordagem interessante em relação aos mesmos dados, é que o número de trabalhos realizados em países da região temperada do globo terrestre é extremamente maior do que os trabalhos realizados em países da região tropical (Fig. 3). Isso revela que a disponibilidade de recursos limita a quantidade dos estudos nos países em desenvolvimento (em sua maioria, localizados na região tropical). Como consequência, a falta de pesquisa sobre o processo de foto-degradação em ambientes tropicais revela um grande problema para o conhecimento do processo. A região tropical do globo apresenta maior intensidade de radiação solar incidente sobre a superfície terrestre em relação às regiões temperadas e polares (GRANÉLI *et al.*, 1998). A intensidade das radiações solares incidentes sobre a MOD é um dos principais fatores reguladores do processo de foto-oxidação (BERTILSSON & TRANVIK, 2000). Apesar disso, as teorias geradas sobre o tema da foto-oxidação estão limitadas às observações feitas em ecossistemas localizados nas regiões temperadas, nos quais aquelas intensidades não são as máximas para o planeta.

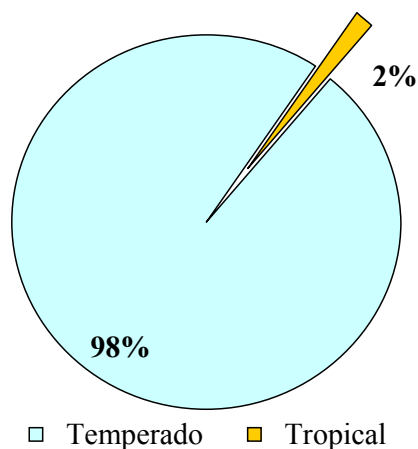


Figura 3: Proporção de ecossistemas temperados e tropicais registrados nos trabalhos publicados com as palavras-chave “solar radiation” ou “sunlight”, apresentados nas buscas de figura 1. Total de 333 ecossistemas em 321 trabalhos.

Inúmeros estudos já mostraram que o processo de foto-degradação pode interferir, positiva ou negativamente, no processo de degradação bacteriana e, vice-versa (e.g. LINDELL *et al.*, 1995; NIETO-CID *et al.*, 2006). Logo, o conhecimento

dessas relações torna-se indispensável, uma vez que esses dois processos são os mais relevantes para a decomposição da MOD na coluna d'água de ecossistemas aquáticos (JONSSON *et al.*, 2001). Entretanto, apesar do alto número de trabalhos envolvendo a foto- e a bio-degradação simultaneamente (31 trabalhos até 2005; busca com as palavras “*decomposition/degradation*” e “*bacterial*” e “*photochemical*”), apenas um estudo visou descrever os padrões gerais dessas relações (TRANVIK & BERTILSSON, 2001). Logo, esse estudo passou a ter importância central nos estudos posteriores, pois os orienta no sentido da busca dos mecanismos que conduzam esses padrões gerais. Por isso, utilizamos uma ferramenta de busca do site “*Web of Science*” denominada “*view related records*” (em Português significa: ver registros relacionados), com o intuito de avaliar a evolução do padrão proposto (teoria) ao longo dos anos. Essa ferramenta faz a ligação entre um trabalho específico, com todos os outros que foram citados ou citaram o mesmo, e analisa as citações que todos esses trabalhos tiveram em comum. Essa busca revelou um total de 2377 registros, sendo 838 em 19 revistas específicas (*Limnology and Oceanography, Marine Chemistry, Aquatic Microbial Ecology, Biogeochemistry, Hydrobiologia, Microbial Ecology, Applied Environmental Microbiology, Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, Freshwater, Nature, Archiv fur Hydrobiologie, Aquatic Sciences, FEMS Microbiology Ecology, Ecology, Ecosystems, Global Change Biology, Journal of Great Lakes Research, Journal of Plankton Research, Marine Ecology Progress Series*).

Como resultado, foi encontrado um aumento de mais de 300 % no número de trabalhos entre 1993 e 1997, que atingiram a estabilidade com um patamar anual em torno de 50 trabalhos por ano, a partir do ano 2000 (Fig. 4). Esse padrão mostra que a discussão mundial sobre o aquecimento global, em meados da década de 90 (Rio92 e

Kyoto97) impulsionou as pesquisas sobre o tema, mas que a partir do ano de 2000, outros problemas globais como, por exemplo, a perda de diversidade biológica, podem ter passado a dividir espaço no cenário científico mundial.

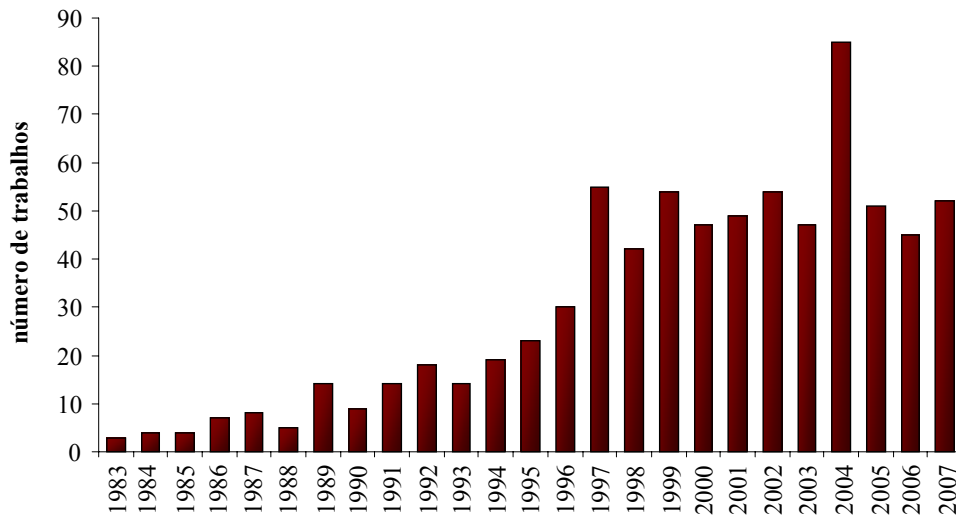


Figura 4: Número de artigos relacionados com TRANVIK & BERTILSSON (2001), categorizados por ano.

3. Degradação da matéria orgânica dissolvida em ecossistemas aquáticos: o papel da foto-degradação:

A partir da década de 90, em função da necessidade explicar as causas e conseqüências do aquecimento global, houve a intensificação dos estudos do ciclo do carbono na Terra. Os ecossistemas aquáticos passaram a receber especial atenção, pois os oceanos recobrem a maior parte do planeta e, junto com os ecossistemas aquáticos continentais, são importantes veículos de transporte do carbono terrestre para a atmosfera (COLE *et al.*, 1994). Um dos principais processos de decomposição do carbono orgânico dissolvido (COD) ou da matéria orgânica dissolvida (MOD) em ecossistemas aquáticos é mediado por bactérias, já que essas são responsáveis pela

mineralização da maior fração da MOD nesses ambientes (e.g. JONSSON *et al.*, 2001).

A maioria dos lagos do planeta são relativamente pequenos e, por isso, têm seu COD constituído principalmente por compostos orgânicos de origem terrestre, em grande parte por substâncias húmicas (WETZEL, 1992). As substâncias húmicas formam um estoque de inúmeras moléculas orgânicas que apresentam coloração de amarelada até marrom, dependendo de sua concentração e composição (para revisão sobre substâncias húmicas ver STEINBERG *et al.*, 2006). Por causa de sua coloração escura, as substâncias húmicas são bastante reativas às radiações solares e, por isso o processo de foto-degradação é extremamente importante para a mineralização da MOD em lagos. Ainda, o processo de foto-degradação, além de representar uma importante fração da mineralização é também responsável pela quebra de moléculas orgânicas resistentes à degradação biológica, aumentando a mineralização e o fluxo de matéria pelas bactérias (LINDELL *et al.*, 1995; WETZEL *et al.*, 1995; AMON & BENNER, 1996; MORAN & ZEPP, 1997; TRANVIK, 1998; AMADO *et al.*, 2006), reduzindo o acúmulo de MOD nos ecossistemas aquáticos. A degradação do COD/MOD pelos raios solares, conhecida como foto-degradação ou foto-oxidação, recebeu mais atenção ainda, uma vez que simultaneamente ao aquecimento global, foi detectada a redução da camada de ozônio da atmosfera. Essa camada é responsável por filtrar grandes quantidades da radiação ultravioleta B (UV-B; 280-320 nm) proveniente do sol. Por isso, a foto-degradação do COD tornou-se um processo chave, já que o aumento das incidências das radiações UV-B poderiam resultar no aumento das emissões de carbono a partir dos ecossistemas aquáticos (GRANÉLI *et al.*, 1998).

A foto-degradação é o processo de decomposição total ou parcial do COD pela ação dos raios solares (PAR e ultravioleta A e B) sobre moléculas orgânicas que

absorvem energia luminosa (e.g. substâncias húmicas; para revisão SUHETT *et al.*, 2006). Como resultado, são consumidas moléculas de O₂ para a oxidação da MOD e formação de compostos inorgânicos (e.g. CO₂, CO), compostos orgânicos mais oxidados que os iniciais, peróxidos orgânicos, peróxidos de hidrogênio (H₂O₂), oxigênio singlete (¹O₂), entre outras espécies reativas de oxigênio (HAAG & HOIGNE, 1986; KIEBER *et al.*, 1989; KIEBER *et al.*, 1990; GRANÉLI *et al.*, 1996). Por lidar com o ciclo de carbono em ecossistemas aquáticos, o processo de foto-oxidação tem potencial para influenciar os fluxos naturais de carbono para a atmosfera e potencializar os efeitos do aquecimento global.

4. Fatores reguladores do processo de foto-degradação da MOD:

Como o COD é o substrato para a foto-produção de CO₂, é plausível que as taxas de foto-oxidação estejam relacionadas à disponibilidade de COD. GRANÉLI *et al.* (1998) encontraram uma relação linear positiva entre a concentração de COD e a produção de CID em um estudo com diversos lagos húmicos ($r^2 = 0,86$), mesmo utilizando dados de lagos tropicais e temperados juntos. Outros estudos também mostraram essa relação considerando diversos tipos de ambientes, como ambientes amazônicos, costeiros, e lagos temperados profundos (BERTILSSON *et al.*, 1999; BERTILSSON & TRANVIK, 2000; AMADO *et al.*, 2003; SUHETT *et al.*, 2004; SUHETT *et al.*, 2006).

Um requisito básico para que as reações foto-químicas ocorram é que o COD seja capaz de absorver a energia luminosa. Essa absorção se dá através de estruturas moleculares comumente chamadas de cromóforos. Portanto, uma vez que o COD tenha essa capacidade, a quantidade de energia luminosa incidente sobre o COD pode ser um fator determinante para as taxas de foto-degradação. Diversos estudos já mostraram o aumento das taxas de foto-degradação com o aumento das radiações

incidentes (e.g. BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001a). A energia contida em um fóton é inversamente proporcional ao seu comprimento de onda. Sendo assim, diferentes comprimentos de onda têm capacidade diferenciada de realizar reações foto-químicas. Com relação à luz solar, tanto a faixa visível (PAR, do inglês Photosynthetically Active Radiation, 400-700 nm) como ultravioleta A (UV-A, 320-400 nm) e B (UV-B, 280-320 nm) são capazes de desencadear reações foto-químicas. A UV-A e UV-B, por serem mais energéticas, são frequentemente consideradas de maior importância para o processo de foto-degradação (GRANÉLI *et al.*, 1996; LINDELL *et al.*, 2000). No entanto em determinados ambientes de água escura, devido à alta atenuação da radiação UV na água, a PAR pode ser bastante efetiva foto-quimicamente (GRANÉLI *et al.*, 1998). O pH também é um importante regulador da foto-degradação. Quanto mais baixo o pH, mais intenso se torna o processo, por maior exposição de partes foto-reativas das moléculas (GENNINGS *et al.*, 2001; ANESIO & GRANÉLI, 2003).

A foto-reatividade da MOD também é um dos principais fatores reguladores da foto-degradação. Na realidade, a foto-reatividade é composta pela coloração da MOD, que confere maior ou menor habilidade de absorver radiação e, ao estado diagenético da MOD, que é o grau de degradação que a MOD se encontra (histórico de degradação). Quanto mais degradada encontra-se a MOD, mais energia deve ser despendida para o processo de decomposição. AMADO *et al.* (2003) mostraram que a MOD em lagos se apresenta em estado diagenético mais avançado que a MOD em pequenos rios de primeira e segunda ordem, protegidos do sol pela mata. Por isso, esse último grupo de ecossistemas apresenta MOD mais foto-reativa. Resultado semelhante também já foi verificado nos grandes lagos Norte Americanos (BIDDANDA & COTNER, 2003).

O oxigênio dissolvido, molécula receptora de elétrons nas reações de oxidação aeróbicas também é de extrema importância para o processo de foto-degradação por ser um dos reagentes. Com isso, diversos estudos quantificam o processo de foto-degradação pelo consumo fotoquímico dessa molécula (AMON & BENNER, 1996; AMADO *et al.*, 2007). Portanto, a presença de oxigênio é indispensável para o fenômeno de foto-degradação e limitar o processo quando em baixas concentrações.

Estudando alguns lagos da região temperada e da região tropical, GRANÉLI *et al.* (1998) encontraram maiores taxas de foto-degradação nos trópicos. Essas maiores taxas foram atribuídas às intensas radiações solares naquela região, uma vez que os ambientes apresentavam foto-reatividade semelhantes. Apesar da existência de ecossistemas extremamente ricos em COD de origem húmica e das elevadas intensidade das radiações solares nos trópicos, nenhum outro estudo posterior foi feito visando comparar as taxas de foto-degradação entre as duas regiões.

5. As relações da foto-degradação com a degradação bacteriana:

Na década de 1970, alguns estudos mostraram que o foto-branqueamento podia ser responsável por grande parte da perda de coloração da água em ambientes naturais e que estava relacionado ao consumo do COD pelas bactérias (STROME & MILLER, 1978). No entanto, apenas na década de 1980 a ligação entre os processos fotoquímicos e a disponibilidade biológica do COD foi mais bem detalhada (GELLER, 1986). Desde então, diversos estudos vem mostrando que o processo de foto-degradação pode afetar a utilização do COD pelas bactérias. Alguns ressaltaram que o processo de foto-degradação pode resultar na produção de compostos bio-disponíveis, como ácidos carboxílicos, a partir de MOD refratária (KIEBER *et al.*, 1989; MOPPER & ZHOU, 1990; MOPPER *et al.*, 1991) que, de maneira geral, resultam no estímulo ao metabolismo bacteriano (LINDELL *et al.*, 1995; BENNER &

BIDDANDA, 1998; AMADO *et al.*, 2006). Por outro lado, a foto-degradação também pode degradar compostos orgânicos muito disponíveis à utilização bacteriana ou a humificação desses compostos, reduzindo então seu metabolismo (KIEBER *et al.*, 1997; BENNER & BIDDANDA, 1998; ANESIO *et al.*, 1999; FARJALLA *et al.*, 2001a).

Alguns autores sugeriram a existência de competição entre a foto-degradação e a degradação bacteriana, uma vez que atuam no mesmo estoque de moléculas (COTNER & BIDDANDA, 2002; OBERNOSTERER & BENNER, 2004). Entretanto, como a MOD pode apresentar disponibilidade inversa para os dois processos, i.e. MOD de origem húmica ser mais disponível para a foto-degradação, enquanto que MOD de origem algal ser mais disponível à degradação bacteriana, a competição parece menos provável (AMADO *et al.*, 2006).

TRANVIK & BERTILSSON (2001) mostraram que o efeito da foto-degradação da MOD é positivo para as bactérias quando a MOD é de origem húmica (alóctone). Por outro lado, quando a MOD é de origem algal (autóctone) o efeito da foto-degradação para as bactérias é negativo. Os efeitos positivos são, de maneira geral, explicados pela produção de moléculas mais bio-disponíveis que as iniciais. Já para os efeitos negativos, existem algumas hipóteses e as principais são: (1) foto-consumo de moléculas bio-disponíveis, (2) formação de moléculas menos bio-disponíveis, (3) foto-humificação e (4) produção de compostos tóxicos ao metabolismo bacteriano, como as espécies reativas de oxigênio (KEIL & KIRCHMAN, 1994; COTNER & BIDDANDA, 2002; PAUL *et al.*, 2004; PEREZ & SOMMARUGA, 2007). Diversos estudos já confirmaram a existência desses fenômenos. Entretanto, os mecanismos que controlam em que condições, proporções e momentos elas atuam, ainda não estão claros.

5. Hipóteses

Para nortear essa tese, formulamos as seguintes hipóteses:

- (1) *As taxas de foto-oxidação são mais altas na região tropical que na região;*
- (2) *A origem da MOD (autóctone ou alóctone) é o fator determinante do resultado das relações entre a foto-oxidação e a degradação bacteriana, em função do balanço entre a produção e consumo de moléculas mais disponíveis para o metabolismo bacteriano.*

6. Objetivos

1. Estudar o processo de foto-oxidação em ecossistemas da região tropical, quanto às suas regulações e dinâmicas sazonais e, compará-los com ecossistemas da região temperada;
2. Estudar o processo de foto-degradação, com ênfase na mineralização direta do COD, em ecossistemas tropicais com diferentes fontes e concentrações de COD;
3. Estudar os padrões sazonais de foto-degradação em ecossistemas tropicais;
4. Estudar as interações entre a foto-degradação e a bio-degradação da MOD ou COD em ecossistemas tropicais;
5. Investigar mecanismos que regulam as interações entre a foto-degradação e a bio-degradação da MOD, com ênfase no consumo de moléculas chave (como aminoácidos) e dinâmica do oxigênio singlete.

CAPÍTULO: 1

Altas taxas de foto-degradação e o efeito ambíguo da coloração da MOD em lagoas costeiras tropicais

Manuscrito

Resumo

O processo de foto-oxidação é uma importante via de mineralização do COD em ecossistemas aquáticos. Inúmeros estudos já demonstraram que as concentrações de COD, a coloração da água, a incidências das radiações solares, o estado diagenético e a disponibilidade de oxigênio podem ser fatores reguladores (restritivos) ao processo de foto-oxidação. Entretanto, esses estudos não avaliaram esses parâmetros em condições extremas (e.g. concentrações de COD e coloração extremamente altas). Os objetivos do presente estudo foram de: (1) Ajustar parâmetros metodológicos para o estudo do processo de foto-degradação em ecossistemas aquáticos húmicos/super-húmicos tropicais; (2) avaliar alguns fatores reguladores da foto-oxidação em ecossistemas húmicos/super-húmicos tropicais e; (3) medir as taxas de foto-oxidação em 20 ecossistemas húmicos/super-húmicos costeiros tropicais e compará-los aos padrões mundiais. Foram realizados três tipos de experimentos de exposição do COD ao sol. O primeiro consiste na exposição de amostras à diferentes intensidades de radiação solar, enquanto que o segundo consistiu na exposição de amostras de mesma origem com diferentes concentrações de COD (diluições) e, o terceiro foi a exposição de um gradiente de 20 ambientes com características distintas. Os nossos resultados revelaram que a concentração de O₂ pode se tornar limitante ao processo de foto-oxidação em experimentos estudando ecossistemas super-húmicos. Mostraram ainda, que a coloração da MOD pode apresentar efeitos ambíguos para a foto-oxidação. Em ambientes cuja MOD apresenta a coloração mais clara, o aumento da coloração favorece o aumento das taxas potenciais de foto-oxidação, enquanto que em ambientes super-húmicos, o aumento da coloração reduz o potencial de foto-oxidação por auto-sombreamento da MOD. Por fim, os resultados medidos nesse trabalho foram os mais altos valores de foto-oxidação já registrados na literatura.

Introdução

Nas últimas duas décadas a ciência tem dado especial atenção à temática das mudanças globais (STEWART & DE FABO, 1993; ERICKSON *et al.*, 2000; CRAINE *et al.*, 2003), sobretudo aos estudos acerca do ciclo do carbono em função do acúmulo de gases estufa, como o dióxido de carbono (CO₂), na atmosfera. Nesse sentido, receberam grande destaque os estudos visando entender os processos de liberação natural de carbono dos ecossistemas terrestres e aquáticos para a atmosfera, e também processos que pudessem promover a apreensão de carbono atmosférico por esses ecossistemas (REICH *et al.*, 2001; GRACE & MALHI, 2002; NIEMI *et al.*, 2002; CRAINE *et al.*, 2003; SOBEK *et al.*, 2003; RANTAKARI & KORTELAINEEN, 2005; MARRIS, 2006; ROULET *et al.*, 2007).

Os ecossistemas aquáticos apresentam papel central no ciclo global do carbono, uma vez que contém parte significativa de todo carbono da geosfera e apresentam uma importante via de fluxo de carbono entre ecossistemas terrestres e a atmosfera, através do processamento do carbono orgânico dissolvido (COD; FARRINGTON, 1992; COLE *et al.*, 1994; RICHEY *et al.*, 2002). O processamento do COD na coluna d'água ocorre, principalmente, por dois processos básicos: degradação bacteriana e foto-degradação. A degradação bacteriana compreende a utilização de COD pelas bactérias como fonte de nutrientes e/ou energia. A foto-degradação é o processo de decomposição total ou parcial do COD pela ação dos raios solares (PAR e ultravioleta A e B) sobre moléculas orgânicas que absorvam energia luminosa (e.g. substâncias húmicas; para revisão SUHETT *et al.*, 2006). Como resultado, são consumidas moléculas de O₂ para a formação de compostos carbônicos inorgânicos (e.g. CO₂, CO), compostos orgânicos mais oxidados que os iniciais, peróxidos orgânicos, peróxidos de hidrogênio (H₂O₂), oxigênio singlete (¹O₂), entre outras espécies reativas

de oxigênio (HAAG & HOIGNE, 1986; KIEBER *et al.*, 1989; KIEBER *et al.*, 1990; GRANÉLI *et al.*, 1996).

O processo de foto-degradação é regulado por uma série de fatores: (1) a reatividade do COD com as radiações solares, (2) a quantidade de radiação que atinge o COD, (3) a concentração do COD no ecossistema, (4) a qualidade ou origem do COD e, (5) a disponibilidade de oxigênio (O₂) na água (GRANÉLI *et al.*, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1998; ANDREWS *et al.*, 2000; BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001a; AMADO *et al.*, 2003; BIDDANDA & COTNER, 2003; AMADO *et al.*, 2006). Apesar da dependência da disponibilidade de radiação solar, o processo de foto-degradação é responsável por cerca de 10% da mineralização total em lagos profundos temperados e pode contribuir em magnitude semelhante a respiração bacteriana na mineralização total de lagos tropicais (GRANÉLI *et al.*, 1996; JONSSON *et al.*, 2001; AMADO *et al.*, 2006). Além de promover a mineralização direta do COD, o processo de foto-degradação também atua aumentando ou diminuindo a disponibilidade do COD para a degradação bacteriana (e.g. OBERNOSTERER *et al.*, 2001). Sendo assim, a foto-degradação é um processo chave na ciclagem de carbono nos ecossistemas aquáticos continentais.

A maioria dos lagos do planeta são relativamente pequenos e, por isso, têm seu COD constituído principalmente por compostos orgânicos de origem terrestre, em grande parte por substâncias húmicas (WETZEL, 1992). As substâncias húmicas formam um estoque de inúmeras moléculas orgânicas que apresentam coloração de amarelada até marrom, dependendo de sua concentração e composição (para revisão sobre substâncias húmicas ver STEINBERG *et al.*, 2006). Por causa de sua coloração escura, as substâncias húmicas são bastante reativas às radiações solares e, por isso,

sofrem foto-degradação em escalas maiores que outras substâncias (e.g. origem algal; AMADO *et al.*, 2006; AMADO *et al.*, 2007; ver capítulos 3 dessa tese).

As lagoas costeiras tropicais apresentam ampla variação de características físico-químicas. No norte do Estado do Rio de Janeiro (Macaé-Carapebus), as lagoas costeiras apresentam grande amplitude de variação nas suas concentrações de COD entre 1,0 e 7,0 mM, coloração da água (Absorvância 430 nm) entre 0,005 e 0,315 e clorofila *a* entre 0,83 e 136,44 $\mu\text{g L}^{-1}$ (FARJALLA *et al.*, 2001b). Essa variação dos últimos 2 parâmetros indica alternância na origem do COD nesses ambientes entre terrestre (alóctone) e aquático (autóctone). Quando comparadas com a literatura, tanto para ambientes temperados quanto para tropicais, lagoas costeiras do norte do Rio de Janeiro apresentam concentrações de COD, em sua maioria, muito mais elevadas podendo ser consideradas super-húmicos (e.g. LINDELL *et al.*, 2000; SUHETT *et al.*, 2004; STEINBERG *et al.*, 2006). FARJALLA *et al.* (2004) ressaltaram a necessidade de estudos que visem compreender como esses parâmetros afetam a foto-degradação nas lagoas costeiras do Norte do Rio de Janeiro. Além da Apesar de terem sido publicados 5 artigos sobre a foto-degradação nesses ambientes, nenhum deles avaliou os efeitos de cada parâmetro nas taxas de foto-degradação e, nem abrangeu mais de 4 ecossistemas (GRANÉLI *et al.*, 1998; FARJALLA *et al.*, 2004; SUHETT *et al.*, 2004; AMADO *et al.*, 2007; SUHETT *et al.*, 2007). Além das elevadas concentrações de COD e cor, as elevadas taxas de incidência das radiações solares nos trópicos, em relação à região temperada, devem resultar em taxas de foto-degradação extremamente elevadas em lagoas costeiras húmicas/super-húmicas tropicais.

As lagoas costeiras também representam uma grande amplitude de variação de salinidade desde lagoas oligohalinas até hipersalinas (e.g. e.g. 0,1 – 130 ppt; FARJALLA *et al.*, 2001b; e.g. e.g. 0,1 – 130 ppt; ENRICH-PRAST *et al.*, 2004). A

influência marinha sobre a salinidade, faz com que algumas lagoas costeiras apresentem grandes concentrações de formas carbonatadas na água, elevando o pH e alcalinidade das mesmas. O processo de foto-degradação é normalmente estudado pelas variações nas concentrações de carbono inorgânico dissolvido (CID) entre amostras expostas e amostras não expostas (controle) à radiação solar. Entretanto, a alta alcalinidade em algumas lagoas costeiras faz com que o equilíbrio químico das formas carbônicas favoreça a existência de formas carbonatadas o que faz com que a água seja extremamente rica em CID (ESTEVEZ, 1998b), impossibilitando a detecção de pequenas variações na concentração do CID em função de mineralização foto-química e, impossibilitando os estudos a cerca da foto-degradação em alguns desses ambientes (para revisão ver SUHETT *et al.*, 2006).

Os objetivos do presente estudo foram:

- (1) Ajustar parâmetros metodológicos para o estudo do processo de foto-degradação em lagoas costeiras tropicais com influência marinha;
- (2) Avaliar os efeitos de diferentes fatores (concentração do COD, cor da água, radiação e concentração de oxigênio na água) para o processo de foto-oxidação em ecossistemas costeiros tropicais húmicos/super-húmicos;
- (3) Medir as taxas de foto-oxidação em 20 ecossistemas costeiros tropicais húmicos/super-húmicos e compará-los a outros ecossistemas tropicais e temperados.

Materiais e Métodos

Área de estudos

No presente trabalho o processo de foto-oxidação foi estudado em 20 ecossistemas costeiros localizados no Norte do Estado do Rio de Janeiro nos Municípios de Rio das Ostras, Macaé, Carapebus e Quissamã. Trata-se de 19 lagoas costeiras (Amarra-boi, Barrinha, Bezerra, Carapebus, Cabiúnas, Casa-Velha,

Catingosa, Comprida, Encantada, Garça, Imboassica, Maria Menina, Paulista, Pires, Piripiri II, Preta, Robalo, Ubatuba e Visgueiro) e um afloramento de lençol freático (Atoleiro). Todos os ecossistemas encontram-se dentro de uma unidade de conservação (Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba), exceto a lagoa Imboassica que se situa em área urbana, entre os municípios de Rio das Ostras e Macaé, e recebe aportes de efluentes domésticos. Os demais ambientes, situados no interior do PARNA, apresentam-se bem preservados, circundados por vegetação de restinga e solo arenoso. Esses ambientes representam gradientes de diversas características limnológicas como: oligotróficos até eutróficos, ambientes de águas claras até hiper-húmicos, ambientes oligohalinos até hipersalinos, gradientes de COD, nitrogênio (N), fósforo (P), entre outros (FARJALLA *et al.*, 2001b; ENRICH-PRAST *et al.*, 2004).

Montagem dos experimentos

Todas as amostras desse estudo foram coletadas na sub-superfície (cerca de 20 cm de profundidade) de cada ecossistema, entre janeiro de 2005 e setembro de 2006, e acondicionadas em garrafas de polietileno previamente lavadas com HCl 10% e água deionizada e enxaguadas com água do próprio ambiente. Em laboratório, todas as amostras foram pré-filtradas em filtros de fibra de vidro de porosidade 0,7 μ m (GF75, Advantec) e então, filtradas em membrana de porosidade de 0,2 μ m para a exclusão das bactérias (95%). As amostras foram acondicionadas em tubos de quartzo (24,5 cm comprimento; 2,2 cm diâmetro) e seladas com tampas de vidro, sem atmosfera interna. Todas as amostras, nos tubos de quartzo, foram incubadas ao sol por um período de até 6 horas, entre 9:00 e 17:00, de acordo com os experimentos descritos adiante, imersos em água em piscina plástica para a manutenção da temperatura das amostras (29°C; \pm 1). A cada 30 minutos (no experimento 1 descrito adiante) ou a cada hora (nos experimentos 2 e 3 descritos adiante), a radiação incidente foi medida,

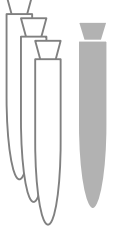
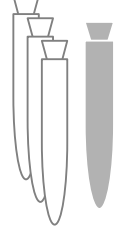
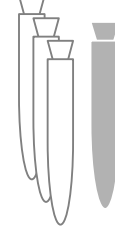
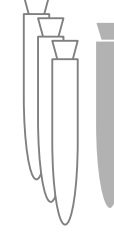
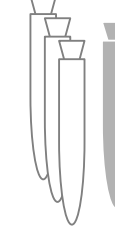

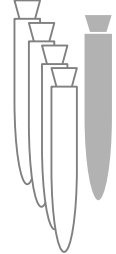
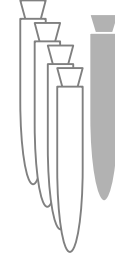
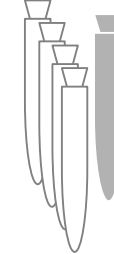
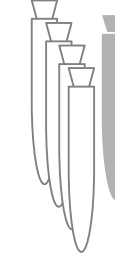

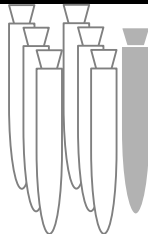
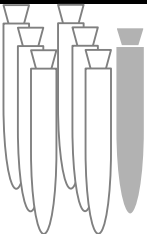
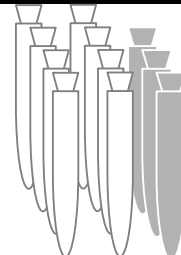
com um radiômetro (IL 1400 – International Light INC.) equipado com 3 sensores para radiações PAR, UV-A e UV-B (280 – 700 nm). A radiação total incidente nas amostras foi calculada pela integração dos valores de radiação para cada banda de radiação nos intervalos de tempo em que foram medidos, conforme GRANÉLI *et al.* (1998) e AMADO *et al.* (2007). Antes das incubações foram medidas nas amostras: concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) e carbono inorgânico dissolvido (CID), absorvância em 430 nm e a concentração de oxigênio dissolvido (O₂). Ao término das incubações eram medidas as concentrações de O₂ e CID.

No presente trabalho foram elaborados três experimentos distintos:

(1) Experimentos de foto-oxidação com diferentes tempos de duração:

Esses experimentos foram realizados em janeiro de 2005, com amostras de três ecossistemas: Atoleiro, lagoa Cabiúnas e lagoa Imboassica. Para cada lagoa, 25 tubos de quartzo foram incubados com amostra filtrada, conforme descrito anteriormente, sendo 5 envoltos em papel alumínio usados como controle. Nesses experimentos todos os tubos foram incubados simultaneamente, conforme descrito acima, porém, cada lagoa teve amostras expostas por diferentes tempos de incubação: Atoleiro – 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas de incubação; lagoa Cabiúnas - 2, 4 e 6 horas; lagoa Imboassica – 2, 3, 4, 5 e 6 horas (Quadro 1). Em cada intervalo de tempo, pelo menos um tubo controle e 4 tubos expostos eram removidos da incubação e tinham medidas, imediatamente, as concentrações de O₂ e CID. Para a comparação das taxas de foto-oxidação entre os diferentes tempos de incubação das amostras de uma mesma lagoa, foram feitas normalizações pela radiação incidente, conforme descrito adiante (Sessão de Métodos analíticos e cálculos).

Quadro 1: Esquema do experimento 1. Os tubos brancos representam as amostras expostas e os tubos cinza representam as amostras controle, cobertas com papel alumínio. As taxas de foto-degradação eram medidas em cada conjunto de tubos após o tempo de incubação determinado.

Tempo de incubação (horas)	1	2	3	4	5	6
Atoleiro						
Total de tubos						
Lagoa Comprida						
Total de tubos						
Lagoa Cabiúnas						
Total de tubos						

(2) Experimentos de diluição de amostras:

Esses experimentos foram realizados em janeiro e fevereiro de 2006, com amostras de três ambientes: Atoleiro, lagoa Comprida e lagoa Cabiúnas. Foi determinada a concentração de COD de cada amostra e estas foram diluídas com água Milli-Q para as concentrações apresentadas no quadro 2. Cada diluição foi

acondicionada em 8 tubos de quartzo e seladas com tampas de vidro, sem atmosfera interna. Desses 8 tubos, 4 foram envoltos em papel alumínio como controle, e todos os tubos foram incubados ao sol, conforme descrito anteriormente. Foram realizadas incubações em diferentes dias, para contemplar todas as amostras e diluições. As amostras do Atoleiro foram incubadas por 3 horas e 30 minutos, exceto as diluições de 15, 10 e 5 mg C L⁻¹, que foram incubadas por 6 horas, assim como as amostras e diluições dos outros dois ecossistemas. De acordo com os experimentos com diferentes tempos de incubação, amostras com altas concentrações de COD devem ser submetidas à radiação menor que 20 mW cm⁻², para evitar limitação do processo de foto-oxidação por ausência de O₂ (Ver resultados e discussão). Por isso, as amostras foram incubadas por tempos distintos. Ao final de cada incubação foram medidas as concentrações de O₂ e CID.

Quadro 2: Concentrações de COD inicial e diluições feitas no experimento 2, para o Atoleiro, Lagoa Comprida e lagoa Cabiúnas.

Diluições de COD (mg.L ⁻¹)														
	COD inicial (mg/l)	110	100	90	80	70	60	50	40	30	20	15	10	5
Atoleiro	122	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Comprida	50								X	X	X	X	X	X
Cabiúnas	18											X	X	X

(3) Experimentos de foto-oxidação com amostras de 20 ecossistemas:

Esses experimentos foram realizados em setembro de 2006, com amostras dos vinte ecossistemas aquáticos costeiros citados anteriormente. Todas as amostras foram incubadas ao sol, de acordo com os procedimentos descritos acima. As amostras das lagoas Ubatuba, Casa-Velha e Preta e do Atoleiro foram incubadas por apenas 4 horas para manter a radiação incidente total abaixo de 20 mW cm⁻², conforme supracitado. O restante das amostras foi incubado por tempo total de 6 horas. As taxas de foto-

oxidação foram normalizadas pela radiação incidente nas amostras, para tornarem-se comparáveis, uma vez que foram expostas ao sol sob diferentes intensidades de radiação solar.

Com o objetivo de comparar as taxas de foto-degradação do COD das lagoas costeiras, com outros ecossistemas da região tropical e ecossistemas da região temperada, fizemos um levantamento de dados na literatura buscando abranger uma variedade maior possível de tipos de ambientes, englobando rios, lagoas e lagos tanto de águas claras como de águas escuras, tentando fazer uma análise representativa em escala global. Foram utilizados 6 estudos para ecossistemas tropicais (AMON & BENNER, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1998; AMADO *et al.*, 2003; SUHETT *et al.*, 2004; AMADO *et al.*, 2006; SUHETT *et al.*, 2007) e 4 estudos para ecossistemas temperados (SALONEN & VAHATALO, 1994; GRANÉLI *et al.*, 1996; REITNER *et al.*, 1997; GRANÉLI *et al.*, 1998). Estes estudos foram escolhidos por terem utilizado exposição à luz solar ou fonte artificiais com intensidade semelhante, em experimentos com duração de um ou poucos dias. Vale ressaltar que os estudos sobre foto-oxidação em ecossistemas tropicais encontrados na literatura concentraram-se no território brasileiro, mas como já foi apontado acima, foram amostrados ecossistemas de variados tipos, aumento a representatividade desta análise para ecossistemas tropicais em geral. Os dados foram separados em três grupos: (1) Ecossistemas temperados; (2) Ecossistemas tropicais e (3) Lagoas costeiras tropicais. Nesse terceiro grupo, foram incluídos dados da literatura e os dados das 20 lagoas costeiras estudadas no presente trabalho.

Todas as taxas de foto-oxidação foram expressas em $\mu\text{M C d}^{-1}$. Quando as exposições foram feitas por apenas 6 horas, como foi o caso da maioria dos dados para ecossistemas tropicais (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1998; e.g. AMADO *et al.*, 2003),

os valores de foto-oxidação apresentados foram considerados como o total para o dia inteiro, sendo, portanto, subestimados. Valores expressos em consumo de O₂ foram convertidos para carbono considerando uma relação molar 1:1 entre O₂ consumido e CO₂ produzido. Em alguns estudos, são apresentados vários valores para um mesmo ecossistema.

Métodos analíticos e cálculos

O termo taxa de foto-degradação ou foto-oxidação foi utilizado nesse trabalho para designar a quantidade de CID produzido ou O₂ consumido nas amostras expostas, em relação às amostras controle, durante o período no qual as amostras foram incubadas ao sol.

Carbono inorgânico dissolvido (CID) – As amostras foram acidificadas com ácido fosfórico (25%) transformando todo o CID em CO₂. Este, por sua vez, foi quantificado através de um detector infra-vermelho em um aparelho analisador de carbono TOC 5000 Shimadzu (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1998). A solução padrão foi feita com carbonato de sódio e hidrogeno carbonato de sódio (Na₂CO₃ e NaHCO₃, respectivamente) e foram utilizadas as concentrações de 0, 1, 2 e 5 mg C l⁻¹ nas curvas padrão.

Carbono orgânico dissolvido (COD) – As amostras sofreram combustão a 680 °C transformando todas as formas de carbono dissolvidas em CO₂. Este, por sua vez, foi quantificado por procedimento similar ao CID. A solução padrão foi feita com hidrogeno fitalato de potássio (C₈H₅KO₄) e foram utilizadas as concentrações de 0, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 150 e 200 mg C l⁻¹ nas curvas padrão. Tanto para CID, quanto para o COD, foram feitas no mínimo três injeções por amostra e eram aceitos coeficientes de variação menores ou iguais a 2 % (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1998). As taxas de foto-

oxidação por produção de CO₂ foram calculadas pelas diferenças das concentrações de CID entre as amostras expostas e controles.

A concentração de O₂ em todos os tubos foi medida com uma micro-sonda de ouro conectada a um pico-amperímetro (Unisense©, ver BRIAND *et al.*, 2004). As taxas de foto-oxidação por consumo de O₂ foram calculadas pelas diferenças das concentrações de O₂ entre as amostras expostas e controles. Os valores foram apresentados como valores positivos de consumo.

A absorvância em 430 nm foi medida com espectrofotômetro (Beckman DU 560), cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm e água Milli-Q como referência (branco) e os valores foram transformados para coeficiente de absorção de acordo com Hu *et al.* (2002):

$$a_{430} = (A_{430} \times 2,303) \div L$$

onde A_{430} é a absorvância em 430 nm, e L é o caminho óptico da cubeta (em metros). Nós utilizamos o coeficiente de absorção em 430 nm (a_{430}) como estimativa de coloração da água (STROME & MILLER, 1978).

Para a normalização das taxas de foto-oxidação pela radiação incidente, assumimos que as taxas de foto-oxidação aumentam linearmente com a intensidade total das radiações incidentes nas amostras. Sendo assim, as taxas normalizadas foram calculadas pela seguinte fórmula:

$$T_n = (T_a \times 100) \div ((R_a \times 100) \div R_{\text{máx}})$$

Onde: T_n é a taxa de foto-oxidação normalizada; T_a é a taxa de foto-oxidação de determinada amostra, a ; R_a é a radiação incidente na mesma amostra determinada, a ; $R_{\text{máx}}$ é a maior radiação que incidiu sobre alguma das amostras que estão sendo comparadas.

Análise estatística

As análises de regressão linear, simples ou múltiplas, foram realizadas pelo programa JMP IN 5.0. Os testes de Análise de Variância (ANOVA) com teste *a posteriori* de Tuckey-Kramer, foram utilizados para a comparação entre as taxas de foto-oxidação da literatura e do presente estudo, e foram realizados pelo programa GraphPad Prism 4.0. As taxas de foto-degradação nos ambientes temperados, tropicais e lagoas costeiras foram comparadas entre si, pelo teste não paramétrico de Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Dunn. O nível mínimo de significância aceito para os testes estatísticos foi de $p < 0,05$.

Resultados

As taxas de foto-oxidação pelo consumo de O_2 e pela produção de CID, incluindo todos os dados (20 lagoas mais os experimentos de diluição) apresentaram relação positiva significativa, com uma taxa de conversão média de aproximadamente 100 % ($r^2 = 0,80$, $p < 0,0001$; Fig. 1).

Incubações com tempos diferenciais

Tanto a concentração de COD e a coloração da água, quanto as taxas de foto-oxidação (pelo consumo de O_2 e pela produção de CID), foram mais altas no Atoleiro que nas lagoas Cabiúnas e Imboassica, respectivamente (Tabelas 1, 2 e 3). Os três ecossistemas estudados apresentaram comportamentos semelhantes na dinâmica da foto-oxidação ao longo dos intervalos de tempo durante as incubações. Tanto o Atoleiro quanto a lagoa Cabiúnas apresentaram taxas de foto-oxidação crescentes com o tempo, tanto em relação ao consumo de O_2 , quanto à produção de CID (Tabelas 1 e 2). A lagoa Imboassica apresentou tendência de aumento dessas taxas com o tempo, mas os padrões são menos pronunciados (Tabela 3). Quando as taxas de foto-oxidação são normalizadas pela intensidade de radiação recebida pelas amostras em cada intervalo de tempo, os três ambientes apresentam comportamentos diferentes. O

Atoleiro apresentou tendência decrescente das taxas de foto-oxidação normalizadas com o aumento do tempo de incubação das amostras (Fig. 2a). A lagoa Cabiúnas revelou estabilidade nas taxas de foto-oxidação com o aumento do tempo de incubação, apresentando valores semelhantes na maioria dos intervalos, principalmente para a produção de CID (Fig. 2b). A lagoa Imboassica não apresentou variação nas taxas de consumo de O_2 , mas apresentou leve decréscimo nas taxas de produção de CID, normalizadas pela radiação, ao longo do tempo (Fig. 2c).

Após 3 horas de incubação, a concentração de O_2 nas amostras expostas do Atoleiro já havia sido reduzida em mais de 80%, chegando a uma redução total de mais de 90% após as 6 horas de incubação (Fig. 3). Por outro lado, a concentração de O_2 nas amostras expostas da lagoa Cabiúnas sofreu redução de menos de 25% após as 6 horas de incubação e na lagoa Imboassica sofreu redução de menos de 9% após as 6 horas de incubação (Fig. 3).

Experimentos de diluição

Os dados das regressões lineares simples entre as variáveis para o Atoleiro e as lagoas Comprida e Cabiúnas estão apresentados na tabela 4. Todas as correlações no Atoleiro foram positivas e significativas, sendo a correlação mais forte entre foto-oxidação (O_2) e a_{430} . Na lagoa Comprida as correlações com foto-oxidação (O_2) não foram significativas. A principal correlação foi entre foto-oxidação (CID) e a_{430} . Nessa lagoa, as correlações foram mais fortes quando foram feitas regressões múltiplas com todos os parâmetros (Tabela 5). Ao contrário do Atoleiro, o processo de foto-oxidação na lagoa Comprida foi determinado por um balanço entre a concentração e coloração do COD e a radiação incidente sobre este. Na lagoa Cabiúnas, as correlações entre as taxas de foto-oxidação e a concentração de COD

foram altas e significativas e as correlações com a_{430} não foram significativas, apesar de apresentar altos valores para r^2 (Tabela 4).

Analisando os parâmetros das correlações entre COD e foto-oxidação (CID) nas três lagoas, observamos que o Atoleiro, ambiente com maior concentração de COD *in loco*, apresenta o menor coeficiente angular da reta ajustada aos pontos, seguido da lagoa Comprida e da lagoa Cabiúnas, que possui a menor concentração de COD *in loco*. Em contrapartida, o coeficiente linear apresenta padrão inverso, sendo maior no Atoleiro (Fig. 4).

Foto-oxidação em amostras de 20 ecossistemas costeiros

A concentração de COD nos 20 ecossistemas estudados variou de 0,522 mM a 10,067 mM e a_{430} variou de 0,014 a 1,261 na lagoa Imboassica e no Atoleiro, respectivamente (Tabela 6). A radiação incidente nas amostras variou de 10,833 a 21,682 mW cm⁻² (Tabela 6). As taxas de foto-oxidação, tanto pelo consumo de O₂ quanto pela produção de CID, foram maiores na lagoa Preta e mínimas na lagoa Imboassica (Tabela 6).

A foto-oxidação por consumo de O₂ apresentou relação positiva com a concentração de COD nos 20 ambientes estudados ($r^2 = 0,42$, $p = 0,0019$; Fig. 5a). Por outro lado, a foto-oxidação por produção de CID não apresentou relação significativa com o mesmo parâmetro ($r^2 = 0,36$, $p = 0,1569$, Fig. 5b). Entretanto, quando excluídos os “outliers” em ambas as análises, a correlação se torna ainda mais significativa para o consumo de O₂ ($r^2 = 0,70$, $p < 0,0001$; Fig. 5c) e torna-se significativa para a produção de CID ($r^2 = 0,90$, $p = 0,0037$, Fig. 5d).

O levantamento bibliográfico dos dados de foto-degradação revelou maiores taxas de foto-degradação nos ambientes da região tropical em relação à região

temperada ($p < 0,05$). As taxas de foto-degradação das lagoas costeiras não foram significativamente maiores que nos demais ambientes tropicais (Fig. 6).

Discussão

Foto-conversão de O_2 em CID (CO_2)

O processo de foto-oxidação resulta no consumo de O_2 para a produção de inúmeros compostos orgânicos mais oxidados que os originais e compostos inorgânicos (e.g. ácidos carboxílicos, CO_2 , H_2O_2 , 1O_2 , etc). Entre as metodologias mais utilizadas para detectar as taxas de foto-oxidação estão o consumo de O_2 e a produção de CID (e.g. AMON & BENNER, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1998; AMADO *et al.*, 2007). O consumo de O_2 é normalmente medido pela utilização de metodologias muito sensíveis de variação de oxigênio como espectrometria de massa e utilização de micro-eletrodos de ouro. Já a produção de CID é comumente medida por analisadores de carbono (e.g. TOC Shimadzu) por acidificação com ácido fosfórico e leitura em detector infra-vermelho. As duas metodologias têm vantagens e desvantagens. O método pelo consumo de O_2 pode ser utilizado para ambientes com características físico-químicas diversas. Entretanto, pode não ser um bom método para estimar taxas de mineralização foto-química, uma vez que o O_2 pode ser consumido para a oxidação parcial de compostos orgânicos e assim, não ser representativo para a formação de CO_2 . Por outro lado, a produção de CID, apesar de resultar em boa estimativa de mineralização de carbono, não pode ser utilizada para medições em ecossistemas que apresentem elevada alcalinidade. A alta alcalinidade faz com que o equilíbrio químico das formas carbônicas favoreça a existência de formas carbonatadas o que faz com que a água seja extremamente rica em CID (ESTEVES, 1998b), impossibilitando a detecção de pequenas variações na concentração do CID em função de mineralização fotoquímica.

As lagoas costeiras são ecossistemas que apresentam ampla variação de alcalinidade, pH e sais (ESTEVEES, 1998a; ENRICH-PRAST *et al.*, 2004). Algumas apresentam pH ácido (freqüentemente; $\text{pH} < 4$) devido à presença de substâncias húmicas provenientes da vegetação de entorno (restinga). Outras lagoas apresentam elevadas salinidades em função da proximidade com o oceano, pela entrada de água do mar por eventos de ressaca ou abertura da barra de areia que separa essas lagoas do oceano. Outras lagoas apresentam-se ainda, hipersalinas, pois são formadas pelo represamento de água do mar. Parte da água sofre evaporação concentrando os sais (e.g. lagoa das Garças chega a apresentar salinidades superiores a 100 ppm; FARJALLA *et al.*, 2001b; ENRICH-PRAST *et al.*, 2004). A influência marinha faz com que a água nesses ambientes sejam ricas em CID. Por isso, torna-se difícil a realização de experimentos para medir as taxas de mineralização do COD em todas as lagoas costeiras que, conforme discutido adiante são extremamente relevantes para o ciclo do carbono nessas regiões costeiras.

Com o intuito de validar o método de medições das taxas de foto-oxidação pelo consumo de O_2 para a estimativa de formação de CO_2 pela decomposição foto-química, nós realizamos uma análise de regressão simples com todos os dados do presente trabalho entre taxas de foto-oxidação pelo consumo de O_2 e taxas de foto-oxidação pela produção de CID. Vale ressaltar que os dados de lagoas com elevada alcalinidade/salinidade não foram incluídos na análise, uma vez que não obtivemos medidas de foto-oxidação pela produção de CID para esses ambientes. Como resultado dessa análise, verificamos que as taxas de foto-oxidação pelo consumo de O_2 podem ser extrapoladas para produção de CID com um coeficiente de 100% (1:1) uma vez que a relação foi significativa ($P < 0,05$; $r^2 = 0,80$; Fig. 1) e o coeficiente angular do modelo linear ajustado aos pontos foi muito próximo de 1 (0,9955). Sendo

assim, acreditamos que mesmo em lagoas costeiras com alta salinidade, a utilização do método de consumo de O₂ deve produzir estimativas confiáveis de mineralização do COD pelo processo de foto-oxidação. Apesar de não terem sido incluídas nas análises, localizam-se próximo às lagoas analisadas e apresentam MOD com características semelhantes. Esse resultado é fundamental para possibilitar futuros estudos mais específicos nesse tipo de ambiente e, validar as taxas de foto-oxidação por consumo de O₂ nas lagoas costeiras salinas deste estudo.

Dinâmica do processo de foto-degradação – fatores precursores e limitantes

Inúmeros estudos já mostraram que o processo de foto-degradação representa uma importante via de mineralização do COD nos ecossistemas aquáticos (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1996; JONSSON *et al.*, 2001; AMADO *et al.*, 2006). Também já está bastante evidente que características como a concentração do COD, a coloração do COD na água, a concentração de O₂ e a intensidade da radiação incidente sobre o COD são determinantes para o processo de foto-degradação nesses ecossistemas (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1996; ANDREWS *et al.*, 2000; BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001a; AMADO *et al.*, 2003). Entretanto, os estudos até hoje publicados não mencionam os efeitos sobre a foto-oxidação quando esses parâmetros ocorrem em intensidades extremas. Na literatura são comumente classificados como lagos húmicos ou super-húmicos ambientes cuja matéria orgânica dissolvida (MOD) apresenta coloração escura e a concentração de COD está em torno de 20 mg C L⁻¹ (e.g. LEBRETON *et al.*, 2000; GUTSEIT *et al.*, 2007). De acordo com STEINBERG *et al.* (2006) a maioria dos lagos do planeta apresentam concentrações de COD entre 1 e 100 mg L⁻¹ e as lagoas costeiras do Norte do Rio de Janeiro apresentam concentrações de COD extremamente altas, chegando até 160 mg C L⁻¹. Além das elevadas concentrações de substâncias húmicas as lagoas costeiras também estão

submetidas às elevadas intensidades de radiação solar (GRANÉLI *et al.*, 1998). Sendo assim, as lagoas costeiras encontram-se sob características geográficas, geoquímicas e ambientais que as proporciona condições extremas ao processo de foto-degradação.

Os resultados registrados nesse trabalho apresentaram o padrão esperado, aumentando as taxas de foto-degradação com o aumento da incidência das radiações solares (Tabelas 1, 2 e 3). Entretanto, as altas concentrações de COD e a_{430} no Atoleiro (Tabela 1) resultam numa eficiência extremamente alta de utilização da energia das radiações solares para a foto-oxidação. Por isso, após 4 horas de incubação grande parte do O_2 presente na água já havia sido consumido pela foto-oxidação (Fig. 3), tornando as baixas concentrações de O_2 um fator limitante ao processo (limitação estequiométrica, onde um dos reagentes, O_2 , torna-se escasso). Além de explicar o decaimento das taxas de foto-degradação nos períodos mais longos de incubação desse ambiente, esse fato é relevante para realização de experimentos com ecossistemas super-húmicos já que longas exposições (mais de 4 horas) às radiações solares podem fornecer sub-estimativas das taxas de foto-oxidação. Por isso, quando normalizadas pela radiação incidente nas amostras, as taxas de foto-oxidação foram maiores nas amostras expostas por períodos de tempo mais curtos (1, 2 e 3 horas) no Atoleiro (Fig. 2a). Entretanto, essa limitação não deve ocorrer “*in situ*”, uma vez que esses ambientes estão sujeitos a ação dos ventos (especialmente as lagoas costeiras) e a própria difusão natural do O_2 atmosférico para a água, fazendo com que o processo de foto-degradação seja ainda mais relevante nos ecossistemas super-húmicos tropicais.

A coloração da MOD na água das lagoas costeiras, em alguns casos, também pode ser considerada extrema. O Atoleiro apresenta valor de a_{430} extremamente elevado (quase 3 vezes mais alto) quando comparado com outros ambientes super-

húmicos tropicais, como a lagoa Comprida (Atoleiro = 175 m⁻¹; Comprida = 60 m⁻¹ SUHETT *et al.*, 2007). No Atoleiro, o COD está fortemente relacionado à coloração da água (Tabela 4). Isso se deve ao fato de que as substâncias húmicas, provenientes da vegetação circundante (Restinga), representam mais de 95% do COD nesse ambiente (SUHETT *et al.*, 2004). Entretanto, nas concentrações de COD mais altas, a coloração da MOD é tão escura que absorve a energia luminosa de forma que a MOD mais no interior do tubo receba menos energia. Esse fenômeno é conhecido por auto-sombreamento (BERTILSSON & TRANVIK, 2000). Nessas condições de coloração da MOD extremamente escura, o auto-sombreamento resultou na limitação do processo de foto-oxidação nas concentrações de COD acima de 6 mM (Fig. 5). Esse fenômeno sugere que o processo de foto-oxidação “*in situ*” fique limitado a poucos milímetros superficiais da coluna d’água (GRANÉLI *et al.*, 1998). Entretanto, nas lagoas costeiras isso pode não representar redução significativa nas taxas de foto-oxidação global dos ecossistemas, uma vez que trata-se de sistemas rasos e sujeitos aos fortes ventos costeiros, o que mantém a coluna d’água em constante circulação.

O Atoleiro e as lagoas Comprida e Cabiúnas formam um gradiente decrescente de COD e a_{430} (ver Tabela 6). O Atoleiro teve a variação nas taxas de foto-oxidação melhor explicadas pela variação de a_{430} , uma vez que esse fator tornou-se limitante nesse ecossistema (Tabela 4). Na lagoa Cabiúnas as taxas de foto-oxidação foram melhor explicadas pela concentração de COD, mostrando que não houve limitação por auto-sombreamento, mas sim por disponibilidade de substrato (COD, Tabela 4). Já a lagoa Comprida teve as taxas de foto-oxidação melhor explicada por regressões múltiplas envolvendo os fatores concentração de COD, a_{430} e até mesmo a radiação (Tabela 5). Esse fato sugere que haja uma co-limitação da foto-oxidação pela concentração de COD e a_{430} , uma vez que ambos apresentam valores intermediários

nesse ambiente. Corroborando esses padrões, a coloração específica do COD (a_{430}/COD) mostra que o estoque de COD do Atoleiro apresenta maior foto-reatividade que nas lagoas Comprida e Cabiúnas (0,125; 0,112 e 0,096; respectivamente). Analisando as equações das regressões lineares entre as taxas de foto-oxidação (CID) e a concentração de COD, observamos que o coeficiente linear aumenta com a concentração de COD e o coeficiente angular diminui com o aumento do COD. Entretanto, na regressão do Atoleiro, excluindo da análise os pontos cuja concentração de COD são superiores a 6 mM C (concentração na qual deve iniciar a limitação da foto-oxidação por auto-sombreamento), a explicação do modelo fica mais forte e o coeficiente angular torna-se semelhante ao da lagoa Comprida (Fig. 4a). Isso mostra a maior disponibilidade do COD mais escuro para a foto-oxidação, mas que o forte efeito de auto-sombreamento em ambientes super-húmicos, com colorações e concentrações de COD extremas, reduz o potencial de foto-oxidação. Por fim, a coloração da MOD resulta em efeitos ambíguos para o processo de foto-oxidação. O aumento da coloração em ambientes de águas mais claras aumenta a disponibilidade do COD para a foto-oxidação. Em contrapartida, em ambientes de águas mais escuras, o aumento da coloração pode reduzir o potencial de foto-oxidação em função de intenso auto-sombreamento da MOD.

Padrões de foto-oxidação em um gradiente de lagoas húmicas

Conforme previsto na sessão anterior, os elevados valores de coloração da MOD (a_{430}) apresentam efeito ambíguo para o processo de foto-oxidação do COD húmico. Esse padrão ficou claro ao avaliar as taxas de foto-oxidação em um gradiente natural de COD e a_{430} em 20 lagoas costeiras húmicas. A lagoa Preta e o Atoleiro, ambientes que apresentam as maiores concentrações de COD e a_{430} , fazem reduzir drasticamente as correlações entre as concentrações de COD e as taxas de foto-oxidação (O_2 e CID),

por efeito do auto-sombreamento. Isso resulta em taxas de foto-oxidação mais baixas do que as que seriam esperadas pelo modelo linear. Quando esses ambientes são excluídos das análises, os parâmetros são melhor correlacionados e ambos são significativos com grau de certeza superior a 99% ($p < 0,01$; Fig. 5). Dessa forma, ficou constatado que pode ocorrer limitação do processo de foto-oxidação pela coloração da água em ecossistemas super-húmicos naturais, como havia sido previsto experimentalmente.

Apesar dos efeitos do auto-sombreamento reduzindo o potencial de foto-oxidação do COD nos ambientes costeiros super-húmicos, estes ainda apresentam taxas de foto-oxidação extremamente altas (Tabela 6). FARJALLA *et al.* (no prelo; Anexo 1) em uma revisão sobre o tema de degradação de COD em ecossistemas húmicos, mostraram que as taxas de foto-oxidação em ambientes tropicais são, em média, maiores que nos ambientes temperados. No presente estudo realizamos uma análise similar. Entretanto, agrupamos as lagoas costeiras tropicais separadamente dos demais ecossistemas tropicais e temperados. Como resultado, corroboramos que as maiores taxas de foto-degradação ocorrem nos trópicos, em relação aos ambientes temperados, mesmo excluindo as lagoas costeiras do primeiro grupo de dados (Fig. 6). Além disso, as lagoas costeiras isoladamente, apesar de apresentar dados médios semelhantes aos dos demais ecossistemas tropicais, apresentaram valores extremamente altos, sendo as maiores taxas de foto-degradação já registradas na literatura (Fig. 6).

Aparentemente, as lagoas costeiras apresentam COD menos reativos que pequenos rios amazônicos, ambientes protegidos das radiações pela floresta ao contrário das lagoas costeiras. Esses ambientes amazônicos apresentam maiores taxas de foto-degradação por unidade de COD que as lagoas costeiras (AMADO *et al.*,

2003). Entretanto, em um estudo sazonal, SUHETT *et al.* (2007) registraram altas taxas de foto-degradação extremamente altas em uma lagoa costeira húmica no Estado do Rio de Janeiro, no início do período chuvoso. Logo, um sinergismo entre alta foto-reatividade do COD recém lixiviado da restinga e elevadas incidências de radiações solares nas lagoas costeiras durante o verão, resultaram taxas de foto-degradação extremamente altas. Entretanto, esse sinergismo deve desaparecer rapidamente já que a degradação intensa deve reduzir essa foto-reatividade prontamente.

Estudos de revisão já mostraram que as concentrações de carbono nos solos em ecossistemas tropicais são mais baixas que em ecossistemas temperados e boreais (SILVER *et al.*, 2000). Esse fato se deve à maior quantidade chuvas que carrega a matéria orgânica para os corpos hídricos, fato que sugere maiores concentrações de COD nos ecossistemas aquáticos tropicais. Em uma revisão de foto-oxidação, SUHETT *et al.* (2006) mostraram que além das maiores concentrações, o COD também é mais reativo à foto-oxidação nos ecossistemas tropicais. Portanto, as maiores taxas de foto-oxidação no presente trabalho em relação aos demais dados da região tropical devem então, ser atribuídos às maiores concentrações de COD e coloração mais escura nesses ambientes, uma vez que se encontram em latitudes próximas (trópicos) e foram submetidos à intensidades de radiação semelhantes. Em contrapartida, GRANÉLI *et al.* (1998) sugeriram que a foto-reatividade do COD não diferiu entre ecossistemas aquáticos suecos e brasileiros. No entanto, esse trabalho, apesar de ter englobado algumas lagoas costeiras do presente estudo, foi pontual no tempo e, por isso, desconsiderou as rápidas mudanças na foto-reatividade do COD causada pelas chuvas (SUHETT *et al.*, 2007; Cap. 2).

Conclusões

Concluimos que o método de estimativa das taxas de foto-oxidação pelo consumo de O_2 é eficiente para a avaliação da mineralização do COD pela foto-oxidação nas lagoas costeiras estudadas. Concluimos ainda que o consumo de O_2 pode ser convertido para produção de CID com coeficiente 1:1. A concentração de O_2 pode se tornar limitante ao processo de foto-oxidação em experimentos estudando ecossistemas super-húmicos com altas concentrações de COD, como as lagoas costeiras tropicais, devido ao consumo excessivo de O_2 pelo próprio processo em poucas horas. Concluimos ainda que a coloração da água possa ter efeito ambíguo nas taxas de foto-oxidação em ecossistemas com gradientes de COD e cor. Em ambientes cuja MOD apresenta a coloração mais clara, o aumento da coloração favorece o aumento das taxas potenciais de foto-oxidação, por maior disponibilização de substrato. Em contrapartida, em ambientes de águas muito escuras (super-húmicos), o aumento da coloração pode reduzir o potencial de foto-oxidação em função de intenso auto-sombreamento da MOD. Esse padrão foi confirmado estudando as características e as taxas de foto-oxidação de 20 lagoas costeiras que formam um gradiente de COD e coloração. Por fim, as lagoas costeiras húmicas tropicais, localizadas no Norte do Estado do Rio de Janeiro, apresentam taxas de foto-oxidação do COD extremamente altas, sendo as maiores registradas na literatura.

Agradecimentos

Colaboraram com este trabalho: Tássia Ferraz, Albert Suhett e Vinicius Farjalla. Apoio financeiro da Petrobras (Projeto Ecolagoas), CNPq, CAPES e FAPERJ. A.M.A. é especialmente grato ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado.

Referências

- AMADO, A. M., COTNER, J. B., SUHETT, A. L., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L. & FARJALLA, V. F., 2007, "Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic ecosystems", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 49, pp. 25-34.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A. & BOZELLI, R. L., 2003, "DOC photo-oxidation in clear water Amazonian aquatic ecosystems", *Amazoniana*, v. 17, pp. 513-523.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 8-17.
- AMON, R. M. W. & BENNER, R., 1996, "Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system", *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, v. 60, pp. 1783-1792.
- ANDREWS, S. S., CARON, S. & ZAFIRIOU, O. C., 2000, "Photochemical oxygen consumption in marine waters: A major sink for colored dissolved organic matter?" *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 267-277.
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L., 2000, "Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 753-762.
- BIDDANDA, B. & COTNER, J., 2003, "Enhancement of dissolved organic matter bioavailability by sunlight and its role in the carbon cycle of lakes Superior and Michigan", *Journal of Great Lakes Research*, v. 29, pp. 228-241.
- BRIAND, E., PRINGAULT, O., JACQUET, S. & TORRETON, J. P., 2004, "The use of oxygen microprobes to measure bacterial respiration for determining bacterioplankton growth efficiency", *Limnology and Oceanography: Methods*, v. 2, pp. 406-416.
- COLE, J. J., CARACO, N. F., KLING, G. W. & KRATZ, T. K., 1994, "Carbon-Dioxide Supersaturation in the Surface Waters of Lakes", *Science*, v. 265, pp. 1568-1570.
- CRAINE, J. M., REICH, P. B., TILMAN, G. D., ELLSWORTH, D., FARGIONE, J., KNOPS, J. & NAEEM, S., 2003, "The role of plant species in biomass production and response to elevated CO₂ and N", *Ecology Letters*, v. 6, pp. 623-630.

- ENRICH-PRAST, A., BOZELLI, R. L., ESTEVES, F. A. & MEIRELLES, F. P., 2004, Lagoas costeiras da restinga de Jurubatiba: Descrição de suas variáveis limnológicas. In: Rocha, C. F. D., Esteves, F. A. & Scarano, F. R. (Eds) Pesquisas de longa duração na restinga de Jurubatiba: Ecologia, história natural e conservação. pp 245-253. Ed. RIMA, Rio de Janeiro
- ERICKSON, D. J., ZEPP, R. G. & ATLAS, E., 2000, "Ozone depletion and the air-sea exchange of greenhouse and chemically reactive tracegases", *Chemosphere - Global Change Science*, v. 2, pp. 137-149.
- ESTEVES, F. A., 1998a, *Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé*. Ed Rio de Janeiro, NUPEM/UFRJ.
- ESTEVES, F. A., 1998b, *Fundamentos de Limnologia*. Ed Rio de Janeiro, Interciência.
- FARJALLA, V. F., AMADO, A. M., LAQUE, T., FARIA, B. M. & ESTEVES, F. A., 2004, O estado da arte e perspectivas do estudo das bactérias planctônicas nas lagoas da Restinga de Jurubatiba. In: Rocha, C. F. D., Esteves, F. A. & Scarano, F. R. (Eds) Pesquisas de longa duração na Restinga de Jurubatiba: Ecologia, história natural e conservação. pp 255-272. Ed. Rima, São Carlos
- FARJALLA, V. F., AMADO, A. M. & SUHETT, A. L., no prelo, "Dissolved humic substances – Reviewing DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems", *Environmental Science & Pollution Research*, v., pp. 1-10.
- FARJALLA, V. F., ANESIO, A. M., BERTILSSON, S. & GRANÉLI, W., 2001a, "Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 187-195.
- FARJALLA, V. F., FARIA, B. M., ESTEVES, F. A. & BOZELLI, R. L., 2001b, Bacterial density and biomass, and relations with abiotic factors, in 14 coastal lagoons of Rio de Janeiro State. In: Faria, B. M., Farjalla, V. F. & Esteves, F. A. (Eds) *Oecologia Brasiliensis: Aquatic Microbial Ecology in Brazil*. pp 65-76. Ed. UFRJ, Rio de Janeiro
- FARRINGTON, J., 1992, "Overview and Key Recommendations - Marine Organic Geochemistry Workshop, January 1990", *Marine Chemistry*, v. 39, pp. 5-9.
- GRACE, J. & MALHI, Y., 2002, "Global change - Carbon dioxide goes with the flow", *Nature*, v. 416, pp. 594-595.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M., DE FARIA, B. M. & ESTEVES, F. D., 1998, "Photoproduction of dissolved inorganic carbon in temperate and tropical lakes -

dependence on wavelength band and dissolved organic carbon concentration", *Biogeochemistry*, v. 43, pp. 175-195.

GRANÉLI, W., LINDELL, M. & TRANVIK, L., 1996, "Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content", *Limnology and Oceanography*, v. 41, pp. 698-706.

GUTSEIT, K., BERGLUND, O. & GRANALI, W., 2007, "Food quality for Daphnia in humic and clear water lakes", *Freshwater Biology*, v. 52, pp. 344-356.

HAAG, W. R. & HOIGNE, J., 1986, "Singlet oxygen in surface waters. 3. Photochemical formation and steady-state concentrations in various types of waters", *Environ. Sci. Technol.*, v. 20, pp. 341-348.

HU, C. M., MULLER-KARGER, F. E. & ZEPP, R. G., 2002, "Absorbance, absorption coefficient, and apparent quantum yield: A comment on common ambiguity in the use of these optical concepts", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 1261-1267.

JONSSON, A., MEILI, M., BERGSTROM, A. K. & JANSSON, M., 2001, "Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Ortrasket, N. Sweden)", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 1691-1700.

KIEBER, D. J., MCDANIEL, J. & MOPPER, K., 1989, "Photochemical Source of Biological Substrates in Sea-Water - Implications for Carbon Cycling", *Nature*, v. 341, pp. 637-639.

KIEBER, R. J., ZHOU, X. L. & MOPPER, K., 1990, "Formation of Carbonyl-Compounds from Uv-Induced Photodegradation of Humic Substances in Natural-Waters - Fate of Riverine Carbon in the Sea", *Limnology and Oceanography*, v. 35, pp. 1503-1515.

LEBRETON, M., MORTON, P., LARADE, K., HARLAND, B., CLAIR, T. & CAMPBELL, D., 2000, "Demonstration of extraction and PCR amplification of DNA from phytoplankton of lakes with high humic acid content", *Hydrobiologia*, v. 438, pp. 91-97.

LINDELL, M. J., GRANALI, H. & BERTILSSON, S., 2000, "Seasonal photoreactivity of dissolved organic matter from lakes with contrasting humic content", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 57, pp. 875-885.

MARRIS, E., 2006, "Drink the best and drive the rest", *Nature*, v. 444, pp. 670-672.

- NIEMI, R., MARTIKAINEN, P. J., SILVOLA, J., WULFF, A., TURTOLA, S. & HOLOPAINEN, A., 2002, "Elevated UV-B radiation alters fluxes of methane and carbon dioxide in peatland microcosms", *Global Change Biology*, v. 8, pp. 361-371.
- OBERNOSTERER, I., SEMPERE, R. & HERNDL, G. J., 2001, "Ultraviolet radiation induces reversal of the bioavailability of DOM to marine bacterioplankton", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 61-68.
- RANTAKARI, M. & KORTELAINEEN, P., 2005, "Interannual variation and climatic regulation of the CO₂ emission from large boreal lakes", *Global Change Biology*, v. 11, pp. 1368-1380.
- REICH, P. B., KNOPS, J., TILMAN, D., CRAINE, J., ELLSWORTH, D., TJOELKER, M., LEE, T., WEDIN, D., NAEEM, S., BAHAUDDIN, D., HENDREY, G., JOSE, S., WRAGE, K., GOTH, J. & BENGSTON, W., 2001, "Plant diversity enhances ecosystem responses to elevated CO₂ and nitrogen deposition (vol 410, pg 809, 2001)", *Nature*, v. 411, pp. 824-+.
- REITNER, B., HERNDL, G. J. & HERZIG, A., 1997, "Role of ultraviolet-B radiation on photochemical and microbial oxygen consumption in a humic-rich shallow lake", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 950-960.
- RICHEY, J. E., MELACK, J. M., AUFDENKAMPE, A. K., BALLESTER, V. M. & HESS, L. L., 2002, "Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂", *Nature*, v. 416, pp. 617-620.
- ROULET, N. T., LAFLEUR, P. M., RICHARD, P. J. H., MOORE, T. R., HUMPHREYS, E. R. & BUBIER, J., 2007, "Contemporary carbon balance and late Holocene carbon accumulation in a northern peatland", *Global Change Biology*, v. 13, pp. 397-411.
- SALONEN, K. & VAHATALO, A., 1994, "Photochemical Mineralization of Dissolved Organic-Matter in Lake Skjervatjern", *Environment International*, v. 20, pp. 307-312.
- SILVER, W. L., OSTERTAG, R. & LUGO, A. E., 2000, "The potential for carbon sequestration through reforestation of abandoned tropical agricultural and pasture lands", *Restoration Ecology*, v. 8, pp. 394-407.
- SOBEK, S., ALGESTEN, G., BERGSTROM, A. K., JANSSON, M. & TRANVIK, L. J., 2003, "The catchment and climate regulation of pCO₂ in boreal lakes", *Global Change Biology*, v. 9, pp. 630-641.

- STEINBERG, C. E. W., KAMARA, S., PROKHOTSKAYA, V. Y., MANUSADZIANAS, L., KARASYOVA, T. A., TIMOFEYEV, M. A., JIE, Z., PAUL, A., MEINELT, T., FARJALLA, V. F., MATSUO, A. Y. O., BURNISON, B. K. & MENZEL, R., 2006, "Dissolved humic substances - ecological driving forces from the individual to the ecosystem level?" *Freshwater Biology*, v. 51, pp. 1189-1210.
- STEWART, J. W. B. & DE FABO, E. D. (1993) Effects of Increased Ultraviolet Radiation on Global Ecosystems. In: Stewart, J. W. B. (Ed) SCOPE (p 48). SCOPE, France
- STROME, D. J. & MILLER, M. C., 1978, "Photolytic changes in dissolved humic substances", *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, v. 20, pp. 1248-1254.
- SUHETT, A. L., AMADO, A. M., BOZELLI, R. L., ESTEVES, F. A. & FARJALLA, V. F., 2006, "O papel da foto-degradacao do carbono organico dissolvido (COD) nos ecossistemas aquaticos", *Oecologia Brasiliensis*, v. 10, pp. 186-204.
- SUHETT, A. L., AMADO, A. M., ENRICH-PRAST, A., ESTEVES, F. A. & FARJALLA, V. F., 2007, "Seasonal changes of DOC photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 64, pp. 1266-1272.
- SUHETT, A. L., MACCORD, F., AMADO, A. M., FARJALLA, V. F. & ESTEVES, F. A. (2004) Photodegradation of dissolved organic carbon in humic coastal lagoons (RJ, Brazil). In: Martin-Neto, L. (Ed) XII International Meeting of International Humic Substances Society. São Pedro, SP
- WETZEL, R. G., 1992, "Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems", *Hydrobiologia*, v. 229, pp. 181-198.

Tabela 1: Concentração de COD, a_{430} , taxas de foto-oxidação (por consumo de O_2 e produção de CID) nos intervalos de tempo indicados e intensidade da radiação incidente ao longo da incubação nas amostras do Atoleiro. Apresentados entre parênteses os desvios-padrão.

Atoleiro						
COD (mM)	15,58					
a_{430} (m^{-1})	175,0					
Tempo de incubação (horas)						
	1	2	3	4	5	6
Foto-oxidação						
Consumo de O_2	0,033	0,129	0,125	0,184	0,218	0,230
(μM)	(0,001)	(0,002)	(0,009)	(0,031)	(0,008)	(0,009)
Produção de CID	0,034	0,095	0,136	0,170	0,190	0,217
(μM)	(0,006)	(0,012)	(0,019)	(0,005)	(0,021)	(0,007)
Radiação acumulada	2,305	6,984	12,783	18,937	24,275	25,634
($mW\ cm^{-2}$)						

Tabela 2: Concentração de COD, a_{430} , taxas de foto-oxidação (por consumo de O_2 e produção de CID) nos intervalos de tempo indicados e intensidade da radiação incidente ao longo da incubação nas amostras da lagoa Comprida. Apresentados entre parênteses os desvios-padrão.

L. Cabiúnas			
COD (mM)	1,24		
a_{430} (m^{-1})	12,0		
Tempo de incubação (horas)			
Foto-oxidação	2	4	6
Consumo de O_2	0,007	0,024	0,045
(μM)	(0,004)	(0,002)	(0,007)
Produção de CID	0,013	0,028	0,038
(μM)	(0,004)	(0,004)	(0,007)
Radiação acumulada	10,568	16,909	27,562
($mW\ cm^{-2}$)			

Tabela 3: Concentração de COD, a_{430} , taxas de foto-oxidação (por consumo de O₂ e produção de CID) nos intervalos de tempo indicados e intensidade da radiação incidente ao longo da incubação nas amostras da lagoa Imboassica. Apresentados entre parênteses os desvios-padrão. ND – não determinado.

L. Imboassica						
COD (mM)	1,27					
a_{430} (m⁻¹)	7,8					
Tempo de incubação (horas)						
	1	2	3	4	5	6
Foto-oxidação						
Consumo de O₂		0,005	0,011	0,009	0,012	0,007
(μM)	ND	(0,005)	(0,001)	(0,003)	(0,004)	(0,002)
Produção de CID		0,010	0,010	0,015	0,014	0,009
(μM)	ND	(0,003)	(0,002)	(0,001)	(0,001)	(0,004)
Radiação acumulada		6,049	10,508	13,448	14,733	16,038
(mW cm⁻²)	ND					

Tabela 4: Dados das regressões lineares simples entre os parâmetros nos experimentos com diluições da MOD no Atoleiro, lagoa Comprida e lagoa Cabiúnas. N = número de observações (número de diferentes concentrações de COD geradas pelas diluições) para cada ecossistema. Apresentados r^2 (grau de correlação) e p (grau de significância) das correlações.

	Atoleiro	L. Comprida	L. Cabiúnas
N	14	7	4
COD vs. Foto-oxidação (O₂)	$r^2 = 0,89$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,45$ $p = 0,0968$	$r^2 = 0,98$ $p = 0,0096$
COD vs. Foto-oxidação (CID)	$r^2 = 0,78$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,86$ $p = 0,0026$	$r^2 = 0,99$ $p = 0,0006$
a_{430} vs. Foto-oxidação (O₂)	$r^2 = 0,92$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,52$ $p = 0,0662$	$r^2 = 0,83$ $p = 0,0901$
a_{430} vs. Foto-oxidação (CID)	$r^2 = 0,88$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,92$ $p = 0,0007$	$r^2 = 0,88$ $p = 0,0610$
COD vs. a_{430}	$r^2 = 0,86$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,98$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,86$ $p = 0,0739$
Foto-oxidação O₂ vs. CID	$r^2 = 0,87$ $p < 0,0001$	$r^2 = 0,48$ $p = 0,0860$	$r^2 = 0,98$ $p = 0,0122$

Tabela 5: Dados das regressões múltiplas entre os parâmetros na lagoa Comprida (N = 7).

Lagoa Comprida		
Foto-oxidação (O₂) vs. $a_{430} + \text{COD}$	$r^2 = 0,59$	$p < 0,1676$
Foto-oxidação (CID) vs. $a_{430} + \text{COD}$	$r^2 = 0,93$	$p < 0,0044$
Foto-oxidação (O₂) vs. $a_{430} + \text{COD} + \text{Rad}$	$r^2 = 0,91$	$p < 0,0472$
Foto-oxidação (CID) vs. $a_{430} + \text{COD} + \text{Rad}$	$r^2 = 0,93$	$p < 0,0284$

Tabela 6: Concentração de COD, a_{430} , radiação, foto-oxidação pelo consumo de O_2 e foto-oxidação pela produção de CID nas 20 lagoas estudadas. ND – não determinado por problemas metodológicos com alta salinidade. Todas as taxas de foto-oxidação apresentadas foram normalizadas pela radiação total de 21,361 $mWcm^{-2}$.

Lagoas	Amarra- boi	Atoleiro	Barrinha	Bezerra	Cabiúnas	Carapebus	Casa Velha	Catingosa	Comprida	Encantada	Garça	Imboassica	M ^a Menina	Paulista	Pires	Piri Piri II	Preta	Robalo	Ubatuba	Visgueiro
COD (mM)	8,349	10,067	3,307	3,086	1,526	0,894	5,082	3,348	3,862	0,678	2,120	0,522	5,236	1,107	3,281	3,088	6,247	3,347	4,328	2,172
a_{430}	0,907	1,261	0,113	0,132	0,146	0,062	0,196	0,052	0,431	0,043	0,049	0,014	0,162	0,048	0,249	0,194	0,8784	0,051	0,184	0,065
Radiação ($mW cm^{-2}$)	15,221	18,930	18,930	17,480	18,930	18,930	17,876	10,833	18,930	21,361	10,833	21,682	10,833	17,480	21,361	18,93	17,876	10,833	17,876	10,833
Foto-oxidação ($\mu M O_2 6h^{-1}$)	54,861	113,983	63,628	70,857	68,397	26,030	101,765	64,973	31,478	16,496	33,736	4,771	122,718	22,881	48,084	102,673	147,856	39,621	110,435	70,904
SD	10,12	19,15	5,49	6,00	10,31	3,66	8,73	13,03	6,84	2,64	3,41	6,52	18,03	2,95	3,20	5,78	10,33	8,67	6,072	8,91
Foto-oxidação ($\mu M C 6h^{-1}$)	ND	95,635	ND	ND	57,190	ND	124,613	ND	73,033	ND	ND	3,870	ND	ND	ND	ND	181,052	ND	135,231	ND
SD		26,63			2,92		10,69		7,35			2,31					12,64		7,44	

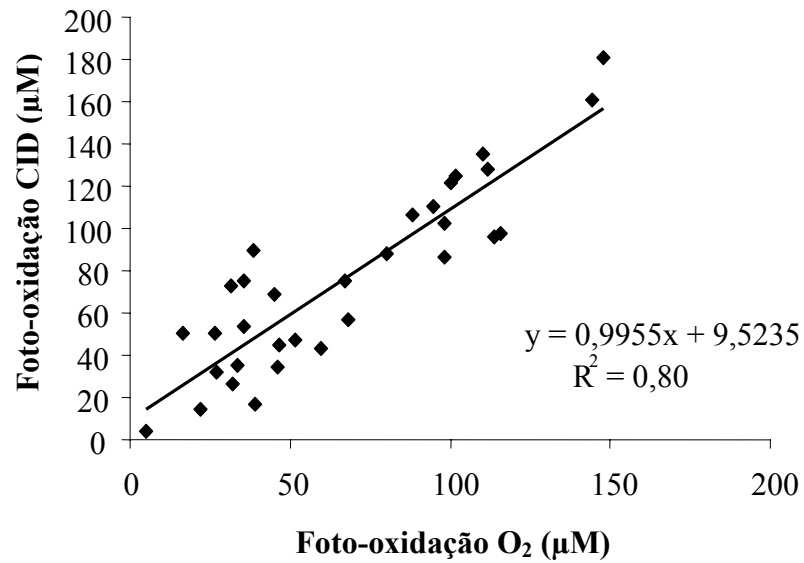


Figura 1: Correlação entre as taxas de foto-oxidação pelo consumo de O₂ e as taxas de foto-oxidação pela produção de CID. Estão incluídos na análise os dados das 20 lagoas, além de todos os dados das diluições do Atoleiro, lagoa Comprida e lagoa Cabiúnas (N = 32).

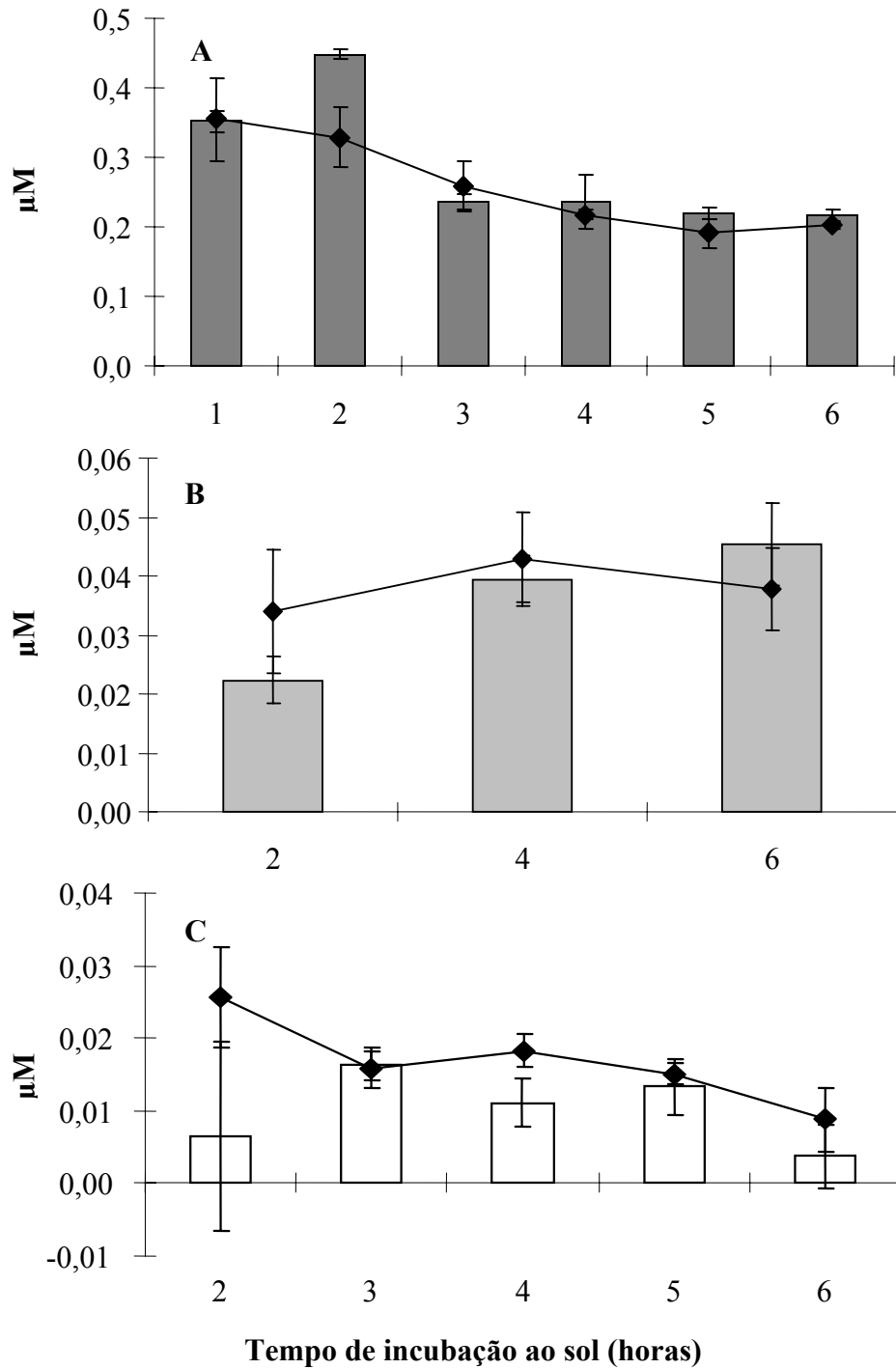


Figura 2: Taxas de foto-oxidação normalizadas pela radiação, nos diferentes tempos de incubação ao sol no (A) Atoleiro, (B) lagoa Cabiúnas e (C) lagoa Imboassica. As barras representam as taxas médias de foto-oxidação pelo consumo de O₂ e os pontos as taxas médias de foto-oxidação pela produção de CID. As barras de erro indicam o desvio-padrão. Note as diferenças entre as escalas.

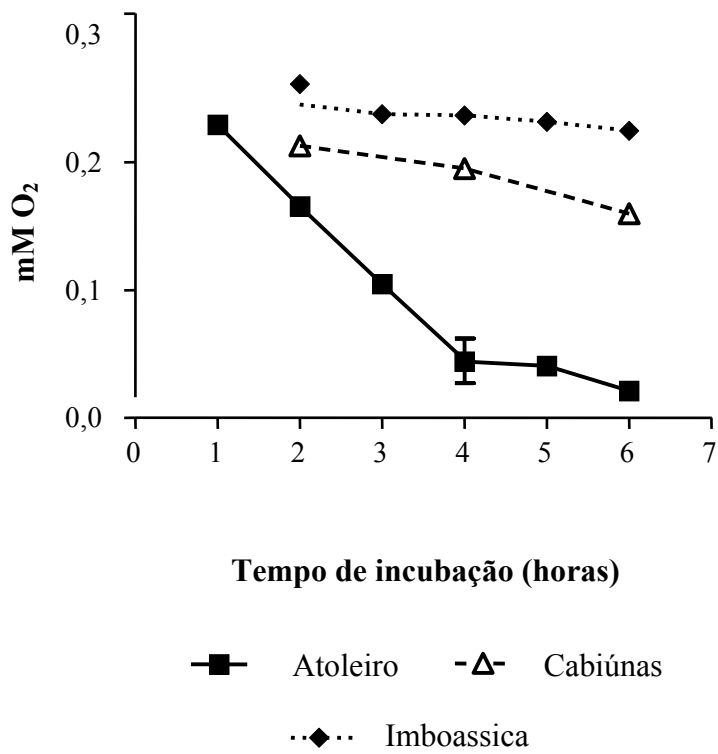


Figura 3: Concentração de O₂ nas amostras expostas do Atoleiro, lagoas Cabiúnas e Imboassica incubadas ao sol, nos diferentes tempos de incubação. As barras de erro indicam o desvio-padrão.

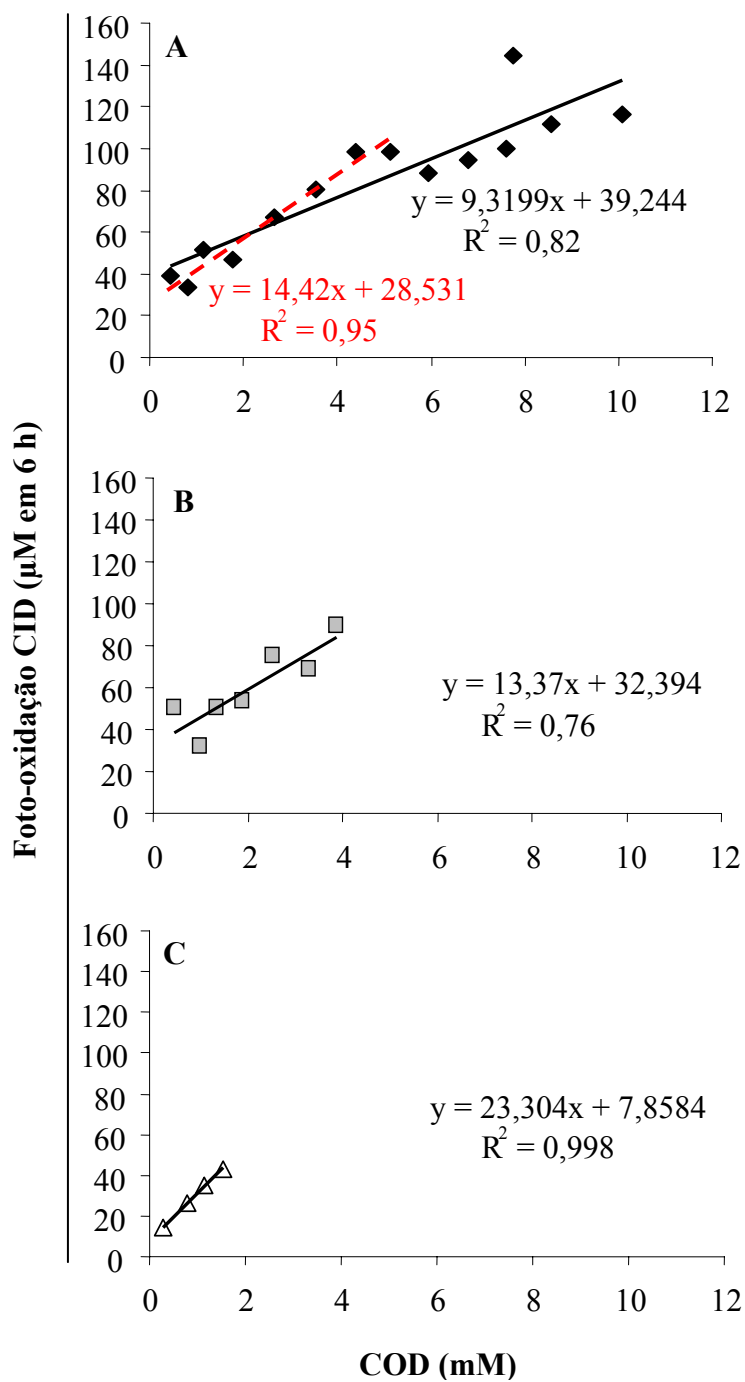


Figura 4: Correlação entre as taxas de foto-oxidação pela produção de CID e a concentração de COD no (A) Atoleiro, (B) lagoa Comprida e (C) lagoa Cabiúnas. A linha cheia representa a regressão com todos os valores e a linha tracejada em vermelho representa regressão somente com valores de COD menores que 6 mM. A equação em vermelho é correspondente à regressão da linha tracejada em vermelho.

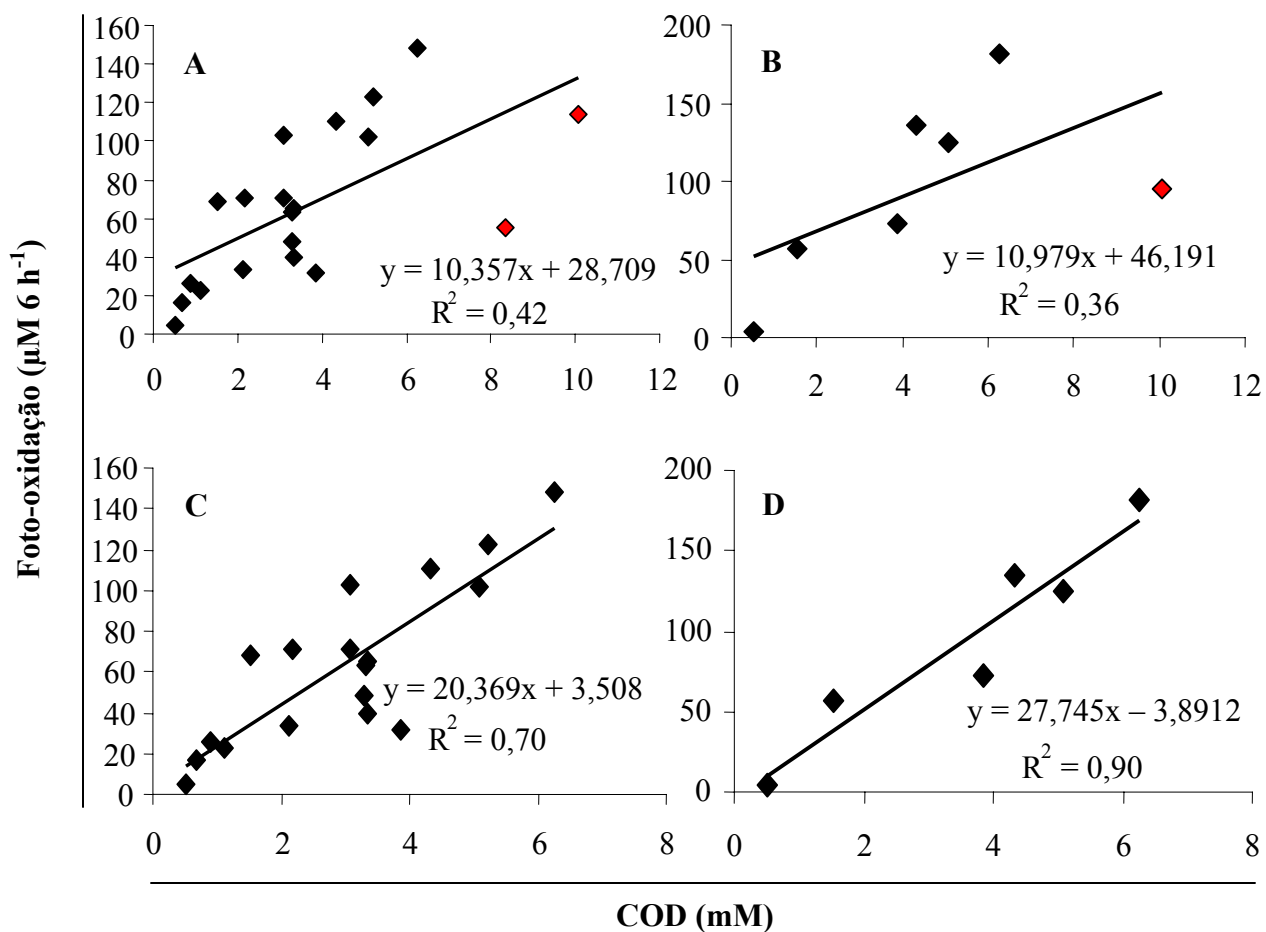


Figura 5: Correlações (A) entre as taxas de foto-oxidação pelo consumo de O₂ e a concentração de COD, (B) entre as taxas de foto-oxidação pela produção de CID e a concentração de COD, (C) entre as taxas de foto-oxidação pelo consumo de O₂ e a concentração de COD sem “outliers” e, (D) entre as taxas de foto-oxidação pela produção de CID e a concentração de COD sem “outliers”. Os “outliers” estão destacados em vermelho e correspondem ao Atoleiro e lagoa Preta no gráfico A e lagoa Preta no gráfico B. (A) $p = 0,0019$; (B) $p = 0,1569$; (C) $p < 0,0001$; (D) $p = 0,0037$.

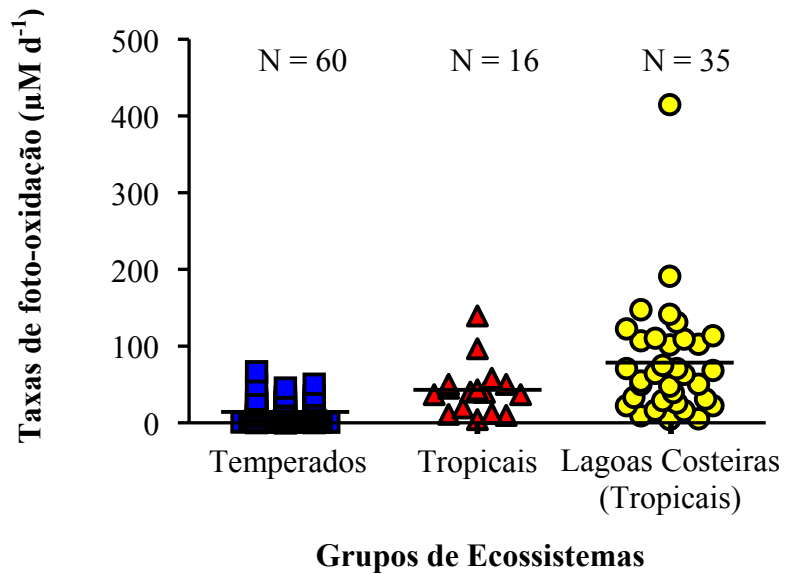


Figura 6: Taxas de foto-oxidação dos ecossistemas temperados, tropicais e das lagoas costeiras tropicais. Dados extraídos da literatura e do presente estudo. Os quadrados azuis representam taxas de foto-oxidação por dia de ecossistemas da região temperada, os triângulos vermelhos representam taxas diárias de foto-oxidação dos ecossistemas da região tropical e os círculos amarelos representam as taxas diárias de foto-oxidação das lagoas costeiras tropicais. Os valores médios dos ambientes temperados diferem-se dos outros dois grupos de dados ($p < 0,01$; Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn). Os valores médios dos ambientes tropicais não diferem das lagoas costeiras tropicais (Kruskal-Wallis e teste a posteriori de Dunn). As linhas representam os valores médios de cada grupo de dados.

CAPÍTULO: 2

Mudanças sazonais nas taxas de foto-oxidação do carbono orgânico dissolvido em uma lagoa húmica tropical: o papel das chuvas como principal regulador.



Seasonal changes of dissolved organic carbon photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator.

Albert L. Suhett, André M. Amado, Alex Enrich-Prast, Francisco de A. Esteves & Vinicius F. Farjalla.

Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 64: 1266-1272.

Resumo

Nesse trabalho reportamos a variação sazonal nas taxas de foto-oxidação em uma lagoa húmica tropical e suas relações com o regime anual de chuvas. As taxas de foto-oxidação variaram entre 8,96 e 415,06 $\mu\text{mol C L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, sendo mais altas no início e no meio da estação chuvosa, e apresentando declínio ao longo do ano. Apesar da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD), coloração da água e intensidade das radiações solares incidentes serem geralmente altas no período chuvoso, as taxas de foto-oxidação não foram significativamente relacionadas a nenhum desses parâmetros. A foto-oxidação parece ser mais influenciada por mudanças na reatividade do COD, a qual foi quase três vezes mais alta no início da estação chuvosa, momento que ocorre a entrada de COD alóctone recém lixiviado dos ecossistemas terrestres circundantes. Nos meses consecutivos, além de ser constantemente degradado pelas radiações solares, o COD também é removido da coluna d'água por outros processos, como a degradação bacteriana e sedimentação, resultando no declínio da concentração de COD e sua reatividade ao longo do ano, até a próxima estação chuvosa. Dessa forma, a dinâmica de entrada de COD na lagoa Comprida causada pelo regime de chuvas, resulta em um padrão anual de pulsos na foto-reatividade e taxas de foto-oxidação nesse ecossistema. Acreditamos que esse modelo de pulsos também funciona para outros ecossistemas submetidos a padrões similares de entrada de COD alóctone, sem que necessariamente o regime de chuvas seja o fator regulador.

Introdução

O carbono orgânico dissolvido (COD) é um grande estoque de carbono da biosfera, com magnitude semelhante ao dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera (FARRINGTON, 1992). Como o COD está envolvido em diversos processos biogeoquímicos, fazendo ligações entre compartimentos da hidrosfera e biosfera, é um importante componente da ciclo do carbono global, e tem potencial de afetar as mudanças globais no clima (GRANÉLI *et al.*, 1998). Recentemente os processos de mineralização do COD têm recebido especial atenção por causa dos efeitos do CO₂ como gás estufa e suas implicações no aquecimento global (AMADO *et al.*, 2003).

Além da degradação bacteriana, a foto-oxidação foi reconhecida por muitos autores como sendo um importante processo de mineralização de carbono, em ecossistemas aquáticos tanto da região temperada quanto da região tropical (LINDELL *et al.*, 1995; AMON & BENNER, 1996; AMADO *et al.*, 2006). Através desse processo, a incidência das radiações solares resultam na quebra do estoque de COD em moléculas orgânicas de menor peso molecular e moléculas inorgânicas como o CO₂ (MORAN & ZEPP, 1997). Logo, a foto-oxidação do COD aumenta a sua mineralização pela oxidação direta das moléculas (de agora em diante escrita como foto-oxidação) ou indireta pelo estímulo do consumo pelas bactérias, como resultado da foto-produção de substratos lábeis ao metabolismo bacteriano (GELLER, 1986; LINDELL *et al.*, 1995; GRANÉLI *et al.*, 1996). Esses processos são especialmente relevantes em sistemas dominados por COD de origem alóctone, sendo este conseqüentemente mais disponível para a foto-oxidação do que para a degradação bacteriana (AMON & BENNER, 1996; TRANVIK & BERTILSSON, 2001; AMADO *et al.*, 2006).

A foto-oxidação do COD em águas naturais pode ser influenciada por vários fatores como: (1) concentração do COD na água (GRANÉLI *et al.*, 1998), (2) a quantidade de radiação incidente (BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001), (3) o histórico de exposição e/ou estado diagenético das moléculas (AMADO *et al.*, 2003; BIDDANDA & COTNER, 2003) e, (4) a origem e qualidade do COD (FARJALLA *et al.*, 2001; AMADO *et al.*, 2006). Uma vez que os ecossistemas aquáticos apresentam algum tipo de variação sazonal desses parâmetros, é provável que as taxas de foto-oxidação também variem sazonalmente, apesar de poucas tentativas de demonstrar esses padrões (LINDELL *et al.*, 2000; AMADO *et al.*, 2006).

As substâncias húmicas representam mais de 50% do COD na maioria dos ecossistemas aquáticos (THOMAS, 1997). Em alguns pequenos ecossistemas aquáticos, incluindo lagoas costeiras tropicais, a fração húmica do COD pode atingir 90% (SUHETT *et al.*, 2004). Esses ecossistemas são reconhecidos por concentrações de COD superiores a 4 mM, com entradas anuais determinadas pelo regime de chuvas (FARJALLA *et al.*, 2002). Esses fatores sugerem que essas lagoas possam ter elevadas taxas de foto-oxidação do COD e que essas taxas devem variar sazonalmente em resposta ao regime de chuvas. Entretanto, desconhecemos a existência de qualquer trabalho enfocando variações sazonais das taxas de foto-oxidação do COD em ecossistemas húmicos/super-húmicos tropicais.

O objetivo do presente trabalho é de avaliar a variação sazonal das taxas de foto-oxidação do COD em uma lagoa costeira tropical super-húmica (lagoa Comprida). Então, nesse trabalho nós avaliamos os efeitos sazonais do regime de chuvas sobre as taxas de foto-oxidação do COD e sua foto-reatividade na lagoa Comprida. Os principais resultados mostram que a foto-oxidação do COD está

intimamente relacionada ao início do período chuvoso quando ocorre a entrada de COD alóctone, recentemente lixiviado dos ecossistemas terrestres circundantes.

Material e Métodos

Área de Estudos

Esse trabalho foi realizado na lagoa Comprida, uma lagoa costeira húmica/super-húmica localizada na planície arenosa costeira, no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil (22°17'S e 41°39'O). A lagoa Comprida tem uma área de 0,12 km² e uma elevada razão perímetro-volume (em função de seu formato dendrítico), sendo consideravelmente influenciada pela vegetação de restinga circundante. As concentrações de COD na lagoa Comprida podem atingir até 5 mM (FARJALLA *et al.*, 2002) dos quais mais de 90% podem ser de origem húmica (SUHETT *et al.*, 2004). A lagoa é tipicamente rasa (profundidade menor que 2 metros), mas por causa da coloração escura da água, as radiações solares são atenuadas nos primeiros 0,4 m de coluna d'água (GRANÉLI *et al.*, 1998). O clima na região é considerado quente e húmido, com temperatura anual média de 26,6°C e o período de chuvas se concentra entre outubro e março (HENRIQUES *et al.*, 1988; FARJALLA *et al.*, 2002).

Amostragem e montagem dos experimentos

As amostras foram coletadas em um ponto central da lagoa Comprida em sete dias diferentes entre março de 2003 e novembro de 2004 (março, julho e novembro de 2003 e fevereiro, maio, julho e novembro de 2004) e a partir de agora serão mencionadas pelo mês e ano da coleta (e.g. março 2004). Todas as amostras foram coletadas na sub-superfície da coluna d'água (0,1 m aprox.) em garrafas de polietileno previamente lavadas com HCl 10% e água deionizada e rinsadas com água da própria lagoa. Em laboratório as amostras foram pré-filtradas em filtros de fibra de vidro de

porosidade de 0,7 μm (GF/F; Whatman Inc. Florham Oark, N.J.) para excluir partículas maiores, aumentando a eficiência da filtração subsequente e, então, filtradas em membrana de polycarbonato de prosidade 0,2 μm (BA 83, Schleicher & Schuell), imediatamente antes dos experimentos de exposição à radiação solar, para excluir as bactérias. Esse procedimento foi adotado para minimizar a influência da atividade bacteriana na mineralização do COD durante os experimentos.

As amostras filtradas eram colocadas em 8 bolsas de cultura (Nasço Whirl Pak[®], Fort Atkinsos, Wis.), que eram seladas sem deixar atmosfera interna (similar ao adotado por AMADO *et al.*, 2006). Como as bolsas de cultura são permeáveis à radiação visível (PAR) e a 35% das radiações ultra-violeta (UV), as taxas de foto-oxidação do presente estudo estão, provavelmente, sub-estimadas. Quatro das oito bolsas eram envolvidas em papel alumínio e utilizadas como controle (escuro). Todas as bolsas eram incubadas sob o sol por um período de seis horas, em torno do meio-dia, em piscina plástica com água corrente para manter a temperatura das amostras durante as incubações relativamente constantes ($32 \pm 3^\circ\text{C}$), semelhante à metodologia utilizada por GRANÉLI *et al.* (1998). Durante as incubações foram medidas, a cada hora, as intensidades das radiações nas regiões PAR (400-700 nm), UV-A (320-400 nm) e UV-B (280-320 nm) com um radiômetro (IL 1400, International Light Technologies Inc., Peabody, Mass.). Esses dados foram utilizados para o cálculo, por integração, da incidência total das radiações PAR, UV-A e UV-B sobre as amostras durante as seis horas de incubação. A radiação total incidente nas amostras foi também calculada pela soma dos valores integrados para PAR, UV-A e UV-B.

Os dados de pluviosidade foram obtidos pela estação meteorológica da Fazenda São Lázaro (distante aproximadamente 3 km da lagoa Comprida). Foram calculados,

para cada dia de coleta, os índices pluviométricos acumulados dos últimos 30, 60 e 90 dias (CR30, CR60 e CR90, respectivamente).

Análises químicas

Alíquotas iniciais foram preservadas para a determinação das concentrações de COD e análises de absorvâncias. Essas alíquotas foram transferidas para frascos de vidro (âmbar) de 20 mL (lavados com HCl 10% e rinsados com água Milli-Q) e refrigeradas (4°C) para evitar consumo biológico do COD. Após as incubações foram preservadas alíquotas para a análise das concentrações de carbono inorgânico dissolvido (CID). Essas alíquotas foram transferidas para frascos de vidro (5,9 mL, Exetainers; LabCo Ltd. High Wycombe, Buckinghamshire, England) com tampa de teflon e septo de borracha, sem deixar atmosfera interna. Para evitar perdas de CO₂ por difusão, foi utilizada seringa acoplada com mangueira de silicone para preencher os frascos lentamente e transbordando os mesmos com volume dez vezes maior que sua capacidade (aprox. 60 mL). As amostras foram então, fixadas com HgCl₂ (0,01%, concentração final nos frascos) para minimizar qualquer atividade biológica existente e evitar qualquer possível produção de CO₂ até a análise. As análises de concentração de COD e CID foram realizadas em no máximo 1 dia após os experimentos com um aparelho analisador de carbono (TOC 5000 Analyzer; Shimadzu Scientific Instruments, Columbia, Md.) pelo método de combustão em alta temperatura. Eram feitas pelo menos 3 injeções por amostra e eram aceitos coeficientes de variação (CV) menores que 2%.

Foi medida a absorvância em três comprimentos de onda distintos: 250, 365 e 430 nm. As leituras foram feitas com uma cubeta de quartzo (caminho óptico de 1 cm) e um espectrofotômetro Beckman DU[®] 560, utilizando água destilada como referência (branco). Os coeficientes de absorção nesses comprimentos de onda foram

expressos como o inverso do caminho óptico em metros (m^{-1}) conforme sugerido por HU *et al.* (2002):

$$a_{\lambda} = (A_{\lambda} \times 2,303)/L$$

onde A_{λ} é a absorvância no comprimento de onda λ , e L é o caminho óptico da cubeta (em metros). O coeficiente de absorção em 430 nm (a_{430}) foi utilizado como estimativa da coloração da água. Também foram determinados os coeficientes de absorção em 250 (a_{250}) e 365 nm (a_{365}) e a razão entre esses dois coeficientes ($a_{250}:a_{365}$) foi utilizada como estimativa de tamanho relativo das moléculas. O aumento na razão indica o aumento da proporção de moléculas de menor peso molecular e vice-versa (STROME & MILLER, 1978). Também foram calculadas as absorvâncias específicas do COD nos comprimentos de onda de 250 e 430 nm (250:COD e 430:COD; respectivamente). Todos esses parâmetros podem ser relacionados com as taxas de foto-oxidação do COD (GRANÉLI *et al.*, 1998; BERTILSSON *et al.*, 1999; LINDELL *et al.*, 2000).

As taxas de foto-oxidação foram estimadas pela diferença dos valores médios das concentrações de CID nas amostras expostas e nas amostras controle após as incubações ao sol. As taxas de foto-oxidação foram expressas em micromoles de CID por litro, produzidos em 1 dia ($\mu\text{M C dia}^{-1}$), assumindo que as 6 horas de incubação são representativas para o dia inteiro. Também foi calculado um Índice de Fotoreatividade do COD (expressado daqui em diante pela sigla DPI, do inglês “DOC photoreactivity Index”) adimensional, normalizando as taxas de foto-oxidação pela concentração de COD e pela radiação solar. Também foi considerada a eficiência de cada banda de radiação (PAR, UV-A e UV-B), de acordo com GRANÉLI *et al.* (1998); que registrou que PAR, UV-A e UV-B contribuem com 44%, 39% e 17% da foto-oxidação, respectivamente. O DPI foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{DPI} = (P_i \div \text{COD}_i) \times ((0,44 \times (\text{PAR}_{\text{max}} \div \text{PAR}_i)) + (0,39 \times (\text{UV-A}_{\text{max}} \div \text{UV-A}_i)) + (17 \times (\text{UV-B}_{\text{max}} \div \text{UV-B}_i)))$$

Onde P_i é a quantidade de COD foto-oxidado no tempo i , COD_i é a concentração de COD no tempo i , PAR_{max} , UV-A_{max} e UV-B_{max} representam a maior incidência das radiações PAR, UV-A e UV-B, respectivamente nas amostras durante os experimentos ao longo dos meses, e PAR_i , UV-A_i e UV-B_i representam as radiações PAR, UV-A e UV-B, respectivamente, incidente nas amostras no tempo i . As constantes 0,44; 0,39 e 0,17 são as contribuições proporcionais das radiações PAR, UV-A e UV-B, respectivamente, para a foto-oxidação total, de acordo com GRANÉLI *et al.* (1998).

Análises Estatísticas

Para testar a significância da produção de CID após as incubações, os dados de CID foram transformados por $\ln(x + 1)$, e a diferença média entre as amostras expostas e as controle foram testadas por teste T (não pareado) usando o programa Prism® 4.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, Califórnia). É importante ressaltar que as amostras expostas e controle não eram pareadas e, por isso, eram independentes. Também foi estimado o erro padrão (EP) para a diferença média (MOTULSKY, 2003). Como os dados de CID foram originalmente transformados, o EP foi re-transformado para a estimativa do EP real das taxas de foto-oxidação (MOTULSKY, 2003).

Foram realizadas análises de correlações simples para buscar relações entre a foto-oxidação e variáveis limnológicas e entre as próprias variáveis, utilizando o programa Statística 6.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma). Além das taxas de foto-oxidação, foram incluídas nessas análises os parâmetros: COD, pH, coeficientes de absorção e as razões entre eles, a absorção específica do COD, as radiações PAR, UV-

A e UV-B, pluviosidade acumulada, e DPI. Uma análise preliminar das correlações possibilitou a exclusão de parâmetros redundantes (e.g. PAR e UV-A) e as correlações redundantes entre essas variáveis. Além de apresentarem fortes relações estatísticas (e.g. $r^2 > 0,90$; $p < 0,001$), essas variáveis são consideradas redundantes pois também apresentam relação lógica. Nesses casos, somente uma das variáveis foi mantida nas análises. Logicamente, relações irrelevantes (não lógicas), como entre PAR e CR30, também foram descartadas. Então, 31 correlações foram consideradas potencialmente relevantes e usadas para as análises.

Adotamos nível de significância de $\alpha = 0,10$ para todas as análises estatísticas, similar ao realizado em outros estudos ecológicos com poucos dados (pontos) para correlações (e.g. MCCABE & CYR, 2006). Apesar dos efeitos das variáveis selecionadas poderem ser complexos e, interagirem entre si, não foi possível aplicar análises multivariadas, como utilizado em outros estudos da mesma natureza (BERTILSSON & TRANVIK, 2000) em função do baixo número de casos ($N = 7$ períodos amostrais).

Resultados

A pluviosidade seguiu o padrão esperado para a região (HENRIQUES *et al.*, 1988; FARJALLA *et al.*, 2002), apresentando o período chuvoso entre os meses de outubro e março e o período mais seco entre os meses de abril e setembro (Fig. 1). A incidência das radiações solares (PAR e UV-A) apresentarão padrão semelhante, apresentando os valores mais altos no período chuvoso, enquanto que UV-B variou muito pouco ao longo do ano (Fig. 1).

A concentração de COD e a coloração da água variaram sazonalmente e, em geral, acopladas (Fig. 2a). O início da estação chuvosa em outubro de 2003 resultou no aumento das concentrações de COD, seguido de decréscimo ao longo da estação

chuvosa. Declínio similar foi observado entre março 2003 (fim da estação chuvosa) e julho 2003 (estação seca). Em novembro 2004 foi observado o desacoplamento das concentrações de COD e coloração da água, sendo registrado o aumento da coloração ($59,06 \text{ m}^{-1}$) apesar do decréscimo das concentrações de COD ($1,96 \text{ mM}$; Fig. 2a). Quando esse mês foi excluído das regressões, foi observada correlação significativa entre os dois parâmetros em questão ($p = 0,069$; $r = 0,78$, Tabela 1). Também foram registradas correlações significativas entre COD e a_{250} ($p = 0,038$, $r = 0,84$; Tabela 1) e a_{365} ($p = 0,042$, $r = 0,83$; Tabela 1). Até julho de 2004, a menor concentração de COD e coloração da água foram registradas em julho 2003 ($1,28 \text{ mM}$ e $17,96 \text{ m}^{-1}$, respectivamente), e os maiores foram em fevereiro 2004 ($4,86 \text{ mM}$ e $51,81 \text{ m}^{-1}$, respectivamente). De maneira geral, a concentração de COD apresentou relação positiva com CR60 ($p = 0,030$, $r = 0,80$; Tabela 1) e CR90 ($p = 0,006$, $r = 0,90$, Tabela 1) e, a coloração foi relacionada negativamente com pH ($p = 0,048$, $r = -0,79$, Tabela 1).

A foto-oxidação foi significativa em todos os períodos, e.g. produção significativa de CID nas amostras expostas às radiações solares em relação aos controles (Tabela 2). As taxas de foto-oxidação foram associadas ao regime de pluviosidade, sendo as maiores taxas registradas nos períodos de maior pluviosidade e as menores no período seco (Fig. 2b). Mais especificamente, as taxas de foto-oxidação aumentaram em outubro 2003, foram máximas em fevereiro 2004 e, posteriormente, declinaram no período consecutivo, apresentando aumento novamente em novembro 2004 (Fig. 2b). A menor taxa de foto-oxidação foi registrada em julho 2003 ($8,96 \mu\text{M dia}^{-1}$) e a maior em novembro 2004 ($415,06 \mu\text{M dia}^{-1}$). É importante ressaltar que a alta pluviosidade mensal acumulada em julho 2004 foi decorrente de chuvas fortes entre os dias 18 e 23 de julho. Como a amostragem naquele mês foi realizada no dia 5,

essa amostragem não foi afetada pela alta pluviosidade, sendo registrada redução da concentração de COD e coloração da água (Fig. 2a). Quando todas as coletas foram incluídas nas análises, as taxas de foto-oxidação foram correlacionadas somente com DPI ($p = 0,015$, $r = 0,85$; Tabela 1). Quando a coleta de novembro 2004 é excluída das análises, as taxas de foto-oxidação também foram correlacionadas com CR60 ($p = 0,050$, $r = 0,81$, Tabela 1).

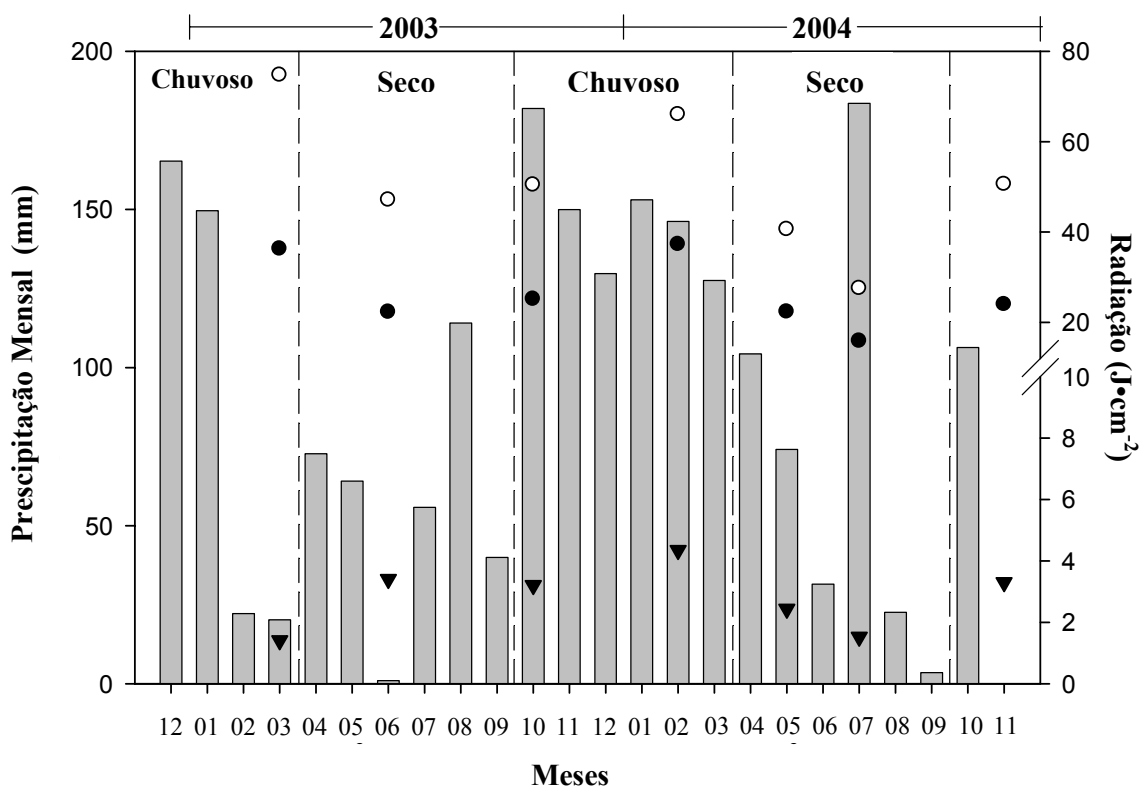


Figura 1: Variação sazonal da pluviosidade mensal (em mm, barras cinza) na região da lagoa Comprida de dezembro/2002 até novembro/2004 e radiação solar nas faixas PAR (○), UV-A (●) e UV-B (▼) medidas durante os experimentos ($J \cdot cm^{-2}$). Notar a quebra de escala no eixo da radiação. Os períodos secos e chuvosos estão separados por linhas verticais tracejadas. A precipitação de novembro/2004 não foi mostrada, uma vez que o experimento foi realizado dia 01 de novembro.

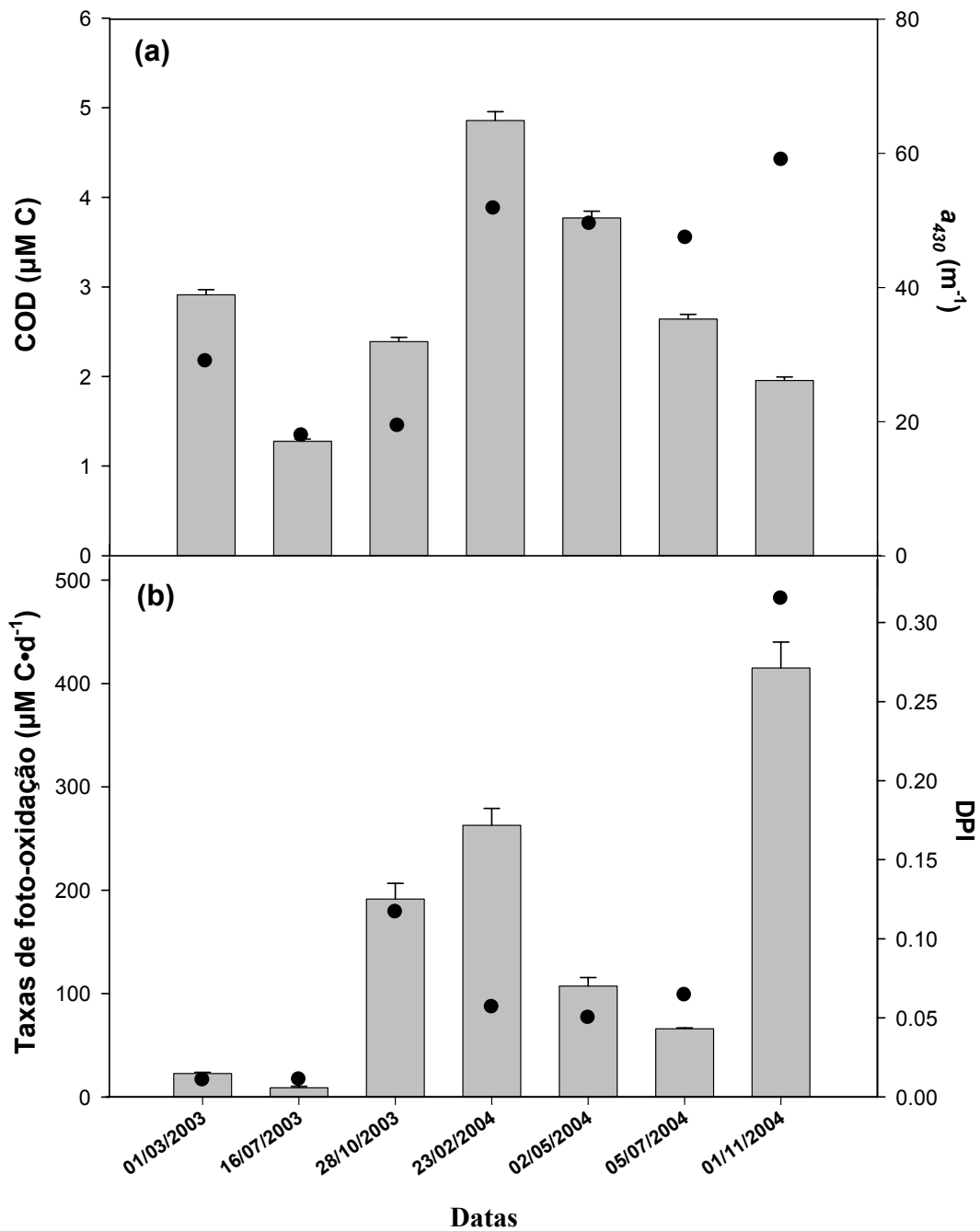


Figura 2: Mudanças sazonais (a) na concentração de COD (mM C) e coloração da água e (b) nas taxas de foto-oxidação (µM C·d⁻¹) e DPI na lagoa Comprida de março/2003 a novembro/2004. As barras de erro representam o erro padrão (EP) da concentração de COD (a) e EP estimado para as taxas de foto-oxidação (b).

O DPI variou entre 0,010 e 0,06 em quase todo o período de coletas (Fig. 2b). Entretanto, em outubro 2003 e novembro 2004 os valores de DPI foram extremamente maiores (0,117 e 0,315, respectivamente). Mesmo com o aumento da concentração de COD e a incidência das radiações solares de outubro 2003 até fevereiro 2004, as taxas de foto-oxidação não aumentaram proporcionalmente a esses parâmetros, conforme mostra o declínio do DPI nesse último mês (Fig. 2). O menor DPI foi registrado em julho 2003 (0,011, Fig. 2b). DPI foi correlacionado positivamente com 250:COD ($p = 0,070$, $r = 0,72$; Tabela 1) e 430:COD ($p = 0,060$, $r = 0,74$; Tabela 1). Além disso, quando excluído o ponto novembro 2004, encontramos correlação significativa entre DPI e CR30 mostrando que a reatividade do COD é, de alguma forma, influenciada pela pluviosidade nos meses anteriores.

Tabela 1: Correlações significativas ($P < 0,10$) entre foto-oxidação e outras variáveis ambientais com todos os dados ($n = 7$) e excluído novembro/2004 ($n = 6$). Para as correlações sem novembro/2004, foram apresentadas apenas correlações significativas adicionais (que não haviam sido significativas com todos os dados).

Todos os dados			Excluído novembro/2004		
Correlações	r	P	Correlações	r	P
DPI x foto-oxidação	0,85	0,015	COD vs. a_{250}	0,84	0,038
DPI vs. 250:COD	0,72	0,070	COD vs. a_{365}	0,83	0,042
DPI vs. 430:COD	0,74	0,060	COD vs. a_{430}	0,78	0,069
CR ₆₀ vs. COD	0,80	0,030	CR ₃₀ vs. DPI	0,86	0,028
CR ₉₀ vs. COD	0,90	0,006	CR ₆₀ vs. foto-oxidação	0,81	0,050
a_{430} vs. pH	-0,79	0,048			

É importante mencionar que apesar das relações entre as taxas de foto-oxidação e as variáveis ambientais e, entre essas variáveis, não são necessariamente lineares. Entretanto, os dados logaritmizados não melhoraram os coeficientes das correlações e as probabilidades de maneira consistente. Sendo assim, decidimos manter as regressões lineares simples.

Tabela 2: Probabilidades (*P*), valores de *t* e diferença média (\pm SEM) para comparações das concentrações médias de CID entre as amostras expostas e controle após 6 horas de incubação.

Data	<i>t</i>	P	Diferença de CID (μM C)
Março/2003	9,260	<0,0001	22,75 \pm 2,46
Julho/2003	5,325	0,0065	8,96 \pm 3,12
Outubro/2003	5,575	0,0007	191,46 \pm 34,34
Fevereiro/2004	7,132	0,0002	262,83 \pm 38,35
Mai/2004	6,624	0,0003	107,42 \pm 2,14
Julho/2004	6,888	0,0031	66,00 \pm 3,10
Novembro/2004	5,494	0,0059	415,06 \pm 2,13

Discussão

Fatores climáticos são conhecidos por influenciar processos ecológicos, tanto diretamente, quanto indiretamente. Em lagos das regiões temperadas e árticas as baixas temperaturas inibem o crescimento e a atividade dos organismos, com grandes conseqüências ao funcionamento dos ecossistemas (GAEDKE, 1992; KIRSCHNER & VELIMIROV, 1997; LAYBOURN-PARRY *et al.*, 2004). Nesses ecossistemas a temperatura pode ainda influenciar processos ecológicos pela entrada de COD/MOD alóctone pelo degelo ou pelas chuvas do começo da primavera até meados do verão

(LINDELL *et al.*, 2000; PACE & COLE, 2002; HONGVE *et al.*, 2004). Além desses, outros fatores não relacionados ao clima podem ser consideradas importantes fontes de COD/MOD para os ecossistemas, e.g. lixiviação de macrófitas aquáticas e ressuspensão de água intersticial do sedimento (REITNER *et al.*, 1997; COTNER, 2000). Em ecossistemas aquáticos tropicais a sazonalidade pluviométrica e de pulsos de inundação são os principais fatores reguladores da entrada de COD. Por exemplo, estudos em lagos tropicais de inundação registraram considerável aporte de COD e nutrientes para esses ambientes devido à maior conectividade com os rios em períodos de enchente e cheia, com efeitos para a degradação bacteriana e foto-degradação (CASTILLO, 2000; AMADO *et al.*, 2006; FARJALLA *et al.*, 2006).

A dinâmica sazonal do COD na lagoa Comprida, presente estudo, está relacionada à sazonalidade das chuvas, mais especificamente à pluviosidade acumulada nos últimos 1 ou 2 meses. Padrão similar de variação de COD foi encontrado em 4 lagoas costeiras na mesma região (incluindo a lagoa Comprida) alguns anos antes (FARJALLA *et al.*, 2002). Junto com o acoplamento entre COD e coloração da água (positivo) e entre coloração da água e pH (negativo), esses resultados sugerem que a entrada de COD na lagoa Comprida é dominada pela presença de substâncias húmicas e é regulada pela distribuição sazonal das chuvas.

Poucos estudos avaliaram e registraram variação sazonal nas taxas de foto-oxidação do COD. LINDELL *et al.* (2000) mostraram que as taxas de foto-oxidação em 2 lagos temperados são maiores no começo da primavera, imediatamente após o degelo, em decorrência da entrada de COD alóctone recém formado e a exposição de COD anteriormente sombreado pelo gelo. Esse COD mais foto-reativo é originário da região hipolimnética dos lagos, que durante o ano encontram-se estratificados, onde ficam protegidos da ação das radiações solares. No inverno, a estratificação é

quebrada e o COD hipolimnético atinge as camadas mais superficiais da coluna d'água onde passam a sofrer foto-oxidação após o degelo. A contínua exposição do COD às radiações o torna menos reativo a foto-oxidação ao longo do verão e do outono (LINDELL *et al.*, 2000). Em estudo desenvolvido em 2 ecossistemas amazônicos de águas claras, AMADO *et al.* (2006) observaram as maiores taxas de foto-oxidação (uma ordem de magnitude maior) em períodos de enchente e águas altas, quando os mesmos inundam a floresta resultando na entrada de grandes quantidades de COD alóctone. PAUL *et al.* (2004) apresentaram evidências de variação sazonal na foto-reatividade do COD em 5 ecossistemas aquáticos escandinavos, pela redução das taxas de foto-produção de oxigênio singleto, uma das mais importantes espécies reativas de oxigênio que atuam na foto-oxidação, do verão à primavera.

No presente estudo, observamos variações sazonais, de até 2 ordens de magnitude, das taxas de foto-oxidação na lagoa Comprida. Basicamente, as taxas de foto-oxidação foram máximas entre o início e meio do período chuvoso e declinaram ao longo do ano no período seco. Não foram registradas correlações entre as taxas de foto-oxidação e a concentração de COD, coloração da água ou incidência das radiações solares, comumente registradas na literatura em estudos temporalmente pontuais (GRANÉLI *et al.*, 1998; BERTILSSON *et al.*, 1999; AMADO *et al.*, 2003). No presente estudo, não apenas as taxas de foto-oxidação, mas também a foto-reatividade do COD (DPI) variaram sazonalmente, sendo positivamente associadas ao regime de chuvas sazonal. Uma vez que o DPI é calculado a partir das taxas de foto-oxidação, parece óbvio que ambos apresentem comportamento sazonal semelhante. Entretanto, isso não necessariamente ocorre, já que os valores são normalizados pela disponibilidade de substrato (concentração de COD) e pela intensidade das radiações

solares incidentes nas amostras em cada experimento. As correlações positivas entre DPI e a absorvância específica do COD em 250 e 430 nm sugerem que o DPI reflete a capacidade do COD em interagir com as radiações solares. Dessa forma, a foto-reatividade do COD deve ser maior quando o recém formado COD húmico entra na lagoa no início do período chuvoso. Esse fato ficou ilustrado em fevereiro 2004, quando não foi registrado o aumento da coloração da água em relação a outubro 2003, mesmo com o aumento na concentração de COD. Apesar das maiores taxas de foto-oxidação em fevereiro 2004, essas não foram tão altas quanto o esperado em função do aumento das radiações solares resultantes de baixa foto-reatividade do COD (baixa absorção específica do COD).

É interessante destacar que ao contrário de outubro 2003, novembro 2004 apresentou baixa concentração de COD, apesar de coloração escura da água (alto valor de coloração da água). A mais alta taxa de foto-oxidação desse estudo foi registrada no mesmo mês, que resultou em DPI semelhantemente elevada. Em função da singularidade desse mês, algumas correlações foram significativas apenas quando este era excluído das análises. Entretanto, os padrões registrados não se alteram. Não acreditamos que a elevada taxa de foto-oxidação registrada em novembro 2004 seja decorrente de qualquer erro metodológico, uma vez que já registramos taxas de foto-oxidação tão ou mais elevadas que essa em outros ecossistemas da região. Entretanto, não descartamos a possibilidade de alguma imprecisão (sub-estimativa) das concentrações de COD nesse mês, já que registramos aumento na coloração da água e nas taxas e foto-oxidação.

As taxas de foto-oxidação registradas no presente estudo são extremamente altas, mesmo quando comparadas com dados de estudos realizados em ecossistemas tropicais, incluindo super-húmicos costeiros (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1996; REITNER

et al., 1997; GRANÉLI *et al.*, 1998). Nos trópicos, a incidência das radiações solares são elevadas e pouco variáveis, quando comparadas com as regiões temperadas. Em função dessa alta disponibilidade de radiação solar ao longo do ano, qualquer evento que determine a entrada de COD recente e altamente foto-reativo em ecossistemas aquáticos tropicais dever resultar em altas taxas de foto-oxidação. Esse é o padrão observado na lagoa Comprida, em função da sua dinâmica pluviométrica sazonal. Dessa forma, a dinâmica sazonal de chuvas deve agir sinergicamente com as altas intensidades de radiações solares, resultando em taxas de foto-oxidação atípicas e extremamente altas no período chuvoso. Esse fato deve ser de extrema relevância para o ciclo do carbono na lagoa Comprida e em outros ecossistemas aquáticos húmicos, fazendo com que a foto-oxidação seja uma das principais vias de mineralização/remoção de COD desses ambientes, principalmente em momentos pontuais ou sazonais de entrada de COD foto-reativo. Esse padrão ocorre também em outros ecossistemas aquáticos tropicais, como lagos e rios amazônicos (e.g. AMADO *et al.*, 2006). É importante destacar, conforme discutido no capítulo 1 dessa tese, que apesar das radiações solares serem rapidamente atenuadas em águas escuras, a lagoa Comprida, assim como outros ecossistemas húmicos tropicais, são rasos e têm a coluna d'água constantemente homogênea pela forte ação dos ventos costeiros. Essa mistura deve homogeneizar também, os efeitos da foto-oxidação por toda coluna d'água, mesmo que muitas vezes as radiações não atinjam o fundo do ecossistema.

Por fim, propomos um modelo conceitual geral para as dinâmicas da foto-oxidação e foto-reatividade na lagoa Comprida (Fig. 3). O regime anual de chuvas é o principal fator controlador da dinâmica da foto-reatividade do COD, gerando um padrão de pulsos com periodicidade de um ano hidrológico. Os máximos de foto-reatividade ocorrem no início do período chuvoso, como resultado da entrada COD

alóctone recente. As taxas de foto-oxidação devem apresentar valores máximos pouco depois da foto-reatividade em função do aumento da concentração de COD e/ou incidência das radiações solares. A coincidência entre a alta incidência das radiações solares e da entrada de COD foto-reativo no período chuvoso agem sinergicamente produzindo elevadas taxas de foto-oxidação nesse período. Os declínios consecutivos das taxas de foto-oxidação e foto-reatividade são atribuídos à foto-oxidação sofrida ao longo do tempo, reduzindo a foto-reatividade continuamente, bem como a fenômenos como a precipitação de COD e a degradação bacteriana de COD foto-reativo. Acreditamos que esse modelo seja aplicável a outros ecossistemas aquáticos, incluindo os ecossistemas tropicais húmicos, sujeitos a entradas sazonais de COD foto-reativo, mesmo que o regime de chuvas não seja necessariamente o fator determinante.

Agradecimentos

Esse trabalho foi parte do projeto intitulado “Seqüestro e liberação de carbono em lagoas e represas”, coordenado pelo Dr. Bias M. Faria, do Centro de Pesquisa e Desenvolvimento (CENPES) da Petrobras. Os autores são gratos ao CENPES/PETROBRAS, CNPq, CAPES e FAPERJ pelo apoio financeiro e pelas bolsas que possibilitaram o desenvolvimento desse trabalho, e a Valéria M. Amado pela revisão de inglês para publicação.

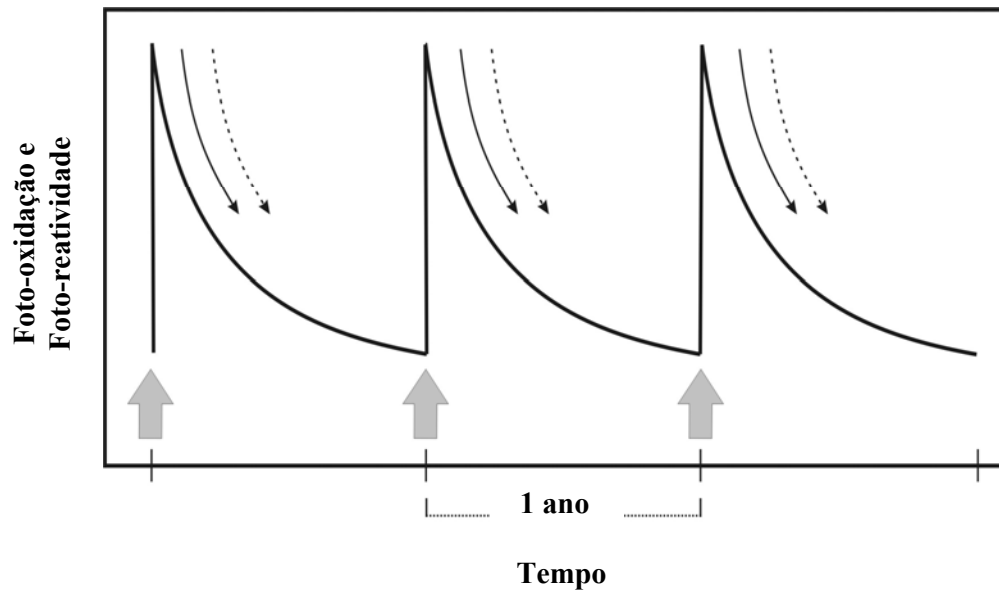


Figura 3: Modelo conceitual da variação sazonal das taxas de foto-oxidação e da foto-reatividade do COD na lagoa Comprida. O regime pluviométrico anual é o principal fator regulador resultando numa dinâmica de pulsos com periodicidade de um ano hidrológico. Os máximos de foto-reatividade (indicados pela linha contínua) ocorrem no início do período chuvoso resultante da entrada de COD alóctone recente (indicado pelas setas cinza - largas). Os máximos de foto-oxidação também ocorrem na estação chuvosa, mas não necessariamente coincidem com a foto-reatividade, uma vez que as altas concentrações de COD e incidência de radiação solar podem resultar em altas taxas de foto-oxidação no meio da estação chuvosa, mesmo que a reatividade do COD comece sua decadência. O declínio da foto-oxidação e foto-reatividade pode ser atribuído principalmente ao consumo foto-químico do COD (setas finas em linha cheia), mas também por fatores como degradação bacteriana e sedimentação do COD (setas finas tracejadas).

Referências

- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A. & BOZELLI, R. L., 2003, "DOC photo-oxidation in clear water Amazonian aquatic ecosystems", *Amazoniana*, v. 17, pp. 513-523.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 8-17.
- AMON, R. M. W. & BENNER, R., 1996, "Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system", *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, v. 60, pp. 1783-1792.
- BERTILSSON, S., STEPANAUSKAS, R., CUADROS-HANSSON, R., GRANÉLI, W., WIKNER, J. & TRANVIK, L., 1999, "Photochemically induced changes in bioavailable carbon and nitrogen pools in a boreal watershed", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 19, pp. 47-56.
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L., 2000, "Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 753-762.
- BIDDANDA, B. & COTNER, J., 2003, "Enhancement of dissolved organic matter bioavailability by sunlight and its role in the carbon cycle of lakes Superior and Michigan", *Journal of Great Lakes Research*, v. 29, pp. 228-241.
- CASTILLO, M. M., 2000, "Influence of hydrological seasonality on bacterioplankton in two neotropical floodplain lakes", *Hydrobiologia*, v. 437, pp. 57-69.
- COTNER, J. B., 2000, "Intense winter heterotrophic production stimulated by benthic resuspension", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 1672-1676.
- FARJALLA, V. F., ANESIO, A. M., BERTILSSON, S. & GRANÉLI, W., 2001, "Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 187-195.
- FARJALLA, V. F., AZEVEDO, D. A., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake", *Microbial Ecology*, v. 52, pp. 334-344.

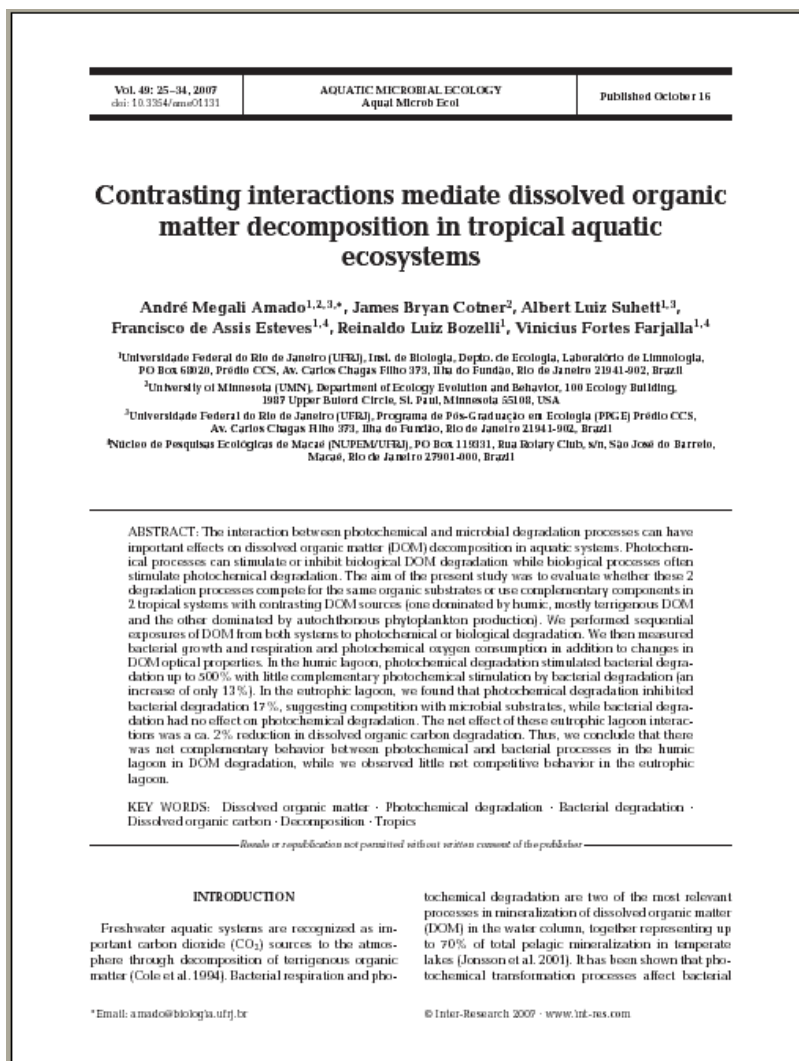
- FARJALLA, V. F., FARIA, B. M. & ESTEVES, F. A., 2002, "The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons", *Archiv Fur Hydrobiologie*, v. 156, pp. 97-119.
- FARRINGTON, J., 1992, "Overview and Key Recommendations - Marine Organic Geochemistry Workshop, January 1990", *Marine Chemistry*, v. 39, pp. 5-9.
- GAEDKE, U., 1992, "The size distribution of plankton biomass in a large lake and its seasonal variability", *Limnology and Oceanography*, v. 37, pp. 1202-1220.
- GELLER, A., 1986, "Comparison of mechanisms enhancing biodegradability of refractory lake water constituents", *Limnology and Oceanography*, v. 31, pp. 755-764.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M., DE FARIA, B. M. & ESTEVES, F. D., 1998, "Photoproduction of dissolved inorganic carbon in temperate and tropical lakes - dependence on wavelength band and dissolved organic carbon concentration", *Biogeochemistry*, v. 43, pp. 175-195.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M. & TRANVIK, L., 1996, "Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content", *Limnology and Oceanography*, v. 41, pp. 698-706.
- HENRIQUES, R. P. B., ARAÚJO, D. S. D., ESTEVES, F. A. & FRANCO, A. C., 1988, "Análise preliminar das comunidades de macrófitas aquáticas da lagoa Cabiúnas, Rio de Janeiro, Brasil", *Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 11, pp. 783-802.
- HONGVE, D., RIISE, G. & KRISTIANSEN, J. F., 2004, "Increased colour and organic acid concentrations in Norwegian forest lakes and drinking water - a result of increased precipitation?" *Aquatic Sciences*, v. 66, pp. 231-238.
- HU, C. M., MULLER-KARGER, F. E. & ZEPP, R. G., 2002, "Absorbance, absorption coefficient, and apparent quantum yield: A comment on common ambiguity in the use of these optical concepts", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 1261-1267.
- KIRSCHNER, A. K. T. & VELIMIROV, B., 1997, "A seasonal study of bacterial community succession in a temperate backwater system, indicated by variation in morphotype numbers, biomass, and secondary production", *Microbial Ecology*, v. 34, pp. 27-38.
- LAYBOURN-PARRY, J., HENSHAW, T., JONES, D. J. & QUAYLE, W., 2004, "Bacterioplankton production in freshwater Antarctic lakes", *Freshwater Biology*, v. 49, pp. 735-744.

- LINDELL, M. J., GRANALI, H. & BERTILSSON, S., 2000, "Seasonal photoreactivity of dissolved organic matter from lakes with contrasting humic content", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 57, pp. 875-885.
- LINDELL, M. J., GRANALI, W. & TRANVIK, L. J., 1995, "Enhanced Bacterial-Growth in Response to Photochemical Transformation of Dissolved Organic-Matter", *Limnology and Oceanography*, v. 40, pp. 195-199.
- MCCABE, S. K. & CYR, H., 2006, "Environmental variability influences the structure of benthic algal communities in an oligotrophic lake", *Oikos*, v. 115, pp. 197-206.
- MORAN, M. A. & ZEPP, R. G., 1997, "Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 1307-1316.
- MOTULSKY, H. J., 2003, *Prism 4 Statistics Guide - Statistical analyses for laboratory and clinical researchers*. Ed San Diego, CA, GraphPad Software Inc.
- PACE, M. L. & COLE, J. J., 2002, "Synchronous variation of dissolved organic carbon and color in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 333-342.
- PAUL, A., HACKBARTH, S., VOGT, R. D., RODER, B., BURNISON, B. K. & STEINBERG, C. E. W., 2004, "Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin", *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 3, pp. 273-280.
- REITNER, B., HERNDL, G. J. & HERZIG, A., 1997, "Role of ultraviolet-B radiation on photochemical and microbial oxygen consumption in a humic-rich shallow lake", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 950-960.
- STROME, D. J. & MILLER, M. C., 1978, "Photolytic changes in dissolved humic substances", *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, v. 20, pp. 1248-1254.
- SUHETT, A. L., MACCORD, F., AMADO, A. M., FARJALLA, V. F. & ESTEVES, F. A. (2004) Photodegradation of dissolved organic carbon in humic coastal lagoons (RJ, Brazil). In: Martin-Neto, L. (Ed) XII International Meeting of International Humic Substances Society. São Pedro, SP
- THOMAS, J. D., 1997, "The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems", *Freshwater Biology*, v. 38, pp. 1-36.

TRANVIK, L. J. & BERTILSSON, S., 2001, "Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth", *Ecology Letters*, v. 4, pp. 458-463.

CAPÍTULO: 3

Interações contrastantes determinam a decomposição da matéria orgânica dissolvida em ecossistemas aquáticos tropicais.



Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic systems.

André M. Amado, James B. Cotner, Albert L. Suhett, Francisco de A. Esteves, Reinaldo L. Bozelli & Vinicius F. Farjalla
Aquatic Microbial Ecology, 49: 25-34 (2007)

Resumo

As interações entre a foto-degradação e degradação bacteriana podem ter importantes efeitos na decomposição da matéria orgânica dissolvida (MOD) em ecossistemas aquáticos. A foto-degradação pode estimular ou inibir a degradação microbiana da MOD enquanto que, freqüentemente, processos biológicos estimulam a foto-degradação. O objetivo desse trabalho foi avaliar se esses dois processos de degradação competem pelos mesmos substratos orgânicos ou utilizam componentes complementares em 2 ecossistemas tropicais com fontes de MOD contrastantes (um dominado por MOD húmica, MOD terrestre; e o outro dominado por MOD autóctone resultante de produção primária fitoplanctônica). Nós realizamos exposições seqüenciais da MOD de ambos os ecossistemas à foto-degradação ou degradação bacteriana e, posteriores medidas das taxas de crescimento e respiração bacteriana e consumo foto-químico de oxigênio, além de alterações nas propriedades ópticas da MOD. Na lagoa húmica, a foto-degradação estimulou a degradação bacteriana da MOD em até 500%, além de a degradação bacteriana resultar em algum estímulo à foto-degradação (aumento de 13%). Na lagoa eutrófica, nós registramos que a foto-degradação inibiu a degradação bacteriana em 17%, sugerindo a ocorrência de competição pela degradação de substratos biodisponíveis, enquanto que a degradação bacteriana não apresentou efeito significativo sobre a foto-degradação. O balanço da interação da foto-degradação e degradação bacteriana resultou na redução de cerca de 2% da degradação da MOD na lagoa eutrófica. Logo, concluímos que ocorreu um comportamento de degradação complementar da MOD entre os dois processos de degradação na lagoa húmica, enquanto que foi observado comportamento de competição pela MOD na lagoa eutrófica.

Introdução

Os ecossistemas aquáticos de águas doces são reconhecidos como importante fontes de dióxido de carbono (CO₂) para a atmosfera, pela decomposição de matéria orgânica de origem terrestre (COLE *et al.*, 1994). A respiração bacteriana e a foto-degradação são os dois principais processos de mineralização da matéria orgânica dissolvida (MOD) na coluna d'água e podem representar até 70% da mineralização pelágica total em lagos profundos da região temperada do globo terrestre (JONSSON *et al.*, 2001). Já foi mostrado na literatura que os processos de transformação foto-química da MOD podem afetar a degradação bacteriana, resultando tanto no estímulo, quanto na inibição do metabolismo, através de alterações na biodisponibilidade da MOD (i.e. TRANVIK & BERTILSSON, 2001). Por outro lado, o metabolismo bacteriano pode afetar as propriedades ópticas (absorção de radiações luminosas) da MOD, pela liberação de moléculas orgânicas coloridas (CMOD), resultando no aumento da foto-degradação (KRAMER & HERNDL, 2004; NIETO-CID *et al.*, 2006). Então, os processos de foto-degradação e degradação bacteriana da MOD podem interagir e influenciar importantes processos como a mineralização de carbono ou o fluxo de energia e matéria pela cadeia trófica aquática (alça microbiana; do inglês “*microbial loop*”). Por exemplo, a degradação foto-química pode aumentar em 100% a respiração bacteriana, além das biomassas de bactéria, flagelados e metazooplâncton em até 40, 55 e 500%, respectivamente (AMADO *et al.*, 2006; DANIEL *et al.*, 2006).

Tanto a reatividade quanto o destino da MOD estão relacionados com a sua composição, fontes e características químicas (ver MORAN & COVERT, 2003). Um estudo anterior sugeriu que os processos de degradação bacteriana e foto-degradação poderiam competir pela decomposição da MOD na coluna d'água, uma vez que uma fração

da mesma poderia ser reativa aos dois processos (fotodisponível e biodisponível), simultaneamente (OBERNOSTERER & BENNER, 2004). Entretanto, em função de diferentes características químicas, algumas moléculas da MOD (e.g. MOD de origem algal) são mais biodisponíveis e menos fotodisponíveis, enquanto que outras moléculas da MOD (e.g. moléculas aromáticas, substâncias húmicas) apresentam padrão inverso de disponibilidade (MORAN & COVERT, 2003; AMADO *et al.*, 2006). Adicionalmente, as bactérias planctônicas têm demonstrado consumir, preferencialmente, MOD não-colorida e não-fluorescente (SAADI *et al.*, 2006). Logo, como o estoque de MOD entre os ecossistemas aquáticos é bastante heterogêneo e compreende uma grande variedade de diferentes compostos orgânicos, os quais variam espacialmente e sazonalmente em termos de fonte, concentração, composição e propriedades ópticas e químicas (BENNER, 2002), o grau de sobreposição entre os processos de degradação foto-química e bacteriana da MOD devem ser estudados de maneira mais aprofundada. Especificamente, precisamos entender melhor se esses dois processos competem ou se apresentam ação complementar em relação aos substratos que ambos os processos reagem.

Ecossistemas aquáticos tropicais promovem grandes fluxos de carbono entre os ecossistemas terrestres e a atmosfera (até 1 giga-tonelada C ha⁻¹ ano⁻¹, na bacia Amazônica) e, tanto a degradação bacteriana, quanto a foto-degradação podem apresentar similar magnitude (RICHEY *et al.*, 2002; AMADO *et al.*, 2006). A foto-degradação pode alcançar a magnitude de 400 μM C d⁻¹ em ambientes tropicais húmicos (Cap. 2; SUHETT *et al.*, 2007), o que pode ser até uma ordem de magnitude maior que em sistemas da região temperada (e.g. VAHATALO *et al.*, 2003). Temos conhecimento de apenas 2 trabalhos que investigaram os efeitos da foto-degradação no metabolismo bacteriano em ecossistemas tropicais (AMON & BENNER, 1996; AMADO *et al.*, 2006). Entretanto, nenhum destes

reportou os efeitos da degradação bacteriana da MOD sobre a foto-degradação naquela região.

O objetivo do presente estudo foi de avaliar as relações entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD em 2 ecossistemas aquáticos tropicais de águas doces. Nós realizamos experimentos de exposição seqüencial da MOD às radiações solares (foto-degradação) e às bactérias (degradação bacteriana) em 2 lagoas costeiras tropicais com características ópticas muito distintas: uma lagoa distrófica, extremamente húmica e uma lagoa eutrófica com elevada concentração de clorofila-*a*. Nossos resultados sugeriram que a foto-degradação e a degradação bacteriana apresentam efeitos de complementaridade na decomposição da MOD predominantemente húmica. Em contrapartida, a interação entre os dois processos apresentou resultado negativo (competição) na decomposição da MOD em ambientes eutróficos.

Material e Métodos

Área de Estudos

Esse trabalho foi realizado em 2 lagoas costeiras tropicais (lagoa Imboassica e lagoa Comprida) localizadas na região norte do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. A lagoa Imboassica é localizada em área urbana e recebe efluentes de esgotos não-tratados. Essa lagoa apresenta elevadas concentrações de nitrogênio (N), fósforo (P) e clorofila-*a* (Tabela 1). O fitoplâncton é considerado como a principal fonte de MOD para este ecossistema. A lagoa Comprida é considerada um sistema distrófico com águas escuras e altamente húmico e está localizado dentro de uma unidade de conservação (Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba). A principal fonte de MOD para esse ambiente é a vegetação circundante (vegetação de restinga) e as substâncias húmicas representam mais de 90% da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD). Esse ecossistema apresenta baixas concentrações

de clorofila-*a*, N e P, além de altas concentrações de COD e coloração da água (a_{430} [coeficiente de absorção em 430nm]; Tabela 1) em função de grande contribuição de compostos húmicos alóctones.

Tabela 1: Carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio dissolvido (N), fósforo dissolvido (P), concentração de clorofila-*a* e características ópticas (a_{430} e $a_{250}:a_{365}$) nas duas lagoas do estudo. Dados fornecidos pelo projeto “Pesquisas Ecológicas de Longa Duração (PELD), sítio 5. Média de dados mensais dos 12 meses anteriores ao experimento.

	Lagoa Comprida	Lagoa Imboassica
COD (mM)	3,90	1,04
N (μM)	47,44	63,43
P (μM)	0,19	0,80
Clorofila- <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$)	1,08	28,22
a_{430} (m^{-1})	32,70	3,22
$a_{250}:a_{365}$	4,38	7,55

Coleta das amostras, preparação e montagem dos experimentos

As amostras de água foram coletadas em um ponto central de cada lagoa, em novembro de 2003 (primavera), em galões de 20 L previamente lavados com HCl 10% e água deionizada e rinsados com água do próprio ambiente. Em laboratório, parte das amostras foi filtrada em filtros de fibra de vidro com porosidade de 0,7 μm (GF75 – Advantec MFS) e seqüencialmente filtrado por membrana com porosidade 0,2 μm “*Supor filter*” (SuporCap 100, Pall Corporation), para remover microorganismos, incluindo bactérias. Essas amostras filtradas foram acondicionadas em garrafas de borosilicato, previamente lavadas com HCl 10%, água Milli-Q e autoclavadas. Essas garrafas com as

amostras foram então, mantidas em refrigerador (4°C) até o início dos experimentos (máximo de 24 horas).

Foram realizados 4 tratamentos diferentes com as amostras de cada lagoa:

- (1) MOD exposta à foto-degradação (tratamento L);
- (2) MOD exposta à degradação bacteriana (tratamento B);
- (3) MOD exposta à degradação bacteriana após a exposição à foto-degradação (tratamento LB);
- (4) MOD exposta à foto-degradação após a exposição à degradação bacteriana (tratamento BL).

Os tratamentos L e B representaram controles para os tratamentos BL e LB, respectivamente. Todos os tubos e frascos utilizados nos experimentos foram lavados com HCl 10% e água Milli-Q e autoclavados.

Para a montagem do tratamento L, parte das amostras filtradas em 0,2 µm foram colocadas em 10 tubos de quartzo de 120 mL (diâmetro = 0,03m; comprimento = 0,18m), sendo que 5 foram envolvidos em papel alumínio (controle à exposição solar) e também em 8 tubos de quartzo de 40 mL (diâmetro = 0,02m; comprimento= 0,12m), sendo 4 envolvidos em papel alumínio. Todos os tubos foram selados, com tampas de vidro, sem atmosfera interna e expostos ao sol por 12 horas, sendo 6 horas por dia (total de 2 dias seqüenciais), em piscinas plásticas com água sendo constantemente trocada para manter a temperatura constante ($26 \pm 1^\circ\text{C}$). A radiação total incidente nas amostras (PAR + UV-A + UV-B) era medida a cada hora com um radiômetro (IL1400, International Light) equipado com 3 sensores para medir as radiações entre 280 e 800 nm. Antes e após as incubações ao sol era determinada em cada um dos 10 tubos de quartzo de 120 mL, a concentração de oxigênio dissolvido (O_2), a fluorescência da MOD (excitação [ex.]: 360 nm; emissão [em.]:

460 nm) e o espectro de absorção (250 – 450 nm) para caracterizar as alterações fotoquímicas da MOD. Maiores detalhes dessas análises estão descritos na sessão “procedimentos analíticos e cálculos” mais adiante. A água restante nos tubos de 120 mL (cerca de 117 mL) foram utilizadas para a montagem de culturas de crescimento para medir a abundância bacteriana no tratamento LB (descrito abaixo). Os tubos de quartzo de 40 mL foram utilizados para a montagem de culturas de crescimento bacteriano para medir a respiração bacteriana no tratamento LB (descrito abaixo).

Para a montagem do tratamento B, 16 frascos de BOD (150 mL) foram preenchidos com amostras filtradas em 0,2 μm e inóculo de bactérias na proporção 9:1. Os inóculos foram preparados por filtração de água total em filtros de fibra de vidro de porosidade de 0,7 μm (GF75, Advantec MFS), previamente incinerados (550°C, 4h), para remoção de bacterívoros. Para evitar limitação no crescimento bacteriano (FARJALLA *et al.*, 2002) nas culturas, foram adicionados nos frascos, 50 μM (conc. final) de nitrogênio (N) sob a forma de NH_4NO_3 e 5 μM (conc. final) de fósforo (P) na forma de KH_2PO_4 . Todos os frascos (culturas) foram selados, com tampas de vidro, sem atmosfera interna e então, incubados no escuro por 120 horas, com temperatura constante (25°C). Para determinar as fases de crescimento exponencial e estacionária das culturas, nós acompanhamos a densidade bacteriana ao longo das incubações. Para tal, foram retiradas alíquotas de 4 frascos para determinação da densidade bacteriana após 0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas de incubação, que foram preservadas com formol tamponado (conc. final 3,7%). Para avaliar as alterações na MOD pelas bactérias, medimos também a fluorescência da MOD (excitação[ex.]: 360 nm; emissão [em.]: 460 nm) e o espectro de absorção (200 – 450 nm), no início e logo após o término das incubações. Outros 4 frascos foram usados para estimar a respiração bacteriana ao longo da incubação, monitorando a concentração de O_2 (método não-destrutivo) em cada

frasco em 0, 48 e 120 horas de incubação. O pouco volume perdido após a medição nos frascos em 48 horas era repostado com amostra filtrada em 0,2 μ m. A diluição das amostras foi desconsiderada, uma vez que representa menos que 1% do volume total do frasco. Antes de selar os frascos, foram medidas as concentrações iniciais de O₂ para a medida de respiração no intervalo 48-120 horas. Os 8 frascos restantes foram utilizados para a montagem do tratamento BL (descrito adiante), subsequente ao tratamento B.

O tratamento LB foi montado pela adição de inóculo de bactérias e N e P (proporções e concentrações semelhantes ao tratamento B) aos tubos de quartzo (expostos e controle) logo após a exposição ao sol (em seqüência ao tratamento L). Sendo assim, nesse tratamento, foram montadas culturas de crescimento bacteriano nos tubos de quartzo, em vez dos frascos de BOD. Foram realizados nesse tratamento, os mesmos procedimentos e medidas realizadas no tratamento B. Os tubos de quartzo de 120 mL foram utilizados para a determinação do crescimento bacteriano (densidade bacteriana ao longo do tempo) e os tubos de quartzo de 40 mL foram utilizados para medir a respiração bacteriana.

O tratamento BL foi montado filtrando (0,2 μ m, SuporCap 100; Pall Corporation) a água previamente exposta à degradação bacteriana (proveniente do tratamento B), para excluir as bactérias, e acondicionadas em 8 tubos de quartzo (sendo 4 envolvidos em papel alumínio – controle). Todos os tubos de quartzo foram então, expostos ao sol e foram feitas medidas similares ao tratamento L (descrito acima). Antes e após a incubação, no tratamento BL, foram fixadas alíquotas (formol tamponado, conc. final 3,7%) para a determinação da densidade bacteriana, como controle da filtração. Não foi verificado o crescimento de bactérias durante essa incubação (dados não mostrados).

Procedimentos analíticos e cálculos

As alterações ópticas da MOD foram caracterizadas de duas maneiras: (1) medindo a intensidade da fluorescência da MOD como indicador de substâncias húmicas (COBLE *et al.*, 1993) com um fluorômetro Cary Eclipse (Varian) com comprimento de onda de excitação em 360 nm e comprimento de onda de emissão em 460 nm; (2) medindo o espectro de absorção entre 250 e 450 nm (a cada 5 nm) com espectrofotômetro (Beckman DU 80), antes e após cada incubação. Ambas as análises foram realizadas utilizando uma cubeta de quartzo com caminho óptico de 1 cm e água Milli-Q como referência (branco). Baseado no espectro de absorção, foi calculado o coeficiente angular espectral (S) entre 300 e 450 nm, através de regressão não-linear de acordo com a seguinte equação (STEDMON *et al.*, 2000):

$$a_{\lambda} = a_{\lambda 0}^{S(\lambda 0 - \lambda)} \quad (1)$$

onde a_{λ} é o coeficiente de absorção em determinado comprimento de onda, λ , e $a_{\lambda 0}$ é o coeficiente de absorção em um comprimento de onda de referência, escolhido como 400 nm de acordo com Stedmon *et al.* (2000). S é a razão pela qual a absorvância diminui com o comprimento de onda. O coeficiente de absorção foi calculado como (de acordo com HU *et al.*, 2002):

$$a_{\lambda} = (A_{\lambda} \times 2,303)/L \quad (2)$$

onde A_{λ} é a absorvância em determinado comprimento de onda, λ , e L é o caminho óptico da cubeta (em metros). Nós utilizamos o coeficiente de absorção em 430 nm (a_{430}) como estimativa de coloração da água. A razão entre os coeficientes de absorção a 250 e 365 nm ($a_{250}:a_{365}$) foi usada como estimativa do tamanho molecular relativo. Um aumento da razão indica o aumento na proporção moléculas de menor peso molecular e vice-versa (ver GRANÉLI *et al.*, 1998). Também foi calculada a quantidade de radiação solar que foi absorvida pela CMOD (Q) nos tubos de quartzo (de acordo com HU *et al.*, 2002). A

radiação total incidente sobre as amostras foi estimada pela integração dos valores de radiação, medidos pelo radiômetro, ao longo da incubação. O total de energia incidente nas amostras ($E(0)$) entre 280 e 700 nm (em intervalos de 5 nm) foi calculado com base na contribuição da energia solar para cada intervalo (certificado de calibração do aparelho IL-1400). O total de energia absorvido pela MOD em cada comprimento de onda (Qa) foi calculado pela seguinte fórmula:

$$Qa = E(0) \times (a^{gm}/a_t) \times \delta \times [1 - \exp(-a_t \times L)] \times t \quad (3)$$

onde a^{gm} é a média geométrica dos coeficientes de absorção da luz pela MOD (em comprimento de onda fixo, a) antes e após a exposição ao sol, a_t é a absorção total da luz pela MOD, δ é a seção transversal da área iluminada do tubo de quartzo, L é o caminho óptico do tubo de quartzo e, t é o tempo de exposição ao sol (em segundos). O Q foi então calculado pela integração de Qa em todos os comprimentos de onda.

A densidade bacteriana foi medida utilizando um citômetro de fluxo CyAn ADP (Dako) conforme proposto por del Giorgio et al. (1996). As amostras foram coradas com Syto 13 (concentração final 2,5 μM , Molecular Probes, Carlsbad, CA) e microesferas Fluoresbrite™ Carboxy YG ($\text{Ø} = 1,58 \mu\text{m}$, concentração final de $3 \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$; Polysciences, Warrington, PA) foram usadas como padrão para a contagem de células em 1mL de amostra. O citômetro foi controlado pelo programa Summit (Dako). As células e as microesferas foram separadas por intensidade de fluorescência (FL1 e SSC) em escala logarítmica. As contagens foram feitas em triplicatas em fluxo de baixa velocidade (34%) e até a contagem de 10.000 eventos. A biomassa bacteriana (BB) foi estimada por um fator de conversão de 35 fg C cel^{-1} , como sugerido por Theil-Nielsen & Sondergaard (1998) para culturas bacterianas.

A concentração de O₂ em todos os tratamentos foi medida com uma micro-sonda de ouro conectada a um pico-amperímetro (Unisense[®]). As taxas de respiração bacteriana nos tratamentos B e LB foram estimadas pela diferença entre as concentrações de O₂ nos diferentes tempos amostrais (0 – 48 h; 48 – 120 h). A respiração bacteriana foi convertida para carbono assumindo que todo O₂ consumido foi transformado em CO₂; coeficiente de transformação igual a 1 (BIDDANDA *et al.*, 2001).

Foram calculadas as taxas de produção bacteriana, taxas de remoção bacteriana do COD (COD_{REM}), disponibilidade do COD (COD_L) e eficiência de crescimento bacteriano (ECB). A produção bacteriana foi estimada pelo acúmulo de biomassa durante a fase de crescimento exponencial das culturas (48 horas para todas as culturas). COD_{REM} foi calculado pela soma da produção bacteriana e respiração bacteriana. COD_L foi calculada como a porcentagem do COD removido pelas bactérias do estoque total do COD (((respiração bacteriana + produção bacteriana) × 48/COD) × 100). ECB foi calculado como a proporção do COD_{REM} que foi incorporado na biomassa bacteriana ((produção bacteriana/ COD_{REM}) × 100), durante a fase de crescimento exponencial das culturas.

O consumo foto-químico de O₂ (foto-oxidação) nos tratamentos L e BL foram calculados como a diferença na concentração de O₂ entre as amostras expostas e controle, após a exposição ao sol. Esse procedimento elimina qualquer outra forma de consumo de O₂.

Análises estatísticas

As taxas de foto-oxidação, produção bacteriana, respiração bacteriana, COD_{REM}, COD_L, ECB a_{430} , $a_{250}:a_{365}$ e S foram comparadas entre inicial e final ou exposto e controle ou entre tratamentos (e.g. tratamento L vs. BL) pelo teste T-student, utilizando o programa

GraphPad Prism 4.0. Foi adotado nível de significância de 0,05 para determinação das diferenças estatísticas.

Resultados

Alterações biológicas e foto-químicas da MOD

Os resultados da ação foto-química sobre as propriedades ópticas da MOD foram consistentes nos dois ecossistemas estudados. Foi verificada a redução da fluorescência, a_{430} e S e aumento de $a_{250}:a_{365}$, indicando a quebra da CMOD (Tabela 2). Os dois sistemas também apresentaram redução da absorvância ao longo do espectro (de 300 a 450 nm), especialmente entre 300 e 370 nm (Fig. 1a, d, e, h).

O resultado da ação bacteriana sobre as propriedades ópticas da MOD também foram consistentes, uma vez que aumentou a fluorescência, a_{430} e S e reduziu $a_{250}:a_{365}$ tanto na lagoa Imboassica, quanto na lagoa Comprida (Tabela 2). A única exceção foi que não houve alteração do S no tratamento LB na lagoa Imboassica (Tabela 2). A absorvância ao longo do espectro aumentou como resultado da atividade biológica no tratamento LB na lagoa Comprida e tratamento B na lagoa Imboassica (Fig. 1c, f).

Degradação foto-química e bacteriana da MOD

A MOD dos 2 ecossistemas nos tratamentos L e BL foram expostas à quantidades semelhantes de radiação solar durante as 12 horas de incubação (cerca de $1,20 \times 10^{-2}$ mol fótons). O coeficiente de absorção luminosa da MOD (Q) foi maior na lagoa Comprida em relação à lagoa Imboassica (Tabela 2). De acordo com esse dado, as maiores taxas de foto-oxidação no presente estudo foram registradas nos tratamentos com amostras da lagoa Comprida. As taxas de foto-oxidação dos tratamentos L e BL foram mais de 10 vezes maiores ($p < 0,05$) na lagoa Comprida em relação à lagoa Imboassica (e.g. 20,05 e 1,61 $\mu\text{M C h}^{-1}$ nas lagoas Comprida e Imboassica, respectivamente, no tratamento L; Tabela 3). As

taxas de foto-oxidação foram 13% maiores ($p < 0,05$) no tratamento BL em relação ao tratamento L na lagoa Comprida, indicando que a exposição prévia da MOD à degradação bacteriana resultou no estímulo da foto-oxidação nesse ecossistema. Entretanto, as taxas de foto-oxidação entre os tratamentos BL e L foram similares na lagoa Imboassica (Tabela 3).

Tabela 2: Propriedades ópticas (fluorescência, a_{430} , a_{250} : a_{365} e S) em cada tratamento (B, L, LB, e BL) e coeficiente de absorção da luz pela MOD (Q) nas lagoas Comprida e Imboassica. Tratamentos: (B) degradação bacteriana, (BL) foto-degradação após degradação bacteriana, (L) foto-degradação e (LB) degradação bacteriana após foto-degradação. Os valores de controle do tratamento BL são os mesmos do tratamento B final e os valores iniciais do tratamento LB são os mesmos valores do tratamento L exposto. Os desvios-padrão estão apresentados entre os parênteses. As diferenças estatísticas entre inicial e final e controle e exposto, nos tratamentos L e B, estão marcadas com letras diferentes (A e B). As diferenças estatísticas entre inicial e final e controle e exposto, nos tratamentos seqüenciais BL e LB, estão marcadas com números super-escritos diferentes (1 e 2).

Tratamentos	B		BL	L		LB
	initial	final	exposto	controle	exposto	final
Comprida						
Fluorescência	2745,2 ^A	2796,5 ^{B,1}	2419,0 ²	2755,1 ^A	2369,2 ^{B,1}	2305,6 ²
	(45,4)	(16,6)	(25,5)	(39,7)	(41,7)	(14,5)
a_{430} (m ⁻¹)	67,89 ^A	72,45 ^{B,1}	53,78 ²	72,66 ^A	62,58 ^{B,1}	67,46 ²
	(0,1)	(1,6)	(0,8)	(0,8)	(0,5)	(0,2)
a_{250} : a_{365}	4,59 ^A	4,55 ^{B,1}	4,87 ²	4,54 ^A	4,72 ^{B,1}	4,51 ²
	(0,01)	(0,02)	(0,01)	(0,01)	(0,21)	(0,01)
S	15,80 ^A	17,96 ^{B,1}	16,06 ²	15,34 ^A	15,02 ^{B,1}	14,66 ²
	(0,01)	(0,50)	(0,10)	(0,05)	(0,03)	(0,02)
Q^* (μ mol fótons)			2,57		2,58	
Imboassica						
Fluorescência	631,1 ^A	666,5 ^{B,1}	415,9 ²	649,8 ^A	378,4 ^{B,1}	448,1 ²
	(2,9)	(10,4)	(4,5)	(11,6)	(8,9)	(8,0)
a_{430} (m ⁻¹)	4,77 ^A	8,91 ^{B,1}	2,33 ²	8,38 ^A	4,88 ^{B,1}	4,14 ¹
	(0,1)	(0,8)	(0,8)	(2,0)	(0,7)	(0,4)
a_{250} : a_{365}	8,49 ^A	7,81 ^{B,1}	11,79 ²	7,82 ^A	10,85 ^{B,1}	9,60 ²
	(0,01)	(0,24)	(0,54)	(0,25)	(0,48)	(0,45)
S	21,00 ^A	17,96 ^{B,1}	23,33 ²	18,46 ^A	20,22 ^{B,1}	20,82 ¹
	(0,01)	(0,50)	(0,22)	(1,43)	(0,63)	(0,72)
Q^* (μ mol fótons)			0,17		0,17	

* O coeficiente de absorção luminosa pela MOD (Q) nos tratamentos LB são os mesmos do tratamento L para cada lagoa.

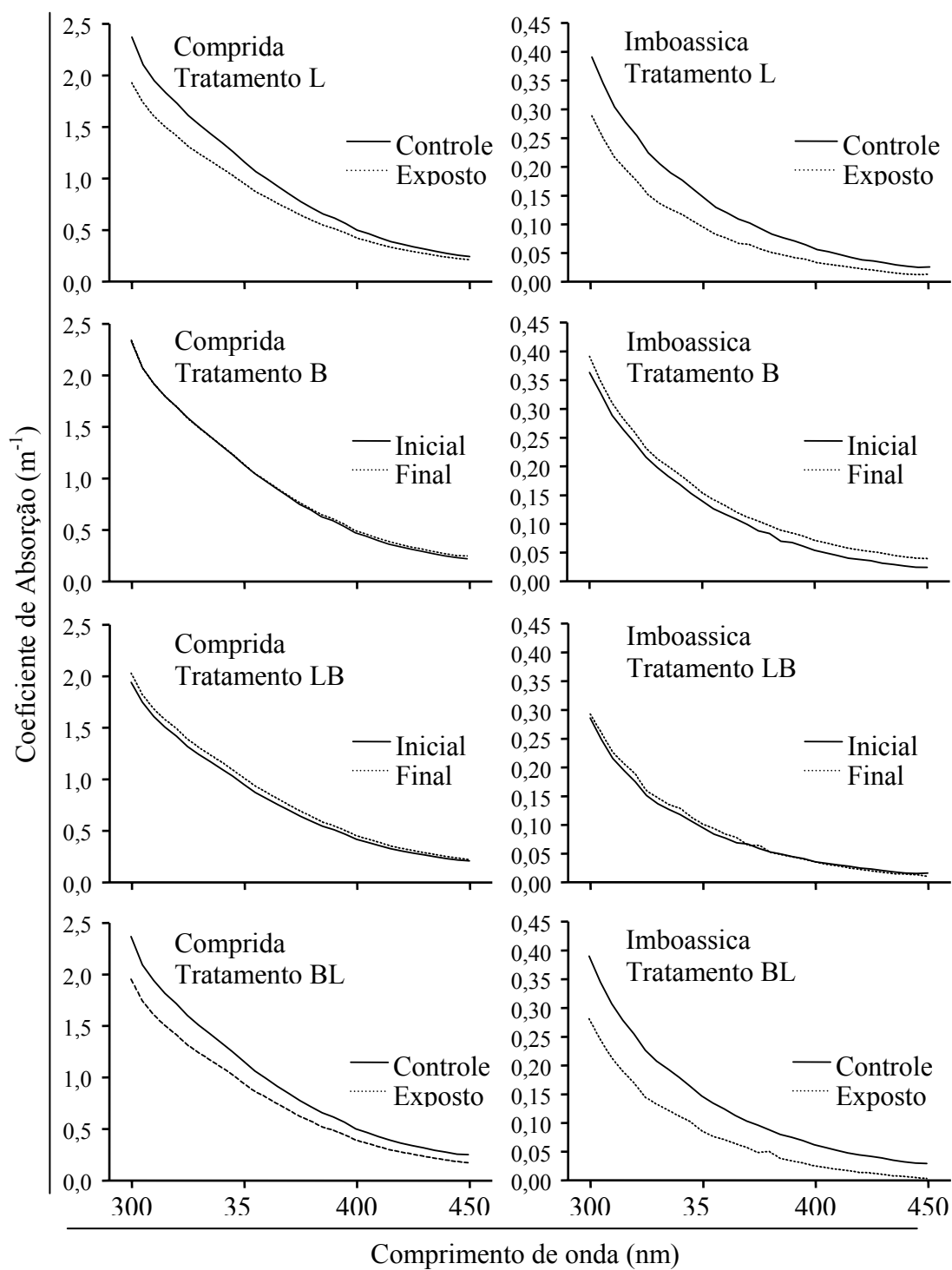


Figura 1: Espectro de absorvância entre 300 e 450 nm nas lagoas Comprida e Imboassica, antes e depois das incubações com as bactérias e após a exposição à radiação solar das amostras expostas e controle (nos 4 tratamentos). Tratamentos: (B) degradação bacteriana, (BL) foto-degradação após degradação bacteriana, (L) foto-degradação e (LB) degradação bacteriana após foto-degradação. Notar diferenças entre as escalas.

Tabela 3: Taxas de foto-oxidação e parâmetros bacterianos nos diferentes tratamentos (B, L, LB e BL) nas lagoas Comprida e Imboassica. Tratamentos: (B) degradação bacteriana, (BL) foto-degradação após degradação bacteriana, (L) foto-degradação e (LB) degradação bacteriana após foto-degradação. Os desvios-padrão estão apresentados entre os parênteses. As diferenças estatísticas entre os tratamentos no mesmo sistema, estão marcadas com letras diferentes (A e B).

	Lagoa Comprida		Lagoa Imboassica	
	L	BL	L	BL
Foto-oxidação $\mu\text{M O}_2 \text{ h}^{-1}$	20,05 ^A (0,7)	22,74 ^B (0,5)	1,61 ^A (0,5)	2,42 ^A (1,9)
	B	LB	B	LB
Respiração Bacteriana $\mu\text{M C h}^{-1}$				
0 – 48 horas	0,49 ^A (0,1)	1,37 ^B (0,1)	1,06 ^A ($< 0,1$)	0,92 ^B (0,1)
48 – 120 horas	0,11 ^A ($< 0,1$)	0,45 ^B (0,1)	0,16 ^A (0,1)	0,33 ^A (0,1)
Produção Bacteriana $\mu\text{M C h}^{-1}$	0,01 ^A ($< 0,1$)	0,03 ^B ($< 0,1$)	0,40 ^A (0,2)	0,33 ^A (0,1)
COD_{REM} $\mu\text{M C h}^{-1}$	0,51 ^A (0,1)	1,41 ^B ($< 0,1$)	1,46 ^A (0,1)	1,22 ^B (0,1)
COD_L * %	0,6 ^A (0,1)	1,74 ^B (0,1)	6,8 ^A (0,6)	5,6 ^B (0,5)
ECB %	2,3 ^A (1,0)	2,56 ^A (0,5)	26,6 ^A (8,1)	25,8 ^A (1,7)

* DOC_L foi calculado com base nas concentrações de COD apresentadas na tabela 1.

A densidade bacteriana nas culturas de crescimento em todos os tratamentos e controles cresceu exponencialmente, atingindo fase estacionária após 48 horas de incubação (Tabela 4). As taxas de respiração bacteriana (em $\mu\text{M h}^{-1}$) atingiram valores

máximos entre 0 e 48 horas de incubação. Essas taxas foram de 3 a 6 vezes maiores que no intervalo de 48 a 120 horas de incubação (Tabela 3). Como o metabolismo bacteriano apresentou-se muito reduzido após 48 horas de incubação (65-85%), a produção bacteriana foi calculada entre 0 e 48 horas de incubação (taxas máximas). Pela mesma razão, daqui em diante trataremos como respiração bacteriana as taxas do intervalo entre 0 e 48 horas.

Tabela 4: Densidades bacterianas ao longo da curva de crescimento nos tratamentos B e LB nas lagoas Comprida e Imboassica. São apresentados os valores médios e entre parênteses os desvios-padrão.

	0 horas	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas	120 horas
Comprida (10 ⁸ Cel L ⁻¹)						
B	0,06 (0,02)	1,10 (0,17)	1,96 (0,98)	0,65 (0,26)	0,88 (0,19)	0,68 (0,12)
LB	0,38 (0,28)	1,77 (1,15)	6,17 (1,14)	2,97 (0,94)	2,67 (0,92)	2,16 (0,61)
Imboassica (10 ⁹ Cel L ⁻¹)						
B	0,72 (< 0,01)	5,11 (1,63)	7,36 (2,56)	7,51 (3,01)	6,50 (1,74)	7,20 (2,26)
LB	0,71 (0,01)	3,60 (0,67)	6,21 (0,92)	3,06 (1,15)	3,81 (0,48)	5,94 (1,75)

A respiração bacteriana no tratamento B da lagoa Imboassica foi 2 vezes maior que na lagoa Comprida ($p < 0,05$), indicando a ocorrência de maior atividade bacteriana e disponibilidade de substratos. Entretanto, os efeitos da foto-oxidação da MOD sobre a atividade bacteriana são maiores na lagoa Comprida. A respiração bacteriana no tratamento LB foi quase 3 vezes maior que no tratamento B ($p < 0,05$) na lagoa Comprida, enquanto que na lagoa Imboassica, a respiração no tratamento LB foi 13% menor que no tratamento B (Tabela 3).

Similarmente, as taxas de produção bacteriana apresentaram valores uma ordem de magnitude maior ($p < 0,05$) na lagoa Imboassica que na lagoa Comprida, enquanto que os maiores efeitos da foto-oxidação sobre o metabolismo bacteriano ocorreram na lagoa Comprida (Tabela 3). As taxas de produção bacteriana foram 3 vezes maiores ($p < 0,05$) no tratamento LB que no tratamento B na lagoa Comprida (Tabela 3), enquanto que não foi detectada diferença entre os tratamentos LB e B na lagoa Imboassica (Tabela 3). Tanto COD_{REM} e COD_L foram maiores no tratamento LB que no B na lagoa Comprida e menores no tratamento LB que no B na lagoa Imboassica (Tabela 3). A prévia foto-degradação da MOD resultou no aumento de cerca de 3 vezes, tanto da COD_{REM} quanto COD_L na lagoa Comprida, enquanto que resultou na redução de 17% dos mesmos parâmetros na lagoa Imboassica (Tabela 3). A ECB registrada na lagoa Imboassica foi pelo menos 10 vezes maior que na lagoa Comprida, consistente com outros parâmetros, indicando maior atividade bacteriana na lagoa Imboassica. Não houve diferenças significativas no ECB entre os tratamentos B e LB em ambos os ecossistemas (Imboassica e Comprida; Tabela 3).

Discussão

Os resultados aqui apresentados são relevantes para os dois mais importantes processos de decomposição da MOD em águas superficiais: foto-degradação e degradação bacteriana. Observando os resultados do presente trabalho podemos notar que ambos os processos estimulam as taxas de degradação da MOD por ação complementar, i.e. foto-degradação estimula a degradação bacteriana e vice-versa. Entretanto, a relevância desse comportamento de complementaridade varia com as características do ecossistema estudado. Mais especificamente, observamos uma forte ação complementar entre esses processos no sistema húmico (Lagoa Comprida). Em contrapartida, no sistema dominado com MOD de origem fitoplanctônica (lagoa Imboassica), não observamos evidências de

que a foto-degradação tenha complementado a degradação bacteriana, mas observamos sim, forte evidência de inibição da atividade bacteriana pela foto-degradação, sugerindo que, nesse ambiente, ambos os processos competem por substratos específicos. Apesar de outros autores terem observado esse comportamento competitivo anteriormente (OBERNOSTERER & BENNER, 2004), essa foi a primeira vez que esse fenômeno foi observado em ecossistemas tropicais, nos quais o efeito potencial da foto-degradação é maior que na região temperada.

Adicionalmente, as taxas aqui observadas comparando a lagoa Comprida e a lagoa Imboassica apresentaram comportamentos similares às que outros autores já haviam observado em relação às fontes de MOD e às dinâmicas de degradação em ecossistemas aquáticos (MORAN & COVERT, 2003; AMADO *et al.*, 2006). MOD de origem fitoplanctônica foi principalmente degradada por processos biológicos, enquanto que MOD de origem alóctone (húmica) foi principalmente degradada por processos foto-químicos (Tabelas 2 e 3). Apesar da foto-degradação afetar a absorção do COD pelas bactérias, não alterou a ECB no presente estudo, ao contrário de estudos anteriores (Tabela 3; AMADO *et al.*, 2006).

Além de atuarem na degradação da MOD, a foto-degradação e a degradação bacteriana atuam de maneira diferente nas características da MOD remanescente nos ecossistemas aquáticos. A foto-degradação promove a quebra de CMOD em moléculas menores resultando na perda de absorvância e fluorescência ao mesmo tempo em que resulta no aumento da inclinação espectral, enquanto que a degradação bacteriana apresenta padrão inverso (MORAN *et al.*, 2000; FU *et al.*, 2006). No presente estudo, de acordo com o esperado, a foto-degradação (tratamentos L e BL) resultou na redução da fluorescência e das absorvâncias no espectro UV-visível e no aumento da $a_{250}:a_{365}$ e S em ambos os

ecossistemas. De maneira geral, a degradação microbiana apresentou padrão inverso (tratamentos B e LB), com exceção do *S* no tratamento LB da lagoa Imboassica (Fig. 1; Tabela 2). O processo de foto-degradação pode estimular a degradação bacteriana através da formação de compostos orgânicos mais biodisponíveis (e.g. AMADO *et al.*, 2006). Além disso, alguns estudos mostraram que o metabolismo bacteriano pode estimular a foto-degradação em oceanos (KRAMER & HERNDL, 2004; NIETO-CID *et al.*, 2006; SAADI *et al.*, 2006). Esses fatos sugerem que os dois processos se complementam, uma vez que um resulta na formação de compostos mais disponíveis para o outro processo.

Até o momento, apenas 1 estudo mostrou que a competição pelo mesmo substrato poderia ser a interação dominante entre os processos foto-químicos e bacterianos de degradação do COD (OBERNOSTERER & BENNER, 2004). Baseado em experimentos de foto-degradação antes e após a extensa exposição à degradação bacteriana, os mesmos autores calcularam que os dois processos poderiam atuar simultaneamente em cerca de 15% da MOD, sobre grupos semelhantes de moléculas orgânicas, em um ambiente dominado por MOD alóctone. Em contrapartida, ainda no mesmo estudo, OBERNOSTERER & BENNER (2004) mostraram que a foto-degradação também resultava em um estímulo de 22% da degradação bacteriana. Em outras palavras, a foto-degradação aumentava o estoque de carbono disponível para as bactérias em 22%. O balanço entre esses resultados de competição e complementaridade é de estímulo geral de 7%, indicando uma sobreposição da interação complementar, em detrimento da competição proposta pelos autores.

Nossos resultados no ecossistema húmico (lagoa Comprida) estão de acordo com o padrão de complementaridade. A foto-degradação da MOD estimula a degradação bacteriana e, o metabolismo bacteriano, mesmo ocorrendo em baixa intensidade, estimula a foto-degradação da MOD pela formação de CMOD (Tabela 3; NIETO-CID *et al.*, 2006).

Baseado nas propriedades ópticas e nas transformações foto-químicas e bacterianas da MOD (Fig. 1; MORAN *et al.*, 2000), na preferência das bactérias em atuar sobre MOD não fluorescente (SAADI *et al.*, 2006) e na preferência da foto-degradação atuar sobre MOD fluorescente e/ou colorida (CMOD; BERTILSSON & TRANVIK, 2000), as interações complementares entre a foto-degradação e a degradação bacteriana são previsíveis. Entretanto, encontramos evidências para interações competitivas na lagoa Imboassica, uma vez que a foto-degradação inibiu em 17% a degradação bacteriana e não houve estímulo significativo na foto-degradação pelo metabolismo bacteriano (Tabela 3).

Para estimar as porcentagens dos compostos orgânicos consumidos pela foto-degradação e/ou degradação bacteriana na lagoa Imboassica, assumimos que o COD_{REM} representa a degradação bacteriana e que as taxas de foto-degradação representam a degradação foto-química nos tratamentos, durante 2 dias. Assumimos ainda que a degradação bacteriana ocorra 24 horas por dia, enquanto que a foto-degradação apenas 6 horas por dia (o que representa uma sub-estimativa para a região tropical) e que o coeficiente de reação de O₂ com carbono é igual a 1, para ambos os processos. Já foi demonstrado que nem todo O₂ consumido pela foto-degradação promove a oxidação total do COD em CO₂. Entretanto, experimentos anteriores em lagoas costeiras (incluído a lagoa Comprida) mostraram que mais de 80% do O₂ foto-consumido era transformado em carbono inorgânico dissolvido (CID, Cap. 1), além de que a foto-produção de CID era fortemente relacionada com a perda de coloração da MOD ($r^2 = 0,86$; GRANÉLI *et al.*, 1998). Além disso, AMON & BENNER (1996), em um estudo realizado na região tropical, verificaram que em exposição ao sol com duração similar ao presente estudo, resultou no foto-consumo de COD que, por sua vez, era fortemente relacionado com o foto-consumo de O₂, numa razão de transformação próxima de 1. Logo, podemos considerar que nossas

estimativas possuem baixo erro, além de que reações de oxidação parcial da MOD podem resultar no processo de foto-humificação, o que não foi registrado no nosso experimento. Adicionalmente, no presente estudo, consideramos o foto-consumo de O₂ como sendo um índice de reação foto-química da MOD, incluindo reações totais e parciais de oxidação. Importante mencionar ainda, que no tratamento BL, no qual a MOD foi exposta à degradação bacteriana, antes da exposição à degradação foto-química, assumimos que a degradação bacteriana foi efetiva apenas nas primeiras 48 horas, considerando que a liberação de CMOD pelas bactérias ocorre durante a fase de crescimento ativo (KRAMER & HERNDL, 2004).

Em 2 dias a combinação entre os processos de foto-degradação e degradação bacteriana removeram 340,5 e 99,2 μM C do estoque de COD, das lagoas Comprida e Imboassica, respectivamente (Fig. 2). Na lagoa Comprida a degradação do COD foi 7% por degradação bacteriana exclusiva, 71% pela foto-degradação exclusiva, 9% de foto-degradação estimulada pelo metabolismo bacteriano e, 13% por degradação bacteriana estimulada pela foto-degradação (Fig. 2). Na lagoa Imboassica, a degradação do COD foi 59% pela degradação bacteriana exclusiva, 19% pela foto-degradação exclusiva, 10% pela foto-degradação estimulada pelo metabolismo bacteriano e, 12% pela foto-degradação ou pela degradação bacteriana (Fig. 2). Então, o balanço entre as interações sugere que a foto-degradação e a degradação bacteriana se complementam pela degradação do COD, estimulando a degradação da MOD em 75,50 μM of C em 2 dias na lagoa Comprida. Em contrapartida, o balanço dessas interações sugere competição entre a foto-degradação e a degradação bacteriana inibindo a degradação de 1,87 μM de C em dois dias na lagoa Imboassica.

Como o estoque de MOD é composto por uma grande variedade de compostos de origens e propriedade físicas, químicas e biológicas distintas (BENNER, 2002), fica claro que a competição é resultante do fato de alguns compostos específicos serem disponíveis, simultaneamente, aos processos de degradação bacteriana e foto-degradação. A fluorescência no presente estudo (ex.: 360 nm; em.: 460 nm) aumentou com a atividade bacteriana e reduziu consecutivamente com a degradação foto-química (Tabela 2), sugerindo que as bactérias produziram substratos orgânicos que foram sequencialmente degradados pela luz. Adicionalmente, a degradação bacteriana não afetou a inclinação espectral após a degradação foto-química (tratamento LB) na lagoa Imboassica, indicando que a foto-degradação deve ter esgotado pelo menos substratos biodisponíveis que afetam fortemente aquela região do espectro (Tabela 2).

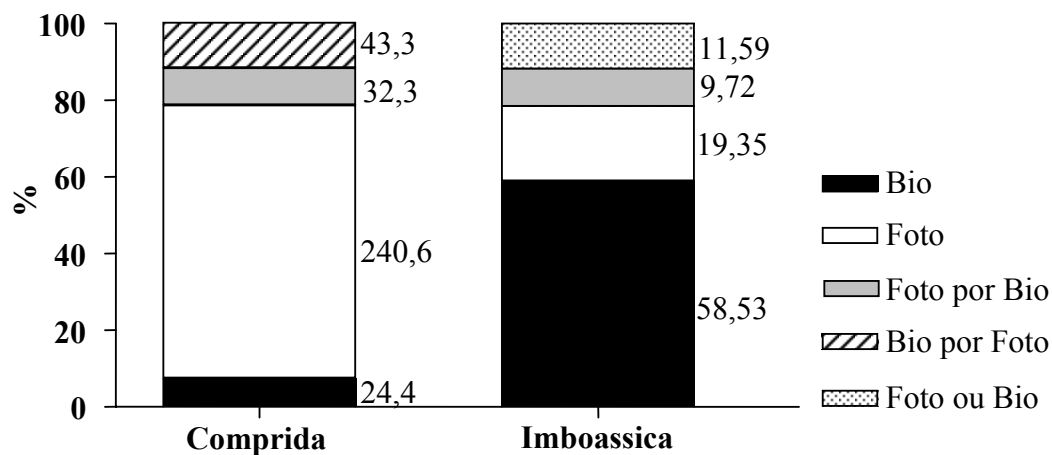


Figura 2: Estimativas das frações da MOD que são exclusivamente disponíveis para as bactérias, exclusivamente disponíveis para a foto-degradação, disponível à degradação pelas bactérias somente após a foto-degradação, disponível à foto-degradação somente após a degradação pelas bactérias e, por fim, disponível à foto-degradação e a degradação bacteriana simultaneamente (competição), nas lagoas Comprida e Imboassica. As taxas de degradação ($\mu\text{M C}$ em 48h) estão situadas próximas às barras dos respectivos processos.

Algumas moléculas importantes para o metabolismo bacteriano são também disponíveis ao processo de foto-degradação, como os aminoácidos triptofano, tirosina, histidina, metionina e cisteína. Esses aminoácidos são extremamente reativos ao oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), estado excitado da molécula de O_2 comumente formado a partir de reações foto-químicas (MICHAELI & FEITELSON, 1994). Dessa forma, esses aminoácidos podem ser a causa da competição entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD. Espécies reativas de oxigênio, como o oxigênio singlete, promovem a oxidação de substratos biodisponíveis reduzindo o crescimento bacteriano (SCULLY *et al.*, 2003). Assumindo que os aminoácidos (livres e combinados com a MOD) contribuem de 2 a 5,5% do estoque de carbono na MOD (CAMMACK *et al.*, 2004) e que os 5 aminoácidos fotodisponíveis (citados acima) representam cerca de 7,5% do total de aminoácidos em águas naturais (VOLK *et al.*, 1997), calculamos que a contribuição dos aminoácidos foto-degradáveis para o estoque de COD na lagoa Imboassica (1,04 mM C; Tabela 1) varia entre 1,56 e 4,29 μM C. Esse valor engloba os 1,87 μM C estimados como sendo a quantidade de COD que sofreu competição (Fig. 2) na lagoa Imboassica.

Concluindo, sugerimos que a foto-degradação e a degradação bacteriana se complementam na decomposição da MOD, por ambos os processos formarem compostos lábeis para o outro processo, em ecossistemas húmicos tropicais. Em contrapartida, ambos os processos competem pela degradação da MOD em ecossistemas eutróficos. A MOD nesses ambientes é normalmente rica em fluoroforos, semelhantes aos dos aminoácidos (fluoroforos semelhantes aos de triptofano e tirosina, por exemplo; CORY & MCKNIGHT, 2005). Essa relação deve ser mais intensa em ecossistemas tropicais do que em temperados, uma vez que a radiação solar é mais forte naquela região (GRANÉLI *et al.*, 1998).

Agradecimentos

Os autores são gratos ao CNPq pela bolsa de pesquisador visitante e de doutorado e apoio da PETROBRAS, CAPES e FAPERJ. À Dra. R. Cory pelas contribuições ao manuscrito e ao Dr. R. Paranhos pela ajuda com citometria.

Referências

- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 8-17.
- AMON, R. M. W. & BENNER, R., 1996, "Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system", *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, v. 60, pp. 1783-1792.
- BENNER, R., 2002, Chemical composition and reactivity. In: Hansell, D. A. & Carlson, C. A. (Eds) Biogeochemistry of marine dissolved organic matter pp 59-90). Academic press, Orlando
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L., 2000, "Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 753-762.
- BIDDANDA, B., OGDahl, M. & COTNER, J., 2001, "Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 730-739.
- CAMMACK, W. K. L., KALFF, J., PRAIRIE, Y. T. & SMITH, E. M., 2004, "Fluorescent dissolved organic matter in lakes: Relationships with heterotrophic metabolism", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 2034-2045.
- COBLE, P. G., SCHULTZ, C. A. & MOPPER, K., 1993, "Fluorescence contouring analysis of DOC intercalibration experiments samples: a comparison of techniques", *Marine Chemistry*, v. 41, pp. 173-178.
- COLE, J. J., CARACO, N. F., KLING, G. W. & KRATZ, T. K., 1994, "Carbon-Dioxide Supersaturation in the Surface Waters of Lakes", *Science*, v. 265, pp. 1568-1570.
- CORY, R. M. & MCKNIGHT, D. M., 2005, "Fluorescence spectroscopy reveals ubiquitous presence of oxidized and reduced quinones in dissolved organic matter", *Environmental Science & Technology*, v. 39, pp. 8142-8149.
- DANIEL, C., GRANALI, W., KRITZBERG, E. S. & ANESIO, A. M., 2006, "Stimulation of metazooplankton by photochemically modified dissolved organic matter", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 101-108.

- DEL GIORGIO, P. A., BIRD, D. F., PRAIRIE, Y. T. & PLANAS, D., 1996, "Flow cytometric determination of bacterial abundance in lake plankton with the green nucleic acid stain SYTO 13", *Limnology and Oceanography*, v. 41, pp. 783-789.
- FARJALLA, V. F., FARIA, B. M. & ESTEVES, F. A., 2002, "The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons", *Archiv Fur Hydrobiologie*, v. 156, pp. 97-119.
- FU, P. Q., WU, F. C., LIU, C. Q., XU, C., WANG, J., BAI, Y. C. & WANG, L. Y., 2006, "Effect of sunlight irradiation on fluorescence properties of dissolved organic matter", *Spectroscopy and Spectral Analysis*, v. 26, pp. 471-474.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M., DE FARIA, B. M. & ESTEVES, F. D., 1998, "Photoproduction of dissolved inorganic carbon in temperate and tropical lakes - dependence on wavelength band and dissolved organic carbon concentration", *Biogeochemistry*, v. 43, pp. 175-195.
- HU, C. M., MULLER-KARGER, F. E. & ZEPP, R. G., 2002, "Absorbance, absorption coefficient, and apparent quantum yield: A comment on common ambiguity in the use of these optical concepts", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 1261-1267.
- JONSSON, A., MEILI, M., BERGSTROM, A. K. & JANSSON, M., 2001, "Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Ortrasket, N. Sweden)", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 1691-1700.
- KRAMER, G. D. & HERNDL, G. J., 2004, "Photo- and Bio- reactivity of chromophoric dissolved organic matter produced by marine bacterioplankton", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 36, pp. 239-246.
- MICHAELI, A. & FEITELSON, J., 1994, "Reactivity of Singlet Oxygen Toward Amino-Acids and Peptides", *Photochemistry And Photobiology*, v. 59, pp. 284-289.
- MORAN, M. A. & COVERT, J. S., 2003, Photochemical mediated linkages between dissolved organic matter and bacterioplankton. In: Findlay, S. E. G. & Sinsabauhg, R. L. (Eds) *Aquatic Ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter* pp 243-262). Academic Press, San Diego, CA
- MORAN, M. A., SHELDON, W. M. & ZEPP, R. G., 2000, "Carbon loss and optical property changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 1254-1264.

- NIETO-CID, M., ALVAREZ-SALGADO, X. A. & PEREZ, F. F., 2006, "Microbial and photochemical reactivity of fluorescent dissolved organic matter in a coastal upwelling system", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 1391-1400.
- OBERNOSTERER, I. & BENNER, R., 2004, "Competition between biological and photochemical processes in the mineralization of dissolved organic carbon", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 117-124.
- RICHEY, J. E., MELACK, J. M., AUFDENKAMPE, A. K., BALLESTER, V. M. & HESS, L. L., 2002, "Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂", *Nature*, v. 416, pp. 617-620.
- SAADI, I., BORISOVER, M., ARMON, R. & LAOR, Y., 2006, "Monitoring of effluent DOM biodegradation using fluorescence, UV and DOC measurements", *Chemosphere*, v. 63, pp. 530-539.
- SCULLY, N. M., COOPER, W. J. & TRANVIK, L. J., 2003, "Photochemical effects on microbial activity in natural waters: the interaction of reactive oxygen species and dissolved organic matter", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 46, pp. 353-357.
- STEDMON, C. A., MARKAGER, S. & KAAS, H., 2000, "Optical properties and signatures of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in Danish coastal waters", *Estuarine Coastal and Shelf Science*, v. 51, pp. 267-278.
- SUHETT, A. L., AMADO, A. M., ENRICH-PRAST, A., ESTEVES, F. A. & FARJALLA, V. F., 2007, "Seasonal changes of DOC photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 64, pp. 1266-1272.
- THEIL-NIELSEN, J. & SONDERGAARD, M., 1998, "Bacterial carbon biomass calculated from biovolumes", *Archiv Fur Hydrobiologie*, v. 141, pp. 195-207.
- TRANVIK, L. J. & BERTILSSON, S., 2001, "Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth", *Ecology Letters*, v. 4, pp. 458-463.
- VAHATALO, A. V., SALONEN, K., MUNSTER, U., JARVINEN, M. & WETZEL, R. G., 2003, "Photochemical transformation of allochthonous organic matter provides bioavailable nutrients in a humic lake", *Archiv Fur Hydrobiologie*, v. 156, pp. 287-314.

VOLK, C. J., VOLK, C. B. & KAPLAN, L. A., 1997, "Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in streamwater", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 39-44.

CAPÍTULO: 4

Relações entre a foto-degradação e a degradação microbiana da MOD: papel do oxigênio singleto.

Manuscrito

* Atividade desenvolvida no âmbito do projeto de bolsa de doutorado do programa “Sandwich” concedida pelo CNPq, de maio de 2006 até abril de 2007. Universidade Federal do Rio de Janeiro – “*University of Minnesota*”.

Projeto co-financiado pela NSF no âmbito do Projeto “*Singlet Oxygen’s Role in the Photochemical-Biochemical Degradation of Dissolved Organic Carbon*”.

Resumo

As interações entre os processos de foto-degradação e degradação bacteriana são importantes vias de aceleração ou redução do processamento da MOD em ecossistemas aquáticos. Entretanto, os mecanismos que resultam nesses fatos ainda não são claros na literatura. O objetivo do presente estudo é de avaliar o papel do oxigênio singlete na dinâmica de degradação da MOD e seu resultado para o metabolismo bacteriano. Um objetivo secundário é o de avaliar o papel dos aminoácidos nessa interação entre o oxigênio singlete, MOD e bactérias. Foram realizados três experimentos: (1) foto-degradação de uma solução de 18 aminoácidos posteriormente exposta ao crescimento bacteriano; (2) foto-degradação de dois tipos de MOD (alóctone e autóctone), posteriormente expostas ao crescimento bacteriano, durante o qual foram avaliadas, pelo método de diluição isotópica, as taxas de utilização de dois aminoácidos e; (3) experimentos de exposição da MOD (alóctone e autóctone) ao oxigênio singlete, posteriormente expostas ao crescimento bacteriano. Os nossos resultados mostraram que cinco aminoácidos (cisteína, metionina, histidina, tirosina e triptofano) podem ser o alvo de competição entre a foto e a bio-degradação da MOD, quando os aminoácidos são uma importante fração da MOD. Mostram ainda que o $^1\text{O}_2$ não altera significativamente a qualidade da MOD, mas inibe o crescimento bacteriano, possivelmente pela formação de peróxidos. Sugerimos então, que os efeitos da foto-degradação da MOD para as bactérias são o resultado de um balanço entre a produção ou consumo direto, pelas radiações luminosas, de compostos lábeis somada à produção e consumo de compostos lábeis pelo $^1\text{O}_2$, além do seu efeito tóxico, negativo, direto e/ou indireto pela produção de peróxidos.

Introdução

Os processos de decomposição da matéria orgânica dissolvida (MOD) em ecossistemas aquáticos vêm sendo bastante estudados nos últimos anos, uma vez que representam uma das maiores frações de carbono na biosfera (FARRINGTON, 1992). Além disso, os ecossistemas aquáticos têm papel central na ciclagem do carbono, sob a forma de carbono orgânico dissolvido (COD), entre os ambientes terrestres e a atmosfera (COLE *et al.*, 1994; RICHEY *et al.*, 2002). A degradação bacteriana e a foto-degradação são considerados os principais processos degradativos da MOD na coluna d'água, além de apresentarem fortes relações entre si (JONSSON *et al.*, 2001; AMADO *et al.*, 2007 - Cap. 3). Juntos, esses dois processos foram responsáveis por cerca de 60 % da mineralização do COD em um lago profundo sueco, mesmo considerando uma grande zona afótica e a respiração do sedimento.

As interações entre a foto-degradação e a bio-degradação podem estimular ou inibir a decomposição da MOD (TRANVIK & BERTILSSON, 2001). A foto-degradação pode promover a quebra de moléculas refratárias, tornando-as mais bio-disponíveis e estimulando a sua utilização e degradação pelas bactérias (LINDELL *et al.*, 1995; AMADO *et al.*, 2006; AMADO *et al.*, 2007 - Cap. 3). O metabolismo bacteriano, por sua vez, consome compostos inertes e libera, no meio, compostos reativos às radiações solares, estimulando a foto-degradação (NIETO-CID *et al.*, 2006; AMADO *et al.*, 2007 - Cap. 3). Por outro lado, a foto-degradação pode afetar negativamente a atividade bacteriana. A redução da atividade bacteriana pode resultar de uma reação à foto-produção de espécies reativas de oxigênio (como peróxidos de hidrogênio e oxigênio singleto) que, apesar de promoverem a degradação direta da MOD, são tóxicas ao metabolismo bacteriano (e.g. TRANVIK & BERTILSSON, 2001; PAUL *et al.*, 2004; ANESIO *et al.*, 2005). Ainda, a foto-degradação pode

consumir moléculas bio-disponíveis, reduzindo o metabolismo bacteriano por competição (AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). Alguns aminoácidos apresentam elevada reatividade com a foto-degradação e sub-produtos (RONSEIN *et al.*, 2006) que, de acordo com AMADO *et al.* (2007; Cap. 3), podem ser um dos grupos de moléculas responsáveis pela competição entre a foto-degradação e a degradação bacteriana.

Os aminoácidos podem ser encontrados livres ou combinados em moléculas orgânicas como proteínas e peptídeos na MOD. São moléculas importantes no metabolismo bacteriano para a síntese de proteínas ou mesmo como fonte de carbono e/ou nitrogênio (C e/ou N; e.g. KEIL & KIRCHMAN, 1993; ROSENSTOCK & SIMON, 1993). Cinco aminoácidos (cisteína, histidina, metionina, tirosina e triptofano), além de biodegradáveis, são muito reativos ao oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$; RONSEIN *et al.*, 2006), espécie reativa de oxigênio formada pela interação das radiações luminosas com cromóforos presentes na MOD (ZEPP *et al.*, 1977). Historicamente, acreditava-se que o oxigênio singlete ocorria em concentrações muito baixas em ecossistemas aquáticos, uma vez que é uma molécula instável, de decaimento muito rápido (40 – 70 μs ; PAUL *et al.*, 2004). Atualmente, sabe-se que a foto-degradação da MOD resulta na produção de grandes quantidades de $^1\text{O}_2$ em regiões hidrofóbicas das moléculas orgânicas, de 1 a 2 ordens de magnitude maior do que foi registrado anteriormente na literatura para ecossistemas aquáticos (LATCH & MCNEILL, 2006).

Os objetivos do presente estudo foram: (1) avaliar o papel do oxigênio singlete na dinâmica de degradação da MOD e seu resultado para o metabolismo bacteriano, e; (2) avaliar o papel dos aminoácidos nessa interação entre o oxigênio singlete, MOD e bactérias. Para atingir esses objetivos foram realizados 3 tipos de experimento. O primeiro para avaliar se a foto-degradação de aminoácidos, como fonte de MOD,

pode reduzir o crescimento bacteriano. O segundo, para avaliar o resultado da foto-degradação de aminoácidos, em concentrações naturais, para o metabolismo bacteriano e, o terceiro, para avaliar os efeitos do $^1\text{O}_2$ foto-formado para o metabolismo bacteriano. Nossos dados sugerem que o resultado da foto-degradação para o metabolismo bacteriano é decorrente de um balanço entre a formação e consumo de compostos lábeis (e.g. aminoácidos) e produção e decaimento de compostos tóxicos às bactérias, como o $^1\text{O}_2$. Este último não altera significativamente a qualidade da MOD, mas inibe o crescimento bacteriano, possivelmente pela formação de peróxidos.

Material e Métodos

Para atingir os objetivos acima delineados, foram realizados 3 experimentos descritos a seguir.

Experimento 1 – Foto-degradação e bio-degradação de solução de aminoácidos

Esse experimento foi delineado para avaliar se a foto-degradação dos aminoácidos foto-reativos (cisteína, histidina, metionina, tirosina e triptofano) podem ser responsáveis pela redução do metabolismo bacteriano. Para esse experimento, 20 litros de água foram coletadas no lago Itasca (“Itasca State Park” localizado no condado de “Stillwater” ao norte do Município de “Park Rapids”, Minnesota, E.U.A.), em agosto de 2006, com um galão de polietileno previamente lavado com HCl 10% e água Milli-Q e rinsado com água do próprio lago. A coleta foi feita na sub-superfície em um ponto central do lago. Essa água foi pré-filtrada em filtro de fibra de vidro de porosidade de 1,7 μm (GF/A – Watman) e mantida refrigerada ($\pm 4^\circ\text{C}$) até o início dos experimentos (máximo de 1 mês).

Para a montagem dos tratamentos foram feitas as seguintes soluções:

- (Ac.Hum.) solução padrão de ácidos húmicos¹ (“Swanee River” – Sociedade Internacional de Substâncias Húmicas – “IHSS”) na concentração de 10 mg C l⁻¹. A composição química dessa solução padrão está descrita na literatura (STENSON *et al.*, 2003);

- (18AA) solução de 18 aminoácidos (alanina, aspartato, glutamato, fenilalanina, glicina, histidina, isoleucina, lisina, leucina, metionina, asparagina, glutamina, arginina, serina, treonina, valina, triptofano e tirosina; concentração final de cada aminoácido nas culturas; 1 µM);

- (14AA) solução de 14 aminoácidos (alanina, aspartato, glutamato, fenilalanina, glicina, isoleucina, lisina, leucina, asparagina, glutamina, arginina, serina, treonina e valina; concentração final de cada aminoácido nas culturas; 1 µM) não foto-degradáveis;

- (4AA) solução de 4 aminoácidos (histidina, metionina, tirosina e triptofano; concentração final de cada aminoácido nas culturas; 1 µM) foto-degradáveis.

Imediatamente antes do início dos experimentos, a amostra de água do lago Itasca foi filtrada em membrana de policarbonato de porosidade 0,2 µm (VacuCap - Pall) diretamente para dentro de garrafas de Winkler (300 mL), previamente lavadas com HCl 10% e água Milli-Q e esterilizadas (autoclave por 30 min e 1 atm), onde as amostras foram incubadas com 7 diferentes tratamentos, com 4 réplicas cada um. Em todos os frascos foram adicionados inóculo de bactérias, formado pela filtração de água do mesmo lago em filtro de fibra de vidro de porosidade de 0,7µm (GF/F – Whatman; 10% do volume total do frasco) e N e P (NO₃NH₄ e KH₂PO₄; 50 e 5 µM, respectivamente) para evitar limitação da atividade bacteriana por esses nutrientes.

Os tratamentos realizados foram:

¹ A solução Ac. Hum. age como absorvente de radiação luminosa e produtor de oxigênio singlete (¹O₂; ver PAUL *et al.*, 2004).

T1 – água do lago Itasca (Itasca);

T2 – Itasca + Ac. Hum. (conc. final 10 mg C L⁻¹)

T3 – Itasca + Ac. Hum. + exposição ao simulador solar²

T4 – Itasca + Ac. Hum. + 18 AA

T5 – Itasca + Ac. Hum. + 18 AA + exposição ao simulador solar

T6 – Itasca + Ac. Hum. + 14 AA

T7 – Itasca + Ac. Hum. + 14 AA + 4 AA expostos ao simulador solar³

Após a montagem dos tratamentos nos frascos de Winkler, a concentração inicial de oxigênio (O₂) foi medida em todos os frascos e estes foram selados com tampas de vidro, sem atmosfera interna e foram incubados no escuro em temperatura ambiente ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) durante 120 horas. Após 48 horas de incubação, os frascos foram reabertos para a medição da concentração de O₂ para a estimativa da respiração bacteriana no mesmo período. Vale ressaltar que antes do início da incubação, alíquotas foram preservadas com formol tamponado (concentração final 3,7%) para a determinação da densidade bacteriana. Nos tempos de 48, 72, 96 e 120 horas, também foram preservadas alíquotas para a determinação da densidade bacteriana nos frascos.

Experimento 2 – Foto-degradação da MOD e seus efeitos sobre a absorção de aminoácidos pelas bactérias

Esse experimento foi delineado para avaliar os efeitos da foto-degradação, em especial a foto-degradação de aminoácidos, para o metabolismo bacteriano. Ele foi realizado utilizando-se dois tipos diferentes de MOD: alóctone e autóctone. O experimento com MOD alóctone foi realizado com água coletada no rio “Saint Louis”, afluente do braço oeste do lago Superior. Esse rio caracteriza-se pela presença

² As soluções foram expostas a um simulador solar (“Suntest CPS + Solar Simulator”, Atlas Material Testing Technology, LLC) por 8 horas simulando a intensidade solar local (de acordo com a CIE N° 85), para reproduzir a foto-degradação dos compostos de cada solução em laboratório.

³ A solução 4AA foi exposta ao simulador solar, semelhante às demais exposições, antes de ser combinada com as demais soluções.

de COD ($8,3 \text{ mg C l}^{-1}$, no experimento) de coloração escura, rico em substâncias húmicas fúlvicas de origem terrestre. O experimento com MOD de origem autóctone foi realizado com uma solução feita com água de um ponto central do lago Superior, considerado extremamente oligotrófico (concentrações de COD abaixo de 1 mg C L^{-1}), misturada com ácidos fúlvicos extraídos de um lago na Antártida (“Pony Lake”) onde a MOD é essencialmente de origem aquática (algas e bactérias). A composição e as características químicas dessa MOD já foram descritas na literatura (FIMMEN *et al.*, 2007). A mistura apresentou concentração final de 10 mg C L^{-1} . Daqui em diante os dois ambientes serão referidos como MOD alóctone (Rio Saint Louis) e MOD autóctone (lago Pony).

As amostras dos dois ambientes foram pré-filtradas em filtros de fibra de vidro de porosidade $1,7 \text{ }\mu\text{m}$ (GF/A; Whatman) e, consecutivamente em membrana de policarbonato de $0,2 \text{ }\mu\text{m}$. Cerca de 2L de cada amostra foi exposto em simulador solar (“Suntest CPS + Solar Simulator”, Atlas Material Testing Technology, LLC) por 8 horas (expostas). Outros 2L foram mantidos no escuro sob as mesmas condições de temperatura para controle das exposições (controle). As amostras foram então, mantidas em temperatura de 4°C no escuro, até o início dos experimentos (máximo de 24 horas).

Imediatamente antes dos experimentos, as amostras, expostas e controle, foram filtradas em membranas estéreis de porosidade $0,2 \text{ }\mu\text{m}$ (VacuCap; Pall Sciences), diretamente para dentro de garrafas Pyrex, previamente lavadas com HCl 10% e água Milli-Q e esterilizadas (autoclavadas por 30 min. em 1 atm.). Para a montagem das culturas de crescimento de bactérias após a exposição ao simulador solar, em cada garrafa foi adicionado um inóculo de bactérias (amostra do respectivo ambiente filtrada em filtros de fibra de vidro de porosidade $0,7 \text{ }\mu\text{m}$ – GF/F; Whatman) com

10% do volume total. A cultura com MOD alóctone foi montada com inóculo do Rio Saint Luis, enquanto que a cultura de MOD autóctone foi montada com inóculo do lago Superior. Cada cultura (MOD alóctone, exposta e controle; MOD autóctone, exposta e controle) foi então dividida em 4 garrafas de winkler (300mL) e 20 frascos de vidro (“exetainers”; vol. 5,9 mL) com tampas de plástico e septo de borracha. Todos os frascos foram lavados conforme procedimentos acima descritos, sendo que os exetainers foram ainda incinerados por 2 horas (500°C). Todos os filtros de fibra de vidro também foram incinerados para eliminar qualquer resquício de matéria orgânica nos mesmos.

Todos os frascos, Winkler e exetainers, foram selados sem atmosfera interna e incubados no escuro, com temperatura constante ($20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5$) por 96 horas. Em cada 24 horas nos tempos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas, 4 exetainers (4 réplicas) eram fixados pela injeção de solução de HgCl_2 (concentração final de 0,01%) para a posterior determinação da concentração de O_2 , para calcular as taxas de respiração bacteriana em cada intervalo (ver cálculos adiante). Nos mesmos tempos de incubação, alíquotas retiradas dos frascos de Winkler eram fixadas com formol tamponado (concentração final de 3,7%) para posterior determinação da densidade bacteriana, para acompanhar o crescimento bacteriano nas culturas e calcular as taxas de produção bacteriana (ver cálculos adiante). Para o experimento de MOD alóctone, nos tempos de 48 e 96 horas e no experimento de MOD autóctone, nos tempos 48, 72 e 96 horas, foram retiradas alíquotas para a determinação das taxas de absorção dos aminoácidos histidina, exemplo de aminoácido foto-degradável, e de leucina, exemplo de aminoácido que não sofre foto-degradação. Foi utilizado método de diluição isotópica utilizando os mesmos aminoácidos marcados com isótopo radioativo estável de carbono (^{14}C) de acordo com WETZEL & LIKENS (1990; descrição detalhada adiante).

Experimento 3 – Efeitos do oxigênio singlete (1O_2) para a degradação bacteriana da MOD

Esse experimento foi delineado para avaliar os efeitos da exposição da MOD ao 1O_2 para a atividade bacteriana. A exemplo do experimento 2, nesse experimento foram avaliados dois tipos de MOD: autóctone e alóctone. Entretanto, nesse experimento foram utilizadas duas soluções preparadas com ácidos fúlvicos extraídos do rio Swanee (“Swanee River”, IHSS) e ácidos fúlvicos extraídos do lago Pony, combinados com água do lago Superior (filtrada em membrana de policarbonato de porosidade de $0,2\mu\text{m}$) em concentração de 100 mg C L^{-1} . As duas soluções foram adicionadas de uma solução de Rosa Bengala (concentração em solução de $1\mu\text{M}$) e expostas à radiação visível (simulador solar, lâmpada halógena) por 30 minutos, com um filtro na banda da cor laranja (exclui radiação abaixo de 550 nm) na qual a absorção da luz pela rosa bengala é máxima, para a produção de oxigênio singlete (1O_2) e, conseqüente, exposição da MOD. A rosa bengala é uma substância que quando estimulada pela radiação luminosa, produz grandes quantidades de 1O_2 e é usada como referência/padrão para a formação dessa molécula (PAUL *et al.*, 2004). Parte das soluções foi mantida no escuro como controle à exposição ao 1O_2 .

Imediatamente após as exposições, as amostras foram diluídas 10 vezes (concentração de COD final de 10 mg C L^{-1}) com água do lago Superior filtrada em membrana de porosidade de $0,2\mu\text{m}$, acrescida de 10% de volume de inóculo de bactérias (água filtrada em porosidade de $0,7\mu\text{m}$). Dessa forma, para cada fonte de MOD, foram montadas culturas de crescimento de bactérias com 4 tratamentos: MOD exposta ao 1O_2 (daqui em diante denominado Exposto + RB) e não exposta ao 1O_2 (daqui em diante denominado controle + RB); MOD sem a presença da rosa bengala (daqui em diante denominada somente como MOD) e, por fim, somente água do lago

Superior. Esses dois últimos tratamentos foram feitos como controles para os efeitos da rosa bengala para o crescimento dos organismos.

Os tratamentos foram montados em garrafas Pyrex (procedimento de lavagem descrito anteriormente) e cada tratamento foi então dividido em 4 frascos (4 réplicas) escuros (âmbar) de 50 mL de volume além de 16 frascos exetainers (5,9 mL de volume). Todos os frascos foram selados sem atmosfera interna e incubados no escuro por 192 horas (8 dias). Os frascos âmbar foram utilizados para seguir o crescimento bacteriano e os exetainers para seguir as concentrações de O₂ ao longo da incubação. Nos tempos de incubação de 0, 48, 96 e 192 horas, alíquotas foram preservadas com formol tamponado (concentração final 3,7%) para determinação da densidade bacteriana. Em cada um dos mesmos tempos amostrais, 4 exetainers (4 réplicas) foram fixados pela injeção de solução de HgCl₂ (concentração final de 0,01%) para medição das concentrações de O₂ em cada um desses tempos, para calcular as taxas de respiração bacteriana em cada intervalo (ver cálculos adiante).

Métodos analíticos e cálculos

A concentração de O₂ na água foi medida por dois métodos distintos. No experimento 1 a concentração de O₂ na água foi medida por uma micro-sonda de ouro conectada a um pico-amperímetro (BRIAND *et al.*, 2004) controlado pelo programa MicOx (Unisense[®]). Nos experimentos 2 e 3, as concentrações de O₂ na água foram medidas através de um Espectômetro de Massa de Membrana (“Membrane Inlet Mass Spec” – MIMS; Pfeiffer Vacuum D-35614 Assler e, membrana da Bay Instruments LLC), controlado pelos programas Quadstar 32-bit Version 7.03 (2005, Inficon AG) e Dissolved Gas Analyzer (DGA) Control Program 2.01 (2006, Bay Instruments LLC). Testes realizados comparativos revelaram que os dois métodos são bastante calibrados entre si e apresentam precisão semelhante ($r^2 = 0,96$; $p < 0,01$). No experimento 1, as

taxas de respiração bacteriana foram calculadas pela diferenças nas concentração de oxigênio entre os intervalos de tempo (0 e 48 horas) de cada frasco. As taxas de respiração bacteriana nos experimentos 2 e 3 foram calculadas através de regressões lineares, já que as medidas nos diferentes tempos, eram feitas em diferentes frascos. No eixo X foram utilizados os tempos de incubação que foram medidas as concentrações de O₂ e no eixo Y, foram utilizadas as concentrações de O₂ em cada tempo. A taxa de respiração bacteriana corresponde ao coeficiente angular da melhor reta ajustada aos pontos. A respiração bacteriana foi convertida para carbono assumindo que todo O₂ consumido foi transformado em CO₂; coeficiente de transformação igual a 1 (BIDDANDA *et al.*, 2001).

A abundância bacteriana foi estimada através de um citômetro de fluxo Becton Dickson FACSort, conforme proposto por DEL GIORGIO *et al.* (1996). As amostras foram coradas com Syto 13 (concentração final 50 µM, Molecular Probes, Carlsbad, CA). O aparelho foi calibrado para a contagem das células pelo volume de amostra injetada pelo aparelho, por unidade de tempo (ml.min.⁻¹). O citômetro foi controlado pelo programa CellQuest 1.2 e as contagens foram capturadas pelo programa WinMDI 2.8. As células foram separadas por intensidade de fluorescência em escala logarítmica. Cada amostra foi contada até atingir 10.000 eventos e a concentração de células foi calculada usando a calibração de tempo de injeção de amostra/volume. A biomassa bacteriana (BB) foi estimada por um fator de conversão de 35 fg C cel⁻¹, como sugerido por THEIL-NIELSEN & SONDERGAARD (1998).

A produção bacteriana foi estimada pelo acúmulo de biomassa em cada intervalo de tempo. COD_{REM} foi calculado pela soma da produção bacteriana e respiração bacteriana em determinado intervalo de tempo. ECB foi calculado como a

proporção do COD_{REM} que foi incorporado na biomassa bacteriana ((produção bacteriana/ COD_{REM}) \times 100), durante a fase de crescimento exponencial das culturas.

A medição das taxas de absorção de aminoácidos foi realizada de acordo com WETZEL & LIKENS (1990), pelo método de diluição isotópica. De cada frasco de Winkler foram retiradas quatro alíquotas (10 mL cada), em cada tempo amostral, que foram transferidas para frascos de vidro de 60 mL, selado com tampa de borracha, acoplada de um suporte de plástico no interior do frasco, contendo um pedaço de filtro de papel (ver figura 1). Dois frascos eram usados para determinar a taxa de absorção de histidina e, os outros dois a taxa de absorção de leucina, sendo um frasco de controle para cada aminoácido. Em cada frasco era adicionado o aminoácido marcado (concentração final 31 nM; 1nCi mL⁻¹). Nos frascos controle era adicionada, imediatamente uma solução de H₂SO₄ (concentração final 0,1N) para eliminar a atividade bacteriana. Todos os frascos, selados, foram incubados por 5 horas no escuro e com temperatura constante (20°C \pm 1) de acordo com experimento piloto (dados não mostrados). Ao final das 5 horas era adicionada em cada frasco, exceto nos controles, uma solução de H₂SO₄ (concentração final 0,1N) para encerrar a incubação. Com o auxílio de uma seringa, era injetada através do septo de borracha, uma solução de etanol-amina diretamente nos filtros de papel presos ao suporte no interior do frasco (ver figura 1). Essa solução apreende o CO₂ livre na atmosfera interna, com grande eficiência. Os frascos eram então colocados em uma mesa agitadora, com velocidade baixa, por uma hora para a extração de CO₂ marcado com ¹⁴C, sem que a amostra do fundo do frasco tocasse nos filtros. Após esse período, as amostras eram filtradas em membrana 0,2 μ m para retenção das bactérias. Os filtros com as bactérias e os filtros de papel com o CO₂ apreendido foram então, analisados em um aparelho cintilador (Beckman 6000S), com parâmetros para leitura de ¹⁴C.

Todos os valores de radiação (em desintegrações por minuto – DPM) foram transformados para concentração de cada aminoácido específico.

O filtro contendo as bactérias foi utilizado para estimar a taxa de incorporação dos aminoácidos enquanto que o filtro contendo o CO₂ foi utilizado para estimar a taxa de respiração dos aminoácidos específicos. A soma da incorporação e da respiração dos aminoácidos representa a taxa de absorção de cada aminoácido. A histidina foi utilizada para representar os aminoácidos que sofrem foto-degradação e a leucina, foi utilizada como aminoácido que não sofre foto-degradação (controle). Como os aminoácidos marcados foram adicionados em quantidades extremamente baixas nas amostras, não representaram aumento significativo nas concentrações dos mesmos. Sendo assim, o aumento das taxas de absorção de um aminoácido em amostras expostas em relação ao controle indica que houve perda desse mesmo aminoácido (não marcado) na água pela prévia foto-degradação, já que o aminoácido marcado passa a ser absorvido em maiores quantidades (proporções), relativamente ao não marcado.

Análises Estatísticas

Para avaliar as diferenças entre as taxas médias de respiração e produção bacteriana no experimento 1, foi utilizado ANOVA com teste de Bonferroni pelo programa GrapPad Prism 4.0. Para comparação das médias nas diferentes análises entre as amostras expostas e controle foi usado teste de análise de variância, não-paramétrico com teste *a posteriori* de Mann-Whitney, pelo programa GrapPad Prism 4.0. As taxas de respiração bacteriana nos experimentos 2 e 3 foram calculadas por regressões lineares pelo programa GrapPad Prism 4.0.

Resultados

Experimento 1 – Foto-degradação e bio-degradação de solução de aminoácidos

Todos os tratamentos tiveram as suas curvas de crescimento estabilizadas em 48 horas de incubação, exceto o tratamento 5 que estabilizou apenas após 72 horas de incubação (Fig. 2). As taxas de produção bacteriana (PB) entre os tratamentos variaram entre 0,03 e 0,06 $\mu\text{M C h}^{-1}$. Vale ressaltar que os dados de PB não apresentaram variações significativas entre os tratamentos (dados não mostrados). As taxas de respiração bacteriana (RB) variaram entre 0,4 e 1,5 $\mu\text{M C h}^{-1}$ entre os tratamentos, sendo que a maior taxa foi registrada para o tratamento 4 (Fig. 3). As taxas de remoção do COD (COD_{REM}) após 120 horas de incubação foram maiores no tratamento 4 em relação aos demais ($P < 0,05$). Já os tratamentos 5, 6 e 7 não apresentaram diferenças estatísticas entre si (Fig. 4). A eficiência de crescimento bacteriano (ECB) variou entre 4 e 10%, mas não apresentou nenhum padrão definido (dados não mostrados), assim como PB.

Experimento 2 – Foto-degradação da MOD e seus efeitos sobre a absorção de aminoácidos pelas bactérias

Tanto as culturas de crescimento expostas, quanto as controle se estabilizaram após 72 horas de incubação no experimento com a MOD alóctone (Fig. 5a). Entretanto, apesar da cultura exposta ter apresentado maior densidade bacteriana ao final da incubação, a cultura controle iniciou seu crescimento após 24 horas, enquanto que a cultura exposta só iniciou seu crescimento após 48 horas de incubação (Fig. 5a). Já nas culturas de crescimento com MOD autóctone, ambos os tratamentos atingiram densidades bacterianas semelhantes ao final das 96 horas de incubação. Entretanto, a exemplo dos tratamentos com MOD alóctone, a cultura exposta apresentou um atraso

no seu crescimento em relação à cultura controle (Fig. 5b). PB apresentou valores máximos nos intervalos entre 48 e 72 horas de incubação e 24 e 48 horas de incubação nos tratamentos exposto e controle, respectivamente, nas culturas de crescimento de MOD alóctone (Tabela 1). Nas culturas de MOD autóctone, PB foi maior nos intervalos entre 48 e 72 horas de incubação e 0 e 24 horas de incubação nos tratamentos exposto e controle, respectivamente (Tabela 1).

As taxas de RB foram menores nos tratamentos expostos em relação aos controles, tanto para a MOD alóctone, quanto para a autóctone (Tabela 2). Entretanto, vale ressaltar que nas amostras expostas, tanto nas culturas de MOD alóctone, quanto nas culturas de MOD autóctone, foi detectado aumento nas concentrações de O₂ em diferentes momentos das incubações, chegando a serem superiores às concentrações em tempos menores de incubação (e.g. Fig. 6). Como todas as culturas e medidas foram realizadas de forma criteriosamente semelhante, acreditamos que se trata de algum processo químico de liberação de O₂ na água.

As taxas de incorporação, respiração e absorção de histidina foram maiores ($p < 0,05$) nas amostras expostas do que nas amostras controle para a MOD alóctone em 96 horas de incubação (Fig. 7a, b, c). Apenas as taxas de respiração de leucina foram maiores ($p < 0,05$) nas amostras expostas que nas amostras controle nas culturas da MOD alóctone em 96 horas (Fig. 7e). Nas culturas de MOD autóctone, as taxas de incorporação de histidina e as taxas de respiração de leucina foram ligeiramente menores ($p < 0,05$) nas amostras expostas do que nas amostras controle em 48 horas de incubação (Fig. 8a, e). A taxa de absorção de histidina por célula de bactéria foi maior ($p < 0,05$) no tratamento exposto do que no controle da MOD alóctone (Fig. 9a). Não houve diferença para absorção por célula de leucina na MOD alóctone, e nem para histidina e leucina na MOD autóctone sugerindo que as diferenças

encontradas para a comunidade bacteriana ocorreram em função da alteração da densidade bacteriana (Fig. 9).

Experimento 3 – Efeitos do oxigênio singlete (1O_2) para a degradação bacteriana da MOD

Ao final das incubações, todas as culturas apresentaram densidades bacterianas semelhantes, para ambas as fontes de MOD (Fig. 10). Entretanto, as amostras expostas ao 1O_2 apresentaram atraso no crescimento bacteriano, em relação aos outros tratamentos (Fig. 10), semelhante às amostras expostas à foto-degradação (Fig. 5). Dessa forma, todas as culturas estavam estáveis após 48 horas de incubação, exceto as culturas expostas.

As maiores taxas de respiração foram registradas nos controles de cada MOD (tratamentos sem adição de rosa bengala), em relação aos outros tratamentos (dados apresentados na Tabela 2). É importante destacar que para a MOD alóctone, não foi detectada respiração significativa no tratamento exposto + RB. Nesse tratamento pareceu ocorrer um efeito de liberação química de O_2 (dados não mostrados), semelhante aos experimentos de foto-degradação (e.g. Fig. 6). Não foi detectada também, respiração na cultura do L. Superior, comum para esse ambiente que é considerado extremamente oligotrófico (Tabela 2; BIDDANDA *et al.*, 2001).

Discussão

Os processos de foto-degradação e degradação bacteriana da MOD são importantes vias de mineralização e ciclagem de carbono nos ecossistemas aquáticos. Não somente esses dois processos isoladamente, mas também as interações entre ambos representam importantes frações do processamento de MOD (JONSSON *et al.*, 2001; AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). Por exemplo, o processo de degradação bacteriana estimulou em até 13% a posterior foto-degradação em uma lagoa costeira

tropical húmica. Ainda, a foto-degradação estimulou a degradação bacteriana em até 36% na mesma lagoa costeira tropical húmica enquanto que inibiu a degradação bacteriana em até 19% em uma lagoa costeira tropical eutrófica (AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). Alguns estudos destacaram que o efeito negativo da foto-degradação ocorre em ecossistemas ricos em MOD autóctone ou sistemas eutróficos (TRANVIK & BERTILSSON, 2001; AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). Outros estudos não registraram qualquer inibição do crescimento bacteriano em ambientes eutróficos (AMADO *et al.*, 2006).

O estímulo da foto-degradação ao crescimento bacteriano foi atribuído, em vários estudos, a quebra de moléculas refratárias, e a formação de moléculas mais disponíveis à degradação bacteriana, como ácidos carboxílicos, por exemplo (LINDELL *et al.*, 1995; TRANVIK & BERTILSSON, 2001; PULLIN *et al.*, 2004; AMADO *et al.*, 2006). O efeito inibitório, por sua vez, é comumente atribuído ao consumo pela luz ou foto-produtos, de compostos lábeis às bactérias (SCULLY *et al.*, 2003; OBERNOSTERER & BENNER, 2004; AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3), mas também pela foto-produção de compostos tóxicos às mesmas (OBERNOSTERER *et al.*, 2001; PAUL *et al.*, 2004; ANESIO *et al.*, 2005), como as espécies reativas de oxigênio (entre elas, peróxidos, radicais hidroxila e oxigênio singleto). ANESIO *et al.* (2005) encontraram relação negativa entre o crescimento bacteriano e a produção de peróxidos de hidrogênio pela foto-degradação. Entretanto, após algumas horas, essa relação não mais existia, em função do rápido decaimento dos mesmos (algumas horas). Recentemente, AMADO *et al.* (2007; Cap. 3) sugeriram que 5 aminoácidos (cisteína, histidina, metionina, tirosina e triptofano) podem ser compostos chave para o efeito inibitório da foto-degradação à degradação bacteriana, uma vez que são importantes fontes de nitrogênio para as bactérias, mas também são muito reativos ao

$^1\text{O}_2$, produzido pela foto-degradação da MOD. Estudando os efeitos das espécies reativas de oxigênio (ERO) sobre a MOD para o crescimento bacteriano, SCULLY *et al.* (2003) verificaram que as ERO oxidam completamente moléculas biodisponíveis, resultando na redução da atividade bacteriana. Resultados publicados por PULLIN *et al.* (2004) registraram que prévia exposição da MOD à radicais hidroxila (HO^\cdot), comumente formados pela foto-degradação, retarda em até 72 horas o crescimento das bactérias. Entretanto, ainda não se sabe ao certo como a produção de compostos tóxicos e o consumo de moléculas lábeis interagem e geram mecanismos de inibição do crescimento bacteriano.

O oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$) é uma molécula muito instável de O_2 em estado excitado, que se forma pela interação das radiações solares com a MOD colorida (ZEPP *et al.*, 1977). Antes de sofrer decaimento é capaz de interagir com a própria MOD resultando na decomposição da mesma. O $^1\text{O}_2$ é bastante seletivo em suas reações e ataca proteínas, DNA, aminoácidos entre outras moléculas. Ainda, o $^1\text{O}_2$ ataca principalmente moléculas químicas insaturadas (com ligações duplas e triplas) e forma ácidos hidroperóxidos (BARREIROS & DAVID, 2006). Pode reagir com as cadeias laterais de aminoácidos resultando na formação de peróxidos orgânicos instáveis que, por fim, geram peróxidos de hidrogênio (ZEPP *et al.*, 1977). Sendo assim, com a abordagem experimental utilizada no presente trabalho, o $^1\text{O}_2$ pode interagir com as bactérias de duas maneiras: (1) consumindo compostos lábeis às bactérias e, (2) produzindo H_2O_2 , composto tóxico às bactérias. Vale ressaltar que, na natureza, deve também existir o efeito inibitório direto da $^1\text{O}_2$ sobre as bactérias, já que ambos podem coexistir na coluna d'água durante o dia.

Os dados do presente estudo revelam que a foto-degradação pode, realmente, reduzir a atividade bacteriana pela degradação dos aminoácidos, quando estes

representam uma importante fração da MOD (Fig. 4). Entretanto, a foto-degradação desses aminoácidos não reduziu o crescimento das bactérias (Fig. 5, Tabela 1) em condições experimentais com concentrações naturais de COD ($\sim 10 \text{ mg.L}^{-1}$) e aminoácidos. Ao contrário, o tratamento com MOD alóctone exposto a foto-degradação, apresentou estímulo ao crescimento bacteriano em relação ao controle (Fig. 5), como previsto na literatura (TRANVIK & BERTILSSON, 2001; AMADO *et al.*, 2006; AMADO *et al.*, 2007, Cap. 3). Apesar dos ensaios com aminoácidos marcados radioativamente (^{14}C) e MOD alóctone terem indicado que as concentrações naturais de histidina foram reduzidas pela foto-degradação (Figs. 7, 8 e 9), essa redução não foi suficiente para anular o efeito positivo de liberação de compostos lábeis da MOD alóctone.

Quando a MOD foi exposta exclusivamente à degradação pelo $^1\text{O}_2$, não foi detectada nenhuma alteração na disponibilidade biológica total da MOD, independente de sua origem (Fig. 10). Entretanto, foi registrado um atraso no crescimento das bactérias em torno de 48 horas em relação aos controles (Fig. 10). Esse comportamento também foi observado nos demais experimentos de foto-degradação (exposição ao simulador solar), nos quais os aminoácidos representavam uma grande fração da MOD (Fig. 2b), e nos experimentos com concentrações naturais de COD e aminoácidos (Fig. 5). Logo, esse efeito retardador do crescimento bacteriano parece estar relacionado com a dinâmica do $^1\text{O}_2$ na água. Se as ERO (entre elas o $^1\text{O}_2$) degradam biomoléculas, como aminoácidos, as bactérias necessitariam de mais tempo e energia para sintetizar novas moléculas, o que poderia inibir ou atrasar o seu crescimento.

Por outro lado, o $^1\text{O}_2$ é conhecido por atacar e inativar células vivas. Como o decaimento do $^1\text{O}_2$ ocorre em frações de segundo (40 – 70 μs ; PAUL *et al.*, 2004),

essa molécula não deve ser a responsável direta pelos efeitos negativos sobre as bactérias nas condições experimentais utilizadas. Logo, esse efeito pode ser resultado de algum produto intermediário do decaimento do $^1\text{O}_2$, além do consumo de moléculas biodisponíveis. O processo de foto-degradação da MOD pode resultar na formação direta de peróxidos orgânicos e de hidrogênio (COOPER & ZIKA, 1983). Entretanto, sabe-se que parte dos peróxidos de hidrogênio podem ser formados via $^1\text{O}_2$ (ZEPP *et al.*, 1977; COOPER *et al.*, 1994). Recentemente, estudando as taxas de formação de H_2O_2 via decomposição por $^1\text{O}_2$, CORY *et al.* (submetido) mostraram que grande parte do H_2O_2 resultante de foto-degradação, deve ser formado via reação do $^1\text{O}_2$ (entre 20 e 50%). Sendo assim, o efeito negativo da foto-produção de $^1\text{O}_2$ deve ser transmitido às bactérias, nas culturas de crescimento, pela formação de H_2O_2 . Uma forte evidência desse fato apresentada no presente estudo foi a possível liberação de O_2 na água ao longo das culturas de crescimento bacteriano (realizadas no escuro), que causaram uma aparente redução das taxas de respiração bacteriana nas amostras expostas (Tabela 2; Fig. 6) à foto-degradação e apenas à degradação pelo $^1\text{O}_2$. Esse O_2 liberado é proveniente do decaimento de moléculas de H_2O_2 ($2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$).

Estudando o papel do radical hidroxila (HO^\cdot) para a degradação biológica da MOD, PULLIN *et al.* (2004) mostraram que esse radical pode afetar a qualidade da MOD, mas não encontraram aumento da produção bacteriana e sim, da respiração bacteriana, o que resultou em uma menor eficiência de crescimento bacteriano ($\text{ECB} = \text{PB}/[\text{PB} + \text{RB}]$). Além disso, a ação do HO^\cdot retardou o crescimento bacteriano, em relação ao controle, em cerca de 72 horas, semelhante ao registrado no presente estudo para MOD exposta à foto-degradação e $^1\text{O}_2$ (Figs. 2b e 5). Em experimentos de fotólise com a mesma MOD alóctone do presente estudo (SRFA), VAUGHAN & BLOUGH (1998) verificaram que os radicais HO^\cdot podem ser responsáveis pela

produção de até 20% de todo H_2O_2 resultante da foto-degradação. Esse fato sugere que, assim como nos experimentos realizados no presente estudo, o fator responsável pelo atraso do crescimento bacteriano em amostras expostas é a formação de H_2O_2 via decomposição de ERO (nesse caso do HO^\cdot).

Ainda, alguns estudos verificaram que a prévia foto-degradação da MOD provoca alterações na estrutura das comunidades bacterianas, em relação ao controle (PEREZ & SOMMARUGA, 2007; ABOUDI *et al.*, 2008). Como resposta à foto-degradação de MOD de diferentes origens, PEREZ & SOMMARUGA (2007) registraram que grupos de *Betaproteobactérias* apresentaram atraso de crescimento de 48 horas nas comunidades bacterianas em todas as culturas expostas. Porém, após esse período todas as culturas eram dominadas pelos grupos *Betaproteobactérias*. Por outro lado, apesar dos grupos de *Actinobacterias* terem sido o segundo grupo de bactérias dominantes, a sua abundância aumentou significativamente após 48 horas de incubação das culturas expostas, em relação aos controles. Essas alterações na estrutura das comunidades podem representar uma maior demanda energética para grupos como as *Actinobacterias*, o que resultaria em aumento da respiração bacteriana e redução do ECB, conforme registrado por PULLIN *et al.* (2004).

Diante do acima exposto, a dinâmica de produção e consumo de compostos chave da MOD, como aminoácidos, e formação e decaimento de $^1\text{O}_2$, HO^\cdot e H_2O_2 devem apresentar importância central no resultado das interações entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD, causando estímulo ou inibição de sua degradação. Propomos então, que as interações entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD é resultado de um balanço entre dois mecanismos que atuam de maneira desacoplada. O primeiro mecanismo é a produção ou consumo de moléculas lábeis de um processo para o outro (e.g. AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). O

segundo mecanismo está relacionado à dinâmica de produção e decaimento de $^1\text{O}_2$ (e outras ERO) e H_2O_2 , que devido à sua toxicidade às bactérias, provocam o retardamento do crescimento das bactérias durante o dia, em ecossistemas aquáticos.

Os efeitos da foto-degradação e, mais especificamente, do $^1\text{O}_2$ sobre a MOD e as conseqüências para o metabolismo bacteriano estão resumidos na tabela 3 e no modelo teórico exemplificado na Figura 11. Como sugerido na literatura, a MOD apresenta disponibilidade reversa para a foto-degradação e a degradação bacteriana (BERTILSSON & TRANVIK, 2000; AMADO *et al.*, 2006). Em outras palavras, quanto maior a biodisponibilidade, menor a disponibilidade à foto-degradação. Por isso, a foto-degradação deve degradar moléculas biodisponíveis e competir com as bactérias pela degradação da MOD, através de compostos “mensageiros”, como o $^1\text{O}_2$, que é produzido pela foto-degradação de substâncias húmicas (alóctone) e ataca moléculas específicas na MOD altamente disponíveis para as bactérias, como aminoácidos (ZEPP *et al.*, 1977; MICHAELI & FEITELSON, 1994). Corroborando essa idéia, TRANVIK & KOKALJ (1998) verificaram a redução da biodisponibilidade da MOD de origem algal (autóctone) quando exposta às radiações solares em conjunto com substâncias húmicas (alóctone). Por outro lado, quando a MOD autóctone foi exposta isoladamente, não foram detectadas alterações na biodisponibilidade da mesma. Por fim, moléculas como $^1\text{O}_2$ e HO^- promovem ainda, a formação de H_2O_2 que, por sua vez, é tóxico para as bactérias (Fig. 11).

Conclusões

Concluimos que os 5 aminoácidos reativos ao $^1\text{O}_2$ podem ser responsáveis pela competição entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD, quando representarem uma importante fração da mesma. Concluimos ainda que o atraso ou inibição do metabolismo bacteriano resultante da foto-degradação pode estar

relacionado às interações diretas entre $^1\text{O}_2$ e as bactérias pela degradação de moléculas biodisponíveis, mas também, indiretamente pela produção de peróxidos (orgânicos e de hidrogênio) que são tóxicos às bactérias e possuem tempo de meia-vida (horas) muito maior do que o $^1\text{O}_2$ (frações de segundo) em água. Por fim, sugerimos então, que os efeitos da foto-degradação da MOD para as bactérias são o resultado de um balanço entre a produção ou consumo de compostos biodisponíveis somada à produção e consumo de compostos lábeis pelo $^1\text{O}_2$ (ou outras ERO), além do seu efeito tóxico, negativo, direto e/ou indireto pela produção de peróxidos.

Agradecimentos

Colaboraram com essa pesquisa o Dr. Kristopher McNeil, Dra. Rose Cory e a MSc. Betsy Edhlund (“University of Minnesota”). Os autores são gratos ao apoio financeiro dado pela NSF no âmbito do Projeto “Singlet Oxygen’s Role in the Photochemical-Biochemical Degradation of Dissolved Organic Carbon”. A.M.A. é grato ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Doutorado e Doutorado “Sandwich”.

Referências

- ABBOUDI, M., JEFFREY, W. H., GHIGLIONE, J. F., PUJO-PAY, M., ORIOL, L., SEMPERE, R., CHARRIERE, B. & JOUX, F., 2008, "Effects of photochemical transformations of dissolved organic matter on bacterial metabolism and diversity in three contrasting coastal sites in the Northwestern Mediterranean sea during summer", *Microbial Ecology*, v. 55, pp. 344-357.
- AMADO, A. M., COTNER, J. B., SUHETT, A. L., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L. & FARJALLA, V. F., 2007, "Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic ecosystems", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 49, pp. 25-34.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 8-17.
- ANESIO, A. M., GRANALI, W., AIKEN, G. R., KIEBER, D. J. & MOPPER, K., 2005, "Effect of humic substance photodegradation on bacterial growth and respiration in lake water", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, pp. 6267-6275.
- BARREIROS, A. L. B. S. & DAVID, J. P., 2006, "Estresse oxidativo: relação entre geração espécies reativas e defesa do organismo ", *Química Nova*, v. 29, pp. 113-123.
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L., 2000, "Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 753-762.
- BIDDANDA, B., OGDahl, M. & COTNER, J., 2001, "Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 730-739.
- BRIAND, E., PRINGAULT, O., JACQUET, S. & TORRETON, J. P., 2004, "The use of oxygen microprobes to measure bacterial respiration for determining bacterioplankton growth efficiency", *Limnology and Oceanography: Methods*, v. 2, pp. 406-416.
- COLE, J. J., CARACO, N. F., KLING, G. W. & KRATZ, T. K., 1994, "Carbon-Dioxide Supersaturation in the Surface Waters of Lakes", *Science*, v. 265, pp. 1568-1570.

- COOPER, W. J., SHAO, C. W., LEAN, D. R. S., GORDON, A. S. & SCULLY, F. E., 1994, Factors Affecting the Distribution of H₂O₂ in Surface Waters. In: Environmental Chemistry of Lakes and Reservoirs pp 391-422).
- COOPER, W. J. & ZIKA, R. G., 1983, "Photochemical Formation of Hydrogen-Peroxide in Surface and Ground Waters Exposed to Sunlight", *Science*, v. 220, pp. 711-712.
- DEL GIORGIO, P. A., BIRD, D. F., PRAIRIE, Y. T. & PLANAS, D., 1996, "Flow cytometric determination of bacterial abundance in lake plankton with the green nucleic acid stain SYTO 13", *Limnology and Oceanography*, v. 41, pp. 783-789.
- FARRINGTON, J., 1992, "Overview and Key Recommendations - Marine Organic Geochemistry Workshop, January 1990", *Marine Chemistry*, v. 39, pp. 5-9.
- FIMMEN, R. L., CORY, R. M., CHIN, Y. P., TROUTS, T. D. & MCKNIGHT, D. M., 2007, "Probing the oxidation-reduction properties of terrestrially and microbially derived dissolved organic matter", *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, v. 71, pp. 3003-3015.
- JONSSON, A., MEILI, M., BERGSTROM, A. K. & JANSSON, M., 2001, "Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Ortrasket, N. Sweden)", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 1691-1700.
- KEIL, R. G. & KIRCHMAN, D. L., 1993, "Dissolved combined amino acids: Chemical form and utilization by marine bacteria", *Limnology and Oceanography*, v. 38, pp. 1256-1270.
- LATCH, D. E. & MCNEILL, K., 2006, "Microheterogeneity of singlet oxygen distributions in irradiated humic acid solutions", *Science*, v. 311, pp. 1743-1747.
- LINDELL, M. J., GRANIELI, W. & TRANVIK, L. J., 1995, "Enhanced Bacterial-Growth in Response to Photochemical Transformation of Dissolved Organic-Matter", *Limnology and Oceanography*, v. 40, pp. 195-199.
- MICHAELI, A. & FEITELSON, J., 1994, "Reactivity of Singlet Oxygen Toward Amino-Acids and Peptides", *Photochemistry And Photobiology*, v. 59, pp. 284-289.
- NIETO-CID, M., ALVAREZ-SALGADO, X. A. & PEREZ, F. F., 2006, "Microbial and photochemical reactivity of fluorescent dissolved organic matter in a coastal upwelling system", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 1391-1400.

OBERNOSTERER, I. & BENNER, R., 2004, "Competition between biological and photochemical processes in the mineralization of dissolved organic carbon", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 117-124.

OBERNOSTERER, I., SEMPERE, R. & HERNDL, G. J., 2001, "Ultraviolet radiation induces reversal of the bioavailability of DOM to marine bacterioplankton", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 61-68.

PAUL, A., HACKBARTH, S., VOGT, R. D., RODER, B., BURNISON, B. K. & STEINBERG, C. E. W., 2004, "Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin", *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 3, pp. 273-280.

PEREZ, M. T. & SOMMARUGA, R., 2007, "Interactive effects of solar radiation and dissolved organic matter on bacterial activity and community structure", *Environmental Microbiology*, v. 9, pp. 2200-2210.

PULLIN, M. J., BERTILSSON, S., GOLDSTONE, J. V. & VOELKER, B. M., 2004, "Effects of sunlight and hydroxyl radical on dissolved organic matter: Bacterial growth efficiency and production of carboxylic acids and other substrates", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 2011-2022.

RICHEY, J. E., MELACK, J. M., AUFDENKAMPE, A. K., BALLESTER, V. M. & HESS, L. L., 2002, "Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂", *Nature*, v. 416, pp. 617-620.

RONSEIN, G. E., MIYAMOTO, S., BECHARA, E., DI MASCIO, P. & MARTINEZ, G. R., 2006, "Singlet oxygen-mediated protein oxidation: Damage mechanisms, detection techniques and biological implications", *Química Nova*, v. 29, pp. 563-568.

ROSENSTOCK, B. & SIMON, M., 1993, "Use Of Dissolved Combined And Free Amino-Acids By Planktonic Bacteria In Lake Constance", *Limnology and Oceanography*, v. 38, pp. 1521-1531.

SCULLY, N. M., COOPER, W. J. & TRANVIK, L. J., 2003, "Photochemical effects on microbial activity in natural waters: the interaction of reactive oxygen species and dissolved organic matter", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 46, pp. 353-357.

STENSON, A. C., MARSHALL, A. G. & COOPER, W. T., 2003, "Exact masses and chemical formulas of individual Suwannee River fulvic acids from ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectra", *Analytical Chemistry*, v. 75, pp. 1275-1284.

- THEIL-NIELSEN, J. & SONDERGAARD, M., 1998, "Bacterial carbon biomass calculated from biovolumes", *Archiv Fur Hydrobiologie*, v. 141, pp. 195-207.
- TRANVIK, L. & KOKALJ, S., 1998, "Decreased biodegradability of algal DOC due to interactive effects of UV radiation and humic matter", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 14, pp. 301-307.
- TRANVIK, L. J. & BERTILSSON, S., 2001, "Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth", *Ecology Letters*, v. 4, pp. 458-463.
- VAUGHAN, P. P. & BLOUGH, N. V., 1998, "Photochemical formation of hydroxyl radical by constituents of natural waters", *Environmental Science & Technology*, v. 32, pp. 2947-2953.
- WETZEL, R. G. & LIKENS, G. E., 1990, *Limnological Analyzes*. Ed New York, Springer.
- ZEPP, R. G., WOLFE, N. L., BAUGHMAN, G. L. & HOLLIS, R. C., 1977, "Singlet Oxygen in Natural-Waters", *Nature*, v. 267, pp. 421-423

Tabela 1: Taxas de produção bacteriana (PB; nMC.h⁻¹) nas amostras expostas e controle nos experimentos com MOD alóctone e autóctone, em cada intervalo de tempo. Entre parênteses estão apresentados o desvio padrão. As diferentes letras marcas as diferenças estatísticas entre as amostras expostas e controle (p < 0,05). * PB total na fase exponencial de crescimento.

PB (nMC.h ⁻¹)	Alóctone		Autóctone	
	Exposto	Controle	Exposto	Controle
0-24	0,27 ^A (3,5)	8,57 ^B (0,4)	0,13 ^A (3,1)	147,78 ^B (6,7)
24-48	11,00 ^A (3,2)	88,04 ^B (28,1)	52,96 ^A (4,8)	9,83 ^B (8,0)
48-72	157,33 ^A (26,0)	50,83 ^B (25,1)	111,33 ^A (11,8)	7,76 ^B (10,9)
72-96	13,49 ^A (18,1)	-11,2 ^A (24,1)	2,08 ^A (21,4)	1,50 ^A (7,8)
Total (nMC)*	169	147	164	165

Tabela 2: Dados das regressões lineares entre as concentrações O₂ ao longo das incubações de degradação bacteriana após os experimentos de foto-degradação e degradação pelo oxigênio singleto. Os asteriscos marcam as diferenças significativas.

	Coefficiente angular (-)[§]	r²	Probabilidade (p)
Foto-degradação			
MOD alóctone			
Exposta	0,076	0,75	< 0,0001*
Controle	0,121	0,82	< 0,0001*
MOD autóctone			
Exposta	0,038	0,41	0,003*
Controle	0,139	0,94	< 0,0001*
Degradação pelo ¹O₂			
MOD alóctone			
Exposta + RB	0,009	0,33	0,5726
Controle + RB	0,034	0,33	0,0520* ^{§§}
MOD	0,048	0,84	< 0,0001*
MOD autóctone			
Exposta + RB	0,103	0,69	0,0009*
Controle + RB	0,093	0,68	0,0010*
MOD	0,162	0,85	< 0,0001*
Lago Superior	0,010	0,06	0,5044

[§] O coeficiente angular (em modulo) representa a taxa de respiração bacteriana (μM h⁻¹) referente a todo o período de cada incubação (96 horas para os experimentos de foto-degradação; 192 horas para os experimentos de degradação apenas pelo oxigênio singleto).

^{§§} Consideramos esse valor como significativo, uma vez que ficou muito próximo do limite de confiança.

Tabela 3: Efeitos da foto-degradação e de seus sub-processos sobre a matéria orgânica dissolvida (MOD) para o seu processamento pelas bactérias planctônicas nos ecossistemas aquáticos.

Interações da Foto-oxidação com a MOD	
Resultados para a MOD	Resultados para as bactérias
Decomposição total da MOD (CO ₂ , CO, etc)	Redução da atividade
Decomposição parcial da MOD (moléculas de menor peso molecular)	Aumento da atividade
Humificação da MOD (moléculas de maior peso molecular)	Redução da atividade
Produção de ERO (H ₂ O ₂ , ¹ O ₂ , HO ⁻ , O ₂ ^{-•})	Redução da atividade
Interações de ERO com a MOD	
Resultados para a MOD	Resultados para as bactérias
Decomposição total da MOD (CO ₂ , CO, etc)	Redução da atividade
Decomposição parcial da MOD (moléculas de menor peso molecular)	Aumento da atividade
Compostos específicos	
H ₂ O ₂	Inativação de enzimas – redução da atividade
¹ O ₂	Produção de H ₂ O ₂ , Inativação de enzimas, consumo de moléculas específicas (e.g. aminoácidos) – redução da atividade.
HO ⁻	Baixa produção de ácidos carboxílicos, produção de H ₂ O ₂ , Inativação de enzimas – redução da atividade

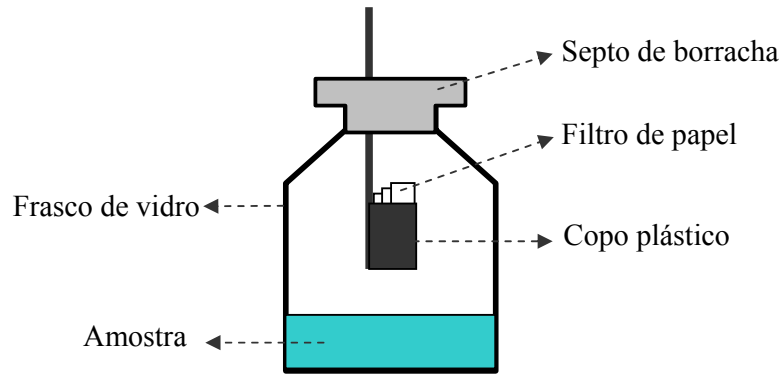


Figura 1: Esquema dos frascos utilizados para as incubações de absorção de aminoácidos marcados com ^{14}C .

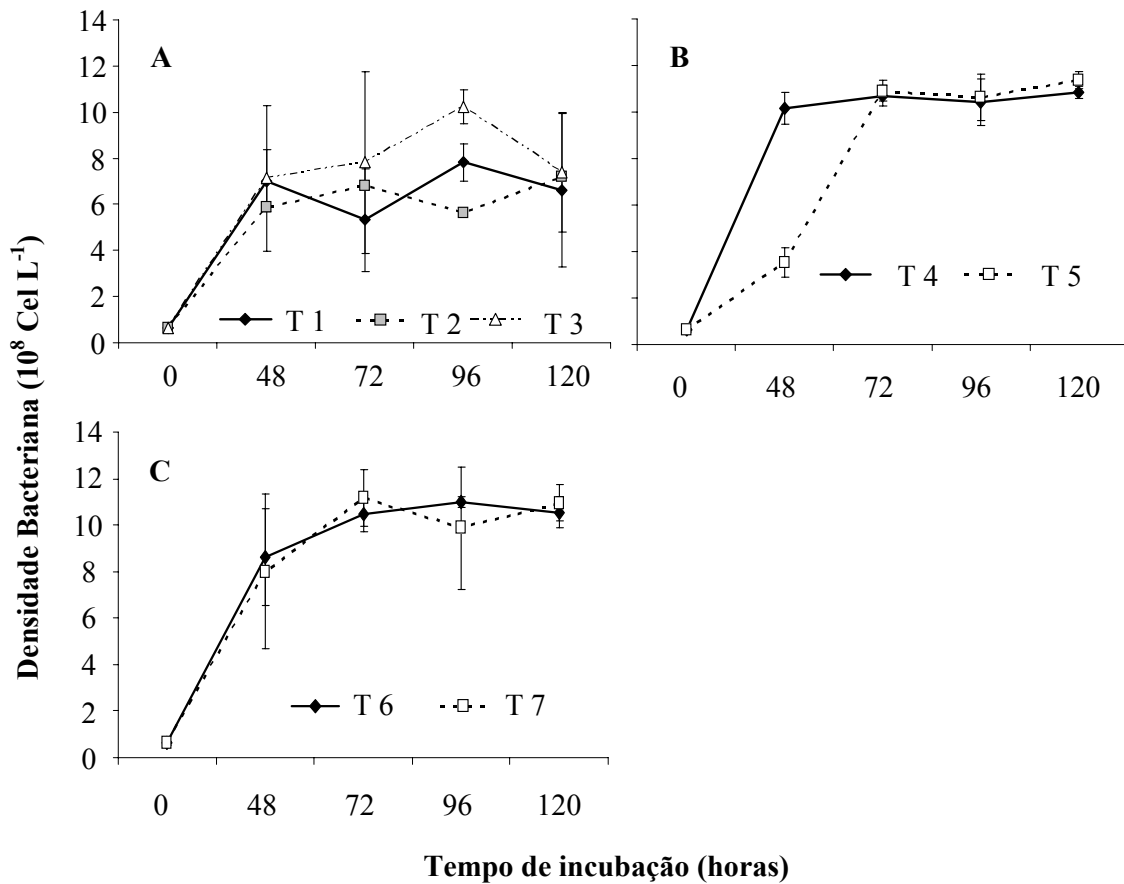


Figura 2: Densidade bacteriana ao longo da incubação no experimento 1, nos tratamentos: (A) T1, T2 e T3; (B) T4 e T5; (C) T6 e T7. As barras de erro representam o desvio padrão da média.

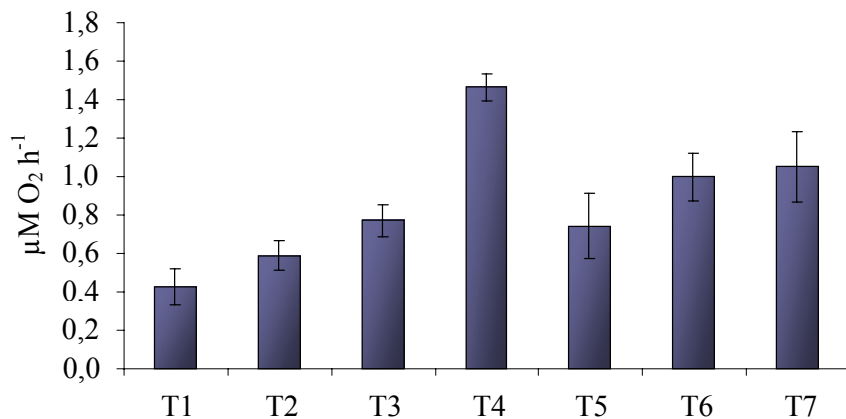


Figura 3: Taxas de respiração bacteriana nos 7 tratamentos. As barras representam a média e as barras de erro representam os desvios-padrão.

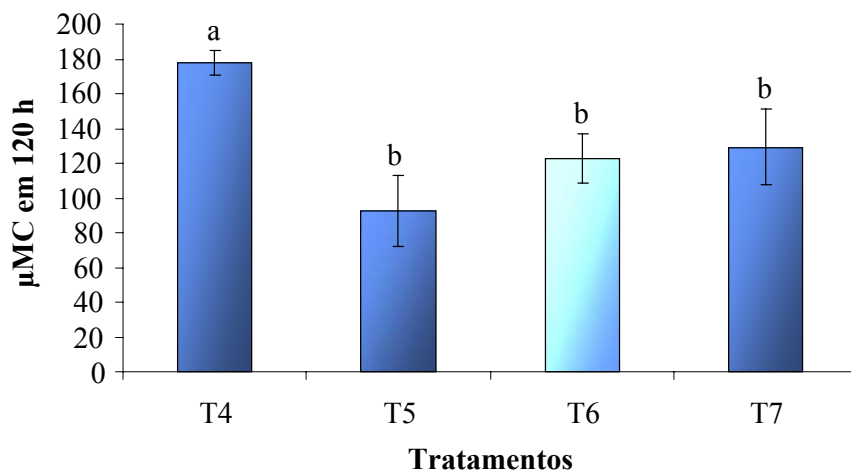


Figura 4: Taxas de remoção do COD (COD_{REM}) pelas bactérias após 120 horas de incubação, nos tratamentos: T4, T5, T6 e T7. As barras representam os valores médios e as barras de erro representam os desvios-padrão. As diferentes letras marcam as diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre os tratamentos.

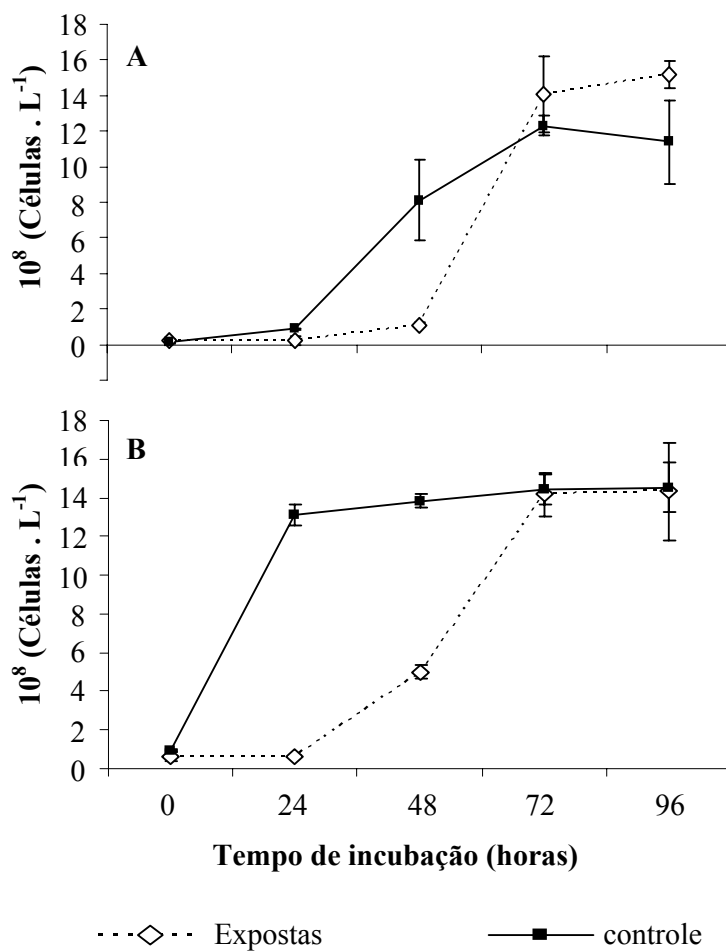


Figura 5: Densidade bacteriana ao longo das incubações com (A) MOD alóctone e (B) MOD autóctone nas amostras expostas e controle. As barras de erro representam os desvios-padrão das réplicas.

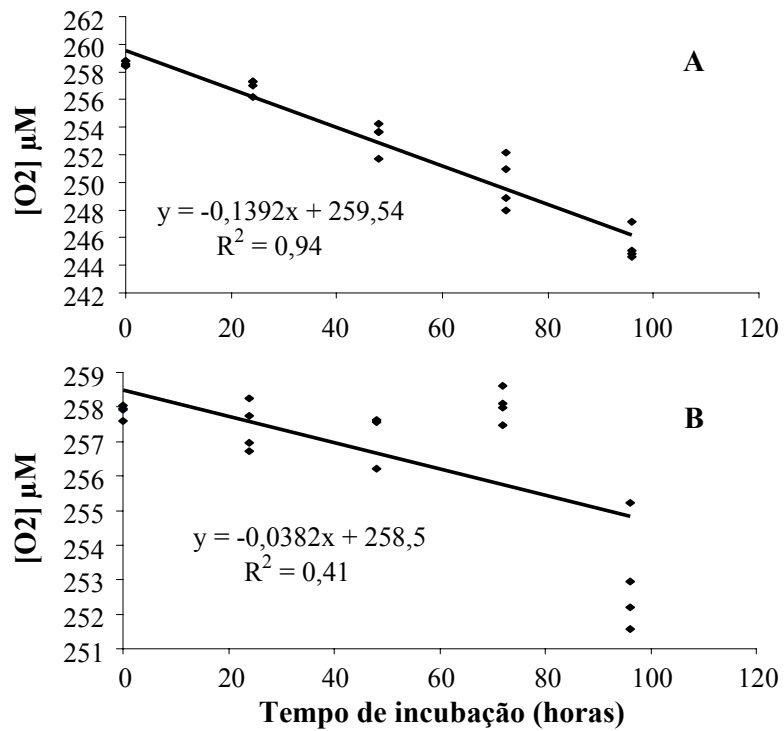


Figura 6: Concentração de O₂ nas incubações (A) controle e (B) expostas das culturas na MOD autóctone. Notar o aumento das concentrações de O₂ no tempo de 72 horas, em relação ao tempo anterior de 48 horas. Fenômeno similar ocorre nas culturas de MOD alóctone, porém, menos pronunciadamente (dados não mostrados). Notar diferenças de escala entre as figuras.

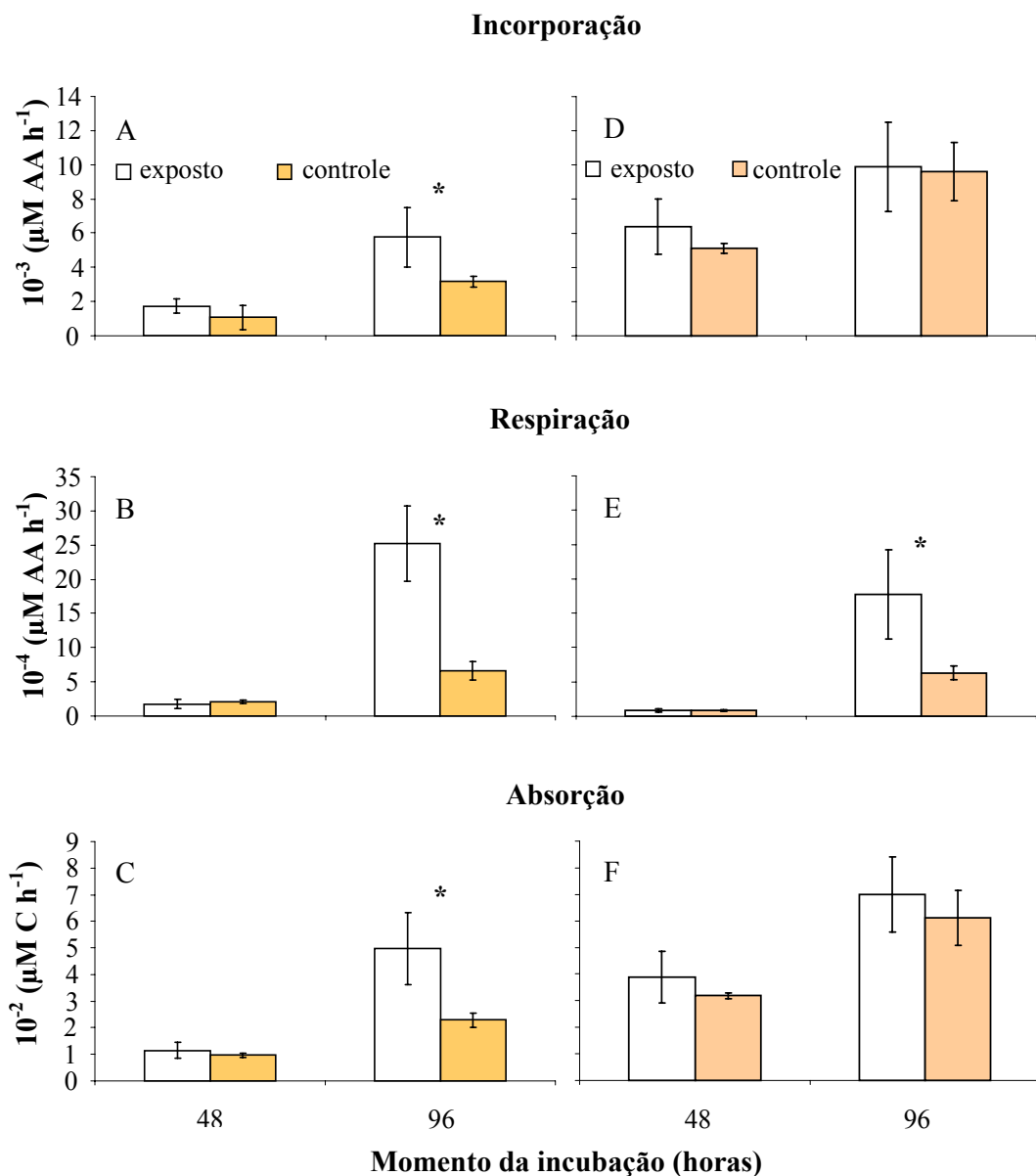


Figura 7: Taxas de (A) incorporação, (B) respiração e (C) absorção de histidina e (D) incorporação, (E) respiração e (F) absorção de leucina em 48 e 96 horas de incubação nas culturas de MOD alóctone. Os asteriscos marcam tempos nos quais houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre expostos e controle. As barras de erro representam os desvios-padrão das réplicas. Notar as diferenças de escala.

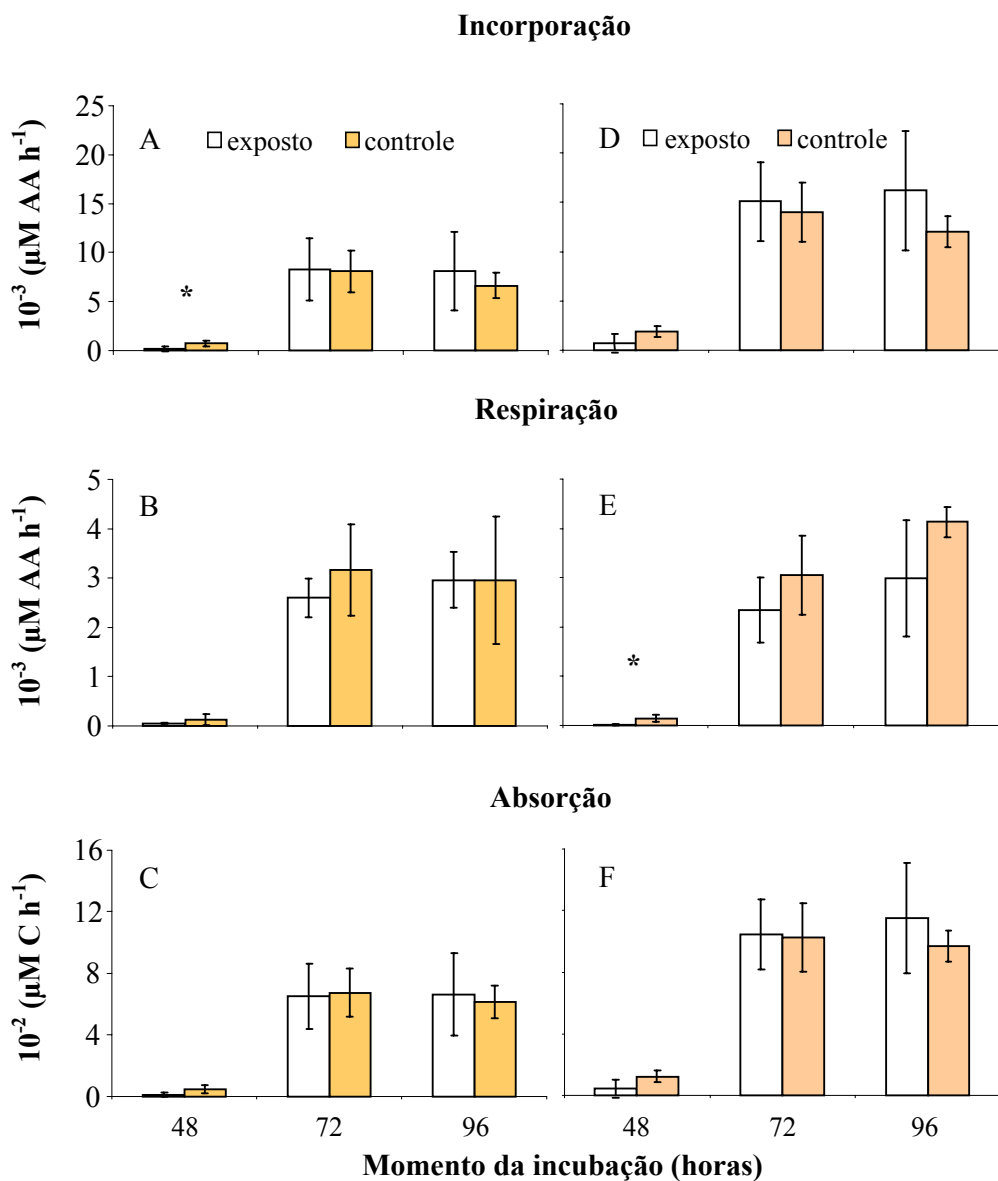


Figura 8: Taxas de (A) incorporação, (B) respiração e (C) absorção de histidina e (D) incorporação, (E) respiração e (F) absorção de leucina em 48, 72 e 96 horas de incubação nas culturas de MOD autóctone. Os asteriscos marcam tempos nos quais houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre expostos e controle. As barras de erro representam os desvios-padrão das réplicas. Notar as diferenças de escala.

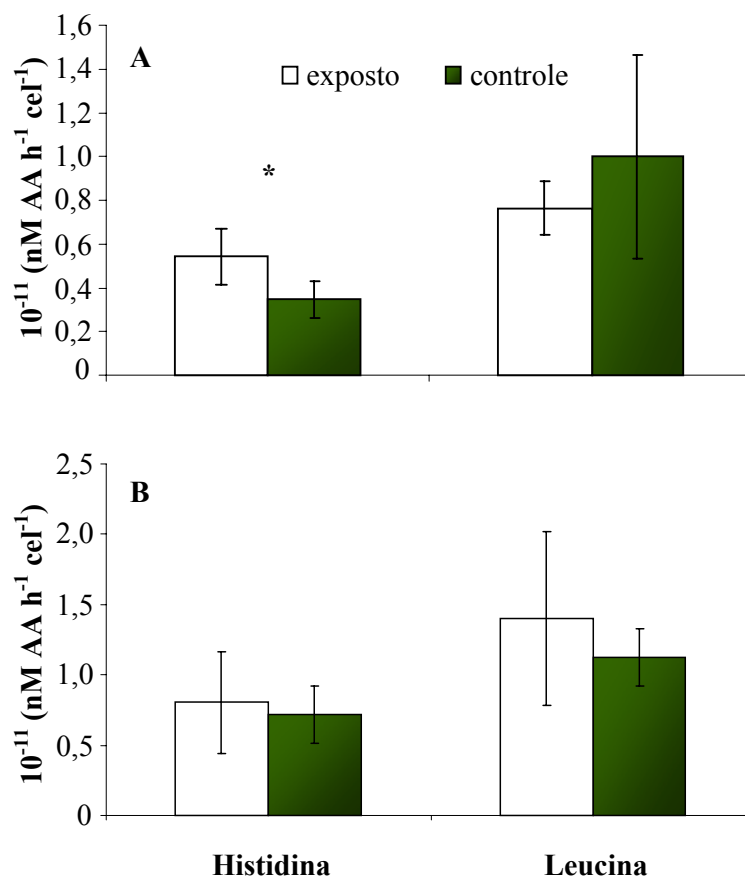


Figura 9: Taxas de absorção de histidina e leucina por célula em 96 horas de incubação nas culturas com MOD (A) alóctone e (B) autóctone. O asterisco indica que houve diferença significativa entre as amostras expostas e controle ($p < 0,05$). As barras de erro representam os desvios-padrão das réplicas.

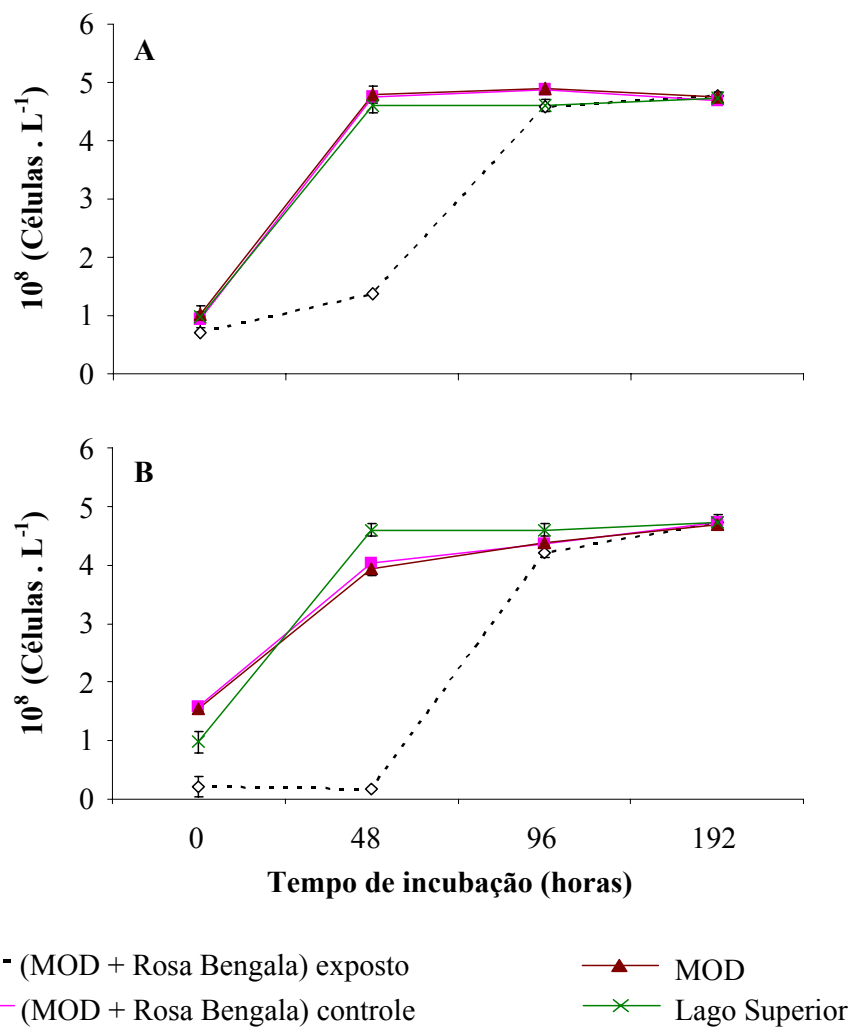


Figura 10: Densidade bacteriana ao longo das incubações com (A) MOD alóctone e (B) MOD autóctone nas amostras expostas apenas ao oxigênio singlete e controles. As barras de erro representam os desvios-padrão das réplicas.

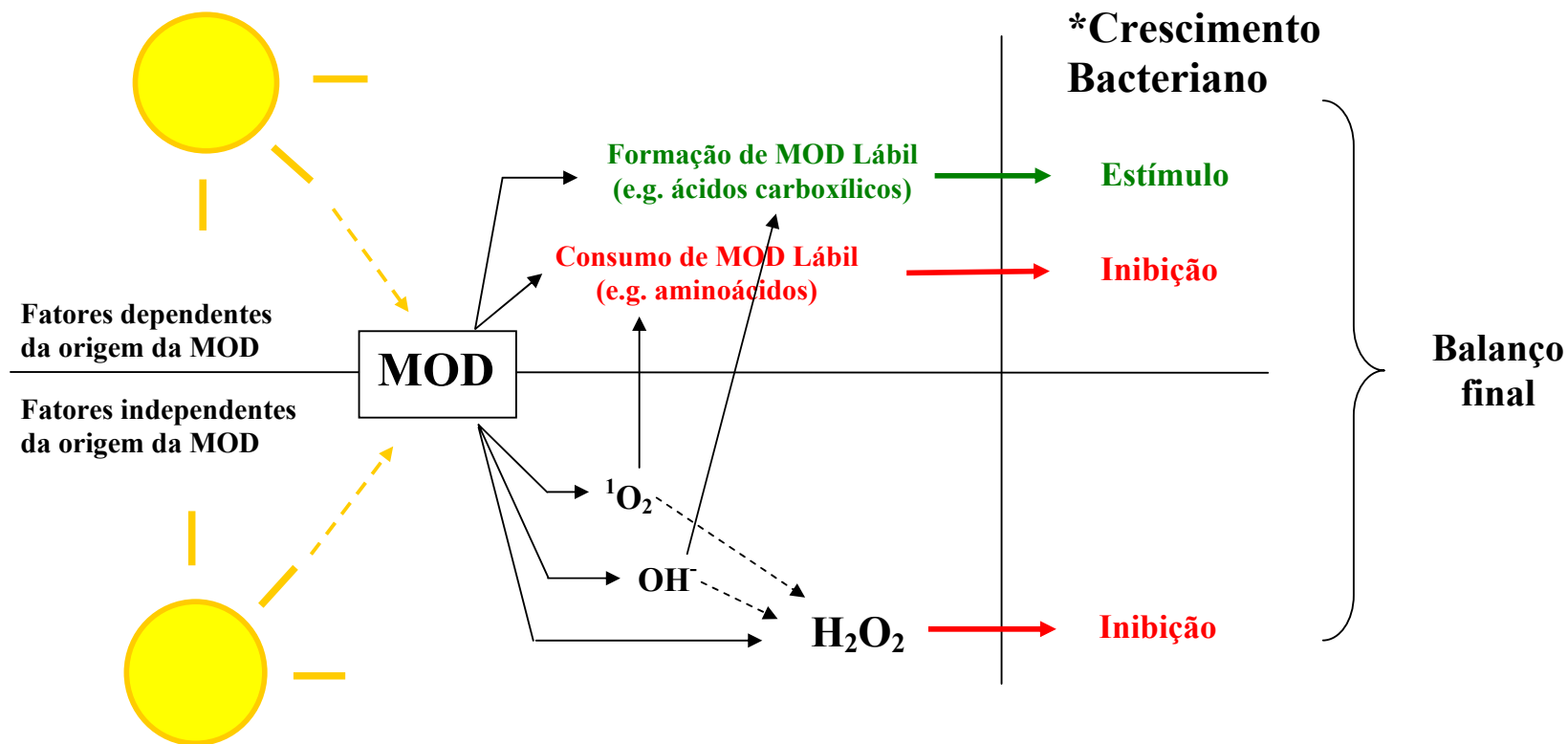


Figura 11: Modelo conceitual dos efeitos da foto-degradação da MOD para o crescimento bacteriano. Além da oxidação total da MOD, ocorre a produção de moléculas mais lábeis ou menos lábeis que as moléculas iniciais. Ao mesmo tempo, a foto-degradação estimula a produção de peróxidos de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singleto ($^1\text{O}_2$), radicais hidroxila (OH^-), entre outras espécies reativas de oxigênio. Tanto o $^1\text{O}_2$ quanto o OH^- decaem formando mais H_2O_2 , que é tóxico às bactérias, inibindo-as até a sua decomposição. A interação do $^1\text{O}_2$ com a MOD resulta na degradação de aminoácidos e do OH^- resulta na formação de ácidos carboxílicos (compostos bio-reativos). O resultado final do crescimento bacteriano será um balanço entre todas as interações, que deve variar de acordo com a composição e características químicas das moléculas que compõem a MOD, bem como sua origem, intensidade das radiações solares, além da composição da comunidade bacteriana e a temperatura ambiental. * Outros microorganismos heterotróficos também devem responder da mesma maneira.

Discussão Geral

O processo de foto-degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) é um importante processo de decomposição e/ou alteração da MOD em ecossistemas aquáticos (JONSSON *et al.*, 2001). Esse processo consiste na absorção pela MOD, das radiações solares e sua conseqüente oxidação. Como produto dessas reações, pode ocorrer a oxidação total da MOD com liberação de moléculas inorgânicas (e.g. CO₂), oxidação parcial com a geração de moléculas de menor peso molecular (e.g. ácidos carboxílicos), complexação de moléculas de MOD formando outras de maior peso molecular (humificação), produção de espécies reativas de oxigênio (e.g. oxigênio singleto), dentre outros compostos (BERTILSSON & TRANVIK, 2000; SCULLY *et al.*, 2003; PULLIN *et al.*, 2004; PEREZ & SOMMARUGA, 2007). Podem ser destacados como os principais precursores dessas reações fatores como: a intensidade das radiações incidentes, a capacidade da MOD absorver energia luminosa (coloração/fluorescência da MOD), concentração de carbono orgânico dissolvido (COD; substrato para degradação) e a concentração de oxigênio na água (AMON & BENNER, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1996; GRANÉLI *et al.*, 1998; BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001a).

Estudando um gradiente de concentração e fontes de COD em 38 lagos, situados em altas latitudes (55°42'3 N – 71°16'0 N), BERTILSSON & TRANVIK (2000) mostraram relação positiva ($r^2 = 0,77$) entre as taxas de foto-degradação do COD e a radiação total absorvida por cada amostra (característica dependente da coloração da água). As lagoas costeiras tropicais do norte do Estado do Rio de Janeiro representam um gradiente de concentração de COD e coloração (FARJALLA *et al.*, 2001b). Alguns desses ambientes apresentam essas características (concentração de COD e coloração escura) equivalentes às mais altas já registradas na literatura (STEINBERG *et al.*, 2006), apresentando por isso, condições especiais para o fenômeno da foto-

degradação. As elevadas concentrações de COD e coloração (a_{430} ; ver Cap. 1) em alguns ecossistemas costeiros super-húmicos (e.g. Atoleiro) podem resultar em algumas limitações ao processo de foto-degradação, em detrimento ao já registrado na literatura. Os dados apresentados no capítulo 1 dessa tese mostram que, de maneira geral, as taxas de foto-oxidação nas lagoas costeiras apresentam relação significativa direta com a radiação incidente sobre as amostras (Fig. 4; Cap. 1), conforme proposto na literatura (BERTILSSON & TRANVIK, 2000). Entretanto, em ambientes super-húmicos, como o Atoleiro ($[\text{COD}] = 15,58 \mu\text{MC}$), a absorção da radiação luminosa pela MOD é muito intensa, em função da coloração escura, que com cerca de 20 mWcm^{-2} de radiação incidente nas amostras, é consumido mais de 80% de todo O_2 presente na água. Esse fato resulta na redução da intensidade do processo que passa a ser limitado pela concentração de O_2 (limitação estequiométrica).

Quanto maior a coloração da MOD, maior a absorção de energia solar e, conseqüentemente, maiores são as taxas de foto-degradação (e.g. GRANÉLI *et al.*, 1998; BERTILSSON & TRANVIK, 2000; FARJALLA *et al.*, 2001a). Logo, em ambientes cuja MOD apresenta a coloração mais clara, o aumento da coloração favorece o aumento das taxas potenciais de foto-oxidação, por maior disponibilização de substrato (GRANÉLI *et al.*, 1998; BERTILSSON & TRANVIK, 2000). Os experimentos de diluição da MOD, apresentados no capítulo 1 dessa tese, mostram que a coloração da água pode ter efeito ambíguo para as taxas de foto-degradação. Por exemplo, no Atoleiro, a partir da concentração de 6mMC a relação entre as taxas de foto-degradação e a concentração de COD é enfraquecida (Fig. 6a; Cap. 1). A partir dessa concentração, os valores de coloração da MOD (a_{430}) são muito altos e resultam no auto-sombreamento da MOD, reduzindo a eficiência da foto-degradação. Sendo assim, em ambientes de águas muito escuras (super-húmicos), o aumento da coloração

pode reduzir o potencial de foto-oxidação em função de intenso auto-sombreamento da MOD. Esse padrão foi confirmado estudando as características e as taxas de foto-oxidação de 20 lagoas costeiras que formam um gradiente de COD e coloração.

GRANÉLI *et al.* (1998) mostraram que algumas lagoas costeiras apresentam elevadas taxas de foto-degradação comparados com lagos suecos (região temperada) com concentrações de COD equivalente (e.g.: Lagoa Cabiúnas, COD = 15,5 mgL⁻¹ e taxa de foto-degradação = 0,6 mgL⁻¹; Lago Lindhultsgol, COD = 15,3 mgL⁻¹ e taxa de foto-degradação = 0,3 mgL⁻¹). De acordo com os cálculos desses autores, essas diferenças nas taxas de foto-oxidação entre os ambientes tropicais e temperados foram atribuídas às maiores intensidades de radiação solar nos trópicos (GRANÉLI *et al.*, 1998). Similarmente, os dados da presente tese (Cap. 1), compilados com dados da literatura (FARJALLA *et al.* no prelo), resultados de experimentos com metodologias equivalentes confirmaram a mesma tendência. Os ecossistemas tropicais, especificamente as lagoas costeiras do norte do Estado do Rio de Janeiro, apresentam as maiores taxas de foto-degradação já registradas na literatura, tendo a média significativamente maior que a média das taxas de foto-degradação dos ecossistemas temperados (Cap. 1; Fig. 8). Entretanto, diferente do apresentado por GRANÉLI *et al.* (1998), ficou claro que o COD nas lagoas costeiras tropicais apresenta maior foto-reatividade que nos ecossistemas temperados, além da maior disponibilidade das radiações solares (FARJALLA *et al.*, no prelo; Anexo 1).

As taxas de foto-degradação estão suscetíveis à mudanças sazonais de variáveis ambientais, tais como reportados acima (intensidade luminosa, concentração de COD, etc). Estudando dois lagos na região temperada do Globo Terrestre, LINDELL *et al.* (2000) registraram as maiores taxas de foto-degradação potenciais do COD no final do inverno ou início da primavera, apesar das baixas incidências das radiações solares

nesses períodos. Esses autores argumentaram que o aumento nas taxas de foto-degradação nesses períodos é resultante da entrada de COD recente (do inglês “fresh DOC”) que é mais foto-reativo que o COD já exposto anteriormente à foto-degradação. Essa explicação se deve ao fato de que no inverno, a homogeneização da temperatura (em torno de 4°C) na coluna d’água, resulta no ressurgimento de COD pouco degradado, antes limitado ao hipolímnio, escuro, de lagos profundos. Já na primavera, a entrada de COD recente ocorre através do degelo que carrega detritos recém formados nas bacias de drenagem, ricos em COD colorido, aumentando o substrato para a foto-degradação (LINDELL *et al.*, 2000). Sendo assim, esses autores identificaram um padrão de pulsos para a dinâmica sazonal da foto-degradação em lagos temperados, regulado pela variação sazonal climática.

Na região tropical, a dinâmica sazonal de foto-degradação tem um padrão de pulsos, assim como mostrado para a região temperada, acima citado. Entretanto, os pulsos não são determinados pela sazonalidade das estações do ano. Conforme mostrado no capítulo 2, nas lagoas costeiras, as entradas de COD fresco nos ecossistemas são determinadas pela periodicidade das chuvas. Após o período seco de acumulação de liteira, ocorre lixiviação massiva com conseqüente entrada de carbono de origem húmica. Essas entradas de COD em sinergia com as elevadas intensidades de radiação solar do verão nos trópicos resultaram nas maiores taxas de foto-degradação já registradas na literatura (Fig. 8; Cap. 1; Fig. 2b; Cap. 2), conforme discutido acima. Na Amazônia, também foi observado o padrão sazonal relacionado à pluviosidade para rios e lagos (AMADO *et al.*, 2006). Entretanto, para rios maiores e lagos de inundação, a dinâmica também é influenciada pelo pulso de inundação, determinado pelo degelo dos Andes. A partir desses dados, foi proposto um modelo teórico de pulsos de entrada de COD, seguido de picos máximos de foto-degradação

ou foto-reatividade. Posteriormente ao pico, essas variáveis decaem ao longo do período de um ano, em função da decomposição do COD, até o próximo evento de entrada. Esse modelo de pulsos é então determinado pela dinâmica sazonal das chuvas e pulso hidrológico nos trópicos (Fig. 3; Cap. 2).

Diferentes fontes de MOD apresentam diferentes reatividades aos processos de degradação. De maneira geral, a MOD de origem húmica apresenta maior foto-reatividade em relação à MOD de origem algal (BERTILSSON & TRANVIK, 2000). Esse fenômeno é explicado pelo fato da MOD de origem húmica apresentar grandes quantidades de cromóforos, que lhe conferem coloração escura, tornando-a capaz de absorver e interagir com as radiações solares. A degradação bacteriana, por sua vez, apresenta padrão inverso; MOD de origem húmica é menos bio-reativa em comparação com a MOD de origem algal (AMADO *et al.*, 2006; AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). Isso se deve ao fato da MOD de origem algal apresentar compostos de menor complexidade e maior aproveitamento energético, como açúcares, em relação à MOD de origem húmica (COLE, 1982).

A alternância da fonte de COD em um lago amazônico foi responsável por alterações sazonais no metabolismo bacteriano (FARJALLA *et al.*, 2006). No lago Batata, ambiente no qual foi desenvolvido aquele estudo, durante o período de águas altas o COD do lago é dominado por COD alóctone, oriundo da floresta. Durante o período de águas baixas, o COD é dominado por COD de origem algal. Dessa forma, os autores mostraram que houve um favorecimento à produção bacteriana no período de dominância de COD algal (FARJALLA *et al.*, 2006). O mesmo padrão foi observado no mesmo lago, alguns anos depois em experimentos nos quais o COD foi previamente submetido à foto-degradação (AMADO *et al.*, 2006). Por outro lado, ao contrário das bactérias, a foto-degradação foi mais efetiva no período de dominância

da MOD alóctone. Assim, a foto-degradação e a bio-degradação da MOD apresentaram ação complementar ao longo do pulso hidrológico. Com a alternância de fontes de COD, as taxas de degradação total da MOD no lago mantiveram-se semelhantes ao longo do ano. Entretanto, no período de águas baixas, a degradação era dominada pela degradação bacteriana, enquanto que no período de águas altas, era dominado pela foto-degradação (AMADO *et al.*, 2006).

Além do seu papel chave separadamente, a foto-degradação e a degradação bacteriana apresentam interações importantes para a decomposição da MOD em ecossistemas aquáticos. Diversos trabalhos registraram o aumento da bio-degradação da MOD, após sua prévia exposição à foto-degradação (e.g. LINDELL *et al.*, 1995). Por outro lado, alguns estudos já registraram a redução da degradação biológica após a foto-degradação da MOD (e.g. OBERNOSTERER *et al.*, 2001). TRANVIK & BERTILSSON (2001), estudando 30 lagos temperados concluíram que quando as algas são a principal fonte de COD, o efeito da foto-degradação é a redução da produção bacteriana. Por outro lado, quando a principal fonte de MOD são os vegetais superiores de origem terrestre, o efeito da foto-degradação é o estímulo da produção bacteriana. Algumas hipóteses foram formuladas para explicar esses resultados, mas nenhum resultado conclusivo foi apresentado. O estímulo ao crescimento bacteriano na MOD húmica foi atribuída à liberação de compostos mais lábeis que os iniciais, como ácidos carboxílicos (PULLIN *et al.*, 2004). Por outro lado, foram levantadas três hipóteses para a inibição do crescimento bacteriano após a foto-degradação de MOD de origem algal: (1) produção de compostos mais refratários que os iniciais, foto-humificação (PEREZ & SOMMARUGA, 2007); (2) foto-consumo de compostos bio-disponíveis (COTNER & BIDDANDA, 2002) e, (3) produção de compostos tóxicos às bactérias como peróxidos de hidrogênio ou outras espécies reativas de

oxigênio (FARJALLA *et al.*, 2001a; PAUL *et al.*, 2004). Ainda, TRANVIK & KOKALJ (1998) mostraram que em misturas de MOD algal com MOD húmica a foto-degradação resultava em inibição do crescimento bacteriano, em função de alguma interação entre as duas fontes.

COTNER & BIDDANDA (2002) sugeriram que por a foto-degradação e a bio-degradação serem capazes de degradar grupos similares de moléculas orgânicas, ambos os processos poderiam competir pela degradação do COD. OBERNOSTERER & BENNER (2004) em experimentos de foto-degradação e degradação bacteriana seqüenciais, registraram que cerca de 15% do COD em um ecossistema húmico, estaria disponível tanto para foto-degradação quanto para bio-degradação. Com isso, os autores sugeriram que os dois processos competem por parte da MOD. Entretanto, no mesmo experimento foi verificado que 22% do COD só foi degradado pelas bactérias, em função de foto-transformações sofridas pela MOD previamente. Nesse caso, o balanço entre as interações resulta no estímulo de 7% da degradação da MOD, ao invés da competição sugerida. Entretanto, esse resultado mostra a disponibilidade dupla de certo grupo de moléculas da MOD, apesar do estímulo global à degradação. Um ponto importante para ser ressaltado é o fato de que os experimentos de foto-degradação eram feitos por longos períodos de tempo, até que não fossem mais detectadas mudanças no COD, antes da MOD ser, finalmente, exposta às bactérias; e vice-versa. Dessa forma, parte da MOD que fosse reativa a ambos os processos pode nunca ter sido exposta ao outro processo. Por isso, esse resultado pode não reproduzir fielmente o que ocorre *in situ*, uma vez que durante os dias a MOD pode ser exposta aos dois processos simultaneamente.

Estudando os efeitos das interações entre os processos de foto-degradação e bio-degradação em 2 lagoas costeiras com diferentes fontes de MOD (húmica e algal)

encontramos resultados que corroboram o encontrado por TRANVIK & BERTILSSON (2001) em relação à fonte de MOD (AMADO *et al.*, 2007; Cap. 3). A foto-degradação da MOD alóctone resultou em estímulo à degradação bacteriana, enquanto que na MOD autóctone o resultado foi oposto. Ainda, a atividade bacteriana resultou em estímulo à foto-degradação, independentemente da origem do COD. Esse último resultado está de acordo com outros trabalhos (e.g. NIETO-CID *et al.*, 2006) que registraram a liberação de compostos coloridos pelas bactérias. Analisando o balanço entre os dois processos nas lagoas costeiras, constatamos que a interação foi positiva na lagoa húmica, mostrando que 22% do COD mineralizado foi resultado das interações. Por outro lado, registramos que na lagoa com MOD de origem algal, cerca de 2% do COD (1,87 μM) era reativo aos dois processos, resultando em competição, entre a foto-degradação e a degradação bacteriana, pela MOD nesse ecossistema (Fig. 2; Cap. 3). Sugerimos que 5 aminoácidos (cisteína, histidina, metionina, tirosina e triptofano) que são reativos ao oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), molécula formada pela foto-degradação da MOD, podem ser compostos chave para o efeito inibitório da foto-degradação à degradação bacteriana, uma vez que também são importantes fontes de nitrogênio para as bactérias. Vale ressaltar, que, de acordo com estimativas, a concentração desses aminoácidos na lagoa estudada deve variar entre 1,56 e 4,29 μM C. Esse valor engloba os 1,87 μM C estimados como sendo a quantidade de COD responsável pela competição registrada (Fig. 2, Cap. 3).

Em estudo de foto-degradação seguida de bio-degradação em meio enriquecido com aminoácidos, verificamos que a foto-degradação desses aminoácidos realmente pode reduzir o metabolismo bacteriano (Figs. 3 e 4; Cap. 4). Quando experimento semelhante foi realizado em amostras com concentrações naturais de COD ($\sim 10 \text{ mg.L}^{-1}$) e aminoácidos, verificamos que o crescimento bacteriano foi estimulado pela

foto-degradação em amostra de MOD alóctone e não o alterou em amostra de MOD autóctone. Apesar disso, na cultura de MOD alóctone foi detectada a redução significativa das concentrações de histidina (aminoácido foto-degradável) e não alteração nas concentrações de leucina (aminoácido não foto-degradável). Dessa forma, em concentrações naturais, a foto-degradação da histidina não foi suficiente para anular o efeito positivo de liberação de compostos lábeis da MOD. Além dos efeitos acima citados, vale destacar que em ambas as fontes de MOD, o crescimento bacteriano foi retardado em cerca de 48 horas nas amostras expostas em relação ao controle, apesar do crescimento final ter sido maior ou igual para as fontes alóctone e autóctone, respectivamente (Fig. 5; Cap. 4).

O oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$) é uma molécula muito instável de O_2 em estado excitado, que se forma pela interação das radiações solares com a MOD colorida (ZEPP *et al.*, 1977). O $^1\text{O}_2$ é bastante seletivo em suas reações e ataca proteínas, DNA, aminoácidos entre outras moléculas e, pode ser responsável pela produção indireta de grande parte dos peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) produzidos pela foto-degradação (e.g. BARREIROS & DAVID, 2006). CORY *et al.* (submetido), estudando as mesmas fontes de MOD do presente estudo (SRFA e PLFA) verificaram que até 50% de todo H_2O_2 foto-produzido pode ser formado via degradação pelo $^1\text{O}_2$. Por fim, inúmeros estudos já mostraram que os H_2O_2 são tóxicos e inibem o crescimento bacteriano enquanto presentes na água (FARJALLA *et al.*, 2001a; ANESIO *et al.*, 2005).

No presente trabalho, quando a MOD foi exposta exclusivamente à degradação pelo $^1\text{O}_2$, não foi detectada nenhuma alteração na disponibilidade biológica total da MOD, independente de sua origem (Fig. 10; Cap. 4). Entretanto, foi registrado um atraso no crescimento das bactérias em torno de 48 horas em relação aos controles,

assim como nos outros experimentos citados acima (Figs. 5 e 10; Cap. 4). Logo, esse efeito retardador do crescimento bacteriano parece estar relacionado com a dinâmica do $^1\text{O}_2$ na água, já que esse é o fator em comum entre os diferentes experimentos. Como o decaimento do $^1\text{O}_2$ ocorre em frações de segundos após sua formação (40 – 70 μs ; PAUL *et al.*, 2004), o efeito retardador do metabolismo bacteriano deve estar relacionado à formação de H_2O_2 . Efeito semelhante é causado pela presença de radicais hidroxila (HO^\cdot). Esse radical também pode resultar na formação de H_2O_2 e, que resultou no atraso de 72 horas do crescimento de uma cultura de bactérias e estimulou a respiração bacteriana (PULLIN *et al.*, 2004).

Por fim, propomos que as interações entre a foto-degradação e a degradação bacteriana da MOD é resultante de um balanço entre dois mecanismos que atuam de maneira desacoplada. O primeiro mecanismo é a produção ou consumo de moléculas lábeis de um processo para o outro (Cap. 3). O segundo mecanismo está relacionado à dinâmica de produção e decaimento de $^1\text{O}_2$ (e outras ERO) e H_2O_2 , que devido à sua toxicidade, provocam o retardamento do crescimento das bactérias durante o dia, em ecossistemas aquáticos (Fig. 11; Cap. 4 - Modelo teórico).

Conclusões Finais:

- ✓ Em relação à primeira hipótese da tese “**As taxas de foto-oxidação são mais altas na região tropical que na região temperada**” concluímos que a mesma foi corroborada. Explicada pelas altas incidências de radiação solar, maior concentração e disponibilidade de COD.
- ✓ Em relação à segunda hipótese da tese “**A origem da MOD (autóctone ou alóctone) é o fator determinante do resultado das relações entre a foto-oxidação e a degradação bacteriana em função do balanço entre produção e consumo de moléculas mais disponíveis para o**

metabolismo bacteriano” concluímos que a mesma foi parcialmente corroborada. Acrescento que a dinâmica de formação e decaimento de peróxidos também é relevante, mas independente da origem da MOD.

- ✓ Concluímos ainda que o regime anual de chuvas é o principal fator controlador da dinâmica da foto-reatividade do COD em ecossistemas tropicais, gerando um padrão de pulsos com periodicidade de um ano hidrológico.
- ✓ Por fim, sugerimos que os efeitos da foto-degradação da MOD para as bactérias são o resultado de um balanço entre a produção ou consumo direto, pelas radiações luminosas, de compostos bio-disponíveis somado à produção e consumo de compostos lábeis pelo $^1\text{O}_2$ (e possivelmente por outras espécies reativas de oxigênio), além do seu efeito tóxico, negativo, direto e/ou indireto pela produção de peróxidos.

Referências

- AMADO, A. M., COTNER, J. B., SUHETT, A. L., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L. & FARJALLA, V. F., 2007, "Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic ecosystems", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 49, pp. 25-34.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A. & BOZELLI, R. L., 2003, "DOC photo-oxidation in clear water Amazonian aquatic ecosystems", *Amazoniana*, v. 17, pp. 513-523.
- AMADO, A. M., FARJALLA, V. F., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 8-17.
- AMON, R. M. W. & BENNER, R., 1996, "Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system", *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, v. 60, pp. 1783-1792.
- ANDREOZZI, R., CAPRIO, V., INSOLA, A., MAROTTA, R. & SANCHIRICO, R., 2000, "Advanced oxidation processes for the treatment of mineral oil-contaminated wastewaters", *Water Research*, v. 34, pp. 620-628.
- ANESIO, A. M., DENWARD, C. M. T., TRANVIK, L. J. & GRANALI, W., 1999, "Decreased bacterial growth on vascular plant detritus due to photochemical modification", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 17, pp. 159-165.
- ANESIO, A. M. & GRANALI, W., 2003, "Increased photoreactivity of DOC by acidification: Implications for the carbon cycle in humic lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 48, pp. 735-744.

- ANESIO, A. M., GRANÉLI, W., AIKEN, G. R., KIEBER, D. J. & MOPPER, K., 2005, "Effect of humic substance photodegradation on bacterial growth and respiration in lake water", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, pp. 6267-6275.
- BARREIROS, A. L. B. S. & DAVID, J. P., 2006, "Estresse oxidativo: relação entre geração espécies reativas e defesa do organismo ", *Química Nova*, v. 29, pp. 113-123.
- BENNER, R. & BIDDANDA, B., 1998, "Photochemical transformations of surface and deep marine dissolved organic matter: Effects on bacterial growth", *Limnology and Oceanography*, v. 43, pp. 1373-1378.
- BERTILSSON, S., STEPANAUSKAS, R., CUADROS-HANSSON, R., GRANÉLI, W., WIKNER, J. & TRANVIK, L., 1999, "Photochemically induced changes in bioavailable carbon and nitrogen pools in a boreal watershed", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 19, pp. 47-56.
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L., 2000, "Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 45, pp. 753-762.
- BIDDANDA, B. & COTNER, J., 2003, "Enhancement of dissolved organic matter bioavailability by sunlight and its role in the carbon cycle of lakes Superior and Michigan", *Journal of Great Lakes Research*, v. 29, pp. 228-241.
- BOELEN, P., VELDHUIS, M. J. W. & BUMA, A. G. J., 2001, "Accumulation and removal of UVBR-induced DNA damage in marine tropical plankton subjected to mixed and simulated non-mixed conditions", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 265-274.
- BOTHWELL, M. L., SHERBOT, D. M. J. & POLLOCK, C. M., 1994, "Ecosystem Response to Solar Ultraviolet-B Radiation - Influence of Trophic-Level Interactions", *Science*, v. 265, pp. 97-100.

- COLE, J. J., 1982, "Interactions between bacteria and algae in aquatic systems." *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 13, pp. 291-314.
- COLE, J. J., CARACO, N. F., KLING, G. W. & KRATZ, T. K., 1994, "Carbon-Dioxide Supersaturation in the Surface Waters of Lakes", *Science*, v. 265, pp. 1568-1570.
- COTNER, J. B. & BIDDANDA, B. A., 2002, "Small players, large role: Microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems", *Ecosystems*, v. 5, pp. 105-121.
- FARJALLA, V. F., AMADO, A. M. & SUHETT, A. L., no prelo, "Dissolved humic substances – Reviewing DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems", *Environmental Science & Pollution Research*, v., pp. 1-10.
- FARJALLA, V. F., ANESIO, A. M., BERTILSSON, S. & GRANALI, W., 2001a, "Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 187-195.
- FARJALLA, V. F., AZEVEDO, D. A., ESTEVES, F. A., BOZELLI, R. L., ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A., 2006, "Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake", *Microbial Ecology*, v. 52, pp. 334-344.
- FARJALLA, V. F., FARIA, B. M., ESTEVES, F. A. & BOZELLI, R. L., 2001b, Bacterial density and biomass, and relations with abiotic factors, in 14 coastal lagoons of Rio de Janeiro State. In: Faria, B. M., Farjalla, V. F. & Esteves, F. A. (Eds) *Oecologia Brasiliensis: Aquatic Microbial Ecology in Brazil*. pp 65-76. Ed. UFRJ, Rio de Janeiro
- GELLER, A., 1986, "Comparison of mechanisms enhancing biodegradability of refractory lake water constituents", *Limnology and Oceanography*, v. 31, pp. 755-764.

- GENNINGS, C., MOLOT, L. A. & DILLON, P. J., 2001, "Enhanced photochemical loss of organic carbon in acidic waters", *Biogeochemistry*, v. 52, pp. 339-354.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M., DE FARIA, B. M. & ESTEVES, F. D., 1998, "Photoproduction of dissolved inorganic carbon in temperate and tropical lakes - dependence on wavelength band and dissolved organic carbon concentration", *Biogeochemistry*, v. 43, pp. 175-195.
- GRANÉLI, W., LINDELL, M. & TRANVIK, L., 1996, "Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content", *Limnology and Oceanography*, v. 41, pp. 698-706.
- HAAG, W. R. & HOIGNE, J., 1986, "Singlet oxygen in surface waters. 3. Photochemical formation and steady-state concentrations in various types of waters", *Environ. Sci. Technol.*, v. 20, pp. 341-348.
- JONSSON, A., MEILI, M., BERGSTROM, A. K. & JANSSON, M., 2001, "Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Ortrasket, N. Sweden)", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 1691-1700.
- KEIL, R. G. & KIRCHMAN, D. L., 1994, "Abiotic transformations of labile protein to refractory protein in sea water", *Marine Chemistry*, v. 45, pp. 187-196.
- KIEBER, D. J., MCDANIEL, J. & MOPPER, K., 1989, "Photochemical Source of Biological Substrates in Sea-Water - Implications for Carbon Cycling", *Nature*, v. 341, pp. 637-639.
- KIEBER, R. J., HYDRO, L. H. & SEATON, P. J., 1997, "Photooxidation of triglycerides and fatty acids in seawater: Implication toward the formation of marine humic substances", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 1454-1462.

- KIEBER, R. J., ZHOU, X. L. & MOPPER, K., 1990, "Formation of Carbonyl-Compounds from Uv-Induced Photodegradation of Humic Substances in Natural-Waters - Fate of Riverine Carbon in the Sea", *Limnology and Oceanography*, v. 35, pp. 1503-1515.
- KUBAT, P., CIVIS, S., MUCK, A., BAREK, J. & ZIMA, J., 2000, "Degradation of pyrene by UV radiation", *Journal of Photochemistry and Photobiology a-Chemistry*, v. 132, pp. 33-36.
- LINDELL, M. (1996) Effects of sunlight on organic matter and bacteria in lakes. Ecology/Limnology (p 136). University of Lund, Lund/Sweden
- LINDELL, M. J., GRANALI, H. & BERTILSSON, S., 2000, "Seasonal photoreactivity of dissolved organic matter from lakes with contrasting humic content", *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 57, pp. 875-885.
- LINDELL, M. J., GRANALI, W. & TRANVIK, L. J., 1995, "Enhanced Bacterial-Growth in Response to Photochemical Transformation of Dissolved Organic-Matter", *Limnology and Oceanography*, v. 40, pp. 195-199.
- MOPPER, K. & ZHOU, X. L., 1990, "Hydroxyl Radical Photoproduction in the Sea and Its Potential Impact on Marine Processes", *Science*, v. 250, pp. 661-664.
- MOPPER, K., ZHOU, X. L., KIEBER, R. J., KIEBER, D. J., SIKORSKI, R. J. & JONES, R. D., 1991, "Photochemical Degradation of Dissolved Organic-Carbon and Its Impact on the Oceanic Carbon-Cycle", *Nature*, v. 353, pp. 60-62.
- MORAN, M. A. & ZEPP, R. G., 1997, "Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter", *Limnology and Oceanography*, v. 42, pp. 1307-1316.

- NIETO-CID, M., ALVAREZ-SALGADO, X. A. & PEREZ, F. F., 2006, "Microbial and photochemical reactivity of fluorescent dissolved organic matter in a coastal upwelling system", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 1391-1400.
- OBERNOSTERER, I. & BENNER, R., 2004, "Competition between biological and photochemical processes in the mineralization of dissolved organic carbon", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 117-124.
- OBERNOSTERER, I., SEMPERE, R. & HERNDL, G. J., 2001, "Ultraviolet radiation induces reversal of the bioavailability of DOM to marine bacterioplankton", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 24, pp. 61-68.
- PAUL, A., HACKBARTH, S., VOGT, R. D., RODER, B., BURNISON, B. K. & STEINBERG, C. E. W., 2004, "Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin", *Photochemical & Photobiological Sciences*, v. 3, pp. 273-280.
- PEREZ, M. T. & SOMMARUGA, R., 2007, "Interactive effects of solar radiation and dissolved organic matter on bacterial activity and community structure", *Environmental Microbiology*, v. 9, pp. 2200-2210.
- PULLIN, M. J., BERTILSSON, S., GOLDSTONE, J. V. & VOELKER, B. M., 2004, "Effects of sunlight and hydroxyl radical on dissolved organic matter: Bacterial growth efficiency and production of carboxylic acids and other substrates", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 2011-2022.
- ROHDE, K., 2005, "Cellular automata and ecology", *Oikos*, v. 110, pp. 203-207.
- SCULLY, N. M., COOPER, W. J. & TRANVIK, L. J., 2003, "Photochemical effects on microbial activity in natural waters: the interaction of reactive oxygen species and dissolved organic matter", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 46, pp. 353-357.

STEINBERG, C. E. W., KAMARA, S., PROKHOTSKAYA, V. Y., MANUSADZIANAS, L., KARASYOVA, T. A., TIMOFEYEV, M. A., JIE, Z., PAUL, A., MEINELT, T., FARJALLA, V. F., MATSUO, A. Y. O., BURNISON, B. K. & MENZEL, R., 2006, "Dissolved humic substances - ecological driving forces from the individual to the ecosystem level?" *Freshwater Biology*, v. 51, pp. 1189-1210.

STROME, D. J. & MILLER, M. C., 1978, "Photolytic changes in dissolved humic substances", *Verhandlungen Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie*, v. 20, pp. 1248-1254.

SUHETT, A. L., AMADO, A. M., BOZELLI, R. L., ESTEVES, F. A. & FARJALLA, V. F., 2006, "O papel da foto-degradação do carbono orgânico dissolvido (COD) nos ecossistemas aquáticos", *Oecologia Brasiliensis*, v. 10, pp. 186-204.

SUHETT, A. L., MACCORD, F., AMADO, A. M., FARJALLA, V. F. & ESTEVES, F. A. (2004) Photodegradation of dissolved organic carbon in humic coastal lagoons (RJ, Brazil). In: Martin-Neto, L. (Ed) XII International Meeting of International Humic Substances Society. São Pedro, SP

TRANVIK, L. & KOKALJ, S., 1998, "Decreased biodegradability of algal DOC due to interactive effects of UV radiation and humic matter", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 14, pp. 301-307.

TRANVIK, L. J., 1998, Degradation of dissolved organic matter in humic waters by bacteria. In: Hensen, D. O. & Tranvik, L. J. (Eds) Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry. pp 259-283. Ed. Springer-Verlag, Berlin

TRANVIK, L. J. & BERTILSSON, S., 2001, "Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth", *Ecology Letters*, v. 4, pp. 458-463.

- TURUNEN, M., HELLER, W., STICH, S., SANDERMANN, H., SUTINEN, M. L. & NOROKORPI, Y., 1999, "The effects of UV exclusion on the soluble phenolics of young Scots pine seedlings in the subarctic", *Environmental Pollution*, v. 106, pp. 219-228.
- WANGBERG, S. A., WULFF, A., NILSSON, C. & STAGELL, U., 2001, "Impact of UV-B radiation on microalgae and bacteria: a mesocosm study with computer modulated UV-B radiation addition", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 25, pp. 75-86.
- WETZEL, R. G., 1992, "Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems", *Hydrobiologia*, v. 229, pp. 181-198.
- WETZEL, R. G., HATCHER, P. G. & BIANCHI, T. S., 1995, "Natural photolysis by ultraviolet irradiance of recalcitrant dissolved organic matter to simple substrates for rapid bacterial metabolism", *Limnology and Oceanography*, v. 40, pp. 1369-1380.
- YAKOVLEVA, I. M. & TITLYANOV, E. A., 2001, "Effect of high visible and UV irradiance on subtidal *Chondrus crispus*: stress, photoinhibition and protective mechanisms", *Aquatic Botany*, v. 71, pp. 47-61.
- ZEPP, R. G., WOLFE, N. L., BAUGHMAN, G. L. & HOLLIS, R. C., 1977, "Singlet Oxygen in Natural-Waters", *Nature*, v. 267, pp. 421-423

Anexo 1

Mini-Review

Dissolved humic substances – Reviewing DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems

Vinicius F. Farjalla^{1,2*}, André M. Amado^{1,3}, Albert L. Suhett^{1,3}

¹Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, CCS, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, 21941-590, Brazil

²Núcleo em Ecologia e Desenvolvimento Sócio-Ambiental de Macaé, Macaé, RJ, POBox 119331, Brazil

³Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGE/UFRJ)

* Corresponding author (farjalla@biologia.ufrj.br)

DOI:

Abstract

Goal, Scope and Background. Dissolved humic substances (HS) usually comprise 50-80% of dissolved organic carbon (DOC) in aquatic ecosystems. From a trophic and biogeochemical perspective, HS had been considered to be highly refractory for a long time and supposed to accumulate in the water. The upsurge in the microbial loop paradigm and the studies on HS photo-degradation into labile DOC gave rise to the belief that microbial processing of DOC should sustain aquatic food-webs in humic waters. However, this has not been extensively supported by the literature, since most of HS and their photo-products are often oxidized by microbes through respiration in most nutrient-poor humic waters.

Methods. We based our review on classical and recent findings on the field of biogeochemistry and microbial ecology, highlighting some odd results from highly humic Brazilian tropical lagoons, which can reach up to 170 mg C•L⁻¹.

Results. The data reviewed do not support the microbial loop as an efficient energy transfer pathway in highly humic ecosystems. Highly humic tropical lagoons showed proportionally lower bacterial production rates and higher bacterial respiration rates (i.e., lower bacterial growth efficiency, BGE) than other lakes.

In addition, we found that some tropical humic ecosystems presented the highest DOC photo-chemical mineralization (PM) rates reported in the literature, exceeding up to 3-fold the rates reported for temperate humic ecosystems.

The sunlight action on DOC is positive to microbial consumption in humic waters, but little support is given to the enhancement of BGE.

Discussion. It seems, from the reviewed data, that carbon and energy fluxes through microbial loop *per se* are probably not more important in highly humic ecosystems than other aquatic ones. This contradicts the current paradigm for humic-rich ecosystems, where the microbial loop was supposed to play its major trophic role.

We propose that the atypically high PM rates found in tropical, humic ecosystems are the result of a joint effect of the seasonal dynamic of allochthonous DOC input and the high sunlight incidence throughout the year.

Once the labile photo-chemical products are mostly respired by microbes in the nutrient-poor humic waters, bacterial consumption of HS photo-products is mostly channelled through microbial respiration, leading to low BGE. A conceptual model of the relationships among HS, microbes and sunlight is presented.

Conclusion. HS may be an important source of energy for aquatic bacteria in humic waters, but probably not as important as a substrate to bacterial growth and to aquatic food webs, as HS consumption is mostly channelled through microbial respiration. This seems to be specially the case of humic-rich, nutrient-poor ecosystems, where the microbial loop was supposed to play its major role. In the tropics, highly-humic ecosystems also present the highest PM rates reported in the literature. Finally, light and bacteria can cooperate in order to achieve total carbon degradation in highly humic aquatic ecosystems but with little effects on aquatic food webs.

Perspective. More detailed studies using C and N stable isotopes techniques and modelling approaches are still lacking to better understand the actual importance of HS to the carbon cycling in highly humic waters.

Keywords: Dissolved humic substances, dissolved organic carbon, bacterioplankton, microbial loop, photo-degradation, photo-oxidation, photo-chemical mineralization, tropical ecosystems, coastal lagoons

1 Introduction

Dissolved organic carbon (DOC) is a major carbon pool in the biosphere, and dissolved humic substances (HS) comprise 50-80% of DOC in aquatic ecosystems (Thurman 1985). Historically, the DOC pool was considered to be inert in aquatic ecosystems and its ecological functions were mostly related to iron and phosphorus bioavailability, pH control and light penetration (Steinberg 2003). In 1974 and 1983, Pomeroy and Azam and co-authors introduced the microbial loop concept in which DOC could enter planktonic food webs through incorporation into bacterial biomass and protozoa predation upon bacterial communities. Therefore, DOC, and more specifically HS, could be an important source of energy and matter to aquatic food webs.

Carbon cycle in the biosphere and the CO₂ flux between aquatic ecosystems and the atmosphere have recently received great attention due to the increase in the Greenhouse Effect. Planktonic bacteria, through aerobic respiration, may release a large amount of CO₂ in aquatic ecosystems. In addition, the sunlight action on chromophoric humic carbon may produce CO₂ in aquatic ecosystems, a process called photo-chemical mineralization. Bacterial and sunlight carbon mineralization, for instance, were responsible for 70% of total CO₂ production in the water column of a temperate humic lake (Jonsson et al. 2001). Therefore, bacterial respiration and DOC photo-chemical mineralization play a major role in the net heterotrophy pattern found in most aquatic ecosystems.

In the last few decades, several studies of bacterial DOC uptake and sunlight DOC photo-degradation were performed in temperate ecosystems, which resulted in several publications related to these processes (see del Giorgio and Cole 1998, Bertilsson and Tranvik 2000). Nutrient concentrations, temperature and the quality of DOC pool are major factors that limit bacterial DOC removal in aquatic ecosystems, and the DOC concentration, the quality of DOC pool and the amount of sunlight energy are major factors that regulate DOC photo-degradation. However, these processes were barely studied in tropical ecosystems that present higher temperatures as well as higher solar incidence throughout the year, two major limiting environmental conditions to bacterial and sunlight DOC degradation in temperate ecosystems. In addition, some tropical aquatic ecosystems are humic-rich and achieve more than 160 mg C·L⁻¹ of DOC concentrations (Farjalla et al. 2002, Suhett et al. 2004, Suhett et al. 2007), where high rates of bacterial metabolism and DOC photo-oxidation are likely expected.

Tropical coastal lagoons of Rio de Janeiro State (Brazil) are shallow aquatic ecosystems formed by regression and transgression of the sea level during the Quaternary Period (Fig. 1A-C). These lagoons, which are separated from the nearby ocean by a sand bar, show a gradient of salt and carbon concentration related to their genesis. Humic coastal lagoons are orthogonally orientated in relation to the coastal line, show low salt concentrations and are greatly influenced by the surrounding *restinga* mosaic vegetation (Fig. 1A-B). The *restinga* vegetation exports large amounts of organic matter to these lagoons through dead leaves decomposition on the sand soil, which results in high DOC concentration (10-160 mg C·L⁻¹), mainly composed by HS, and low water transparency. Bacterial and light DOC degradation in these tropical humic lagoons have been studied for the last years, resulting in some disperse publications (Graneli et al. 1998, Stepanauskas et al. 2000, Farjalla et al. 2002, Farjalla et al. 2006, Suhett et al. 2007, Amado et al. 2007). Reviewing these data and comparing the rates of bacterial and light degradation in tropical humic ecosystems to other aquatic ecosystems are the major goals of this mini-review. Furthermore, we also discuss the relation between these two processes to total DOC degradation (i.e. complementarity or competition).

Fig.1

2 Bacterial degradation

HS stands for a group of complex organic carbon molecules in which each specific compound is present at very low concentrations (McKnight and Aiken 1998, Steinberg 2003). Due to its high heterogeneity, the HS pool is considered to be more refractory to bacterial growth than other carbon sources, such as the algal-derived DOC (Søndergaard and Middelboe 1995, del Giorgio and Davis 2003, Farjalla et al. 2006). An extracellular enzymatic degradation step is required to bacterial uptake of humic-derived carbon, and a co-metabolism between more labile and abundant carbon molecules and HS has already been observed (de Haan 1974, Münster and de Haan 1998). However, because of their low degradation rates, HS may represent an important carbon source to bacterial metabolism in aquatic ecosystems (Tranvik 1998). Humic-rich aquatic ecosystems have a higher bacterial production potential than humic-poor ecosystems, because of the higher carbon concentration in the former. The humic carbon content may shift a phytoplanktonic-based aquatic food web into a bacteria-based aquatic food web with consequences to the balance between carbon emission and absorption in aquatic ecosystems (Jansson et al. 2000). Bacterial abundance and production would dominate the food webs and the energy flow in humic-rich aquatic ecosystems, where phytoplankton is usually limited by light penetration and inorganic nutrient competition with bacteria (Biddanda et al. 2001). Phytoplankton assemblages in these ecosystems are often dominated by mixotrophic flagellates that feed directly on bacterial cells (Jansson, 1998). Therefore, the carbon flux through bacteria (*i.e.* the microbial loop) should be more relevant to aquatic food webs in humic-rich ecosystems than in humic-poor ecosystems. However, the amount of humic carbon fixed by planktonic bacteria that reaches the higher trophic levels is still barely known (but see Cole et al. 2006).

Humic ecosystems are relatively carbon-rich and inorganic nutrient-poor ecosystems. Phosphorus is usually the main limiting nutrient to bacterial growth as well as to DOC uptake in aquatic ecosystems (Vadstein 2000), and humic lakes are not an exception. For instance, bacterial growth in several humic lakes in northern Sweden that vary in total carbon concentration (2 to 20 mg C·L⁻¹) is phosphorus-limited (Jansson et al. 1996, Jansson et al. 2000, Karlsson et al. 2001). We also observed a consistent phosphorus limitation in highly humic tropical lagoons in southeast Brazil (10 to 75 mg C·L⁻¹, Farjalla et al. 2002). In addition, the quality of bulk DOC seems to play an important role by regulating the bacterial production in humic lagoons. After phosphorus addition, sequential addition of glucose significantly enhanced bacterial production despite the initial high DOC concentrations (Farjalla et al. 2002). Jansson et al. (2006) proposed that DOC is allocated to growth when bacteria are limited by low DOC concentrations as well as to respiration when bacteria are phosphorus-limited. Therefore, we might expect similar bacterial production rates but higher rates of bacterial respiration in DOC-rich, phosphorus-poor aquatic humic ecosystems than in other aquatic ecosystems.

In situ bacterial production varied from 0.014 to 1.418 μg C·L⁻¹·h⁻¹ (N = 19, median = 0.139, 0.25-0.75% percentiles = 0.084-0.312, unpublished data and Farjalla et al. 2002) in Comprida lagoon, a highly-humic coastal lagoon in Rio de Janeiro State (Fig. 1A). In the same period, DOC concentration varied from 15.32 to 74.04 mg C·L⁻¹ (N = 19, median = 28.92, 0.25-0.75% percentiles = 23.27-59.16, Farjalla et al. 2002, Suhett et al. 2007). Bacterial production in this lagoon is in the range found in

the literature despite the high DOC concentrations, however it is closer to the lowest limit of bacterial production values observed in lakes in a review performed by del Giorgio and Cole (1998). Bacterial respiration is worldwide less studied, but it seems to be more conservative than bacterial production in aquatic ecosystems (del Giorgio and Cole 1998, Pace and Prairie 2005). In the same review, del Giorgio and Cole (1998) observed a positive correlation between bacterial production and respiration by using data from 237 paired analysis of bacteria production and respiration in the literature. Based on the two bacterial production x bacterial respiration alternative models proposed by them and on our values of *in situ* and *in vitro* measurements of bacterial production, we calculated significantly lower values of bacterial respiration than the ones we observed in three humic lagoons of Rio de Janeiro State (Fig. 2, see the data in Farjalla et al. 2002). Therefore, bacteria in this highly humic lagoons showed proportionally lower bacterial production rates and higher bacterial respiration rates than in other lakes (Fig. 2), which resulted in low bacterial growth efficiencies (10-14% during exponential growth, Farjalla et al. 2002).

Fig. 2

Firstly, we hypothesized that the relative importance of microbial loop would be higher in highly humic tropical ecosystems than elsewhere. Those ecosystems show high water temperatures throughout the year and high amounts of colored HS. Light penetration is limited to few centimeters and there is an uncoupling between algae DOC production and bacterial DOC uptake, since HS are an important extra carbon source to bacteria. Phytoplanktonic production and algae abundance are low but a typical food web, including piscivorous fishes can be found in these lagoons (Hollanda-Carvalho et al. 2003). Therefore, an alternative energy and matter pathway subsidizes higher trophic levels, however it does not seem to be through dissolved HS or planktonic bacteria. Bacterial production is relatively low in these ecosystems and only a minor fraction of total DOC flux through bacteria (Fig. 2). The small amount of DOC incorporated by bacteria is basically oxidized through respiration, and less than 15% is usually converted into bacterial biomass (Fig. 2). The carbon and energy fluxes through microbial loop *per se* are probably not more important in highly humic ecosystems than other aquatic ecosystems. Finally, we suggest that other organic carbon sources, such as terrestrial particulate organic carbon and aggregates, supply carbon and energy demand of higher trophic levels in these highly humic lakes, as experimentally observed in some temperate lakes (Cole et al. 2006).

3 Photo-chemical degradation

A portion of sunlight energy entering aquatic ecosystems is absorbed by DOC molecules in structures called chromophores. The energetic stabilization of the molecules leads to the degradation of these chromophores (photo-bleaching), rendering the molecule an excited state. These sensitized organic molecules, in turn, cause a series of chain reactions that lead to formation of several types of (photo-)oxidant species, such as hydroxyl ($\bullet\text{OH}$) radical, hydrogen peroxide (H_2O_2) and singlet oxygen ($^1\text{O}_2$) among others (for a thorough review, see Steinberg 2003). Besides photo-bleaching, these oxidants lead to the cleavage of organic molecules (see below) and ultimate photo-chemical mineralization to CO or CO₂ (Moran and Zepp 1997).

In general, photo-chemical mineralization (PM) is positively related to DOC concentration (Granéli et al. 1998, Bertilsson et al. 1999, Suhett et al. 2004) and to the amount of incident light (de Haan 1993, Farjalla et al. 2001). However, the ability of DOC to interact with sunlight (i.e. its absorptivity and photo-reactivity) may be more important than DOC concentration and radiation intensity in some cases (Granéli et al. 1996, Farjalla et al. 2001, Vähätalo et al. 2003, Suhett et al. 2007). The photo-reactivity of DOC is mainly related to its origin and history of exposure to sunlight. Colored, mostly allochthonous, humic DOC is more photo-reactive than algal DOC (Bertilsson and Tranvik 2000). DOC with a low exposure history to sunlight also presents higher photo-reactivity, as shown for samples from the hypolimnion of temperate lakes (Vähätalo et al. 2003) and from shaded streams in the Amazon (Amado et al. 2003). As shown by Paul et al. (2004), DOC photo-reactivity may be related to its ability to generate $^1\text{O}_2$. In tropical, highly humic coastal lagoons, O₂ consumption by photo-oxidation may be so intense that O₂ becomes a limiting factor for this process in the upper layers of water (unpublished data).

As pointed out by Granéli et al. (1996), PM may be largely responsible for the regularly observed CO₂ supersaturation observed in lakes (Cole et al. 1994). Modeling carbon mineralization pathways in a humic Swedish lake, Jonsson et al. (2001) showed that PM may account for 10% of carbon mineralization of the water column. Calculations for the tropical, highly humic Comprida Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil) show that PM of DOC may even reach 20% of total ecosystem metabolism (unpublished data). An analysis of PM rates in humic ecosystems worldwide shows that some extremely high rates occur in tropical humic ecosystems (Fig. 3). A general linear relationship was found between ln-transformed DOC and PM rates when tropical and temperate ecosystems are plotted together (Fig. 3, $R^2 = 0.4963$, $P < 0.0001$). The highest rates were found in Amazonian forest streams (Amado et al. 2003) and humic coastal lagoons (Granéli et al. 1998, Suhett et al. 2004, Suhett et al. 2007). Brazilian coastal lagoons are among the ecosystems with the highest DOC concentrations reported in the literature, varying from about 10-160 mg C·L⁻¹ (Granéli et al. 1998, Farjalla et al. 2002, Suhett et al. 2004, Suhett et al. 2007). All these data, together, suggest that the high PM rates found in tropical ecosystems are partially due to atypically high DOC concentrations. Another possible explanation for higher PM rates is that humic DOC is more photo-reactive in tropical than in temperate ecosystems. However, the very opposite would be expected, since DOC in tropical ecosystems is constantly exposed to high amounts of solar radiation, which should render the DOC less reactive. But, as shown by Granéli et al. (1998) in a survey on tropical and temperate lakes of contrasting humic content, there was no evidence of difference in DOC photo-reactivity between these regions after normalizing PM rates by DOC and sunlight. Thus, higher sunlight incidence in the tropics may also account for high PM rates. Since several of these studies did not report the total amount of received energy, it was not possible to further investigate its influence on PM.

Fig. 3

We also believe that atypically high PM rates in tropical, humic ecosystems are closely related to the seasonal dynamics of DOC photo-reactivity. In temperate lakes, it has been shown that inputs of allochthonous DOC due to snowmelt and rainfall in spring, as well as the upcoming of hypolimnetic DOC during winter mixing, increase 'potential' PM rates because of the increased DOC photo-reactivity (Lindell et al. 2000). However, since these periods do not coincide with maximal sunlight incidence for these regions, peaks in DOC photo-reactivity are not effectively checked by sunlight. On the other hand, in the tropics, sunlight is less variable and always high throughout the year, and any peak of DOC photo-reactivity is readily checked by sunlight. This seems to be notably the case of the humic Comprida lagoon (Fig. 1A), where not only PM rates, but also DOC photo-reactivity peaks in the early rainy season, producing the highest PM reported in our analysis (Suhett et al. 2007). The same pattern of seasonal variation has been also observed in Amazonian humic streamlets (Amado et al. 2006).

4 Interactions of bacterial and photo-chemical degradation

Both microbes and sunlight promote DOC degradation and are responsible for two of the most relevant DOC removal processes in aquatic systems. Algal DOC is considered to be more labile to bacterial degradation while humic DOC, which is biologically refractory, is considered to be more labile to photochemical degradation due to light absorbance characteristics (Bertilsson and Tranvik 2000, Farjalla et al. 2006, Amado et al. 2006).

Photochemical processes can lead to transformations in the DOC biological availability, affecting bacterial degradation. Tranvik and Bertilsson (2001) stated that photochemical degradation of algal-originated DOC results in decreased bacterial activity. On the other hand, photochemical degradation of humic DOC enhances bacterial degradation rates. Studying photochemical effects on DOC bacterial degradation in a clearwater Amazonian lake, Amado et al. (2006) recorded bacterial growth stimulation in humic DOC-dominated highwater period and no effects to bacterial growth in algal-derived DOC-dominated lowwater period. In addition, negative effects of photochemical degradation were observed in mixtures of humic and algal DOC (Tranvik and Kokalj 1998).

The mechanisms that lead to photochemical reduction of bacterial DOC degradation are not yet clear. Some hypothesis, such as photo-humification, photo-consumption of bioavailable molecules and/or production of toxic compounds (such as peroxides) are the most popular (Moran and Covert 2003). In contrast, photochemical stimulation of biological degradation on humic DOC occurs as a result of the formation of lower molecular weight compounds, usually more bioavailable than the original molecules, enhancing bacterial activity (Lindell et al. 1995).

Besides acting directly in the DOC mineralization, photochemical degradation affects indirectly the carbon cycle by changing its fate inside the bacterial cell. Some studies recorded enhanced bacterial growth efficiency (BGE) due to photochemical degradation of DOC, while others recorded photochemically reduced BGE (Reche et al. 1998, Farjalla et al. 2001). Anesio et al. (2005) suggested that the photochemical degradation of autochthonous HS lead to a greater increase in bacterial production than allochthonous HS (10-fold higher). Exposure of HS to sunlight also increased bacterial respiration but less than production, resulting in an average increase in BGE. However, the mechanisms that control the fate of humic carbon inside bacterial cells, whether the assimilated photo-degraded humic DOC enhances biological respiration or biomass production, are still unclear. Thus, studies crossing HS chemical composition and photochemical transformations, metabolic demands and bacterial species composition should be undertaken.

Studying bacterial and photochemical degradation, Amado et al. (2007) has recently showed that these processes are tightly related. Photochemical degradation of allochthonous HS in a highly humic tropical lagoon (Comprida Lagoon, Fig. 1A) resulted in a three-fold stimulation of both bacterial respiration and production. On the other hand, photochemical degradation of autochthonous HS resulted in 16% inhibition of bacterial metabolism in an eutrophic tropical lagoon. These authors demonstrated that DOC degradation can be 20% increased due to synergic effects between photochemical and bacterial degradation in a humic lagoon. On the other hand, photochemical and bacterial degradation can compete for approximately 2% of degradable humic DOC in the eutrophic lagoon. Thus, the synergism between photo and microbial degradation stimulates the carbon flow through microbes in allochthonous HS systems and reduces it in autochthonous HS systems (i.e. competition).

HS were considered as important sources of energy and matter to microbial food web (Daniel et al. 2005) as predicted in the microbial loop theory (Azam et al. 1983). However, the low quality of HS to bacterial growth may restrict this carbon flow, specially in nutrient-poor and highly humic tropical systems (see above and Farjalla et al. 2002). Photochemical degradation changes the availability of humic DOC, which can lead to increased production, respiration or both (Amado et al. 2006, Daniel et al. 2006). Apparently, in the tropical humic systems photochemical degradation stimulates microbial mineralization of HS, which might result in decreased BGE (Amado et al. 2006). Thus, despite the fact that the mechanisms are still unknown, photochemical degradation of humic substances plays a critical role in carbon cycle in humic systems once this process increase the carbon flow through microbes, which leads either to increased mineralization or biological substrate production to the microbial food web. We summarize this effects in a conceptual model presented in Figure 4.

Fig. 4

5 Conclusion

HS may be an important source of energy for aquatic bacteria in humic waters, but probably not as important as a carbon source to bacterial growth and for aquatic food webs, as HS consumption is mostly channelled through microbial respiration. This seems to be specially the case of humic-rich, nutrient-poor ecosystems, where the microbial loop was supposed to play its major role. In the tropics, highly-humic ecosystems also present the highest photo-chemical rates reported in the literature. Finally, light and bacteria can cooperate in order to achieve total carbon degradation in highly humic aquatic ecosystems but with little effects on aquatic food webs.

6 Recommendations and Perspectives

More detailed studies using C and N stable isotopes techniques and modelling approaches are still lacking to better understand the actual importance of HS to the carbon cycling in highly humic waters.

Acknowledgement. We are grateful to Dr. Christian Steinberg for inviting us to write this mini-review. Our research in tropical lagoons was supported by grants from PETROBRAS Oil Company, National Council for Research and Development (CNPq, Project 480232/2004-0 to VFF) and José Bonifácio University Foundation (FUJB, Project 11617-3 to VFF). Scholarships to AMA and ALS were provided by CNPq.

References

- Amado AM, Farjalla VF, Esteves FA, Bozelli RL (2003): DOC photo-oxidation in clear water Amazonian aquatic ecosystems. *Amazoniana* 17, 513-523
- Amado AM, Farjalla VF, Esteves FA, Bozelli RL, Roland F, Enrich-Prast A (2006): Complementary pathways on dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake. *FEMS Microbiol Ecol* 56, 8-17
- Amado AM, Cotner JB, Suhett AL, Esteves FA, Bozelli RL, Farjalla VF (2007): Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic ecosystems. *Aquat Microb Ecol* 49, 25-34
- Anesio AM, Graneli W, Aiken GR, Kieber DJ, Mopper K (2005): Effect of humic substance photodegradation on bacterial growth and respiration in lake water. *Appl Environ Microbiol* 71, 6267-6275
- Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983): The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10, 257-263
- Bertilsson S, Stepanauskas R, Cuadros-Hansson R, Graneli W, Wikner J, Tranvik L (1999): Photochemically induced changes in bioavailable carbon and nitrogen pools in a boreal watershed. *Aquat Microb Ecol* 19, 47-56
- Bertilsson S, Tranvik LJ (2000): Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnol Oceanogr* 45, 753-762
- Biddanda BM, Ogdahl M, Cotner J (2001): Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnol Oceanogr* 46, 730-739
- Cole JJ, Caraco NF, Kling GW, Kratz TK (1994): Carbon dioxide supersaturation in the surface water of lakes. *Science* 265, 1568-1570
- Cole JJ, Carpenter SR, Pace ML, van de Bogert MC, Kitchell JL, Hodgson JR (2006): Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecol Lett* 9, 558-568
- Daniel C, Gutseit K, Anesio AM, Graneli W (2005): Microbial food webs in the dark: independence of lake plankton from recent algal production. *Aquat Microb Ecol* 38, 113-123
- Daniel C, Graneli W, Kritzberg ES, Anesio AM (2006): Stimulation of metazooplankton by photochemically modified dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr* 51, 101-108
- de Haan H (1974): Effect of a fulvic acid fraction on the growth of a *Pseudomonas* from Tjeukemeer (the Netherlands). *Fresh Biol* 4, 301-310
- del Giorgio PA, Cole JJ (1998): Bacterial growth efficiency in natural aquatic ecosystems. *Annu Rev Ecol Syst* 29, 503-514
- del Giorgio PA, Davis J (2003): Patterns in dissolved organic matter lability and consumption across aquatic ecosystems. In: Findlay SEG, Sinsabauhg RL (eds) *Aquatic Ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 399-424
- Farjalla VF, Anesio AM, Bertilsson S, Graneli W (2001): Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response. *Aquat Microb Ecol* 24, 187-195
- Farjalla VF, Faria BM, Esteves FA (2002): The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons. *Arch Hydrobiol* 156, 97-119
- Farjalla VF, Azevedo DA, Esteves FA, Bozelli RL, Roland F, Enrich-Prast A (2006): Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake. *Microb Ecol* 52, 334-344
- Graneli W, Lindell M, Tranvik L (1996): Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content. *Limnol Oceanogr* 41, 698-706.
- Graneli W, Lindell M, Faria BM, Esteves FA (1998): Photoproduction of dissolved inorganic carbon in temperate and tropical lakes - dependence on wavelength band and dissolved organic carbon concentration. *Biogeochem* 43, 175-195.
- Hollanda-Carvalho P, Sánchez-Botero JI, Pellegrini-Caramaschi E, Bozelli RL (2003): Temporal variation of fish community richness in coastal lagoons of Restinga de Jurubatiba National Park, Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Limnol Bras* 15, 31-40
- Jansson M, Blomqvist P, Jonsson A, Bergström A-K (1996): Nutrient limitation of bacterioplankton, autotrophic and mixotrophic phytoplankton and heterotrophic nanoflagellates in Lake Örträsket, a large humic lake in northern Sweden. *Limnol Oceanogr* 41, 1552-1559
- Jansson M (1998): Nutrient limitation and bacteria-phytoplankton interactions in humic lakes. In: Hessen DO, Tranvik L (eds) *Aquatic Humic Substances – Ecology and Biogeochemistry*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 177-195
- Jansson M, Bergström A-K, Blomqvist P, Drakare S (2000): Allochthonous organic carbon and phytoplankton/bacterioplankton production relationships in lakes. *Ecology* 81, 3250-3255
- Jansson M, Bergström A-K, Lymer D, Vrede K, Karlsson J (2006): Bacterioplankton growth and nutrient uses efficiency under variable organic carbon and inorganic phosphorus ratios. *Microb Ecol* 52, 358-364
- Jonsson A, Meili M, Bergstrom A-K, Jansson M (2001): Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Örträsket, N. Sweden). *Limnol Oceanogr* 46, 1691-1700
- Karlsson J, Jonsson A, Jansson M (2001): Bacterioplankton production in lakes along an altitude gradient in the subarctic north of Sweden. *Microb Ecol* 42, 372-382
- Lindell MJ, Graneli W, Tranvik LJ (1995): Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr* 40, 195-199
- Lindell MJ, Graneli W, Bertilsson S (2000): Seasonal photoreactivity of dissolved organic matter from lakes with contrasting humic content. *Can J Fish Aquat Sci* 57, 875-885
- McKnight DM, Aiken GR (1998): Sources and age of aquatic humus. In: Hessen DO, Tranvik L (eds) *Aquatic Humic Substances – Ecology and Biogeochemistry*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 9-39
- Moran MA, Zepp RG (1997): Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol Oceanogr* 42, 1307-1316
- Moran MA, Covert JS (2003): Photochemical mediated linkages between dissolved organic matter and bacterioplankton. In: Findlay SEG, Sinsabauhg RL (eds) *Aquatic Ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter*. Academic Press, San Diego, CA, pp. 243-262
- Münster U, de Haan H (1998): The role of microbial extracellular enzymes in the transformation of dissolved organic matter in humic waters. In: Hessen DO, Tranvik L (eds) *Aquatic Humic Substances – Ecology and Biogeochemistry*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 199-257

- Pace ML, Prairie YT (2005): Respiration in lakes. In: del Giorgio PA, Williams PJB (eds) Respiration in aquatic ecosystems. Oxford University Press, New York, pp. 103-121
- Paul A, Hackbarth S, Vogt RD, Roder B, Burnison BK, Steinberg CEW (2004): Photogeneration of singlet oxygen by humic substances: comparison of humic substances of aquatic and terrestrial origin. *Photochem Photobiol Sci* 3, 273-280.
- Pomeroy LR (1974): The ocean's foodweb, a changing paradigm. *Bioscience* 24, 499-504
- Reche I, Pace ML, Cole JJ (1998): Interactions of photobleaching and inorganic nutrients in determining bacterial growth on colored dissolved organic carbon. *Microb Ecol* 36, 270-280
- Steinberg CEW (2003): Ecology of humic substances in freshwaters, Berlin.
- Stepanuskas R, Farjalla VF, Tranvik LJ, Svensson JM, Esteves FA, Granéli W (2000): Bioavailability and sources of DOC and DON in macrophyte stands of a tropical coastal lake. *Hydrobiologia* 436, 241-248
- Suhett AL, MacCord F, Amado AM, Farjalla VF, Esteves FA (2004): Photodegradation of dissolved organic carbon in humic coastal lagoons (Rio de Janeiro, Brazil). In: Proceedings of the XII Meeting of the International Humic Substances Society, São Pedro, SP, Brasil. pp. 61-63
- Suhett AL, Amado AM, Enrich-Prast A, Esteves FA, Farjalla VF (2007): Seasonal changes of DOC photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator. *Can J Fish Aquat Sci* 64, 1266-1272
- Søndergaard M, Middelboe M (1995): A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Mar Ecol Progr Ser* 118, 283-294
- Thurman EM (1985): Organic geochemistry of natural waters. Dr W. Junk Publishers, Dordrecht.
- Tranvik L (1998): Degradation of dissolved organic matter in humic waters by bacteria. In: Hessen DO, Tranvik L (eds) *Aquatic Humic Substances – Ecology and Biogeochemistry*, Springer-Verlag, Berlin, pp. 259-283
- Tranvik LJ, Kokalj S (1998): Decreased biodegradability of algal DOC due to interactive effects of UV radiation and humic matter. *Aquat Microb Ecol* 14, 301-307
- Tranvik LJ, Bertilsson S (2001): Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth. *Ecol Lett* 4, 458-463
- Vadstein O (2000): Heterotrophic, planktonic bacteria and cycling of phosphorus-phosphorus requirements, competitive ability, and food web interaction. In: Schink B (ed) *Advances in Microbial Ecology*, Kluwer Academic Publishers, New York, pp. 115-167
- Vähätalo AV, Salonen K, Munster U, Jarvinen M, Wetzel RG (2003): Photochemical transformation of allochthonous organic matter provides bioavailable nutrients in a humic lake. *Arch Hydrobiol* 156, 287-314

Fig. 1: Tropical coastal lagoons of southeast of Rio de Janeiro State, Brazil. A: Comprida Lagoon; B: Cabiúnas Lagoon; C: Garças Lagoon.

Fig. 2: Relationship between bacterial production and bacterial respiration in aquatic ecosystems. Models 1 and 2 were adapted from del Giorgio and Cole (1998). Bacterial production and respiration of tropical coastal lagoons were based on Farjalla et al. (2002).

Fig. 3: DOC photo-chemical mineralization rates (PM) calculated upon data reported in tropical and temperate humic ecosystems. Only studies with exposure to natural sunlight or artificial light with similar intensity were considered. Photo-chemical O₂ consumption, when reported, was converted to C assuming a 1:1 molar ratio. For exposures shorter than the whole light period of the day, we considered the reported PM for the whole day. Granéli et al. (1998) studied both tropical (I) and temperate (II) ecosystems. The horizontal dashed line was an upper-threshold for PM in temperate ecosystems (c.a. 1 mg C • L⁻¹ • d⁻¹). Lindell et al. (2000) and Vähätalo et al. (2003) were not used for the regression, since they did not report individual DOC values.

Fig. 4: Conceptual model of the HS photochemical degradation effects on bacterial degradation in aquatic systems. The photochemical degradation of HS enhances carbon flow through microbes stimulating both mineralization and the microbial food web. The thicker arrows and lines and bold letters indicate higher carbon flow in photo-exposed HS compared to unexposed HS.

Fig. 1



Fig. 2

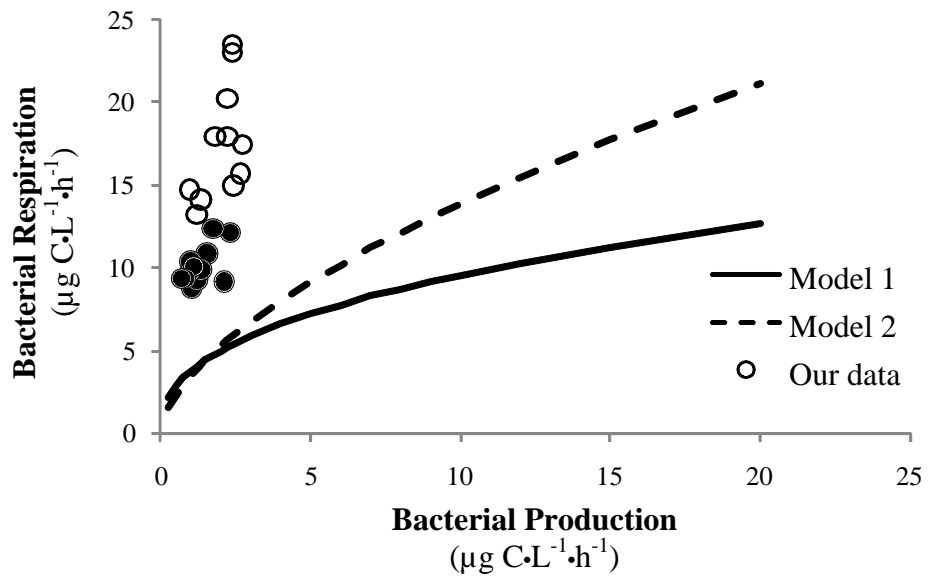


Fig. 3

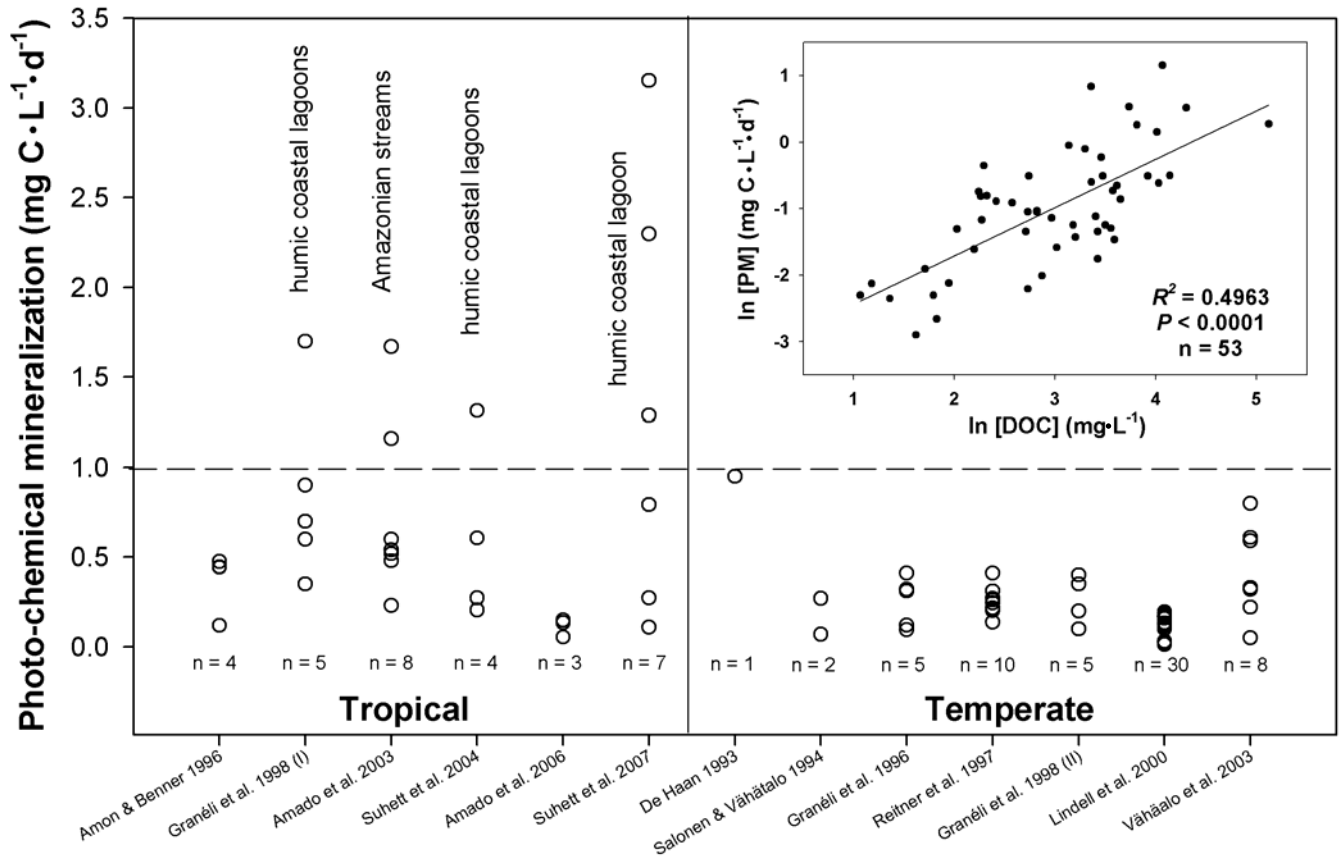
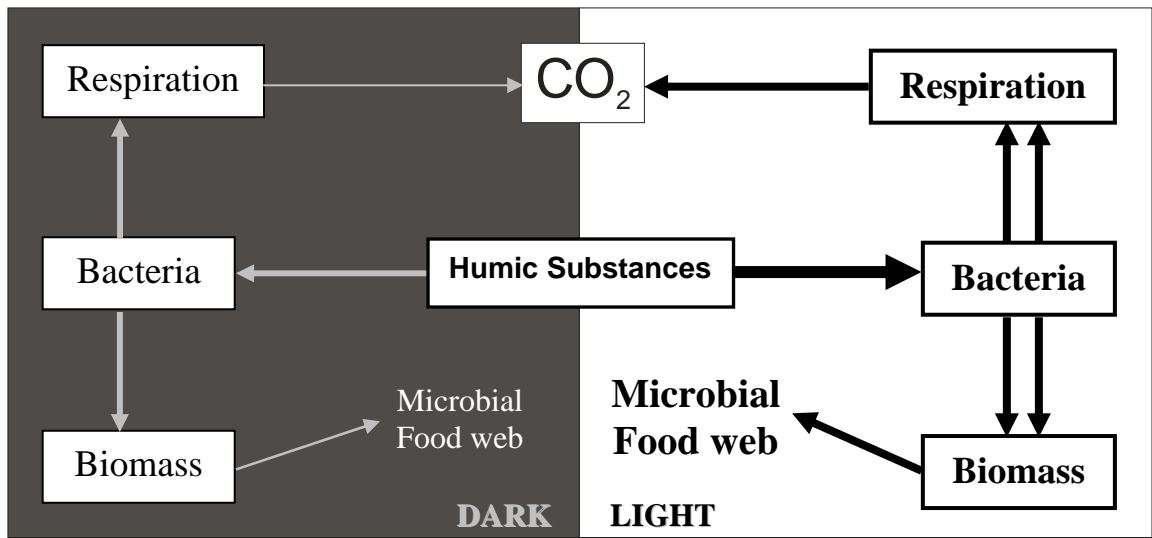


Fig. 4



Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)