

Universidade Federal do Amapá  
Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá  
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical

Katianne Miranda Gonçalves

Caracterização da Dinâmica da Comunidade de  
Bacterioplâncton no Estuário do Rio Amazonas (Canal do  
Norte) - AP

Macapá  
2009

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Universidade Federal do Amapá  
Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá  
Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical

Katianne Miranda Gonçalves

Caracterização da Dinâmica da Comunidade de  
Bacterioplâncton no Estuário do Rio Amazonas (Canal do  
Norte) - AP

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), como parte das exigências para a obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade Tropical.

**Orientador:** Dr. Luís Roberto Takiyama.

**Co-orientador:** Dr. Luís Felipe Artigas.

Macapá  
2009

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca Central da Universidade Federal do Amapá**

Gonçalves, Katianne Miranda

Caracterização da dinâmica da comunidade de bacterioplâncton no estuário do Rio Amazonas (Canal do Norte) – AP / Katianne Miranda Gonçalves; orientador Luis Roberto Takiyama; co-orientador Luis Felipe Artigas. Macapá, 2009.

94 p.

Dissertação (mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Tropical.

1. Biodiversidade tropical. 2. Bacterioplâncton. 3. Fitoplâncton. 4. Abundância sazonal. 5. Rio Amazonas I. Takiyama, Luis Roberto, orient.. II. Artigas, Luis Felipe. III. Fundação Universidade Federal do Amapá. III. Título.

# Caracterização da Dinâmica da Comunidade de Bacterioplâncton no Estuário do Rio Amazonas (Canal do Norte) - AP

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), como parte das exigências para a obtenção do grau de Mestre em Biodiversidade Tropical.

Data de aprovação: 30/03/2009

Banca Examinadora:

---

Dr. Luís Roberto Takiyama (Orientador)  
Pesquisador-IEPA

---

Dr. Luís Felipe Artigas (Co-orientador)  
Professor/Pesquisador- Universidade do Litoral - França

---

Dr. Admilson Torres (Examinador)  
Pesquisador- IEPA

---

Dr. Alan Cunha (Examinador)  
Pesquisador- UNIFAP/IEPA

---

Dr. Maria de Fátima Pinheiro (Examinadora)  
Professora/Pesquisadora-UFPA

---

Dr. Fabiano Cesarino (Suplente)  
Vice-coordenador do Programa de Pós-graduação do PPGGIO  
Pesquisador-IEPA

Macapá  
2009

*Tenho a impressão de ter sido uma criança  
brincando à beira-mar, divertindo-me em  
descobrir uma pedrinha mais lisa ou uma  
concha mais bonita que as outras, enquanto o  
imenso oceano da verdade continua misterioso  
diante de meus olhos...*

*Isaac Newton (1642-1727)*

Aos melhores presentes que Papai do Céu me deu: meus paizinhos Aunhyr e Geraldo, meus irmãos Kleber e Kleder pela base de uma família construída na união, amor, na busca do saber, no respeito e valorização da natureza. Ao meu amorzão Michel pelo intenso amor, paciência, ajuda, compreensão e por me fazer sonhar e realizar os meus sonhos ao seu lado.

***DEDICO***

## **AGRADECIMENTOS**

“Todo grande sonho não nasce sozinho. Cada pedaço da realização tem o suor, a dedicação e a harmonia de quem sonhou junto.” Assim, agradeço as pessoas que tornaram possível a realização desta dissertação:

Ao Prof. Dr. Luís Takiyama pela sua lição do saber, preciosa orientação, incentivo e amizade, sendo essencial para trilhar esse caminho.

Ao Prof. Dr. Felipe Artigas por sua co-orientação, amizade e seu apoio incansável, não medindo esforços para a realização desse trabalho.

A Equipe do CPAQ principalmente Érlisson, Sérgio, Rafael, Dinaldo, Mauricio, Maki e Uédio pela inestimável ajuda nas coletas, no laboratório, pela maravilhosa amizade, risadas e por momentos que deixarão muitas saudades.

Ao Chico e Roberto pelo imprescindível apoio e pela grande amizade.

Ao Prof. Dr. Rodolfo Paranhos, Jessica Chicheportiche, Henri Etcheber que foram determinantes para a concretização desse trabalho através da grande ajuda nas análises.

As amigas do mestrado Zenaide, Dani, Daniele, Dacicleide e Helena pela calorosa acolhida, sorrisos, abraços e gestos que acalentam as amizades.

A coordenação e colegiado do PPGBIO pela ajuda nos momentos de dificuldade.

A Neura e Rejane por serem sempre tão prestativas, carinhosas, gentis e pela amizade.

A minha tia Áurea pela ajuda fundamental na liberação do trabalho sem o qual não seria possível a realização deste.

Aos membros da banca pelas sugestões e críticas fundamentais nessa dissertação.

A todos os meus grandes amigos que sempre levo no coração e que se fazem presentes mesmo quando distantes.

A Deus, por sempre ter me abençoado e iluminado o meu caminho estando presente em todos os momentos da minha vida.

**Os meus mais sinceros agradecimentos.**

**SUMÁRIO**

<b>EPIGRAFE.....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATÓRIA.....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>vi</b>
<b>SUMÁRIO.....</b>	<b>vii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>xii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>xiii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
1.1 Objetivos.....	23
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
2.1. Localização das Áreas de Estudo.....	25
2.2. Coleta e amostragens.....	28
2.3. Variáveis Abióticas.....	29
2.4. Clorofila.....	29
2.5. Abundância Bacteriana por Microscopia de Epifluorescência.....	30
2.5.1. Princípio.....	30

2.5.2. Protocolo.....	30
2.5.2.1. Preparação das Amostras por Filtragem.....	30
2.5.2.2. Pré-Tratamento das Amostras.....	31
2.5.2.3. Cálculos.....	32
2.5.3 Caracterização Morfológica.....	33
2.5.4. Contagens.....	33
2.5.5. Cálculo da Abundância Bacteriana.....	33
2.6. Abundância Bacteriana por Citometria de Fluxo.....	34
2.7. Carbono Orgânico Particulado (COP).....	34
2.9. Análises Estatísticas.....	35
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
3.1. Variáveis Ambientais Físico-Químicas, Matéria Orgânica e Clorofila.....	36
3.1.1. Precipitação Pluviométrica.....	36
3.1.2. Temperatura da Água.....	37
3.1.3. pH.....	38
3.1.4. Condutividade Elétrica.....	40
3.1.5. Concentração de Oxigênio Dissolvido.....	41
3.1.6. Material em Suspensão (MES).....	42
3.1.7. Turbidez.....	44
3.1.8. Profundidade de Extinção do Disco de Secchi – Transparência.....	45

3.1.9. Carbono Orgânico Particulado (COP).....	46
3.2.1. Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) + Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ).....	48
3.2.2 Amônia ( $\text{NH}_3$ ).....	49
3.2.3 Fósforo ( $\text{PO}_4^{3-}$ ).....	50
3.2.4 Clorofila.....	52
3.3. Abundância e Variação Espacial e Sazonal Bacteriana por Microscopia de Epifluorescência.....	55
3.3.1. Evolução Sazonal das Bactérias no Rio Amazonas - Área 01 (Macapá).....	55
3.3.2. Evolução Sazonal das Bactérias no Rio Amazonas - Área 02 (Macapá - Bailique).....	56
3.3.3 Bactérias Livres e Aderidas e Morfotipos na área 01.....	56
3.3.4 Bactérias Livres e Aderidas e Morfotipos na área 02.....	58
3.4. Comparação entre Abundância, Variação Espacial e Sazonal Bacteriana pelas técnicas de Microscopia de Epifluorescência e Citometria de Fluxo.....	60
3.5. Caracterização das Bactérias Segundo a Quantidade de Ácido Nucléico.....	64
3.6. Análise de Componentes Principais (ACP).....	67
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>68</b>
4.1. Dinâmica Bacteriana em Relação as Variáveis Abióticas e ao Estado Trófico.....	68
4.2. Dinâmica Bacteriana na Área 01 (Macapá).....	72

4.3. Dinâmica Espacial e Sazonal no Transecto Macapá – Bailique (área 02).....	76
4.4. Citometria de Fluxo e Microscopia de Epifluorescência.....	77
4.5. LNA e HNA.....	78
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>82</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>95</b>

## RESUMO

A abundância sazonal do bacterioplâncton e sua relação com o fitoplâncton e variáveis físico-químicas foram avaliadas no canal norte do estuário do Rio Amazonas, Amapá. As coletas foram realizadas em duas áreas: uma mais próxima a Macapá (área 01) e outra no transecto Macapá-Itamatatuba (Bailique) (área 02), durante o período seco (setembro a dezembro) de 2007 e chuvoso (janeiro, março, abril e maio) de 2008 em águas superficiais na maré vazante. As amostras foram analisadas pelas técnicas de microscopia de epifluorescência e citometria de fluxo como técnicas complementares para a contagem de bactérias e estimativas das porcentagens de HNA e LNA. A abundância de bactérias totais na área 01 variou de  $3.01 \times 10^5$  a  $2.10 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que na área 02 de  $1.82 \times 10^5$  a  $2.62 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Na área 01, ocorreu uma abundância mais expressiva de bactérias totais no período seco, enquanto que na área 02 quase não ocorreu oscilação de bactérias entre os períodos pelas duas técnicas. As bactérias livres e as bactérias aderidas a matéria em suspensão apresentaram valores superiores a 60 e 30 %, respectivamente, apresentando os cocos como o principal morfotipo encontrado. As HNA na área 01 atingiram uma porcentagem máxima de 77% e as LNA de aproximadamente 75%. Na outra área, 70% (LNA) e cerca de 64% (HNA). Os fatores físico-químicos não apresentaram correlações significativas com a abundância de bactérias totais e essas permaneceram abundantes tanto em estações ricas em nutrientes como nas menos eutrofizadas, sugerindo que provavelmente possa estar ocorrendo uma regulação por predadores. Na área 01, não foi observada uma relação positiva entre biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*) e bacterioplâncton, indicando que o carbono orgânico dissolvido gerado a partir do fitoplâncton não é o substrato mais importante para a abundância bacteriana, evidenciando a possibilidade de uma intensa atividade decompositora. Na área 02, observou-se um ambiente no qual o bacterioplâncton está relacionado com a comunidade fitoplanctônica. Nesse ambiente essa comunidade foi mais ativa ( $4,89 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) do que na área 01 e também apresentou porcentagens de COP maiores (próximo a 10%), contribuindo provavelmente para que, em algumas estações, ocorresse uma conexão entre bactérias, fitoplâncton e níveis tróficos superiores.

**Palavras-chave:** bacterioplâncton, fitoplâncton, abundância sazonal, rio Amazonas.

## ABSTRACT

The seasonal abundance of bacterioplankton and its relation to phytoplankton and physico-chemical variables were assessed in the northern channel of the Rio Amazonas estuary, in Amapá. The collections were made in two areas: one closer to Macapá (area 01) and the other in the transect of Macapá-Itamatatuba (Bailique) (area 02) during the dry season (September to December) of 2007 and rainy season (January, March, April and May) of 2008 in surface waters on the ebb tide. The samples were analyzed by the techniques of epifluorescence microscopy and flow cytometry as complementary techniques for the counting of bacteria and estimates of percentages of HNA and LNA. The abundance of total bacteria in area 01 ranged from  $3.01 \times 10^5$  to  $2.10 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup>, whereas in area 02 ranged from  $1.82 \times 10^5$  to  $2.62 \times 10^6$  cells mL<sup>-1</sup>. In area 01, there was a more expressive abundance of total bacteria in the dry season, whereas in area 02 there was almost no bacterial oscillation between the periods, using the two techniques. The free bacteria and bacteria attached to suspended matter presented values above 60 and 30% respectively, showing the cocci as the main morphotype found. In the area 01, HNA reached a maximum percentage of 77% and LNA reached approximately 75%. In the other area, 70% (LNA) and about 64% (HNA). The physico-chemical factors showed no significant correlations with the abundance of total bacteria and these remained as abundant at stations rich in nutrients as those less eutrophic, suggesting that probably could be experiencing a regulation by predators. In area 01, it was not observed a positive relationship between phytoplankton biomass (chlorophyll *a*) and bacterioplankton, indicating that the dissolved organic carbon generated from the phytoplankton is not the most important substrate for bacterial abundance, showing the possibility of an intense decomposition activity. In area 02, there was an environment in which the bacterioplankton is related to the phytoplankton community. In this environment, this community was more active ( $4.89 \mu\text{g.L}^{-1}$ ) than in area 01 and presented also higher COP percentages (close to 10%), likely contributing, in some stations, for a connection between bacteria, phytoplankton and higher trophic levels.

**Keywords:** bacterioplankton, phytoplankton, seasonal abundance, Amazon River.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Alça microbiana (“Microbial loop”)	18
<b>Figura 2</b>	Localização das áreas de estudo no Rio Amazonas no trajeto desde a cidade de Macapá até a ponta do Curuá (Arquipélago do Bailique)	26
<b>Figura 3</b>	Localização da área de estudo no Rio Amazonas (área 01) (Fonte: CPAQ-IEPA, 2008).	27
<b>Figura 4</b>	Localização da área de estudo no Rio Amazonas (área 02: Macapá-Bailique) (Fonte: CPAQ-IEPA, 2008).	27
<b>Figura 5</b>	Filtração normal de bactérias totais por epifluorescência.	31
<b>Figura 6</b>	Pré-filtração de bactérias totais por epifluorescência.	32
<b>Figura 7</b>	Precipitação pluviométrica mensal no ano de 2007. (Fonte: INMET, 2008).	36
<b>Figura 8</b>	Precipitação pluviométrica mensal no ano de 2008. Fonte: INMET, 2008).	37
<b>Figura 9</b>	Variação da temperatura da água do Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01, em função dos meses de coleta.	38
<b>Figura 10</b>	Variação da temperatura da água do Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.	38
<b>Figura 11</b>	Variação do pH no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	39
<b>Figura 12</b>	Variação do pH no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.	39
<b>Figura 13</b>	Variação da Condutividade Elétrica no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	40
<b>Figura 14</b>	Variação da Condutividade Elétrica no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.	41
<b>Figura 15</b>	Variação da concentração de Oxigênio Dissolvido no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem na área 01 em função dos meses de coleta.	42

<b>Figura 16</b>	Varição da concentração de Oxigênio Dissolvido no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.	42
<b>Figura 17</b>	Varição da Matéria em suspensão no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	43
<b>Figura 18</b>	Varição da Matéria em suspensão no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos seco e chuvoso.	43
<b>Figura 19</b>	Varição da Turbidez no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	44
<b>Figura 20</b>	Varição da Turbidez no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.	45
<b>Figura 21</b>	Varição da Transparência no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	45
<b>Figura 22</b>	Varição da transparência no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.	46
<b>Figura 23</b>	Varição do carbono orgânico particulado no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	47
<b>Figura 24</b>	Varição do carbono orgânico particulado no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.	47
<b>Figura 25</b>	Varição do nitrato + nitrito no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	48
<b>Figura 26</b>	Varição do nitrato + nitrito no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.	49
<b>Figura 27</b>	Varição da amônia no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	50
<b>Figura 28</b>	Varição da amônia no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.	50
<b>Figura 29</b>	Varição do fosfato no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.	51

<b>Figura 30</b>	Varição do fosfato no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para o período seco.	51
<b>Figura 31</b>	Varição das diferentes classes de clorofila no Rio Amazonas (área 01).	52
<b>Figura 32</b>	Varição das diferentes classes de clorofila no Rio Amazonas (área 02).	53
<b>Figura 33</b>	Variância sazonal da concentração de clorofila no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).	53
<b>Figura 34</b>	Variância sazonal do stock no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).	54
<b>Figura 35</b>	Varição espacial sazonal da abundância total de bactérias no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).	55
<b>Figura 36</b>	Abundância total de bactérias no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 02).	56
<b>Figura 37</b>	Abundância de bactérias livres por morfotipo no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).	57
<b>Figura 38</b>	Abundância de bactérias aderidas por morfotipo no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).	58
<b>Figura 39</b>	Abundância de bactérias livres por morfotipo no Rio Amazonas (área 02) por microscopia de epifluorescência.	59
<b>Figura 40</b>	Abundância de bactérias aderidas por morfotipo no Rio Amazonas (área 02) por microscopia de epifluorescência.	60
<b>Figura 41</b>	Abundância de bactérias totais por citometria de fluxo e microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (área 01).	61
<b>Figura 42</b>	Abundância de bactérias totais por citometria de fluxo e microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (área 02).	62
<b>Figura 43</b>	Variância sazonal de bactérias totais por microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).	63
<b>Figura 44</b>	Variância de bactérias totais por citometria de fluxo no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).	63
<b>Figura 45</b>	Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo no Rio Amazonas (área 01).	64
<b>Figura 46</b>	Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo em novembro de 2007 no Rio Amazonas (área 02).	65

<b>Figura 47</b>	Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo em maio de 2008 no Rio Amazonas (área 02).	65
<b>Figura 48</b>	Correlação de bactérias totais por citometria e baixa concentração de bactérias com ácido nucléico no período seco no Rio Amazonas (área 02).	66
<b>Figura 49</b>	Correlação de bactérias totais por citometria e alta concentração de bactérias com ácido nucléico no período seco no Rio Amazonas (área 02).	66

## 1. INTRODUÇÃO

Atualmente verifica-se que o ciclo global do carbono tem sofrido alterações expressivas e conseqüentemente tem-se verificado a elevação das questões atmosféricas de CO<sub>2</sub> e o aquecimento do planeta (ODUM, 1988; HOUGHTON et al., 2000; MCT., 2002).

Segundo Falkowski et al. (2000) as variações das concentrações de carbono não dependem apenas de atividades antrópicas. Assim, para o planejamento das questões envolvidas com a ciclagem do carbono é necessário o entendimento da sua biogeoquímica a nível global (BIANCHINI, 1999).

Muitos estudos vêm questionando se a Amazônia, assim como os rios e ecossistemas inundáveis que a constituem, seriam fontes ou sumidouros de carbono, no entanto, tais estudos ainda não são suficientes para confirmar um ou outro fato (RICHEY, 2002; NOBRE & NOBRE, 2005).

Novas abordagens promissoras que visam compreender os fluxos de carbono na Amazônia precisam buscar nos processos vivos a lógica que possa viabilizar generalizações de processos e estoques (NOBRE & NOBRE, 2005). Esses processos vivos teriam os microorganismos como um importante fator na fixação/remineralização do carbono e na estrutura das comunidades de níveis tróficos superiores.

Estudos envolvendo as comunidades de microorganismos têm procurado encontrar e/ou entender a composição, estrutura e estabilidade dessas comunidades, bem como a atividade e função dos microrganismos (FATIBELLO, 2005).

O avanço nas metodologias de quantificação de microorganismos principalmente através da microscopia de epifluorescência e citometria de fluxo permitiu um maior conhecimento da dinâmica planctônica.

Juntamente com as novas metodologias, surgiu um grande número de evidências que apontavam para o fato de que os microrganismos fototróficos e heterotróficos teriam um papel substancial e algumas vezes dominante no fluxo de energia e na ciclagem de matéria nos ecossistemas aquáticos (FENCHEL, 1988).

Além disso, os microorganismos que compõem o bacterioplâncton heterotrófico são os mais abundantes componentes em qualquer sistema aquático e são os maiores mineralizadores do carbono orgânico e nutrientes (RAM et al., 2007).



A matéria orgânica dissolvida (MOD) constitui o mais amplo “pool” de carbono orgânico nos oceanos (PASSOW, 2002). A MOD é constituída por ácidos orgânicos, aminoácidos, peptídeos e carboidratos (HELLEBUST, 1974).

Alguns estudos têm demonstrado que a abundância e a produtividade de bactérias heterotróficas estão positivamente relacionadas ao nível de clorofila *a* e produção fitoplanctônica (LE et al., 1994; Di SIERVE et al., 1995). Assim, a comparação entre a dinâmica bacteriana e a fitoplanctônica vai servir para estimar o papel ecológico que o bacterioplâncton desempenha nos ecossistemas aquáticos.

Em escala anual, segundo Jorgensen & Volleinweider (2000), cerca de 40% da produção primária fitoplanctônica é consumida pelo metabolismo bacteriano; tal fato demonstra a importância das bactérias no ciclo do carbono. Dessa forma, além do fitoplâncton, o bacterioplâncton também pode ser considerado um reservatório de biomassa para os ecossistemas aquáticos (KISAND & TAMMERT, 2000).

A matéria orgânica particulada tem grande importância nos processos microbiológicos, no ciclo do carbono e na dinâmica da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos (GROSSART & SIMON, 1993). É constituída por organismos, detritos, matéria fecal, exúvia, exoesqueleto ou parte mais duras de organismos planctônicos visíveis ao microscópio (ALLDREDGE et al., 1993).

A matéria orgânica dissolvida (MOD) produzida pelas algas é assimilada por bactérias e convertida em matéria orgânica particulada (MOP), a qual torna-se, então, novamente disponível para as cadeias alimentares. A disponibilização do carbono por essa rota, para os níveis tróficos superiores, caracteriza o elo microbiano (AZAM et al., 1993).

Depois da consolidação do conceito “microbial loop” as bactérias heterotróficas foram então consideradas como um importante componente dos ecossistemas aquáticos. Elas contribuem para a estrutura e dinâmica das redes alimentares aquáticas e ciclos biogeoquímicos (GONZALEZ et al., 2006).

Durante a observação de uma amostra através do microscópio, torna-se clara a existência de dois tipos de bactérias: as de forma livre e as aderidas ao material particulado. A importância relativa de cada uma destas frações é ainda controversa na literatura. Apesar da abundância das bactérias livres ser normalmente maior em relação às bactérias aderidas, o maior tamanho destas últimas (em função da natureza e da origem das partículas) torna a sua contribuição,

em termos de biomassa, mais próximo à contribuição das bactérias livres (ABREU et al., 1992).

Dessa forma, estudos envolvendo aspectos relacionados à dinâmica de bactérias livres e aderidas são importantes, uma vez que fornecem informações a respeito dos fatores controladores do crescimento bacteriano e da remineralização do carbono orgânico nos ecossistemas aquáticos (KIRCHMAN, 1983).

Segundo Castillo et al. (2003) e Crump et al. (2003) mudanças na comunidade bacteriana ocorrem em função de diversos mecanismos como o da qualidade e disponibilidade nutricional do ambiente (controle *bottom-up*) e em função dos mecanismos de predação (*top-down*) (MASÍN et al., 2003; JURGENS et al., 1999).

O metabolismo bacteriano pode ser regulado por um número de diferentes fatores bióticos e abióticos. As taxas de ciclagem do carbono dependem tanto da capacidade enzimática dos organismos quanto de fatores abióticos das condições ambientais (WETZEL, 1983).

Entre os recursos responsáveis pelo controle do bacterioplâncton, numerosos trabalhos destacam a importância do carbono orgânico dissolvido e do fósforo (COLE et al., 1988; CURRIE, 1990; DUCKLOW, 1992).

A natureza específica dessa regulação é central para um entendimento do papel ecológico e bioquímico que a bactéria heterotrófica possui na transferência de energia e matéria em ecossistemas aquáticos. Historicamente, pesquisas têm focado na aquisição bacteriana de carbono orgânico, o qual tem sido tradicionalmente considerado o fator primário limitante para o crescimento bacteriano nesses ecossistemas (SMITH & PRAIRIE, 2004).

O consumo de carbono orgânico dissolvido (COD) pelas bactérias é uma das maiores trajetórias do fluxo de energia e da matéria nas redes alimentares pelágicas (COLE, 1999).

Segundo Tranvik (1992), o carbono orgânico dissolvido que sustenta o metabolismo bacteriano origina-se de uma produção primária "in situ" (carbono autóctone) ou da entrada de matéria terrestre externa (carbono alóctone). As principais fontes de COD autóctone são os produtores primários, tanto o fitoplâncton quanto as macrófitas aquáticas (SUHETT et al., 2006). Já o COD alóctone é produzido externamente, podendo ter origem terrestre ou em outro ecossistema aquático, sendo carregado pelo escoamento superficial ou lixiviação do solo, bem

como através de tributários ou afloramentos de lençol freático, sendo constituído principalmente por substâncias húmicas (BIDDANDA & COTNER 2002, FARJALLA et al. 2002, LENNON & PFAFF, 2005).

Temporalmente, o COD também pode variar consideravelmente, tanto em função de aportes esporádicos como sazonais. Em escala sazonal, o regime de chuvas ou o pulso hidrológico podem ser responsáveis por aportes massivos de COD para rios, lagos, principalmente em ecossistemas tropicais (SUHETT et al., 2006). Em lagos e rios da região amazônica, as maiores concentrações de COD geralmente ocorrem quando estes ecossistemas sobem de nível devido ao pulso hidrológico, invadindo as florestas circundantes (CASTILLO 2000, AMADO et al. 2006, FARJALLA et al. 2006).

O incremento da disponibilidade de nutrientes no ambiente acarreta direta e/ou indiretamente aumento da abundância dos diferentes componentes das comunidades microbianas (SAMUELSSON et al., 2002) no qual crescimentos no número de bactérias heterotróficas podem ser usados para monitorar aumentos na poluição orgânica ambiental (KOLM et al., 1997).

Fatores como uma baixa disponibilidade de nutrientes e condições físicas extremas podem controlar a proporção de bactéria ativas e/ou potencialmente ativas em um sistema aquático (VILLENA et al., 2003 LAMY et al., 2006).

Um grande número de estudos tem comprovado a importância dos nutrientes, e particularmente o fósforo, no controle do crescimento bacteriano em uma variedade de ecossistemas aquáticos (COVENEY & WETZEL 1995; ELSER et al., 1995).

Segundo Jansson et al. (2001) o fósforo é um dos mais importantes reguladores da produção pelágica. Juntamente com esse fator abiótico o COD também é responsável pela regulação da dinâmica do bacterioplâncton (KISAND & NOGES, 2004).

Entre as condições físicas, numerosos estudos têm demonstrado que a temperatura controla a abundância, produção e taxas de crescimento do bacterioplâncton (WHITE et al., 1991; SHIAH & DUCKLOW, 1994). No entanto, essa regulação geralmente não se aplica aos ecossistemas aquáticos tropicais em função da pouca variação de temperatura.

Os períodos historicamente alternados de baixa e alta pluviosidade e os elevados níveis de insolação típicos de regiões tropicais podem influenciar o

desenvolvimento e a composição das comunidades microbianas e os estudos realizados em ambientes aquáticos dessas regiões significam uma contribuição para a caracterização dos efeitos das altas temperaturas e da chuva e seca sobre as populações bacterianas (ARAÚJO, 2004).

Trabalhos sobre o bacterioplâncton no Brasil são escassos, principalmente ao longo da região norte, havendo grande urgência de levantamento sobre sua abundância e distribuição sazonal.

Analisando a produção científica no Brasil até março de 1997, Brandini et al. (1997) mostraram que dentre esses trabalhos, predominam os com zooplâncton, com cerca de 45% do total, seguido pelo fitoplâncton, com cerca de 34%, ictioplâncton, com 8%, protozooplâncton, com 4% e bacterioplâncton, com 2%.

Entre trabalhos de bacterioplâncton no Brasil encontram-se o de Petrócio (2003) que verificou a produtividade desses microorganismos no trecho médio da bacia do Rio Doce em Minas Gerais; Araújo (2004) estudou a ecologia do bacterioplâncton em um sistema fluvial-lagunar no nordeste; Andrade et al. (2007) estudaram a abundância e classificação das bactérias com alta e baixa quantidade de ácido nucléico (HNA e LNA) no sudoeste do oceano atlântico; Gonzalez et al. (2006) que determinaram por citometria de fluxo a abundância e distribuição do bacterioplâncton e HNA e LNA na lagoa Rodrigo de Freitas no Rio de Janeiro. Kolm & Andretta (2003) verificaram a influência da maré sobre as bactérias no estuário do Paranaguá no Paraná. O trabalho preliminar de Chicheportiche (2007) que determinou pela técnica de microscopia de epifluorescência a abundância, morfotipo do bacterioplâncton e sua relação com o fitoplâncton no estuário do Rio Amazonas.

São raros ou inexistentes os estudos sobre bacterioplâncton nas Áreas Norte, Nordeste e Central no Brasil (Yoneda, 1999). Apesar da importância dos estudos de caracterização, abundância e dinâmica desses microorganismos a maioria desses é realizada em ecossistemas aquáticos marinhos, costeiros ou lênticos.

Segundo Bozelli & Huszar (2003) apenas 22 trabalhos sobre bacterioplâncton foram localizados no Brasil, incluindo organismos auto e heterotróficos. Destes, somente oito utilizam a técnica de microscopia de epifluorescência, modernamente utilizada em estudos desta natureza. Praticamente tudo está por ser feito sobre essa comunidade em ambientes aquáticos brasileiros.

Isso se deve em parte, segundo César & Abreu (2001), ao alto custo de aquisição de novos equipamentos e à escassez de treinamento dos ecologistas aquáticos.

Embora esses microorganismos não sejam diretamente utilizados comercialmente, estão relacionados com a produção dos níveis superiores da cadeia alimentar, sendo assim, de grande relevância para a avaliação do potencial produtivo desta área, quando se visa à exploração racional dos recursos.

Este trabalho irá contribuir para o conhecimento da dinâmica da comunidade do bacterioplâncton na região Norte e principalmente no Rio Amazonas em áreas com ou sem influência antrópica. Além disso, as informações obtidas nesse estudo serão úteis a trabalhos comparativos regionais e possibilitarão subsídios básicos para o entendimento da estrutura e ecologia desta comunidade.

Diante do exposto, no geral, esse estudo visa descrever e discutir variações sazonais na abundância do bacterioplâncton e sua relação principalmente com a matéria orgânica, temperatura, nutrientes e fitoplâncton.

O trabalho questiona se as variações sazonais afetam a abundância do bacterioplâncton de acordo com as variáveis ambientais e fitoplanctônicas.

A hipótese a ser testada é que a abundância do bacterioplâncton varia sazonalmente de acordo com as variáveis ambientais em áreas com ou sem influência antrópica no estuário do Rio Amazonas (Canal do Norte).

### **1.1. Objetivos**

O presente estudo pretende avaliar a distribuição e abundância sazonal do bacterioplâncton no estuário do Rio Amazonas bem como sua relação com o fitoplâncton, a matéria orgânica e variáveis físico-químicas.

Especificamente o trabalho pretende:

1. Caracterizar os teores de clorofila *a* (indicador de biomassa fitoplanctônica), feopigmentos, carbono orgânico particulado, pH, oxigênio dissolvido, temperatura, condutividade elétrica, material em suspensão, turbidez, transparência, fósforo, nitrato, nitrito e amônia nos períodos de seca e chuva em três pontos próximos a

cidade de Macapá e em um transecto no estuário do Amazonas (Macapá – Itamatatuba (Bailique));

2. Avaliar a distribuição e abundância do bacterioplâncton em áreas com ou sem ação antrópica na maré vazante, nos períodos de seca e chuva relacionando-o com as variáveis ambientais e a acumulação de biomassa fitoplanctônica;

3. Identificar morfologicamente as amostras das comunidades bacterioplanctônicas em bacilos, cocos, vibriões e células em divisão;

4. Identificar as amostras das comunidades bacterioplanctônicas em livres e aderidas ao material em suspensão;

5. Comparar as técnicas de microscopia de epifluorescência e citometria de fluxo e estimar a porcentagem ativa das comunidades bacterianas.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Localização das Áreas de Estudo

De acordo com estudos do ZEE (1997), o Estado do Amapá apresenta 34 bacias hidrográficas das quais 6 são insulares.

Como todas as cidades brasileiras em crescimento, Macapá está sofrendo um intenso processo de urbanização, ocasionando o comprometimento de seus igarapés e rios como o Rio Amazonas.

Parte desses cursos d'água apresenta alterações em sua qualidade em decorrência de atividades poluidoras desenvolvidas de forma ambientalmente incorretas, da ocupação humana desordenada e o lançamento de dejetos nos rios que têm contribuído para a deterioração da qualidade de suas águas, limitando o seu uso (ZEE, 1997) e podendo assim ocasionar mudanças nas comunidades microbiológicas locais (TAKIYAMA et al., 2004; CUNHA et al., 2004; CUNHA et al., 2004).

O estudo foi realizado no Rio Amazonas em uma área (área 01) mais próxima à cidade de Macapá (Ponto 1), outra no canal (Ponto 2) e na região insular (Ponto 3) oposta a cidade (Figuras 2 e 3). A outra área (área 02) do estuário do Rio Amazonas situa-se no sentido cidade de Macapá para a comunidade de Itamatatuba no arquipélago do Bailique representadas pelos pontos 1B, 2B (mais próximos a cidade de Macapá) 3B, 4, 5, 5B (na entrada do igarapé do Pau Mulato) 6, 7, e 8 (sendo esses dois últimos mais próximos a Itamatatuba na foz do Rio Amazonas) (Figuras 2 e 4). A Tabela 01 mostra as coordenadas dos pontos das amostragens.

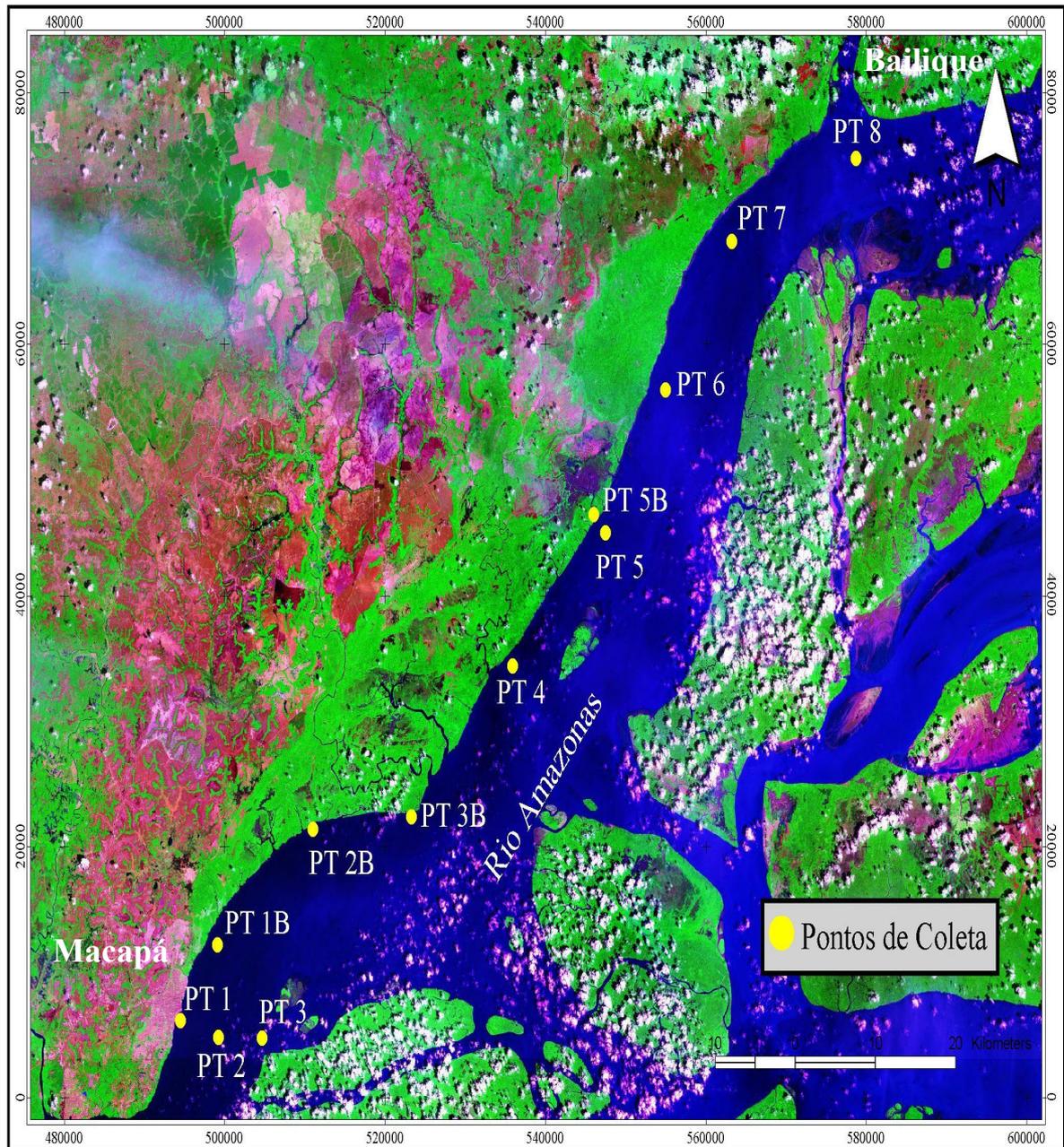


Imagem Base: Landsat ETM+,2000.Acervo:GLCF

Composição Colorida:R7G4B2

**Figura 2:** Localização das áreas de estudo no Rio Amazonas no trajeto desde a cidade de Macapá até a ponta do Curuá (Arquipélago do Bailique) (Imagens cedidas: CPAQ-IEPA, 2009).



**Figura 3:** Localização da área de estudo no Rio Amazonas (área 01) (Fonte: CPAQ-IEPA, 2008).



**Figura 4:** Localização da área de estudo no Rio Amazonas (área 02: Macapá-Bailique) (Fonte: CPAQ-IEPA, 2008).

**Tabela 1:** Coordenadas dos pontos de coleta no Rio Amazonas, próximo a cidade de Macapá e dessa até Itamatatuba no Bailique.

Ponto	Latitude	Longitude
Pt1	0° 01' 18.5" N	51° 02' 56.9" W
Pt2	0° 00' 29.7" N	51° 00' 23.9" W
Pt3	0° 00' 27.0" S	50° 57' 27.3" W
Pt1B	0° 04' 54.1" N	51° 00' 26.8" W
Pt2B	0° 10' 27.2" N	50° 54' 02.9" W
Pt3B	0° 11' 02.9" N	50° 47' 25.4" W
Pt4	0° 18' 15.7" N	50° 40' 37.5" W
Pt5	0° 24' 38.3" N	50° 34' 22.0" W
Pt5B	0° 25' 31.1" N	50° 35' 09.6" W
Pt6	0° 31' 27.3" N	50° 30' 19.1" W
Pt7	0° 38' 35.1" N	50° 25' 51.8" W
Pt8	0° 42' 31.8" N	50° 17' 30.4" W

## 2.2. Coleta e amostragens

Todos os pontos de coleta foram geo-referenciados através de um aparelho de posicionamento global (GPS) e transferidos para o programa GPS Trackmaker de um computador.

Durante os períodos de seca (Setembro a Dezembro de 2007) e de chuva (Janeiro a Maio de 2008, com exceção de Fevereiro) foram realizadas as coletas de 41 amostras de água superficial (20 a 30 cm de profundidade) em duas áreas no rio Amazonas sob a influência do movimento da maré (maré vazante) com o auxílio de frascos de polietileno de 1,0 L para o carbono, 0,100 L para o bacterioplâncton (estéreis) e de garrafas de 1,5 L para a clorofila. A fixação para as análises do

bacterioplâncton por microscopia de epifluorescência foi feita com 2,5 mL de formaldeído neutralizado com tetraborato de sódio (concentração final de 2%), pré-filtrado (tamanho do poro, 0,2  $\mu$ ). Para a citometria de fluxo foram retirados 2,0 mL das amostras de água, colocadas em tubos pequenos criogênicos e fixadas com paraformolaldeído estéril a 2% (concentração final) (Anexo A). Esses procedimentos foram realizados no laboratório do Centro de Pesquisas Aquáticas do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá (IEPA). As garrafas foram lavadas com ácido (somente as de carbono) e enxaguadas com água destilada (todas) um dia antes do uso. Depois de retornar ao laboratório as amostras foram armazenadas no refrigerador a 4° C (GAO et al., 2007) e no congelador (-18°C) para a citometria de fluxo.

### **2.3. Variáveis Abióticas**

As análises de temperatura, turbidez (turbidímetro Policontrol, modelo AP2000), condutividade elétrica (condutivímetro Lutron, modelo CD4303) e oxigênio dissolvido (medidor de oxigênio dissolvido Instrutemp, modelo MO880) foram realizadas nos locais de coleta. As análises de nutrientes (fósforo e nitrogênio inorgânicos) foram realizadas por métodos colorimétricos. As medidas de pH e material em suspensão foram realizadas no laboratório do IEPA, onde todos os métodos foram aplicados como descritos Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater (APHA, 1996).

### **2.4. Clorofila**

As subamostras foram filtradas diretamente ou indiretamente (pré-filtração de 40  $\mu$ m) através de filtros de fibra de vidro Whatman GF/F, e de filtros de Polycarbonato Nuclepore de 10  $\mu$ m e 3  $\mu$ m. Os filtros foram congelados rapidamente e conservados a -18°C no laboratório do CPAq/IEPA até o momento de sua análise. O objetivo foi ter uma estimativa das diferentes classes de tamanho do fitoplâncton e detectar possíveis variações no estado trófico do ecossistema através das mudanças do tipo de comunidades de micro-algas e do estado fisiológico do estoques fitoplanctônicos (% de clorofila/estoques), tendo assim uma influência no tipo de produção primária e circulação do carbono nas redes tróficas e na alça

microbiana (AZAM et al., 1983; RIEGMAN et al., 1993; ARTIGAS et al., 1998). No laboratório de Oceanografia e Geociências (LOG, CNRS UMR 8187), na casa de Pesquisa do Meio Ambiente Natural (MREN) – Universidade do Litoral – França, os filtros foram descongelados, separados mecanicamente e agitados em 8ml de acetona a 90% e colocados a 4 °C durante 16 horas. A concentração de clorofila *a* e de feopigmentos foram estimadas no extrato acetônico, antes e depois de acidificação com HCL 0.001, pelo fluorímetro TURNER DESIGNS 10-AU (YENTSCH & MENZEL, 1963), segundo o protocolo de Aminot & Kérouel (2004).

## **2.5. Abundância Bacteriana por Microscopia de Epifluorescência**

### **2.5.1. Princípio**

Para a abundância de bactérias subamostras com formolaldeído neutralizado com o borato foram marcadas com o fluorocromo 4', 6'-diamidino-2phenylindole DAPI (1µg/mL) (PORTER & FEIG, 1980). A abundância foi determinada por contagem direta por microscópio à epifluorescência.

### **2.5.2. Protocolo**

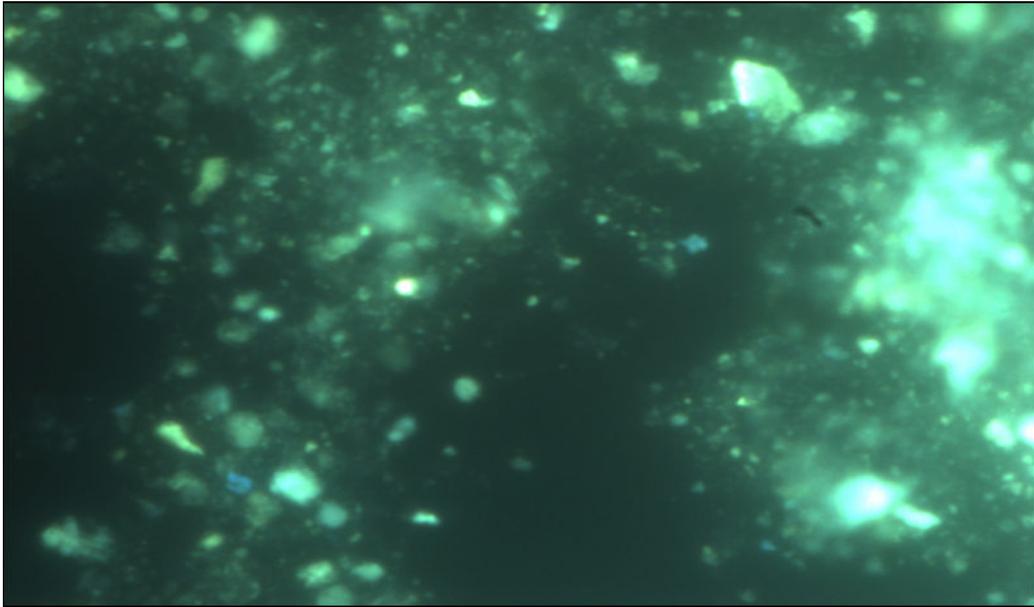
#### **2.5.2.1. Preparação das Amostras por Filtragem (PORTER & FEIG, 1980).**

Quatro gotas de DAPI (pré-filtradas a 0,2µm) foram adicionadas a 1mL de amostra, a fim de obter uma concentração final de 4µg/L (ARTIGAS et al., 1998). A amostra foi conservada a 4 °C , na escuridão por 15min. Foi em seguida filtrada com filtro em policarbonato Isopore GTBP Millipore pré-colorido em preto de Irgalan, de 2,5mm de diâmetro e de 0,2µm de porosidade. Os filtros foram em seguida colocados entre lâmina e lamínula com uma gota de óleo de imersão não fluorescente Olympus, para observação microscópica.

É importante notar que todas as manipulações foram efetuadas preservando ao máximo o DAPI da luz, pois este tem tendência a perder por fluorescência por sua ação. Além do mais, as lâminas preparadas foram conservadas a 4 °C, no escuro até terem sido observadas durante a semana.

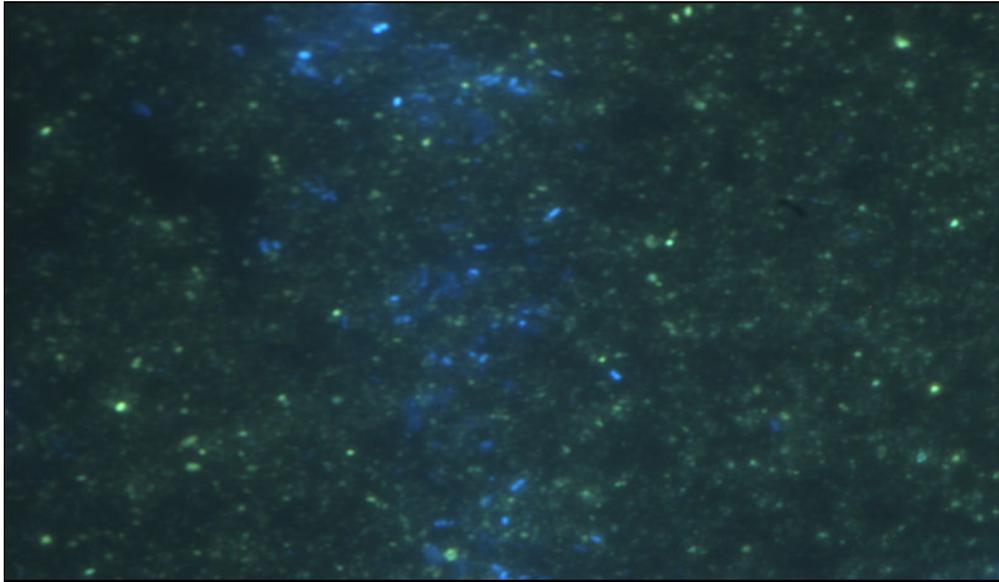
### 2.5.2.2. Pré-Tratamento das Amostras

Como as amostras estavam muito carregadas de partículas fluorescentes em amarelo, que ocultavam as bactérias, para poderem ser contadas diretamente (Figura 5), foi necessário passar cada amostra por diferentes etapas de tratamento.



**Figura 5:** Filtração normal de bactérias totais por epifluorescência.

-Tratamento com Tween 80 (tratamento T4), (HUBAS et al., 2007). O Tween 80 é um agente desorção capaz de desgarrar as bactérias das partículas, que junto ao uso de ultra-som se mostra muito eficaz no caso de água carregada de partículas. Cento e cinquenta microlitros ( $150\mu\text{L}$ ) de Tween 80 são adicionados a 5ml de amostra previamente homogeneizada. Depois de uma agitação vigorosa no vórtex, são colocados em um banho de ultra-som a 35kHz durante 10min. Centrifuga-se em seguida durante 10min a  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a 3000tr/min. Este método foi inspirado a partir do método utilizado em sedimentos profundos por Chevaldonné & Godefroid (1997). Um mililitro do sobrenadante foi em seguida pipetado para filtragem clássica (Figura 6).



**Figura 6:** Pré-filtração de bactérias totais por epifluorescência.

- Pré-filtração (PF) de  $3\mu\text{m}$

As partículas minerais argilosas características das águas amazônicas são retiradas por uma pré-filtração com filtro Isopre de  $3\mu\text{m}$  (levando em conta a mediana de tamanho das partículas de lama em suspensão no Rio Amazonas) com a ajuda de uma seringa e do suporte de filtro Sweenex. Um mL do filtrado sofreu, em seguida, uma filtragem clássica com filtro preto.

**2.5.2.3. Cálculos:**

A fim de obter um resultado global da separação de diferentes morfotipos bacterianos em função de serem ou não aderidos, cálculos foram realizados a partir de informações dadas por esses dois tratamentos.

- T4, dado o tratamento, quantifica as bactérias totais;
- PF quantifica as bactérias livres + eventualmente as bactérias aderidas às partículas inferiores a  $3\mu\text{m}$  (as quais foram contadas separadamente a fim de determinar os morfotipos relacionados)

Assim, para cada morfologia, T4-PF resulta em parte de bactérias aderidas às partículas superiores a  $3\mu\text{m}$ . Isto adicionado às eventuais bactérias fixadas com uma pré-filtragem quantifica as bactérias aderidas totais. Assim, como era o caso, a soma global das bactérias aderidas e livres foi recalculada.

### 2.5.3 Caracterização Morfológica

As contagens foram efetuadas levando-se em conta as diferenças morfológicas das bactérias. Essas diferenças morfológicas não são sinônimos de espécies, mas de comunidades bacterianas que podem representar estágios fisiológicos diferentes entre si. Assim, as formas definidas por Torrétton (1991) foram discriminadas, a saber: os cocos-cocóides (esféricos), os bastonetes e os vibriões + espirilos (em <<U>> ou em <<S>>), além das células em divisão (invaginadas ou ainda aderidas por uma <<ponte>> celular). As bactérias foram classificadas em quatro morfotipos: cocos, bacilos, vibriões (e espirilos) e em divisão (LA FERNA & LEONARD, 2005). Essas contagens foram efetuadas de forma simultânea, com a ajuda de um contador mecânico.

No que diz respeito às bactérias aderidas às partículas, elas são contadas de maneira global por ocasião da contagem das bactérias livres, depois os diferentes morfotipos foram determinados com foco unicamente nas partículas.

### 3.5.4. Contagens

As contagens foram realizadas sobre uma dezena de “campos” por lâmina, contendo no mínimo 30 bactérias. Quando esta última condição não era cumprida ou a distribuição das bactérias no filtro não era ótima, o número de “campos” foi aumentado, mas geralmente a filtração foi refeita ajustando o volume de água filtrado.

### 3.5.5. Cálculo da Abundância Bacteriana

As abundâncias bacterianas foram calculadas com a ajuda da seguinte fórmula:

$$\text{Abundância bacteriana (célis/mL)} = X \cdot (A/a) \cdot (1/D) \cdot (1/Vf)$$

Onde: X = número médio de células

A = área do filtro efetivamente empregado ( $\text{mm}^2$ )

a = área do campo microscópico ( $\mu\text{m}^2$ )

D = diluição efetuada

Vf = volume filtrado (ml)

O cálculo da abundância dos diferentes morfotipos aderidos às partículas foi realizado calculando a abundância das partículas (pela mesma fórmula anterior), tendo tomado cuidado em medir o tamanho delas (via uma “vista” micrométrica diretamente situada sob a objetiva), depois calculando a superfície média. Dessa forma, pode-se então encontrar a superfície total que ocupam as partículas. Em seguida, um número médio de diferentes morfologias por unidade de superfície foi calculado que, multiplicado pela superfície total das partículas, acha-se a abundância de bactérias aderidas.

## **2.6. Abundância Bacteriana por Citometria de Fluxo**

A abundância bacteriana total foi determinada depois do ácido nucléico ter sido marcado com Sybr Green II e Syto 13 (sonda molecular) nas amostras fixadas com paraformolaldeído estéril a 2% (concentração final) (Del GIORGIO et al, 1996; GASOL et al, 1999; LEBARON et al, 1998) e congeladas rapidamente a  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ . Para a detecção foi utilizado, o citômetro de fluxo B-D FACSCalibur equipado com laser de argônio do laboratório de Hidrobiologia da UFRJ no Rio de Janeiro. As contagens foram feitas com uma baixo fluxo ( $12\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) por 30 segundos e os dados foram adquiridos em modo logarítmico. As bactérias foram detectadas por suas assinaturas em um gráfico de espalhamento lateral (SSC) versus fluorescência verde do ácido nucleico induzida pela marcagem. Pérolas de látex fluorescentes foram adicionadas (Polysciences, diâmetro de  $1.0\ \mu\text{m}$ ) e usados como padrão interno. Baseado nos sinais óticos e de fluorescência, 2 sub-grupos distintos foram diferenciados: bactérias com baixo (LNA) e alto (HNA) conteúdos de ácido nucléico (ADN) (Del GIORGIO et al, 1996 GASOL et al, 1999).

## **2.7. Carbono Orgânico Particulado (COP)**

O carbono orgânico particulado foi analisado por duplicatas da água através de filtros Whatman GF/F previamente submetidos a combustão (> 2h a 500 °C) e guardado a 4 °C no IEPA até o momento de sua análise. Os filtros foram analisados pelo equipamento analisador elementar CHN Perkin-Elmer (POC, 1995) no laboratório EPOC (Environnements et Paléoenvironnements Océaniques) (CNRS UMR 5805), Universidade de Bordeaux-I – França.

## **2.8. Análises Estatísticas**

Os dados foram transformados para logaritmo natural e em seguida foi realizada a análise de componentes principais para verificar as principais variáveis que explicam a variabilidade dos dados. Análises de variância (ANOVA) também foram utilizadas para comparar a abundância de bactérias e clorofila entre os ambientes e os períodos considerados. Análise descritiva para verificar as médias, mínimo e máximo de valores das variáveis. Correlações lineares de Pearson foram testadas entre as variáveis abióticas e abundância do bacterioplâncton (PETRÚCIO, 2003). Essas análises foram realizadas utilizando-se o programa STATISTICA 6.0.

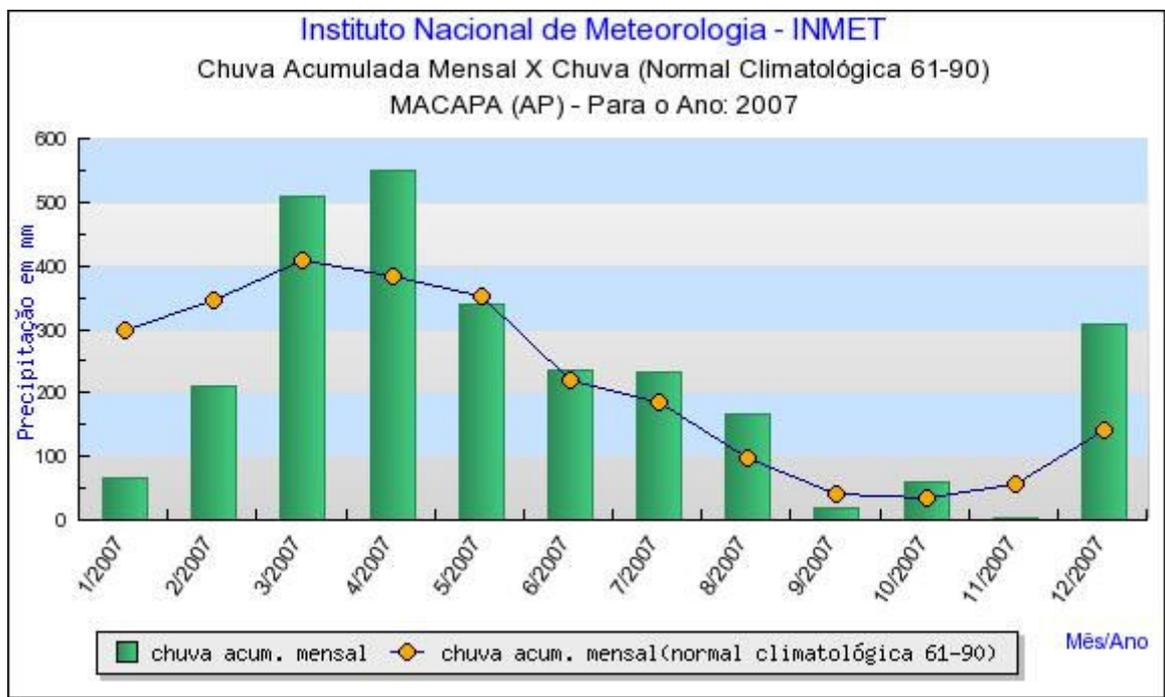
### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Variáveis Ambientais Físico-Químicas, Matéria Orgânica e Clorofila.

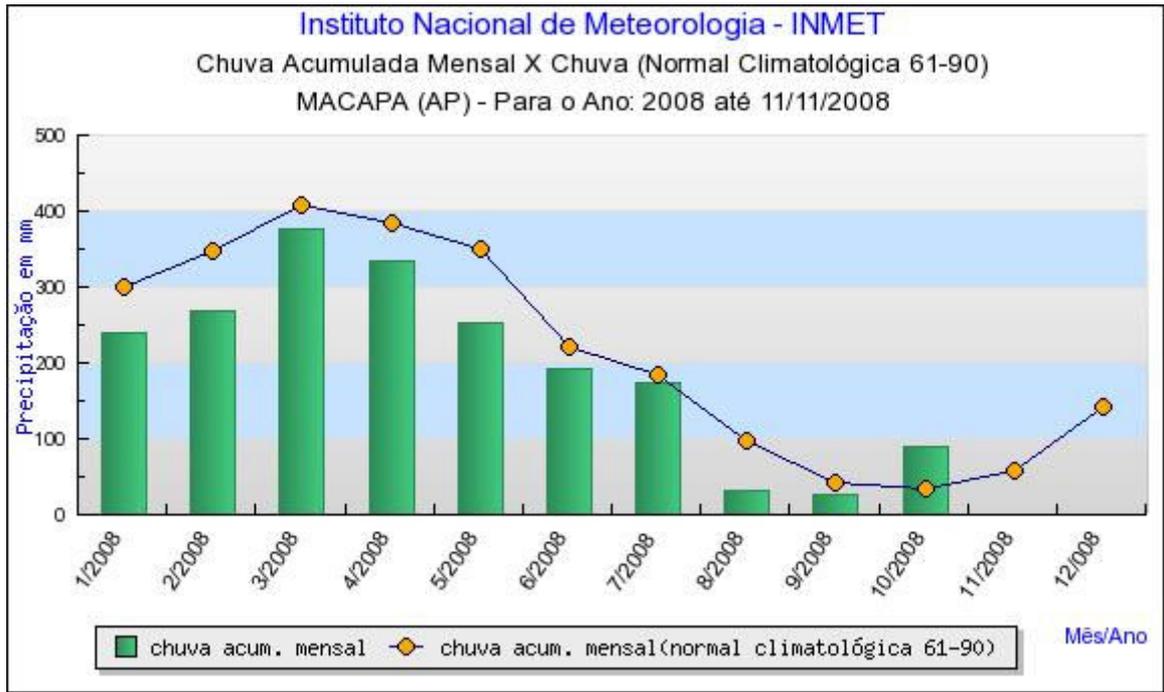
##### 3.1.1. Precipitação Pluviométrica

Nos meses de setembro a novembro de 2007 observou-se uma pluviosidade mensal inferior a 100 mm, enquanto que de janeiro a maio de 2007 a pluviosidade não foi menor do que 200 mm e atingiu valores acima de 350 mm mensais nos meses de março e abril. Observou-se que a pluviosidade foi menor em setembro e principalmente em novembro, assim como em todo o período chuvoso em relação aos períodos de 1961 a 1990 (Figuras 7 e 8).

Os dados referentes as pluviosidades mensais dos últimos anos (2007-2008) revelam que no município de Macapá, como na maioria das regiões na Amazônia, ocorrem dois períodos distintos. O primeiro que se estende de janeiro até junho (período chuvoso). E o segundo com índices de pluviosidade mais baixos, que ocorre de julho a dezembro (período seco).



**Figura 7:** Precipitação pluviométrica mensal no ano de 2007 em relação a normal climatológica de 1961-1990 (Fonte: INMET, 2008).

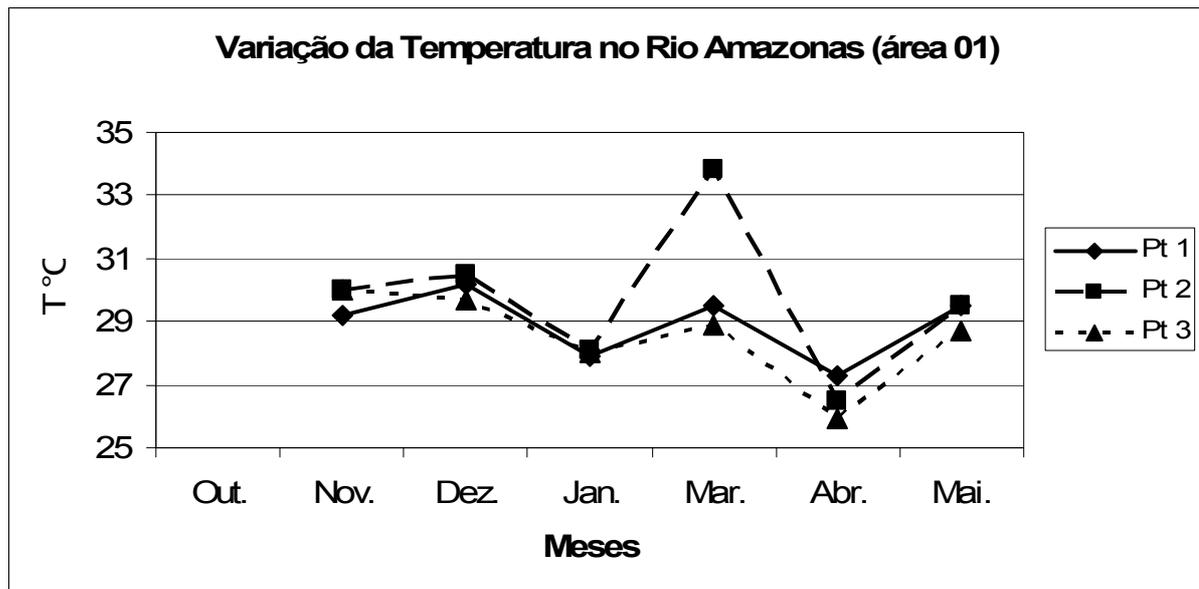


**Figura 8:** Precipitação pluviométrica mensal no ano de 2008 em relação a normal climatológica de 1961-1990. Fonte:INMET, 2008).

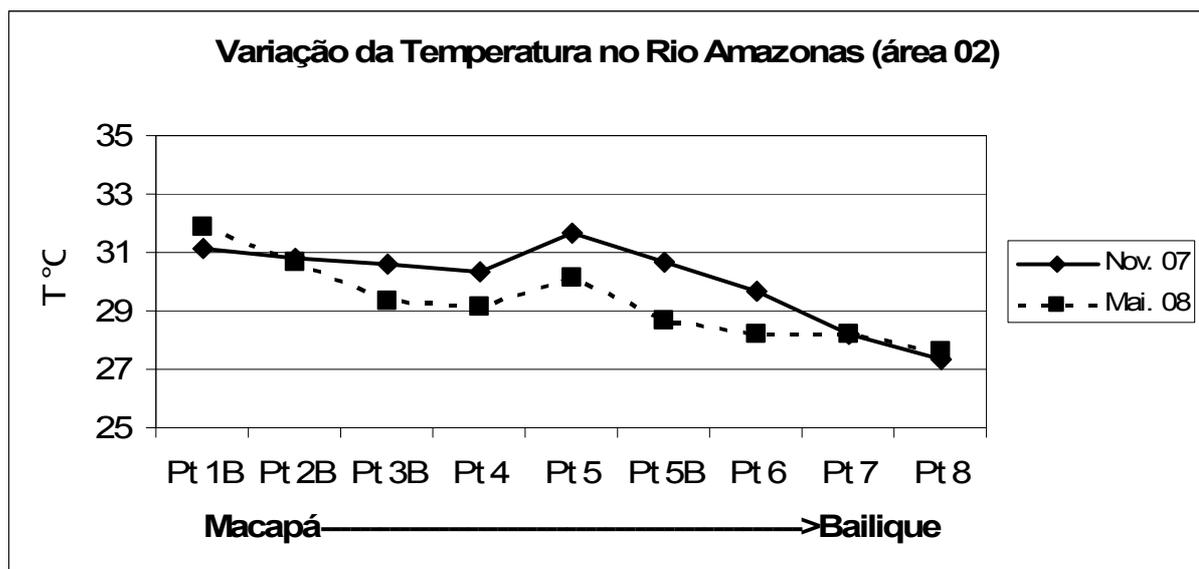
### 3.1.2. Temperatura da Água

A média da temperatura nas duas áreas trabalhadas foi menor no período chuvoso, com exceção do Pt2 em março, na área 01 que obteve o maior valor de todo o estudo (33,8 °C). Enquanto que a mais baixa foi no Pt3 em abril (25,9 °C) (Figura 9). A temperatura média dessa área foi de 29 °C.

Na área 02, observou-se de uma forma geral que a medida que os pontos se distanciavam de Macapá em direção a foz a temperatura diminuía gradativamente. Em relação aos pontos, durante os períodos seco e chuvoso, não ocorreu uma oscilação maior do que 2 °C. A menor temperatura foi em novembro no Pt8 (27,3 °C) e a mais elevada foi em maio no Pt1B (31,9 °C). A temperatura média foi de 30 °C (Figura 10).



**Figura 9:** Variação da temperatura da água do Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01, em função dos meses de coleta.

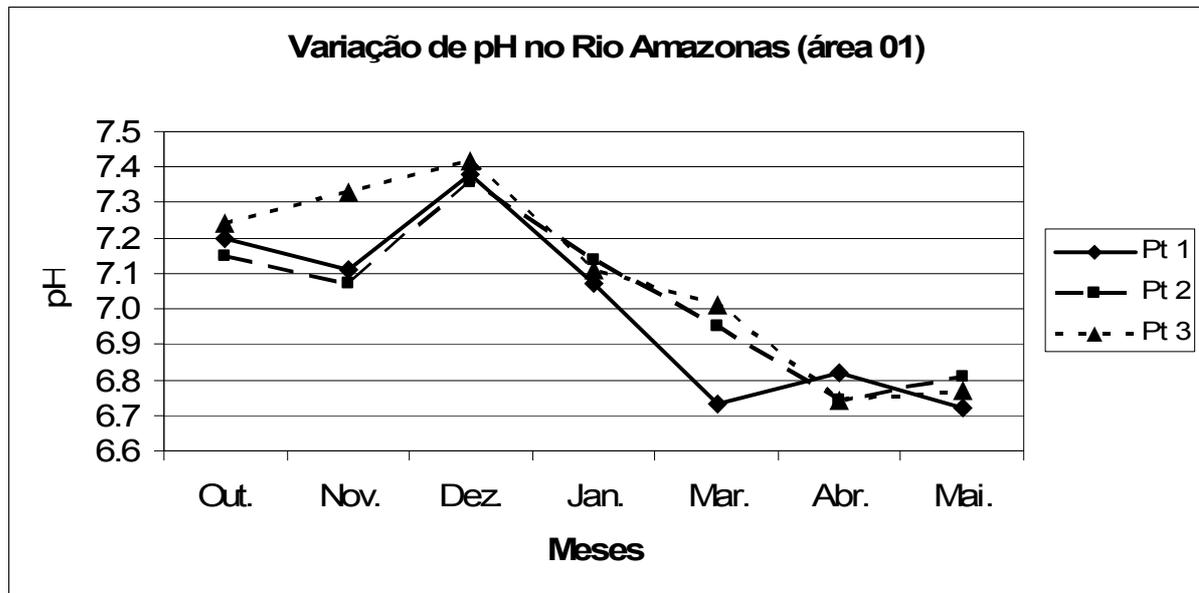


**Figura 10:** Variação da temperatura da água do Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso

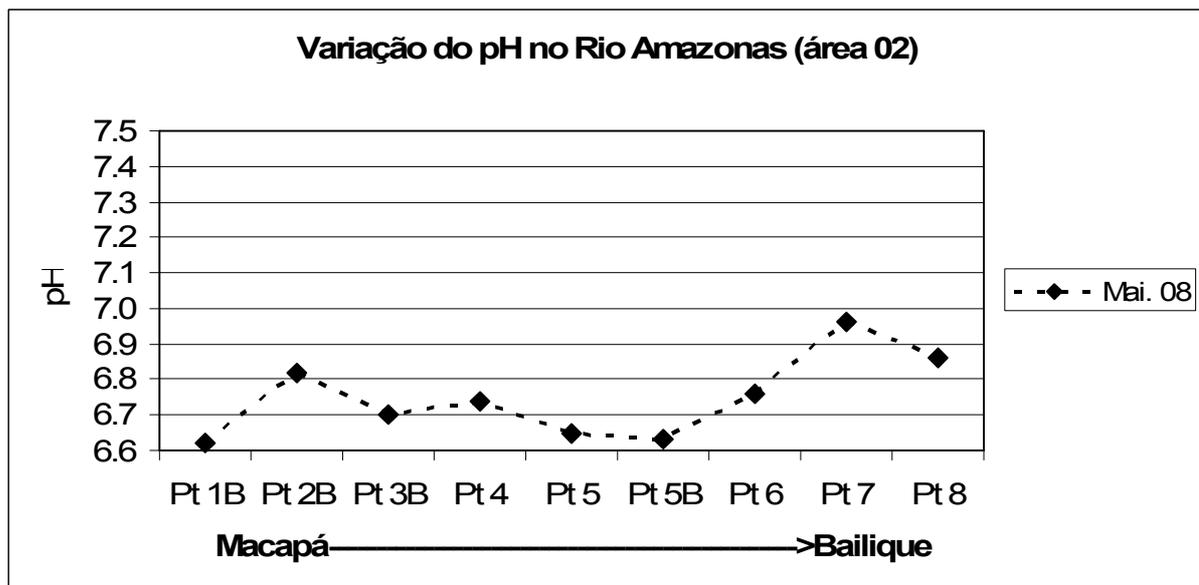
### 3.1.3. pH

Os maiores valores de pH ocorreram no período seco e foram diminuindo no período chuvoso. Em relação às variações mensais, na área 01 observou-se o pH mais baixo no Pt1 em maio (6,72) e o valor mais elevado no Pt 3 em dezembro (7,40) (Figura 11). A média do pH foi de 7,04.

Na área 02 (medições feitas só em maio) os valores de pH aumentaram nos primeiros pontos e foram aumentando do ponto 6 em direção a foz, onde o maior valor registrado foi em maio de 2008 no Pt7 (6,96) e o menor valor foi no mesmo mês no Pt1B (6,62) (Figura 12). A média do pH foi de 6,75.



**Figura 11:** Variação do pH no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.



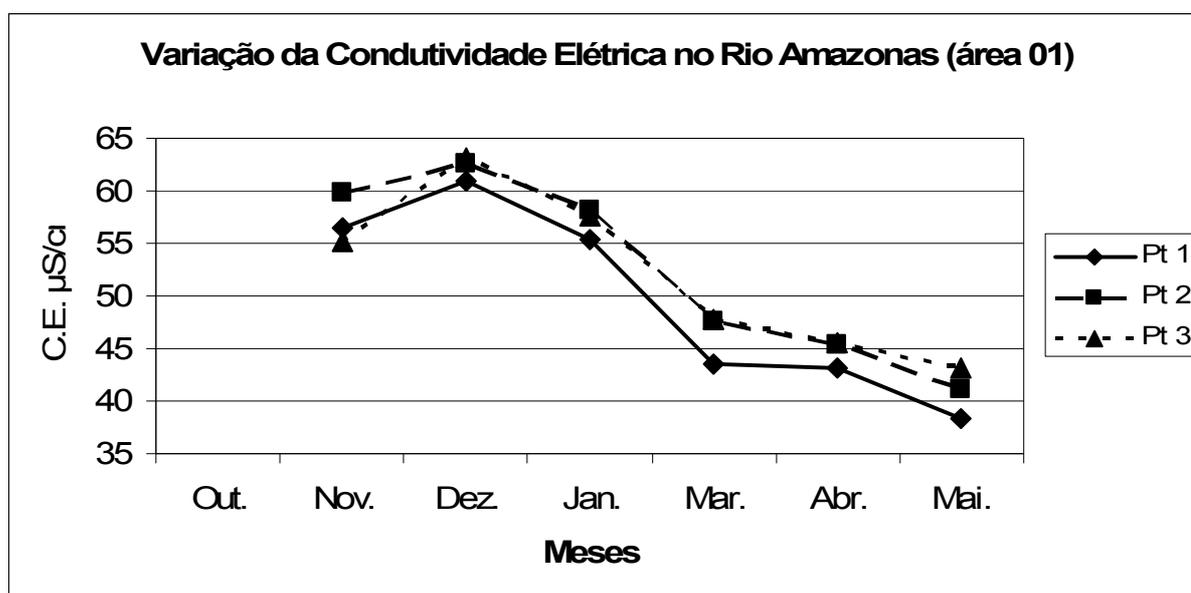
**Figura 12:** Variação do pH no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para o período chuvoso.

### 3.1.4. Condutividade Elétrica

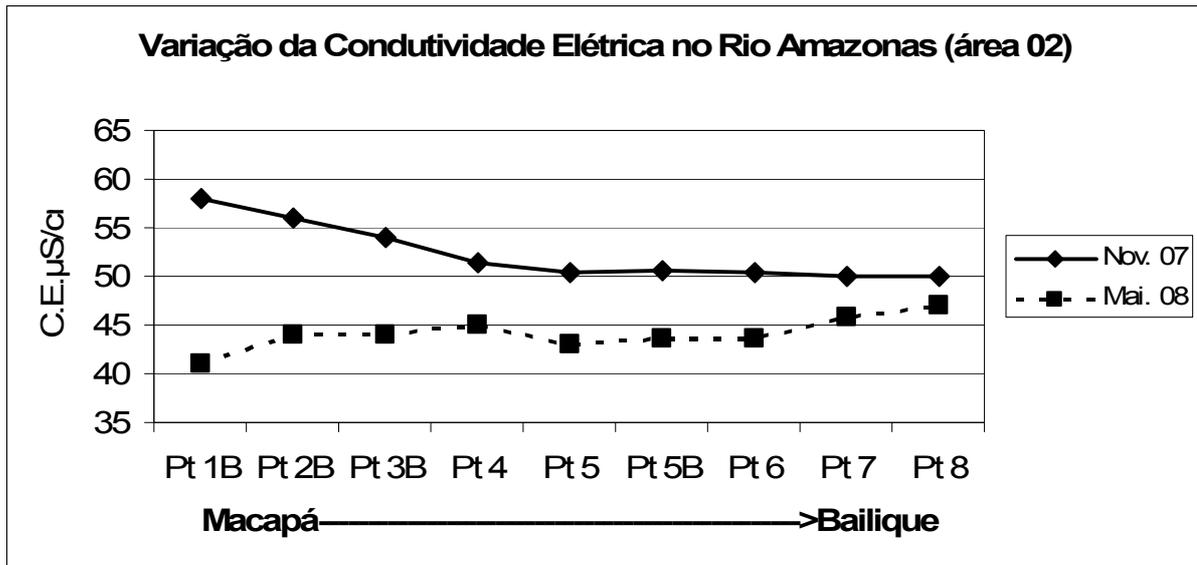
Nesse estudo os valores de condutividade elétrica foram maiores no período seco e menores no período chuvoso.

Para a área 01, o maior valor de condutividade elétrica encontrado foi em dezembro no Pt3 (63,1  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). O menor valor foi encontrado no Pt1 em maio (38,4  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (Figura 13). A média foi de 51,3  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . A condutividade elétrica teve uma boa correlação linear com o pH ( $r=0.92$ ) e com o oxigênio dissolvido (0.81).

Na área 02, o maior valor foi encontrado no mês de novembro no Pt1B (58,0  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ). O menor valor foi encontrado em maio no Pt1B (41,0  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) (Figura 14). Não foi observado um padrão nos valores de condutividade elétrica nos pontos do trajeto Macapá – Itamatatuba. A média foi de 48  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . A condutividade elétrica se relacionou com o pH ( $r= 0.78$ ), com o O.D ( $r=0.84$ ) e com a transparência ( $r=0.75$ ).



**Figura 13:** Variação da Condutividade Elétrica no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.



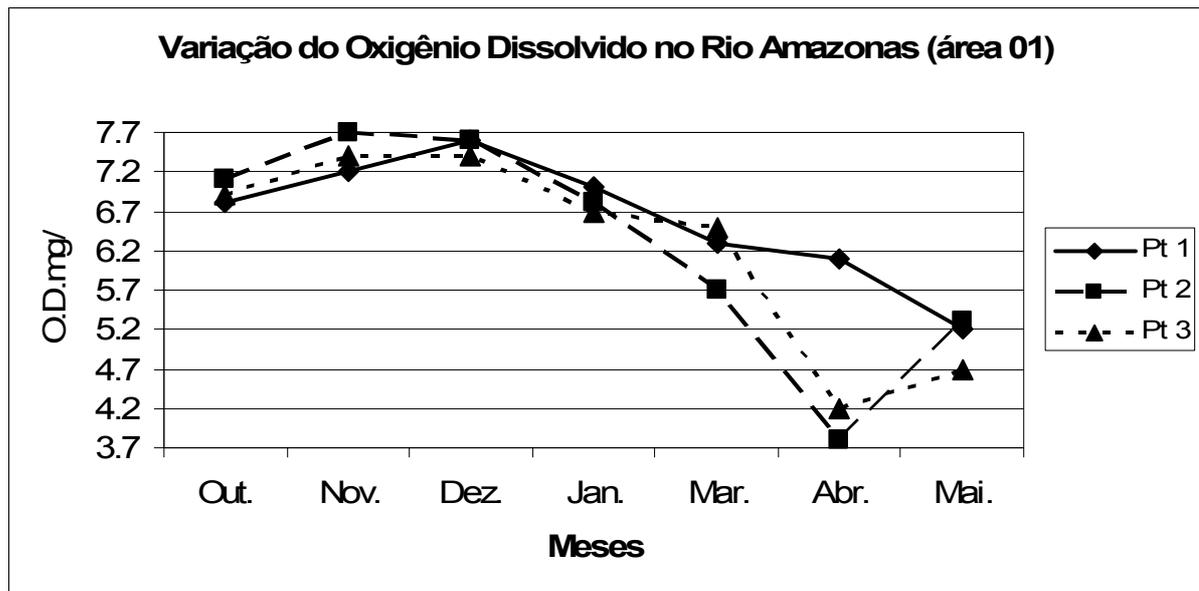
**Figura 14:** Variação da Condutividade Elétrica no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.

### 3.1.5. Concentração de Oxigênio Dissolvido

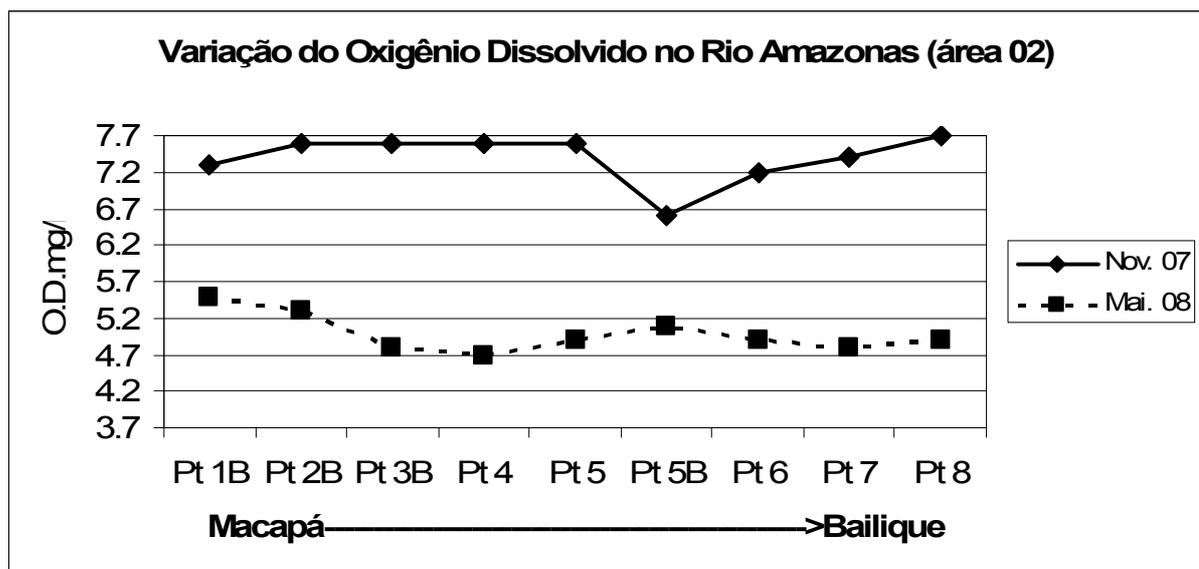
A concentração de oxigênio dissolvido, de maneira geral, também apresentou valores mais baixos no período chuvoso.

A média de oxigênio dissolvido encontrada para a área 01 foi de 6,38 mg/L. A maior concentração de O.D. foi observada em novembro no Pt2 (7,70 mg/L), enquanto que a concentração mais baixa foi em abril no Pt3 (3,89 mg/L) ( Figura 15). O oxigênio dissolvido teve uma boa correlação com o pH ( $r=0.84$ ).

A média de O.D. para a área 02 foi de 6,19 mg/L. A maior concentração foi observada em novembro no Pt8 (7,70 mg/L) e a menor foi encontrada em maio no Pt4 (4,70 mg/L) (Figura 16). O O.D. teve uma correlação negativa com a turbidez ( $r=-0.67$ ).



**Figura 15:** Variação da concentração de Oxigênio Dissolvido no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem na área 01 em função dos meses de coleta.



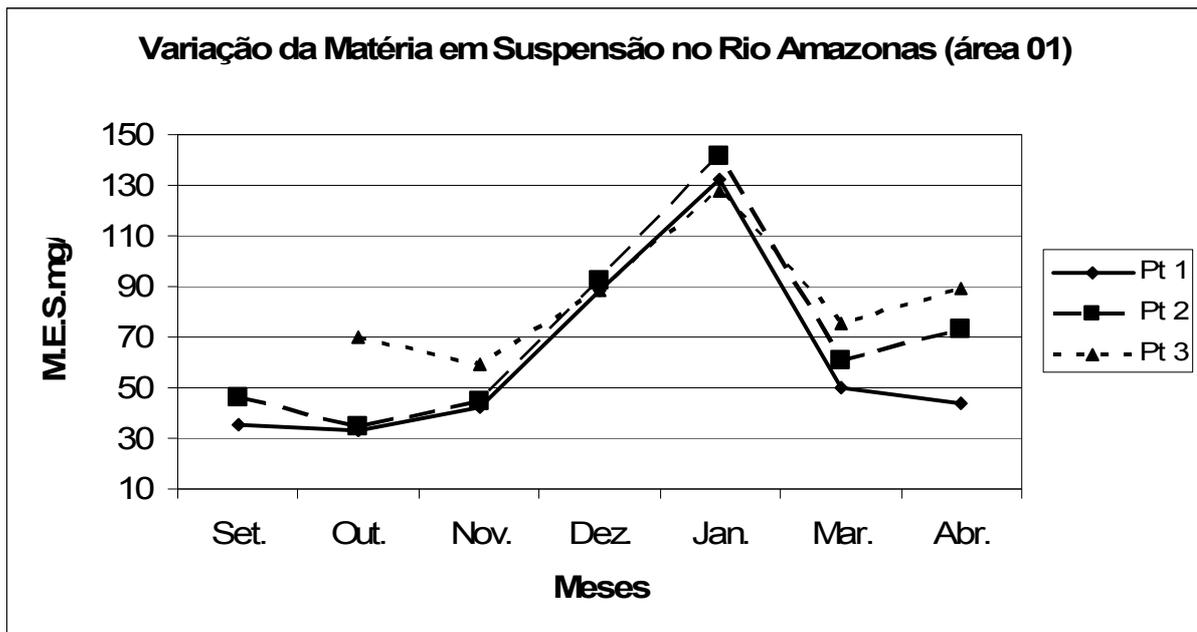
**Figura 16:** Variação da concentração de Oxigênio Dissolvido no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos – seco e chuvoso.

### 3.1.6. Material em Suspensão (MES)

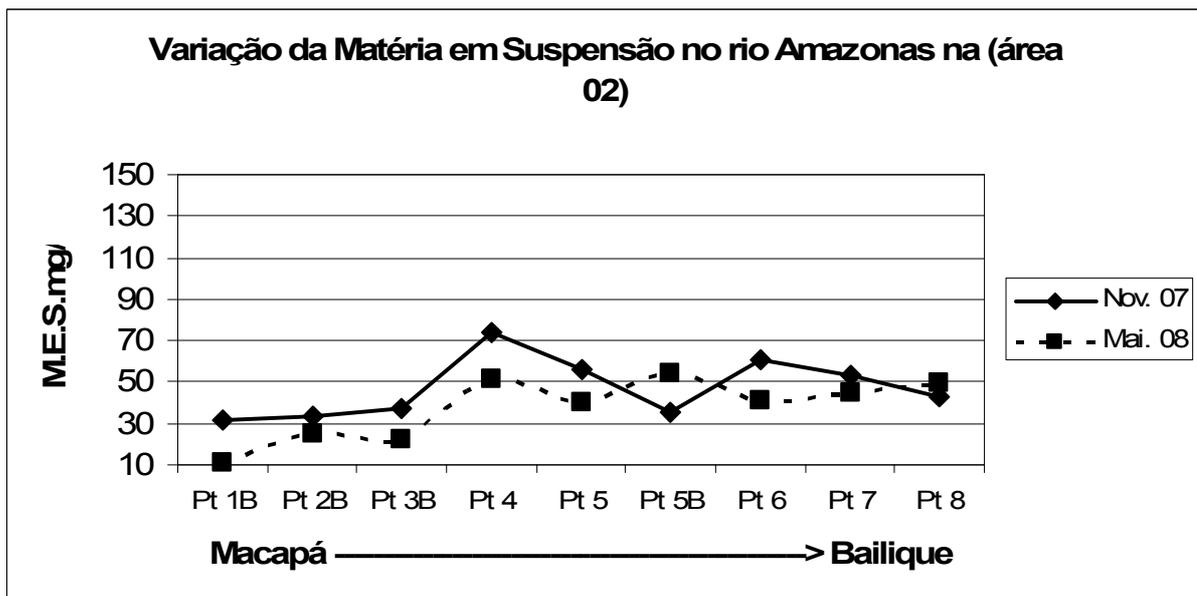
Para a área 01, de uma forma geral, observaram-se os menores valores nos meses de setembro a novembro com um aumento em dezembro, janeiro e um decréscimo em março voltando a aumentar em abril. O maior valor registrado foi em janeiro no Pt2 (141,6 mg/L). A média de material em suspensão registrada foi de 71,45 mg/L. O menor valor registrado foi no mês de outubro no Pt1 (33,1 mg/L)

(Figura 17). A MES apresentou uma correlação com a turbidez ( $r=0.68$ ) e uma correlação negativa com a transparência ( $r=-0.76$ ).

Na área 02 observou-se um maior índice no período seco (com muita chuva nas coletas). O maior valor registrado foi em novembro no Pt4 (74,1 mg/L). O menor valor registrado foi em maio no Pt1B (11,3 mg/L) (Figura 18). A média registrada foi de 42,39 mg/L.



**Figura 17:** Variação da matéria em suspensão no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.

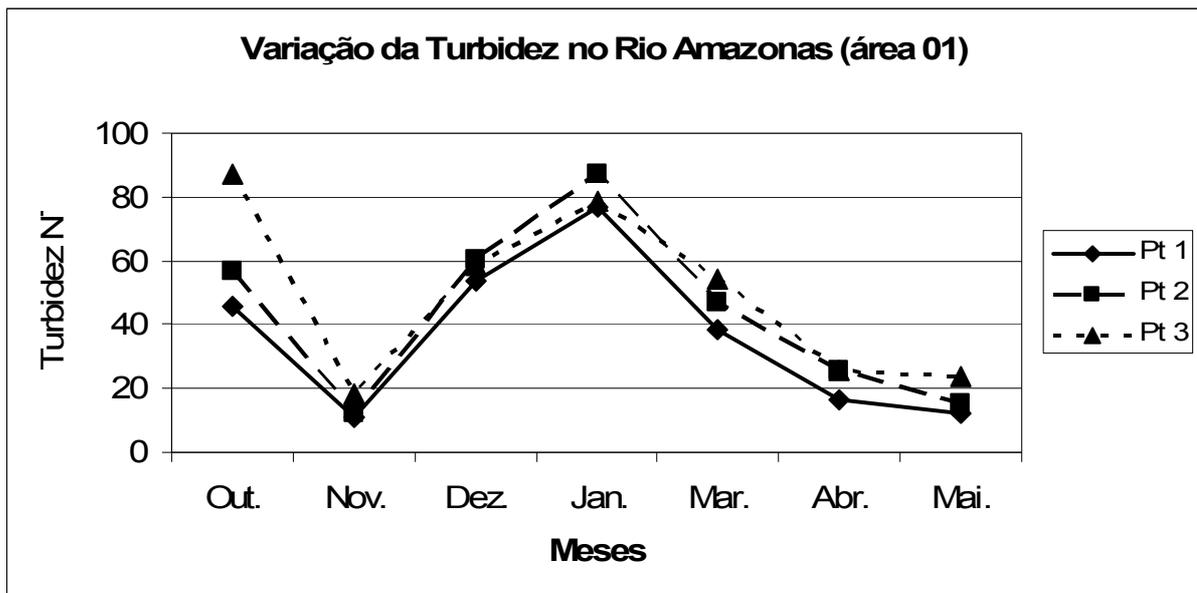


**Figura 18:** Variação da matéria em suspensão no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos seco e chuvoso.

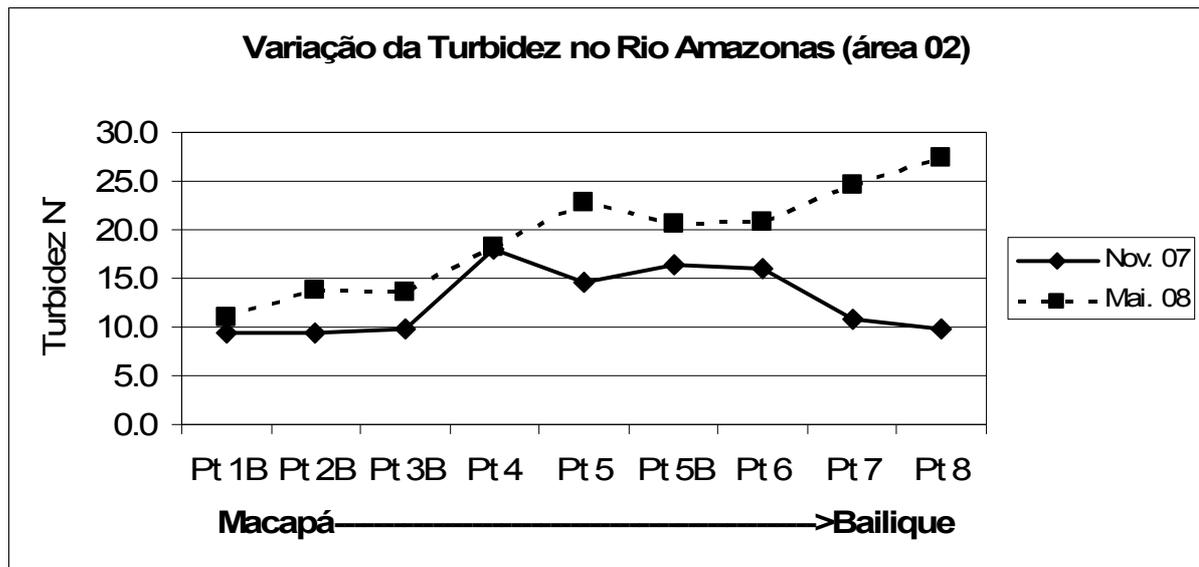
### 3.1.7. Turbidez

Na área 01 não foi encontrado um padrão de sazonalidade, mas uma tendência ao aumento entre novembro e janeiro e um decréscimo até maio. O maior valor encontrado foi em janeiro no Pt2 (87,20 NTU). O menor valor encontrado foi em novembro no PT1 (10,7 NTU) (Figura 19). A média de turbidez encontrada para a área 01 foi de 43,42 NTU.

Na área 02 observou-se um importante decréscimo durante o período não chuvoso. O maior valor encontrado foi em maio Pt8 (27.40 NTU). O menor valor encontrado foi em novembro nos Pt1B e Pt2B (9,40 NTU) (Figura 20). A média encontrada foi de 15,98 NTU. A turbidez se relacionou negativamente com a transparência ( $r=-0.81$ ).



**Figura 19:** Variação da Turbidez no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.

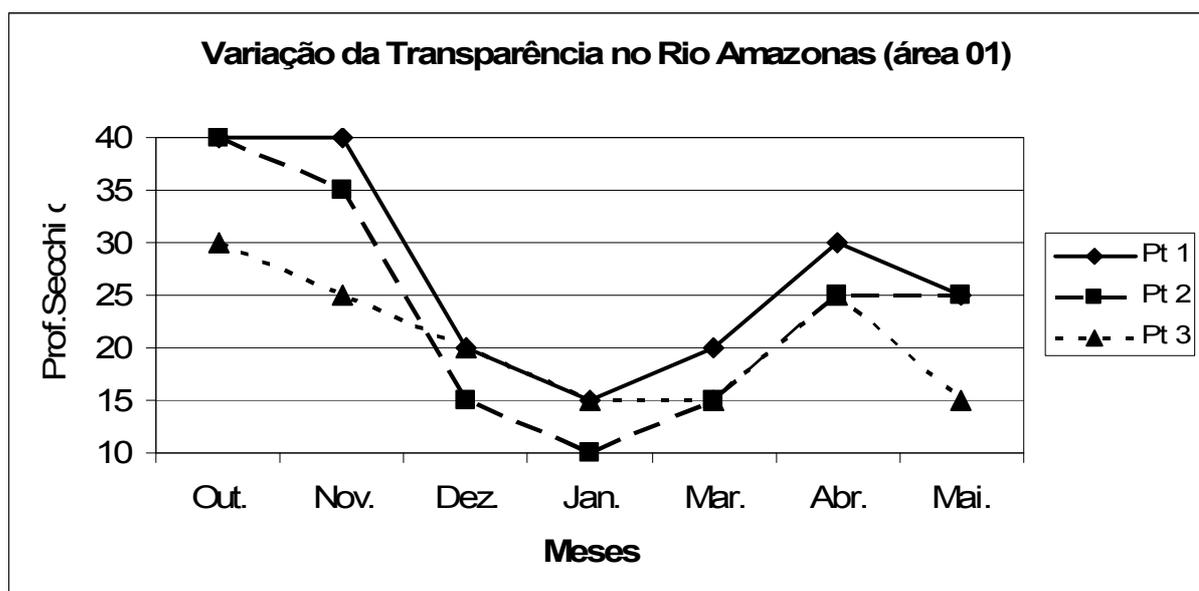


**Figura 20:** Variação da Turbidez no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.

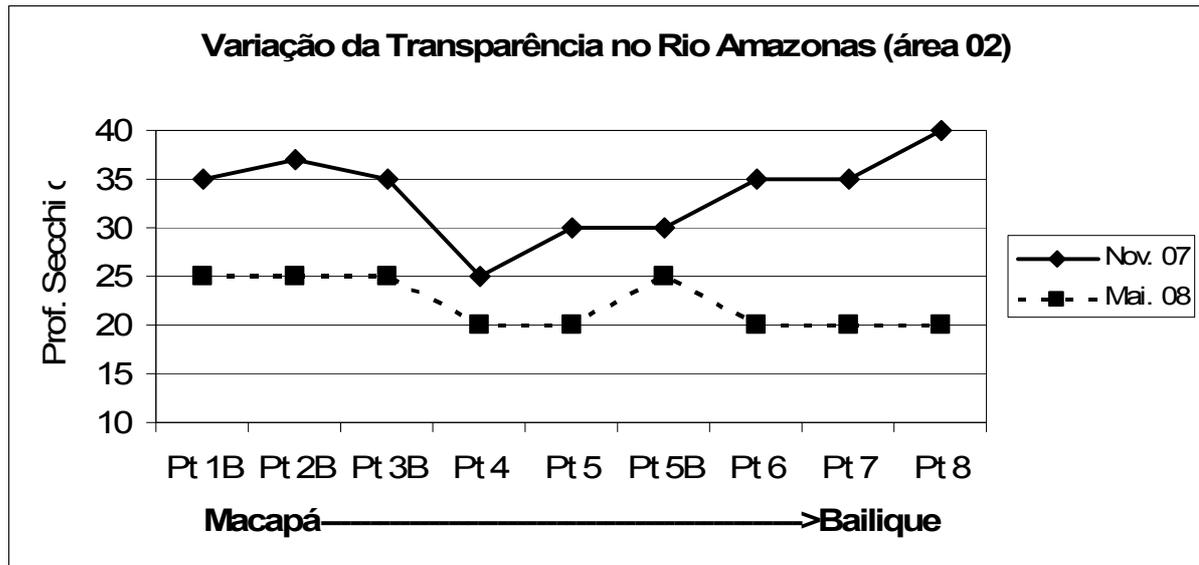
### 3.1.8. Profundidade de Extinção do Disco de Secchi – Transparência

A maior profundidade do disco de secchi na área 01 foi de 40 cm em outubro nos pontos Pt1 e Pt2 e novembro no Pt1. A menor profundidade foi de 10 cm em janeiro no Pt2 (Figura 21). A média de profundidade foi de 23,91 cm.

Na área 02 a maior profundidade foi em novembro no Pt8 (40 cm). A menor profundidade foi em maio nos pontos 4, 5, 6, 7 e 8 (20 cm) (Figura 22). A média encontrada foi de 27,89 cm.



**Figura 21:** Variação da Transparência no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.

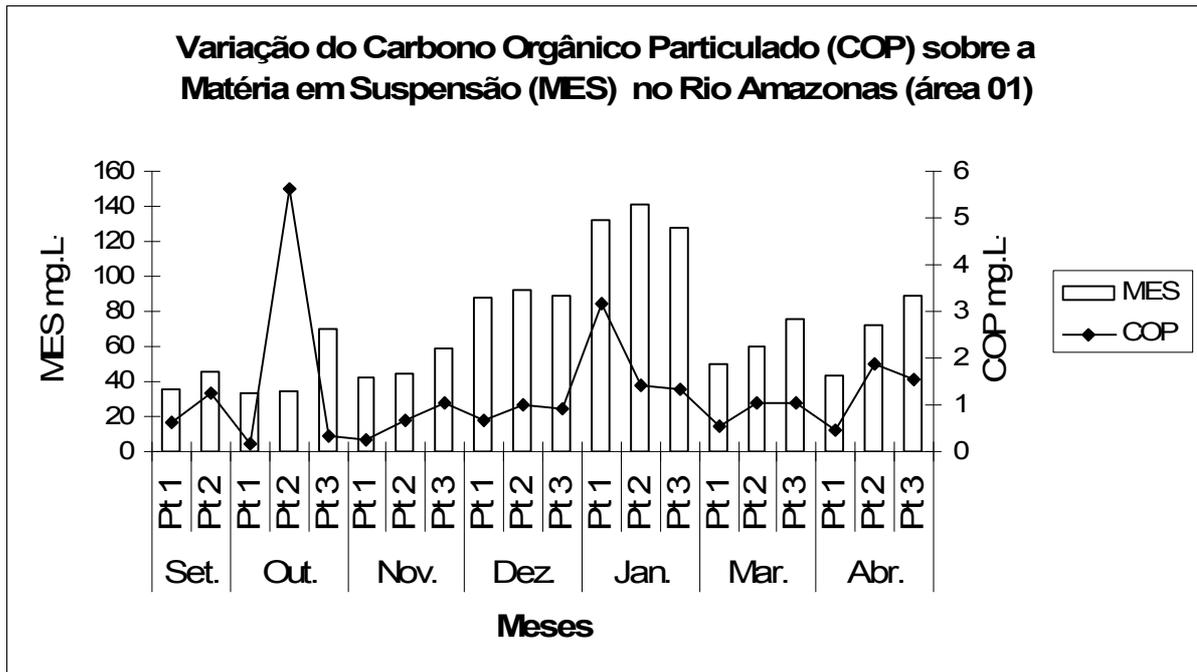


**Figura 22:** Variação da Transparência no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.

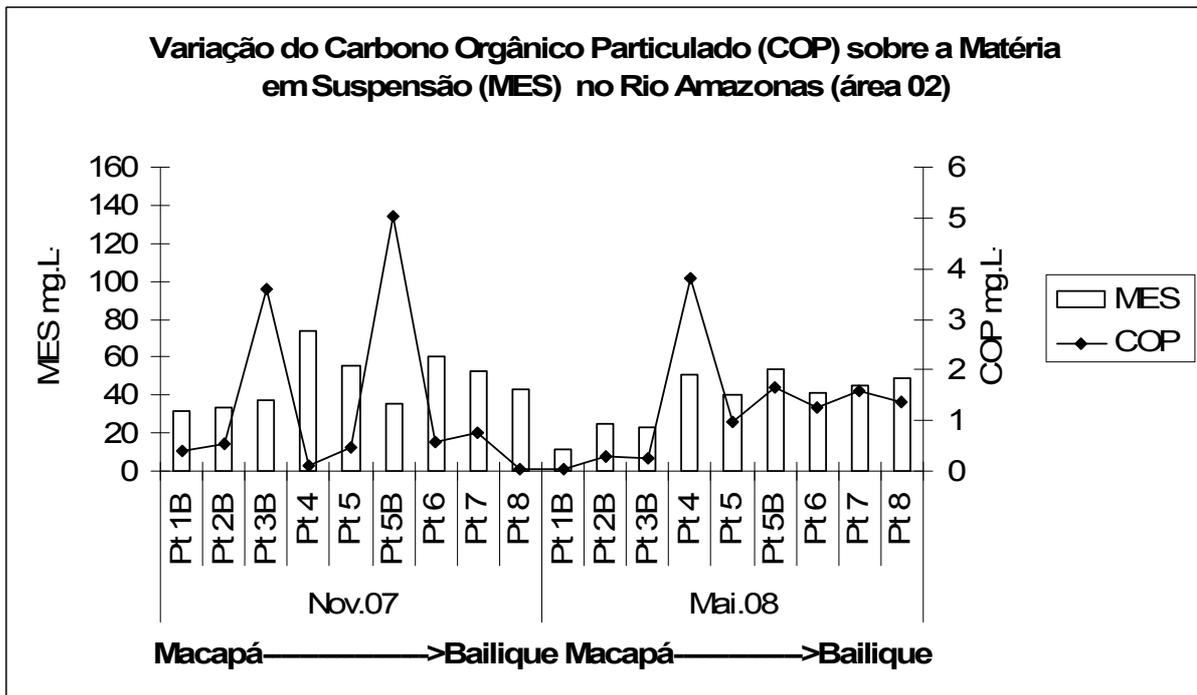
### 3.1.9. Carbono Orgânico Particulado (COP)

A porcentagem de COP sobre a MES na área 01 foi mais expressiva no período seco, sugerindo que provavelmente está ocorrendo uma maior produção autóctone. O COP foi mais expressivo no mês de outubro no Pt2 (5,641 mg/L). O menor valor de COP foi em outubro no Pt1 (0,149 mg/L) (Figura 23). A média encontrada foi de 1,252 mg/L.

Na área 02, ocorreu uma variabilidade pontual do COP no período seco com duas concentrações bastante expressivas (estações 3B e 5B), enquanto no período chuvoso observa-se que os pontos 1 a 3 possuem valores baixos e 4 ao 8 com valores maiores. O valor mais expressivo foi encontrado em novembro no Pt5B (5,019 mg/L). O menor valor foi em novembro no Pt8 (0,021 mg/L). (Figura 24). A média foi de 1,262 mg/L.



**Figura 23:** Variação do Carbono Orgânico Particulado no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.

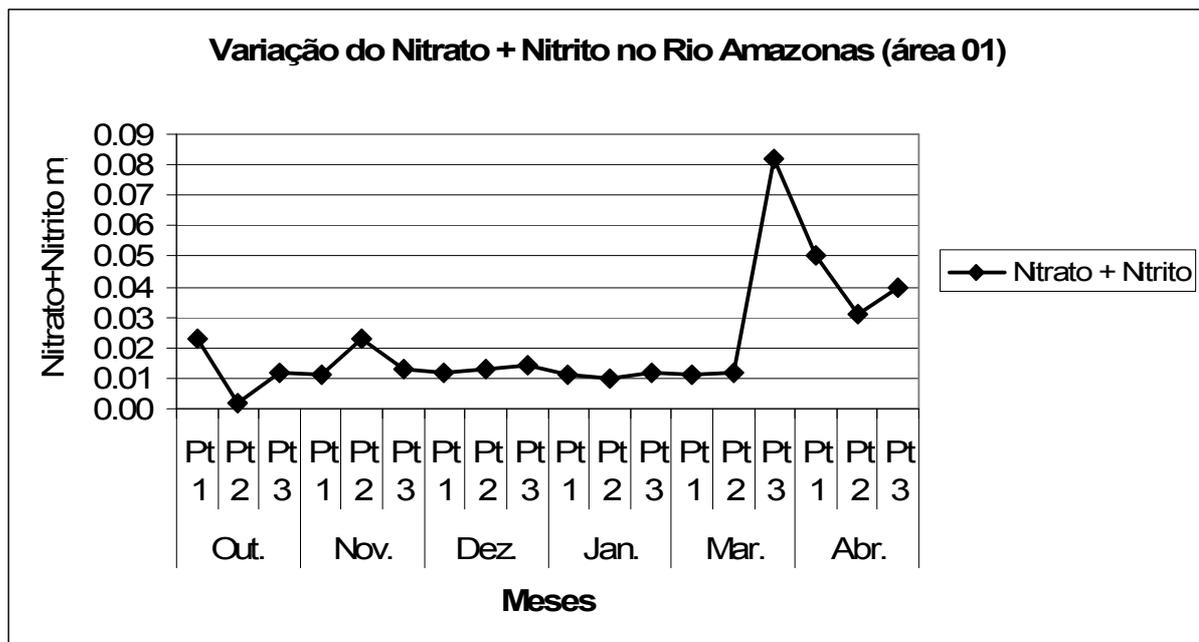


**Figura 24:** Variação do Carbono Orgânico Particulado no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.

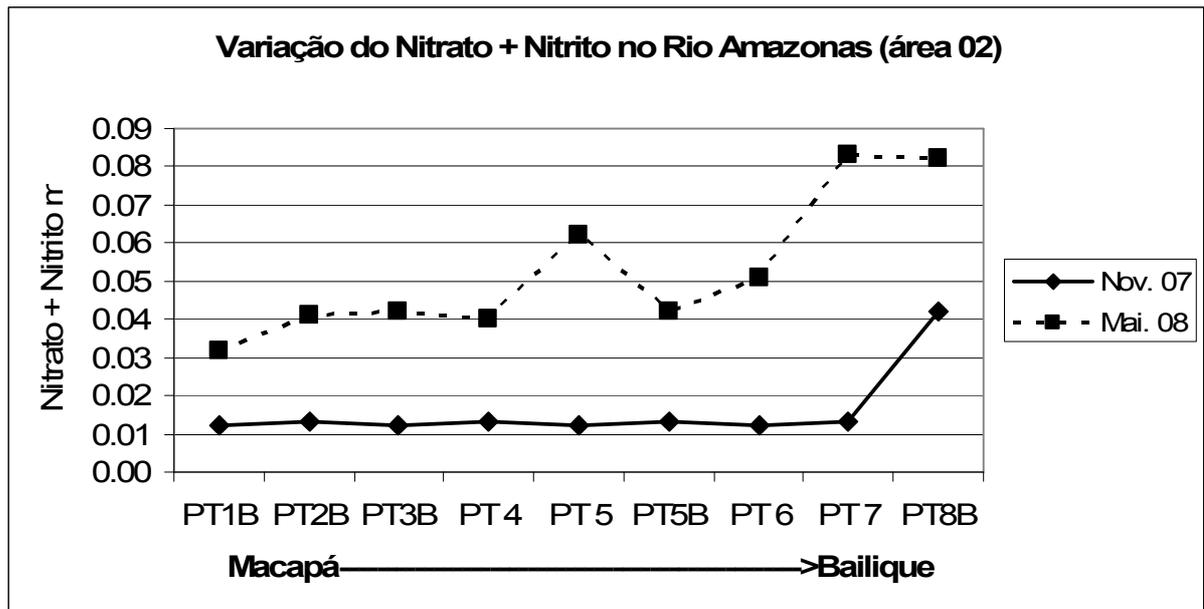
### 3.2.1. Nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) + Nitrito ( $\text{NO}_2^-$ )

Na área 01 o maior valor de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  encontrado foi em março no Pt3 (0,08 mg/L) e o menor valor em outubro no Pt 2 (0,002 mg/L). A média foi de 0,02 mg/L (Figura 25).

A média de  $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$  encontrada na área 02 foi de 0,03 mg/L. O maior valor encontrado foi em maio nos pontos 7 (0,83). O menor valor encontrado foi em novembro nos pontos 1B, 3B, 5 e 6 (0,01 mg/L) (Figura 26). O  $\text{NO}_3^-$  se relacionou com o pH ( $r=0.73$ ) com a turbidez ( $r=0.76$ ), com o O.D. ( $r=-0.80$ ) e com a transparência ( $r=-0.72$ ). O  $\text{NO}_2^-$  se relacionou com o pH ( $r=0.71$ ) e com a condutividade elétrica ( $r=0.76$ ).



**Figura 25:** Variação do nitrato + nitrito no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.

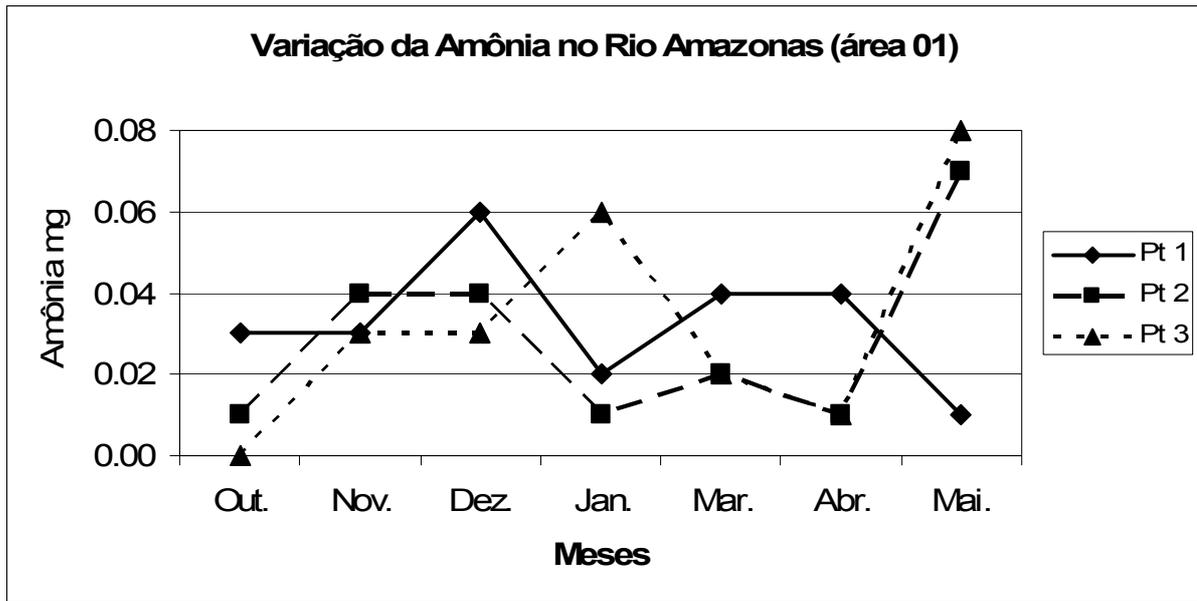


**Figura 26:** Variação do nitrato + nitrito no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.

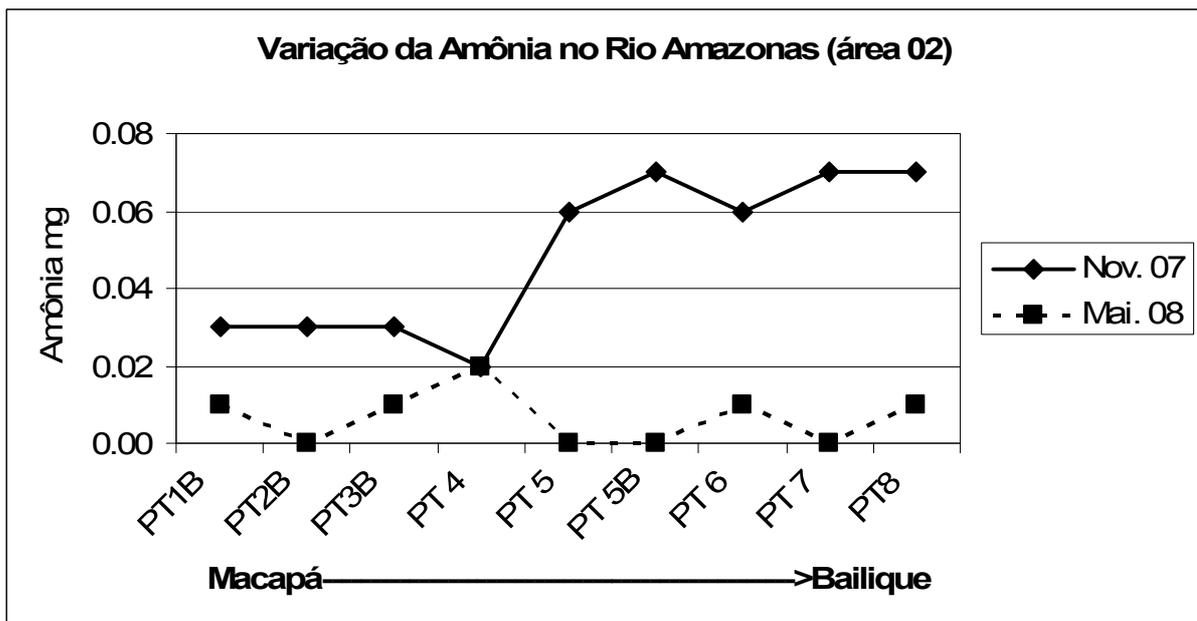
### 3.2.2 Amônia (NH<sub>3</sub>)

Na área 01 o maior valor de NH<sub>3</sub> foi encontrado em maio no Pt3 (0,08 mg/L). Ocorreu concentração abaixo do limite de detecção do método de análise em outubro no Pt3 (Figura 27). A média foi de 0,03 mg/L.

O maior valor encontrado foi em novembro nos pontos 5B, 7 e 8 (0,07 mg/L). Ocorreu concentração abaixo do limite de detecção do método de análise em maio nos pontos 2B, 5, 5B e 7. (Figura 28). A média de NH<sub>3</sub> na área 02 foi de 0,03 mg/L. A amônia se relacionou com a transparência ( $r=0.75$ ).



**Figura 27:** Variação da amônia no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.



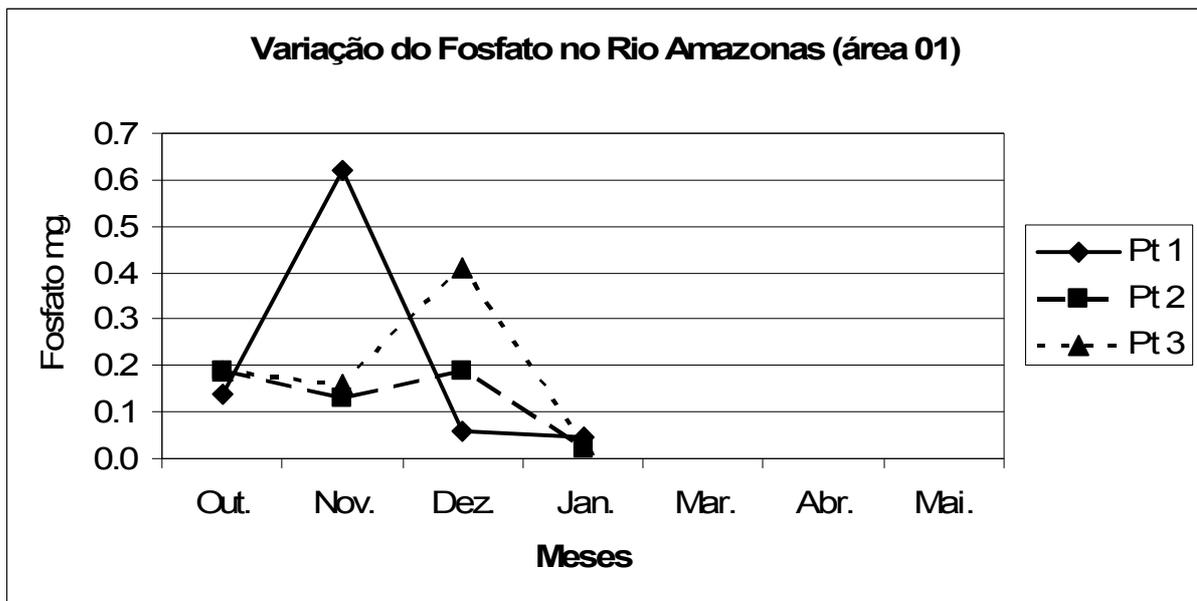
**Figura 28:** Variação da amônia no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para os dois períodos - seco e chuvoso.

### 3.2.3 Fósforo ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

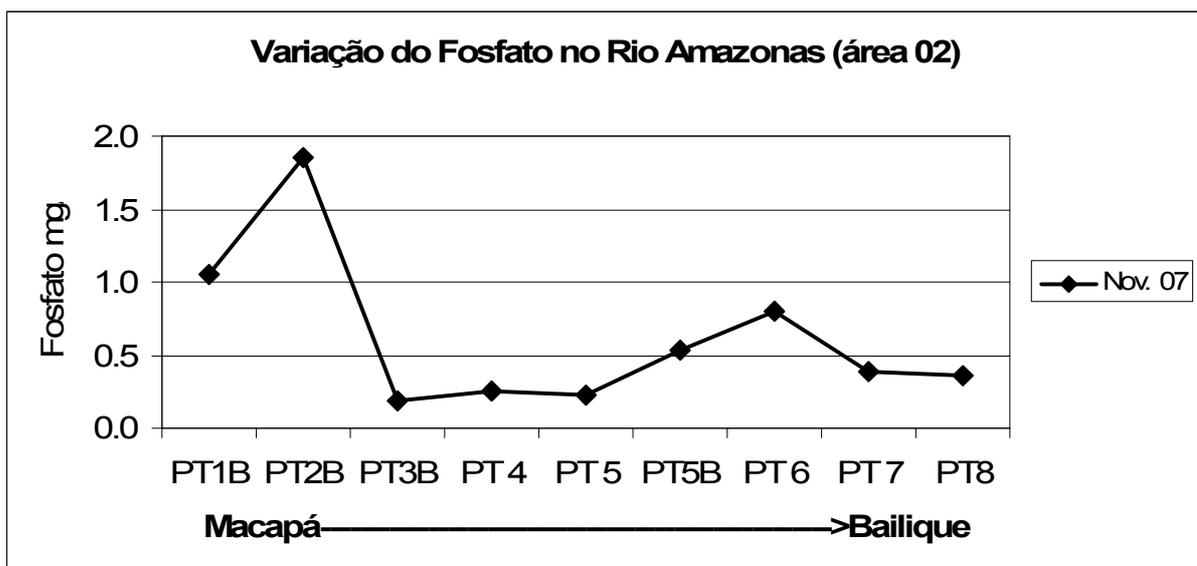
Na área 01 o maior valor de  $\text{PO}_4^{3-}$  foi encontrado em novembro no Pt1 (0,62 mg/L). O menor valor encontrado foi em janeiro no Pt2 (0,021mg/L) (Figura 29). A média foi de 0,18 mg/L. Infelizmente as análises para os meses de março a maio não puderam ser realizadas por falta de material.

A média de  $\text{PO}_4^{3-}$  na área 02 (somente novembro) foi de 0,63 mg/L. O maior valor encontrado foi em novembro no Pt2B (1,85 mg/L). O menor valor encontrado foi em novembro no Pt3B (0,19 mg/L) (Figura 30).

As médias das variáveis físico-químicas por área e períodos estão em anexo (anexo B).



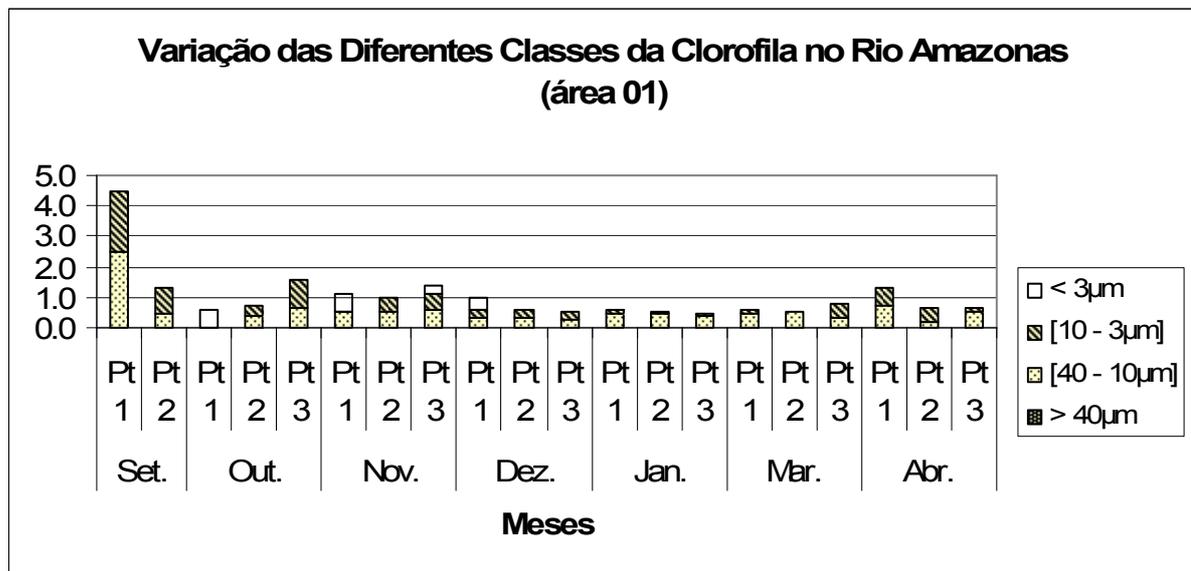
**Figura 29:** Variação do fosfato no Rio Amazonas nos três pontos de amostragem da área 01 em função dos meses de coleta.



**Figura 30:** Variação do fosfato no Rio Amazonas na área 02 em função dos pontos de coleta para o período seco.

### 3.2.4 Clorofila

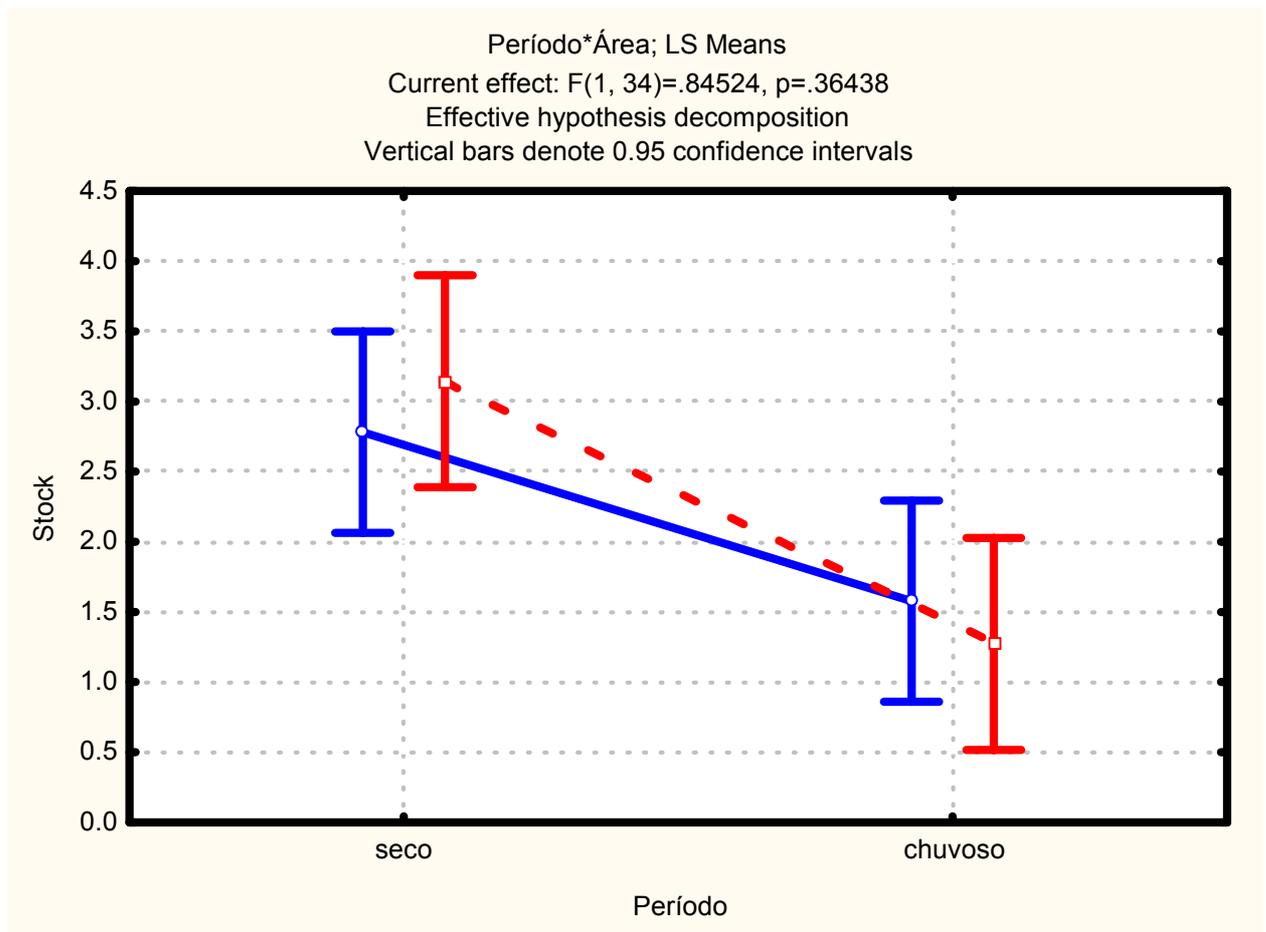
Na área 01 os valores de clorofila variaram de  $0,49 \mu\text{g.L}^{-1}$  no Pt1 em janeiro a  $4,49 \mu\text{g.L}^{-1}$  no Pt1 em setembro. A classe de clorofila mais representativa foi a de  $40-10 \mu\text{m}$  seguida da  $10-3 \mu\text{m}$  (Figura 31). Observou-se que para a clorofila de  $40-10 \mu\text{m}$  os valores variaram de  $0,18$  a  $2,47 \mu\text{g.L}^{-1}$  e a média foi de  $0,55 \mu\text{g.L}^{-1}$ . Enquanto que na área 02 os valores de clorofila variaram de  $0,44 \mu\text{g.L}^{-1}$  no Pt5B em maio a  $4,89 \mu\text{g.L}^{-1}$  no Pt5B em novembro, onde novamente a classe mais expressiva foi a de  $40-10 \mu\text{m}$  (Figura 32). Verificou-se que para a clorofila de  $40-10 \mu\text{m}$  os valores variaram de  $0,22$  a  $2,68 \mu\text{g.L}^{-1}$  e a média foi de  $0,58 \mu\text{g.L}^{-1}$ .



**Figura 31:** Variação das diferentes classes de clorofila no Rio Amazonas (área 01).



Verificou-se estatisticamente que o stock (clorofila *a* + feopigmentos) também não apresentou diferença sazonal ( $p > 0,05$ ) (Figura 34).



Área 01  
 Área 02

**Figura 34:** Variância sazonal do stock no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).

A porcentagem de clorofila *a* na área 01 foi mais expressiva no período seco, principalmente no mês de setembro atingindo o valor máximo de 62,7% no Pt1 e o valor mais baixo foi o de 34% no mês de janeiro no Pt3.

A porcentagem de clorofila *a* na área 02 foi mais expressiva atingindo o valor máximo de 69,7% no Pt5B e o valor mais baixo foi o de 41,8% no mês de novembro no Pt3B.

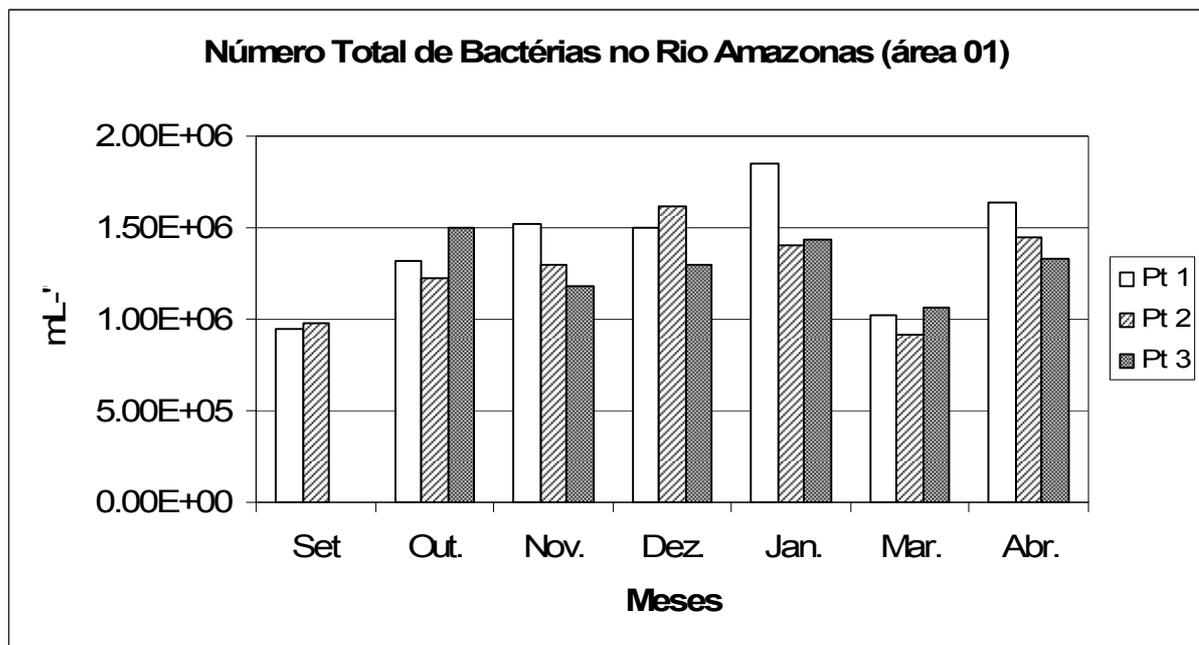
As médias da clorofila por área e período estão em anexo (anexo B).

### 3.3. Abundância e Variação Espacial e Sazonal Bacteriana por Microscopia de Epifluorescência

#### 3.3.1. Evolução Sazonal das Bactérias no Rio Amazonas - Área 01 (Macapá)

O número total de bactérias por microscopia de epifluorescência na área 01 do Rio Amazonas variou de  $9.18 \times 10^5$  a  $1.85 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ .

Verificou-se que o número total de bactérias no Pt1 e Pt2 apresentou-se de forma crescente dos meses de setembro a dezembro e janeiro (somente o Pt1), diminuindo durante março e voltando a aumentar em abril. Enquanto que o Pt3 não seguiu a mesma tendência dos outros ao final da estação seca e início da chuvosa, decrescendo durante março e aumentando em abril (Figura 35).



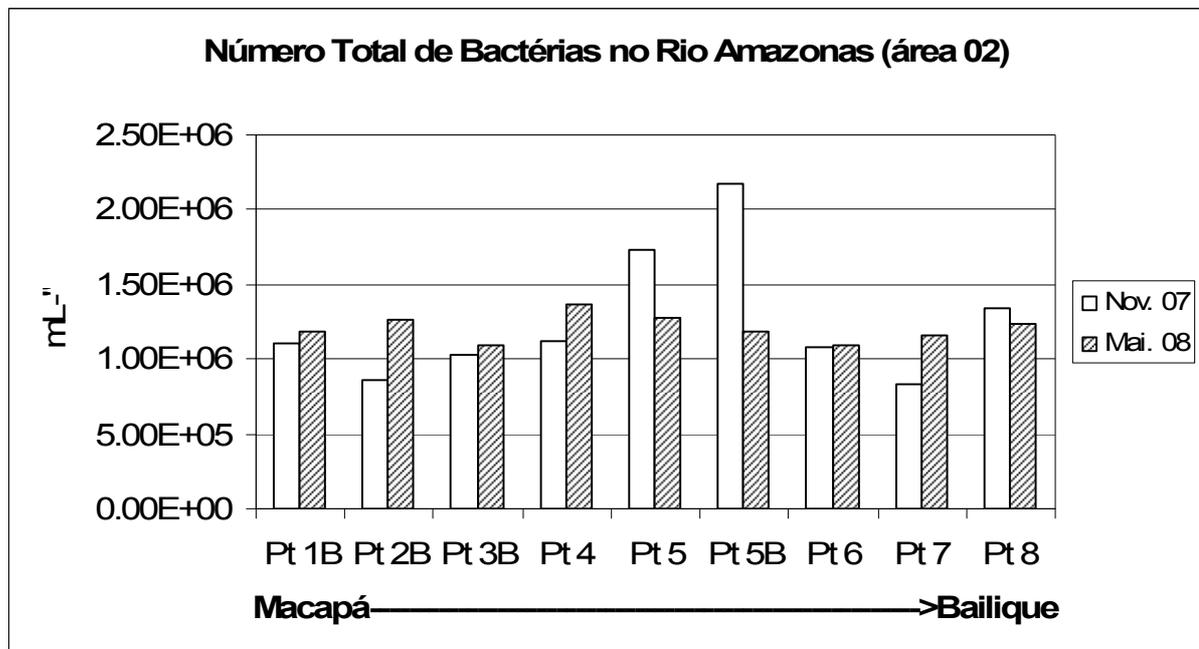
**Figura 35:** Variação espacial sazonal da abundância total de bactérias no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).

Na variação espacial o ponto1 foi o que apresentou o maior número de bactérias com uma média de  $1.40 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . O ponto 3 apresentou o segundo maior número de bactérias com uma média de  $1.30 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . O ponto 2 obteve o menor número de bactérias com uma média  $1.27 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  embora esses valores estejam próximos ao do ponto 3. No entanto, de uma forma geral, não ocorreu variação estatisticamente significativa durante as estações de coleta.

As bactérias totais por epifluorescência e clorofila na área 01 não obtiveram uma boa correlação ( $r=-0.31$ ;  $p>0.05$ ).

### 3.3.2. Evolução Sazonal das Bactérias no Rio Amazonas - Área 02 (Macapá - Bailique)

O número total de bactérias por microscopia de epifluorescência na área 02 variou de  $8.27 \times 10^5$  a  $2.18 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , valores que correspondem ao mínimo e máximo do período seco (novembro de 2007). No período chuvoso (maio de 2008) a abundância bacteriana oscilou entre  $1.09 \times 10^6$  e  $1.37 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 36).



**Figura 36:** Abundância total de bactérias no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 02).

As bactérias totais por epifluorescência e clorofila obtiveram uma correlação positiva ( $r=0,72$ ;  $p<0,05$ ).

### 3.3.3 Bactérias Livres e Aderidas e Morfotipos na área 01

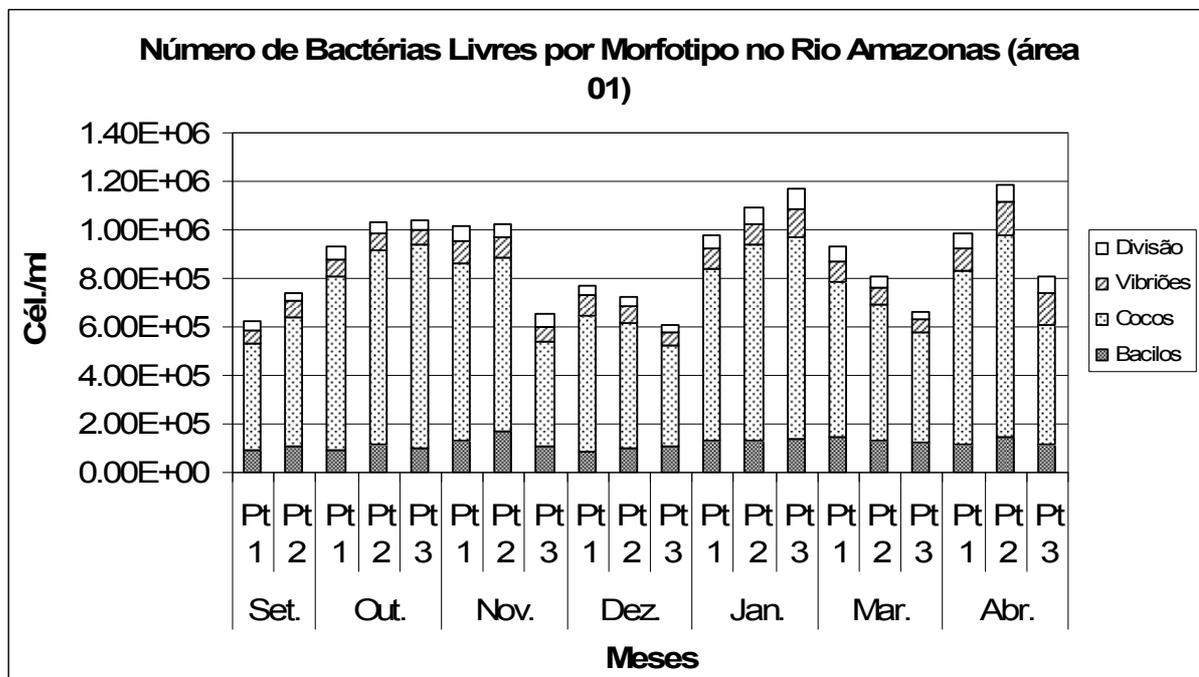
O número total de bactérias livres por microscopia de epifluorescência na área 01 variou de  $6.08 \times 10^5$  a  $1.19 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que as aderidas

variaram de  $1.09 \times 10^5$  a  $9.50 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figuras 37 e 38). Sendo cerca de 64% representadas pelas bactérias livres e 34% pelas bactérias aderidas.

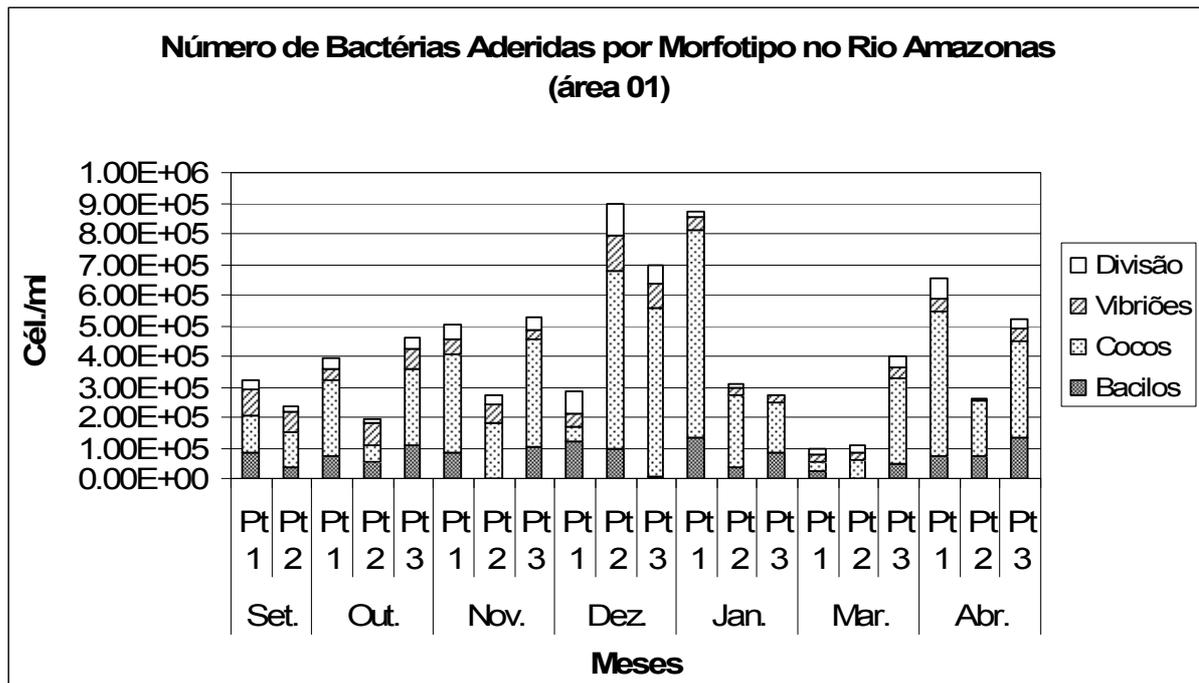
Foram encontrados em todas as estações da área 01 os quatro tipos de morfotipos livres. Sendo que desses os cocos foram o morfotipo mais encontrado (72%) principalmente no período seco, seguido dos bacilos (13%), vibriões (9%) e em divisão (6%). Os cocos tiveram uma boa correlação com as bactérias totais livres ( $r=0.97$ ;  $p<0,01$ ).

Foram encontrados em todas as estações da área 01 os quatro tipos de morfotipos aderidos. Sendo que desses os cocos foram o morfotipo mais encontrado (64%) principalmente no período chuvoso, seguido dos bacilos (16%), vibriões (12%) e em divisão (8%).

O número total de cocos aderidos variou de  $2.71 \times 10^4$  a  $6.82 \times 10^5$  indivíduos/ $\text{mL}^{-1}$ . No período seco os valores mínimo e máximo de cocos aderidos variaram entre  $4.89 \times 10^4$  a  $5.82 \times 10^5$  no período chuvoso entre  $2.71 \times 10^4$  a  $6.82 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Os cocos aderidos não tiveram uma boa correlação com as bactérias totais aderidas ( $r=0.55$ ).



**Figura 37:** Abundância de bactérias livres por morfotipo no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).



**Figura 38:** Abundância de bactérias aderidas por morfotipo no Rio Amazonas por microscopia de epifluorescência (área 01).

### 3.3.4 Bactérias Livres e Aderidas e Morfotipos na área 02

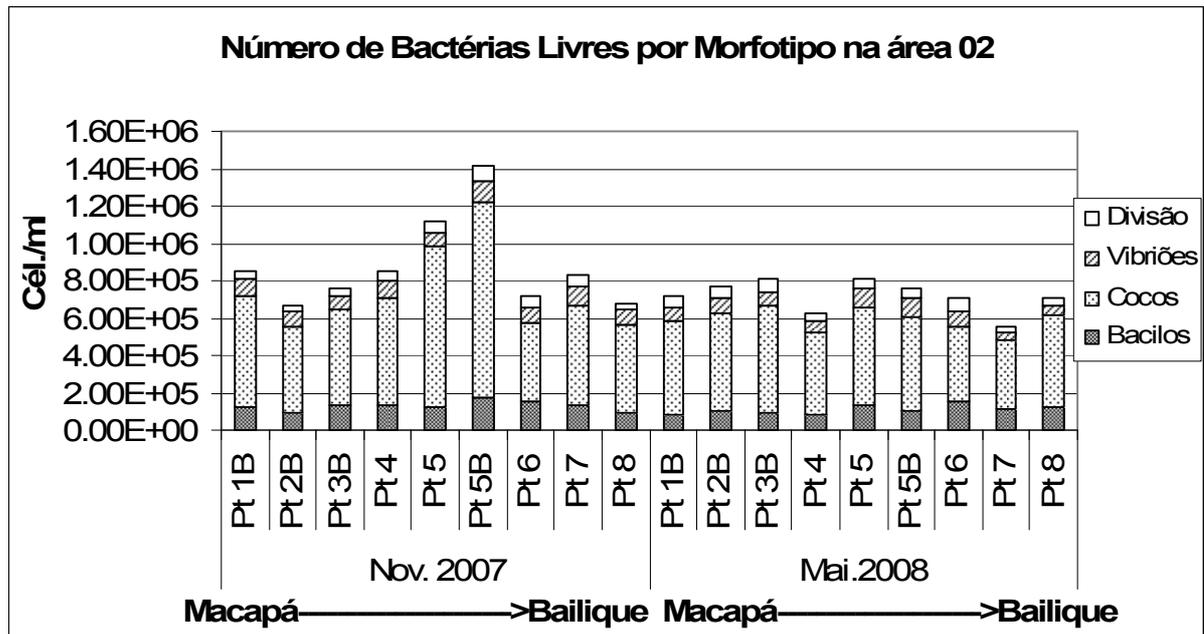
O número total de bactérias aderidas foi menor (35%) do que os de bactérias livres (65%) por microscopia de epifluorescência na área 02.

O número total de bactérias livres por microscopia de epifluorescência na área 02 em novembro de 2007 variou de  $6.68 \times 10^5$  a  $1.41 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . O número total de cocos livres variou de  $4.16 \times 10^5$  a  $1.05 \times 10^6$ , enquanto que o de bacilos livres  $8.82 \times 10^4$  a  $1.75 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 39).

As bactérias livres apresentaram maior abundância no período seco (55%) enquanto que no período chuvoso tenderam a diminuir (45%).

Foram encontrados em todas as estações da área 02 os quatro tipos de morfotipos livres. Sendo que desses os cocos foram o morfotipo mais encontrado (69%), seguido dos bacilos (15%), vibriões (10%) e em divisão (6%).

O número total de bactérias livres por microscopia de epifluorescência na área 02 em maio de 2008 variou de  $5.56 \times 10^5$  a  $8.12 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . O morfotipo que apresentou maior número de cocos livres variou de  $3.65 \times 10^5$  a  $5.73 \times 10^5$  seguido pelos bacilos livres com  $8.48 \times 10^4$  a  $1.49 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 40).



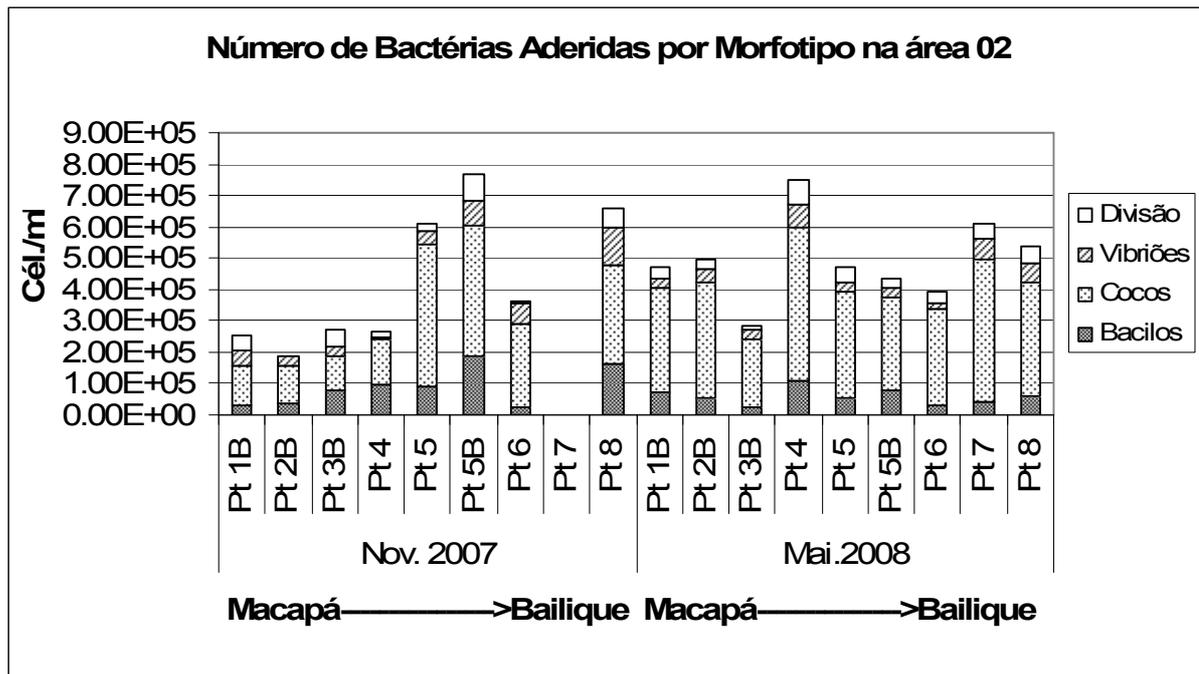
**Figura 39:** Abundância de bactérias livres por morfotipo no Rio Amazonas (área 02) por microscopia de epifluorescência.

As bactérias totais livres por epifluorescência e clorofila na área 02 obtiveram uma correlação positiva ( $r=0,84$ ;  $p<0,05$ ).

As bactérias aderidas apresentaram maior abundância no período chuvoso (57%) enquanto que no período seco tenderam a diminuir (43%).

Foram encontrados em todas as estações da área 02 os quatro tipos de morfotipos aderidos. Sendo que desses os cocos foram o morfotipo mais encontrado (65%), seguido dos bacilos (16%), vibriões (10%) e em divisão (9%).

O número total de cocos aderidos em novembro variou de  $1,07 \times 10^5$  a  $4,50 \times 10^5$  enquanto que os bacilos aderidos de  $2,71 \times 10^4$  a  $1,87 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . O número total de cocos aderidos em maio variou de  $2,14 \times 10^5$  a  $4,87 \times 10^5$ , enquanto que os bacilos aderidos de  $2,54 \times 10^4$  a  $1,10 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 40).



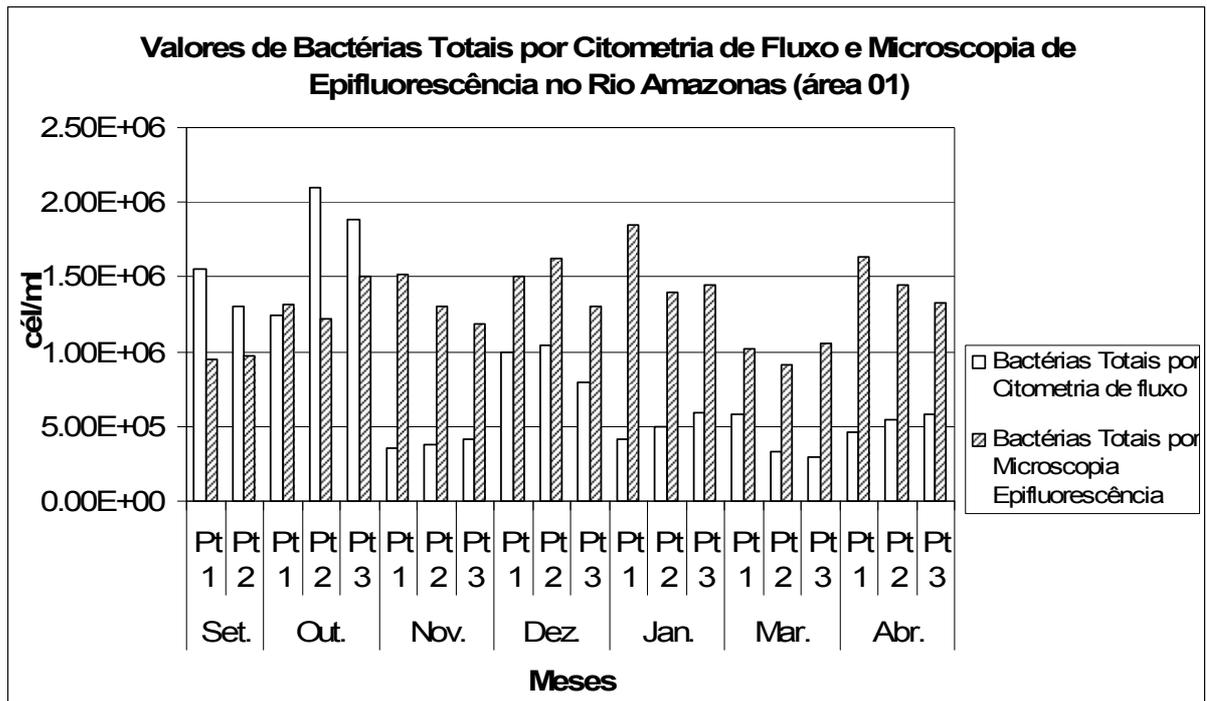
**Figura 40:** Abundância de bactérias aderidas por morfotipo no Rio Amazonas (área 02) por microscopia de epifluorescência.

### 3.4. Comparação entre Abundância, Variação Espacial e Sazonal Bacteriana pelas técnicas de Microscopia de Epifluorescência e Citometria de Fluxo

No período seco em setembro e outubro os valores de bactérias totais foram mais abundantes por citometria de fluxo, enquanto que nos meses de novembro, dezembro e em todo o período chuvoso foram mais expressivos por microscopia de epifluorescência na área 01. Os de citometria variaram de  $3.01 \times 10^5$  a  $2.10 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que pela microscopia de  $9.18 \times 10^5$  a  $1.85 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$  (Figura 41).

A média de bactérias totais por citometria foi maior no pt2 com  $8.83 \times 10^5$ , seguida do pt1 com  $8.00 \times 10^5$  e no pt3 com  $7.60 \times 10^5$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Enquanto que na microscopia de epifluorescência como visto anteriormente a média foi maior no pt1, mas estatisticamente não é significativo.

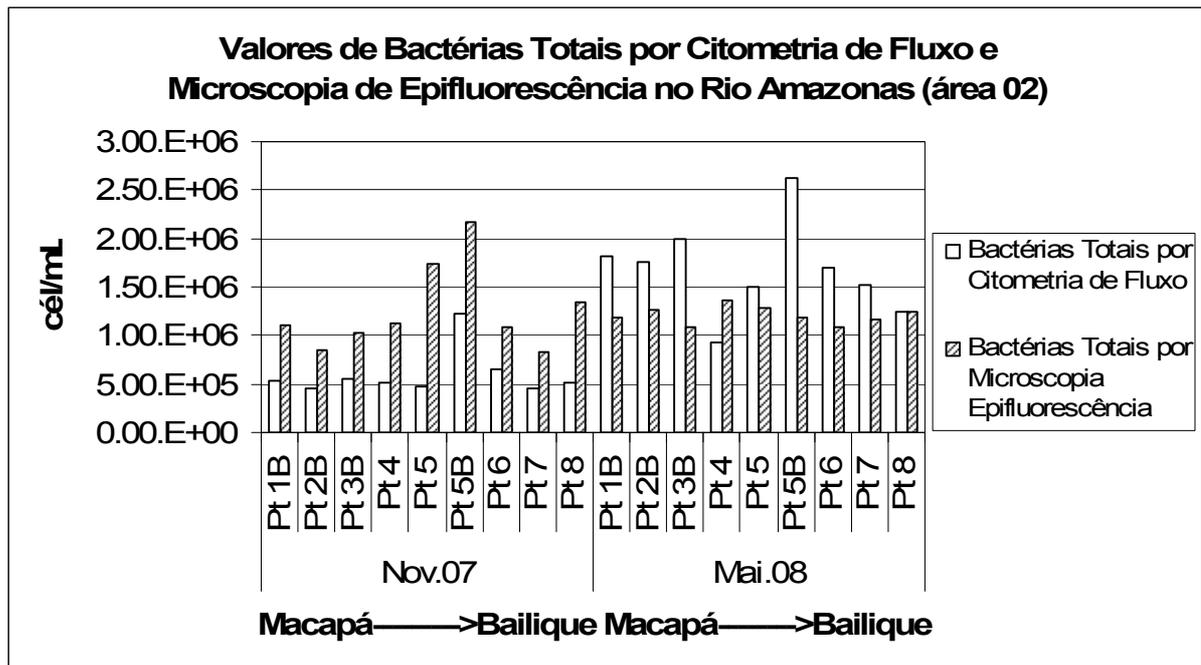
As bactérias totais por citometria e clorofila na área 01 não obtiveram uma boa correlação ( $r=0.39$ ;  $p>0,05$ ).



**Figura 41:** Abundância de bactérias totais por citometria de fluxo e microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (área 01).

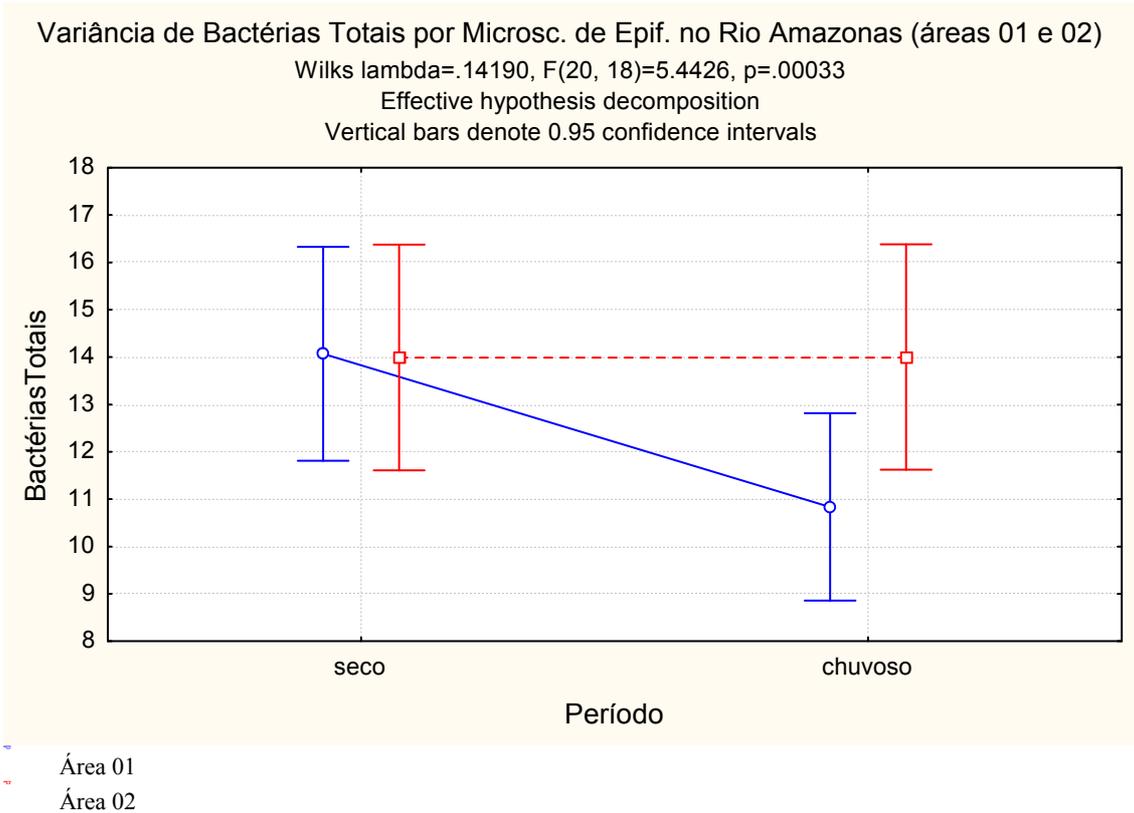
Na área 02 (Figura 42), a abundância de bactérias totais por microscopia foi mais expressiva no período seco (com muita chuva pontual) em novembro e menor em maio. Enquanto que as bactérias por citometria obtiveram valores mais elevados no período chuvoso. As de citometria variaram de  $1.82 \times 10^5$  a  $2.62 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que pela microscopia de  $8.27 \times 10^5$  a  $2.18 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ .

Observa-se de uma forma geral que tanto no mês de novembro quanto no de maio o ponto que apresentou maior quantidade de bactérias foi o ponto 5B e o máximo de clorofila *a*.

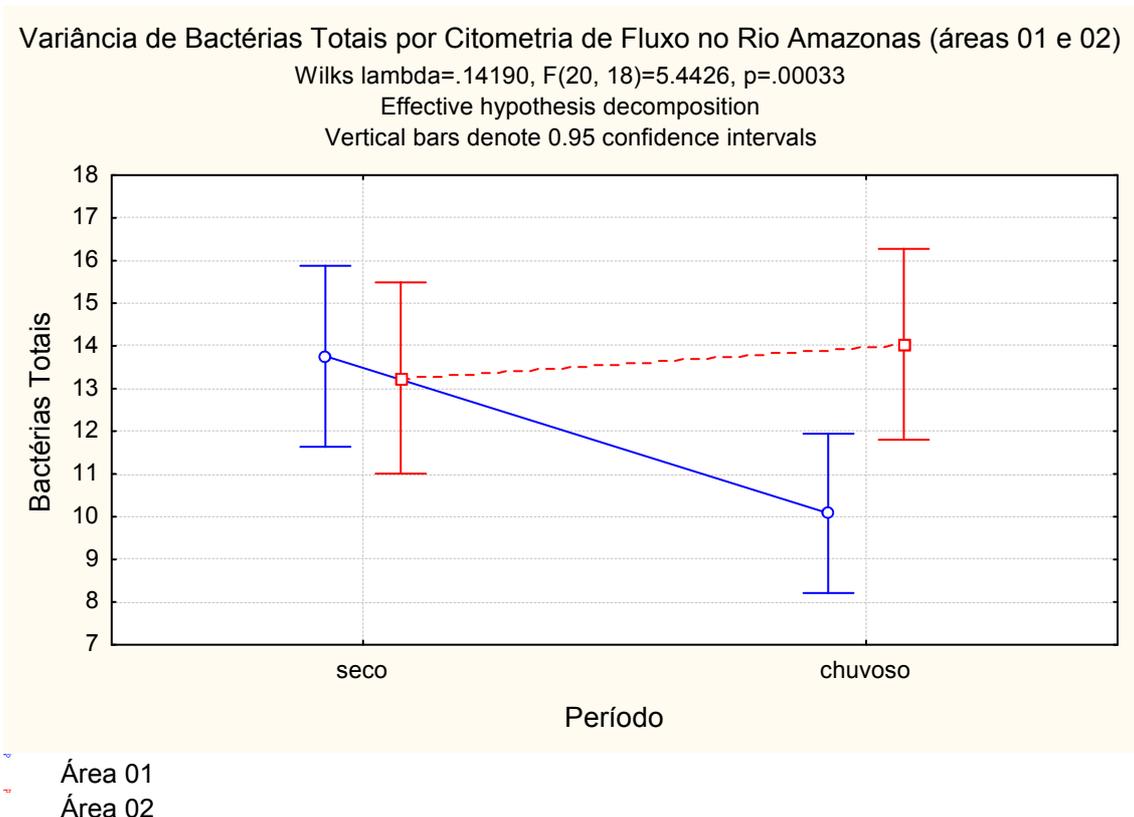


**Figura 42:** Abundância de bactérias totais por citometria de fluxo e microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (área 02).

Na área 01 ocorreu uma abundância mais expressiva de bactérias totais no período seco pelas duas técnicas. Na área 02 quase não ocorreu oscilação de bactérias entre os períodos pela microscopia, enquanto pela citometria verificou-se uma abundância um pouco maior desses microorganismos no período chuvoso, mas que não é muito significativa (Figuras 43 e 44).



**Figura 43:** Variância sazonal de bactérias totais por microscopia de epifluorescência no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).

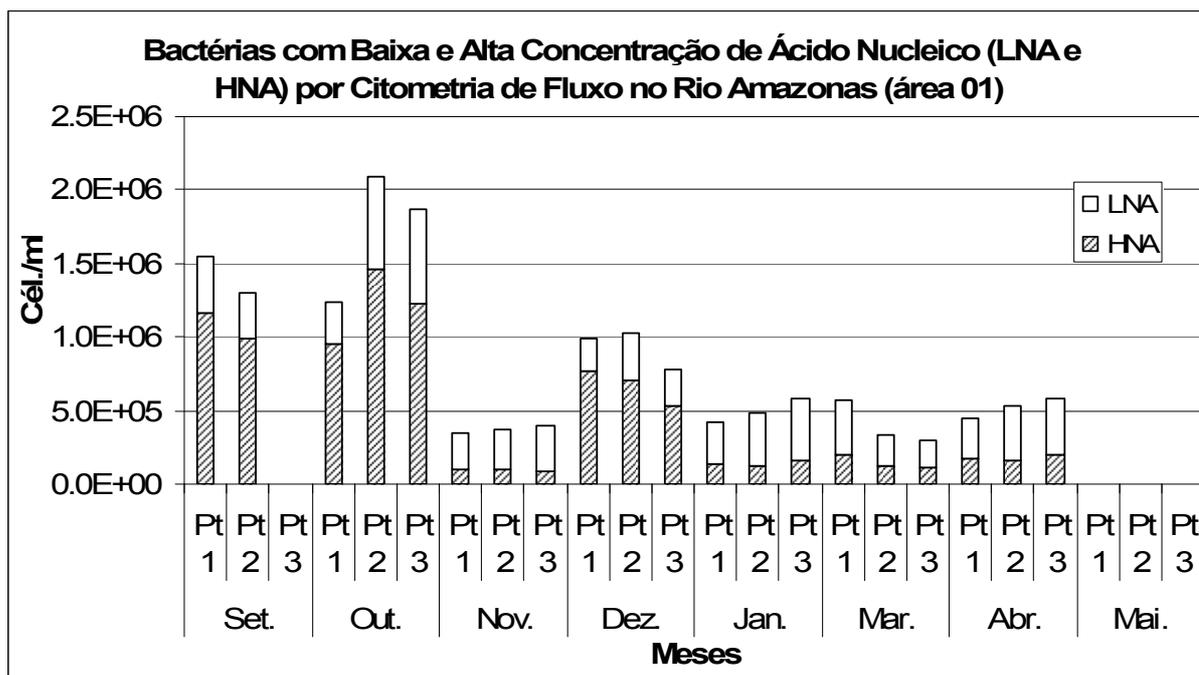


**Figura 44:** Variância de bactérias totais por citometria de fluxo no Rio Amazonas (áreas 01 e 02).

### 3.5. Caracterização das Bactérias Segundo a Quantidade de Ácido Nucléico

Na área 01, o número total de bactérias com alta quantidade de ácido nucléico (HNA) por citometria de fluxo variou de  $9.21E+04$  a  $1.46E+06$  cél/mL<sup>-1</sup>. No período seco as bactérias totais HNA variaram de 22,3% a 77,0%, enquanto que no período chuvoso de 26,3% a 37,8%.

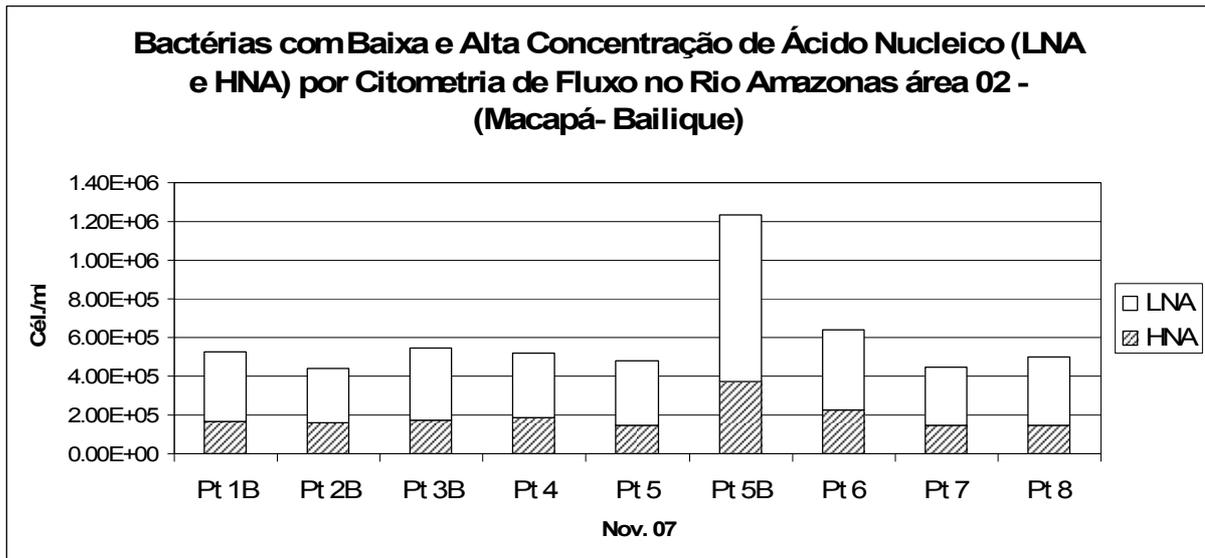
Na área 01, o número total de bactérias com baixa quantidade de ácido nucléico (LNA) por citometria de fluxo variou de  $1.94E+05$  a  $6.44E+05$  células/mL<sup>-1</sup>. Infelizmente não há análises do mês de maio. No período seco, as bactérias totais LNA variaram de 22,5% a 74,5%, enquanto que no período chuvoso de 60,7% a 70,8% (Figura 45).



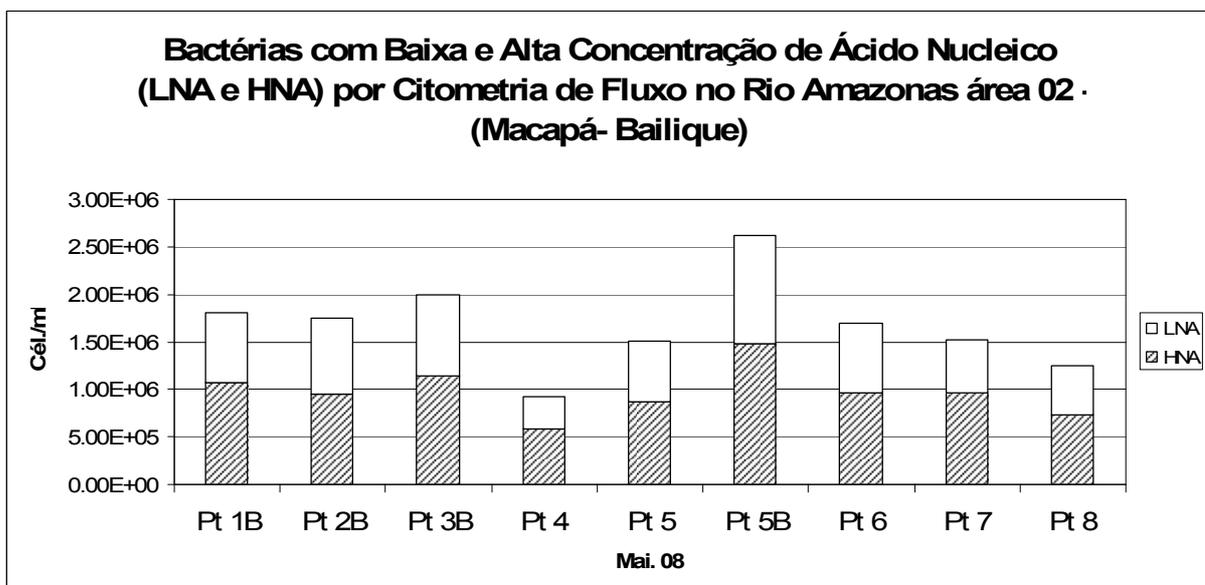
**Figura 45:** Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo no Rio Amazonas (área 01).

Na área 02 em novembro de 2007 os valores mínimo e máximo de bactérias totais LNA foram maiores do que as HNA variando de  $2.82 \times 10^5$  a  $8.61 \times 10^5$ , enquanto que as HNA de  $1.44 \times 10^5$  a  $3.71 \times 10^5$  células mL<sup>-1</sup>. A porcentagem em novembro de 2007 na área 02 de LNA variou de 36,7% a 70,2%, enquanto que a HNA variou de 28,8% a 63,5% (Figura 46).

Na área 02 em maio de 2008 os valores mínimo e máximo de bactérias totais LNA variaram de  $3.37 \times 10^5$  a  $1.14 \times 10^6$ , enquanto que as HNA de  $5.81 \times 10^5$  a  $1.49 \times 10^6$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Nesse período as bactérias HNA apresentaram uma porcentagem superior (53,9% a 63,5%) do que as LNA (36,7% a 45,8%) (Figura 47).



**Figura 46:** Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo em novembro de 2007 no Rio Amazonas (área 02).

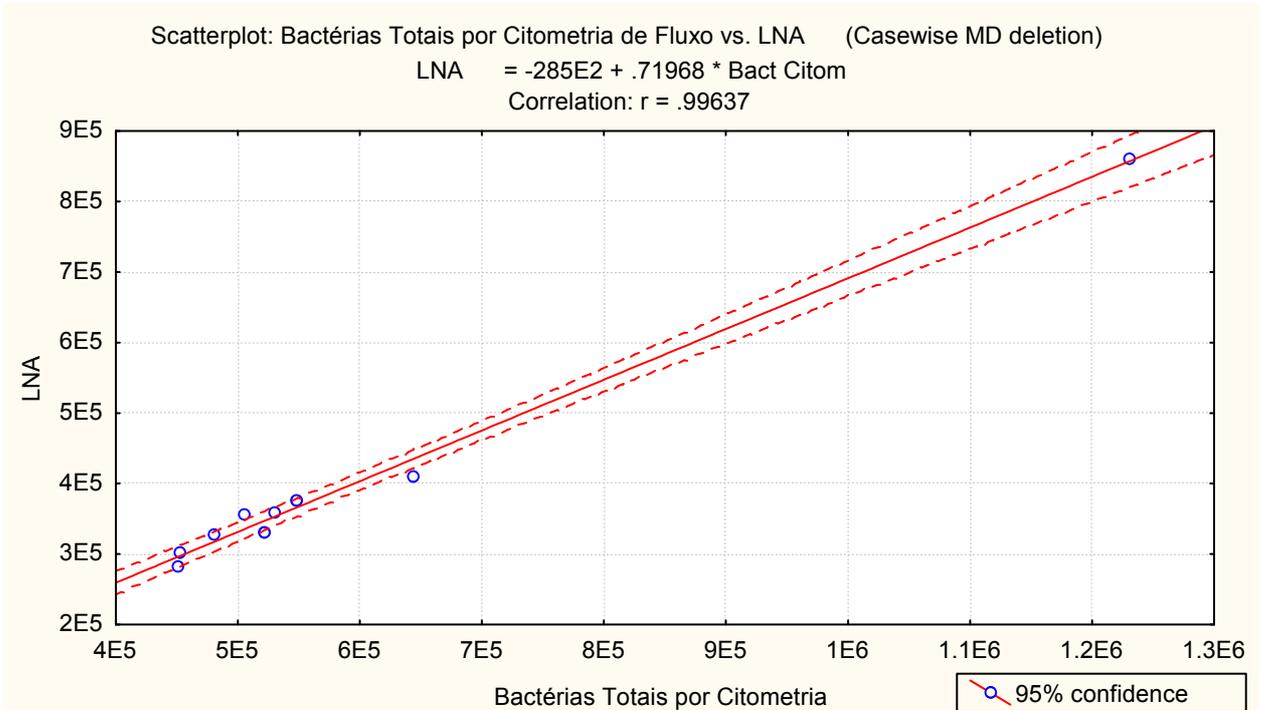


**Figura 47:** Bactérias com baixa e alta concentração de ácido nucléico (LNA e HNA) por citometria de fluxo em maio de 2008 no Rio Amazonas (área 02).

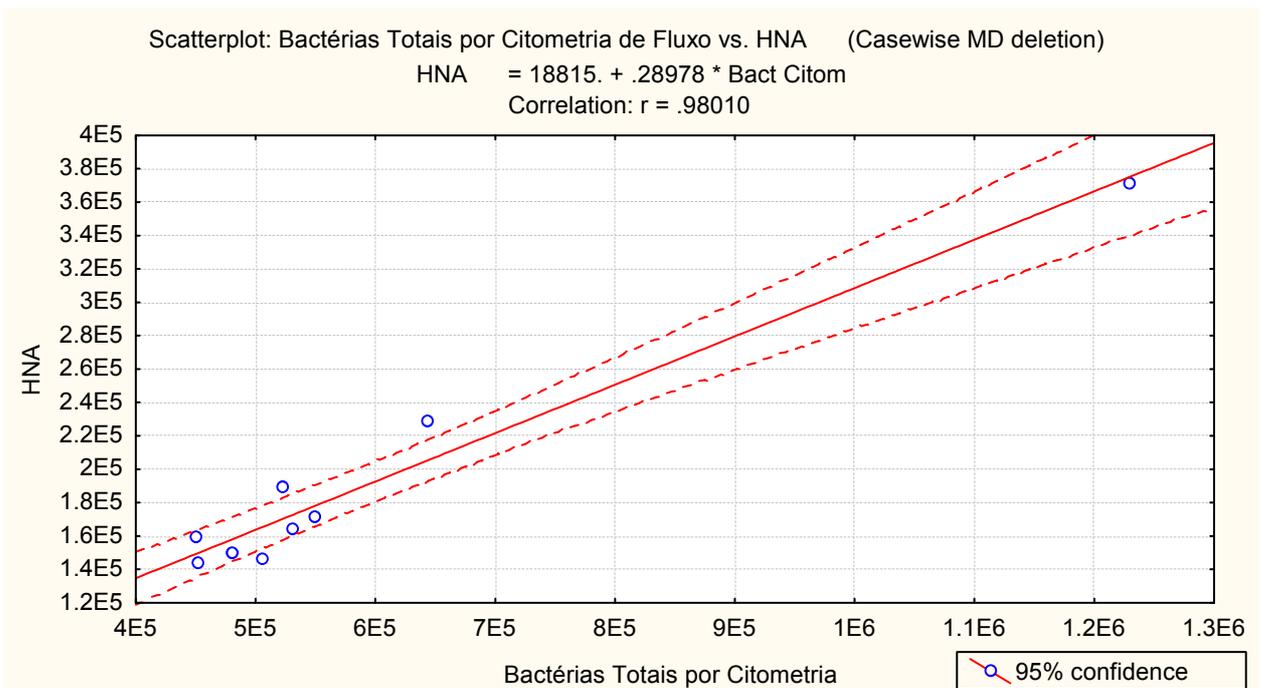
No período seco, as LNA obtiveram uma correlação significativa com as bactérias totais por citometria ( $r= 0,99$ ) maior do que as bactérias HNA ( $r=0,98$ )

(Figuras 48 e 49). Enquanto que no período chuvoso as correlações de LNA ( $r=0.65$ ) e HNA ( $r=0.57$ ) não foram significativas.

As médias das bactérias por área e períodos estão em anexo (anexo B).



**Figura 48:** Correlação de bactérias totais por citometria e baixa concentração de bactérias com ácido nucléico no período seco no Rio Amazonas (área 02).



**Figura 49:** Correlação de bactérias totais por citometria e alta concentração de bactérias com ácido nucléico no período seco no Rio Amazonas (área 02).

### **3.6. Análise de Componentes Principais (ACP)**

Através da análise de componentes principais (Anexo C) usando o software statistica 6.0 verificou-se que os principais fatores responsáveis pela variabilidade dos dados foram as bactérias livres, aderidas, por morfotipo, por microscopia, citometria, HNA e LNA (fator 1); clorofila total, clorofila 40 -10 µm, feopigmentos, stock (fator 2); nitrato e oxigênio dissolvido (fator 3).

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Dinâmica Bacteriana em Relação às Variáveis Abióticas e ao Estado Trófico

O Rio Amazonas é o maior rio do mundo com uma área de drenagem de 7.050.000 km<sup>2</sup> (Agostinho, 2005). No entanto, toda essa quantidade de água parece inversamente proporcional a estudos de microorganismos nesses ecossistemas, onde geralmente as pesquisas são direcionadas para organismos de grande porte.

A sazonalidade é marcante no clima amazônico onde se pode observar claramente um período com chuvas bem intensas e freqüentes e outro com a sensível diminuição da freqüência e intensidade. Isso resulta em um gradiente em alguns fatores físico-químicos.

Os maiores valores de pH, condutividade elétrica e oxigênio dissolvido foram encontrados no período seco. Nos meses de janeiro, março, abril e maio, devido a intensa quantidade de chuvas esses índices tenderam a diminuir. Esse padrão de sazonalidade foi observado por Barletta (1999) e Peres (1999) para o rio Caeté localizado no nordeste paraense.

A ausência de correlação entre a temperatura e as bactérias sugere que esse fator não interferiu diretamente na abundância desses organismos, provavelmente pelas oscilações de temperatura não terem sido elevadas o que geralmente acontece em clima tropical. Segundo Siqueira et al (2003) essas oscilações observadas nas águas superficiais estiveram sujeitas a influência das condições climáticas regionais, bem como a ação das correntes e dos ventos. Trabalho realizado por Geyer et al. (1996) indica que ocorrem poucas variações de temperatura no Rio Amazonas.

Como o oxigênio dissolvido e a temperatura não tiveram correlação, provavelmente o oxigênio dissolvido tenha sido determinado mais pelas atividades microbianas de fotossíntese e respiração do que pelas mudanças de temperatura.

Tradicionalmente, a caracterização do estado trófico de um ecossistema aquático envolve a determinação da concentração de nutrientes, principalmente fósforo e nitrogênio e podem ser complementadas com informações de variáveis, tais como a concentração de clorofila a e transparência da água (OECD, 1982; SALAS & MARTINO, 1991), além da porcentagem de COP.

Muitos estudos têm demonstrado a importância dos nutrientes para o bacterioplâncton (KÍSAND et al., 2001; MUYLELAERT et al., 2002; CASTILLO et al., 2003), no entanto, a maioria dos trabalhos se refere aos mares, onde a dinâmica é bem diferente em ambientes lóticos estuarinos. Nesse ambiente há a influência da maré e correntes que proporcionam a mistura das águas, no entanto há uma influência muito fraca do oceano. Nesse estudo o fósforo e o nitrogênio não apresentaram uma correlação. Esses resultados também foram encontrados por Araújo (2004) no estudo do Rio Pitimbu no Rio Grande do Norte.

Segundo Karlson et al. (2002), a produção fitoplanctônica é limitada pelas concentrações de nitrogênio, assim como a produção bacteriana é limitada pelas concentrações de fósforo. No entanto a entrada de material alóctone é o principal fator que altera as razões N/P. Nesse trabalho as concentrações de fosfatos são 5 a 10 vezes superiores aos nitrato+nitritos, mas infelizmente não foi feito um balanço geral para concluir se estão sendo limitantes por falta de dados.

A entrada de material alóctone de origem de efluentes domésticos e industriais, associadas com pontos críticos densamente ocupados com outras atividades humanas tem mudado significativamente a qualidade das águas assim como as condições ecológicas dos rios (BARBOSA et al., 1997).

Os valores de fosfato tiveram uma média maior do que o limite recomendado pela resolução CONAMA 0357/05 classe 02 que tem o limite de 0,025 mg/L. Na área 01, de uma forma geral, o ponto 1 foi o que apresentou o maior índice de fosfato. Isso deve provavelmente ao fato desse se situar bem em frente a cidade de Macapá de onde são lançados diariamente despejos orgânicos em grandes quantidades como no caso de esgotos. Na área 02, os pontos com maiores valores foram o 2B, 1B (próximos a cidade de Macapá) onde há a presença de comunidades ribeirinhas. A presença dessas comunidades locais desprovidas de um sistema de tratamento de esgoto ocasiona a degradação desses ecossistemas aquáticos comprometendo assim a qualidade de vida humana e ambiental.

A amônia também apresentou os valores (média de 0,03) acima do limite de 0,02 mg/L que estabelece a resolução CONAMA nas duas áreas. Isso indica que provavelmente está ocorrendo a decomposição de matéria orgânica dissolvida e particulada de origem alóctone.

Na área 02 os valores de nitrato + nitrito foram bem mais elevados no período chuvoso podendo então ter uma aporte alóctone provavelmente devido a

drenagem do solo ocasionada pela chuva. Esses aportes não foram utilizados pelo fitoplâncton que não apresentou valores expressivos. Enquanto que a amônia foi mais expressiva no período seco, pois provavelmente ocorreu uma diminuição dos aportes alóctones de nitrogênio e uma maior remineralização bacteriana heterótrofa.

Em determinados momentos o bacterioplâncton mostrou-se dependente dos nutrientes e da matéria orgânica, mas provavelmente foram controlados também pela predação dos flagelados heterótrofos bacterívoros (“*top-down*”), visto que eles permaneceram abundantes em estações ricas em nutrientes como nas menos eutrofizadas.

A matéria em suspensão carregada do solo para o rio Amazonas é provavelmente constituída por substâncias húmicas que podem ser utilizadas parcialmente pela comunidade bacteriana.

Na área 01 a matéria em suspensão apresentou os menores valores no período seco e os maiores no período chuvoso, ocasionada provavelmente pela lixiviação. Na área 02 o mês de novembro apresentou os valores mais expressivos. Isso pode ter ocorrido devido as coletas das amostras terem sido realizadas em meio de bastante chuva. Em relação aos pontos, de uma forma geral, observou-se um aumento nos índices no sentido Macapá – Foz do Rio Amazonas provavelmente por um maior hidrodinamismo em direção a foz.

Em ecossistemas aquáticos o carbono orgânico é principalmente processado por comunidades bacterianas (COLE, 1999) podendo ser remineralizado ou transformado em carbono orgânico particulado (HUBAS et al., 2007).

Artigas (1998) na baía de Biscay e na pluma do estuário mais turbido da Europa (Gironde) observou, assim como nesse estudo, que apesar da baixa qualidade nutricional (da MES) havia a presença de muitas bactérias aderidas de tamanho pequeno.

Os maiores valores de matéria em suspensão e turbidez na área 01 associado ao menor valor de clorofila nessa área indicam que esses sejam fatores limitantes para a proliferação de fitoplâncton ocasionando assim uma escassa produção autóctone.

A porcentagem de COP sobre a MES na área 01 foi mais expressiva no período seco, sugerindo que provavelmente está ocorrendo uma maior produção autóctone. Na área 02 ocorreu uma variabilidade importante e pontual do COP em concentração e porcentagem no período seco (a estação 3B e 5B essa com o

máximo de clorofila) e no chuvoso encontramos valores muito baixos nos três primeiros pontos e nos seguintes com valores mais elevados, indicando que no ponto com índice mais expressivo de clorofila esteja possivelmente ocorrendo uma maior produtividade primária do fitoplâncton através da excreção do carbono na forma de matéria orgânica dissolvida que seria transformada em particulada e absorvida pelo bacterioplâncton. No entanto, estudos de respiração e produtividade bacteriana são necessários para uma melhor compreensão do ciclo do carbono em ecossistemas aquáticos (JAHNKE & CRAVEN, 1995; Del GIORGIO & WILLIAMS, 2005). Excetuando-se algumas estações (como por exemplo, Pt 3B e Pt 5B) na qual encontrou-se altos valores de COP, Chicherportiche (2007) também encontrou valores próximos de COP (0,94 a 5,02 %) para o estuário do Rio Amazonas.

A clorofila *a* é um composto indispensável à fotossíntese e está presente em todos os organismos vegetais. No meio aquático, todas as algas contêm clorofila *a*, na razão de 0,5 à 2% do peso líquido. A concentração de clorofila *a* é usada para se estimar a variabilidade espacial e temporal da biomassa fitoplanctônica (TREES et al., 1985).

Estatisticamente não houve diferença entre os períodos na média de clorofila *a*, mas em relação aos fatores físico-químicos observou-se uma variação maior no período seco. Isso se deve a radiação solar que é mais intensa (menor turbidez) no período seco do que no período chuvoso, sugerindo que a quantidade de matéria carregada durante a chuva faz com que aumente a quantidade de matéria em suspensão, a turbidez no rio e diminua a proliferação do fitoplâncton em águas muito túrbidas, mesmo se a concentração em nutrientes aumentar.

Os valores de clorofila foram menos expressivos do que os já baixos encontrados por Araújo (2004) no Rio Pitimbu (1,45 a 5,47  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e Petrucio (2003) no Rio Doce (0,7 a 27,5  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) em Minas Gerais. Em locais com baixa biomassa fitoplânctônica, como é caso da área 01, segundo Del GIORGIO & GASOL (1995) o carbono orgânico dissolvido de origem não algal se torna a maior fonte de energia para as bactérias. Como não foi encontrada correlações entre bactérias totais e clorofila, sugere-se que o elevado número de bactérias deve-se a matéria orgânica do fitoplâncton (produção e acumulação/ degradação) e matéria orgânica alóctone concordando com os resultados de PETRÚCIO (2003). ARAÚJO (2004) também não encontrou relações entre o bacterioplâncton e a clorofila no Rio Pitimbu. Além disso, os baixos níveis de clorofila *a* e a importância marcante dos feopigmentos denotam

a relevância do bacterioplâncton para a estruturação trófica do Rio Amazonas, onde não foi observada relação significativa entre bactéria e fitoplâncton. Isto sugere que o carbono orgânico dissolvido, gerado a partir do fitoplâncton, não seria o substrato mais importante para as bactérias do sistema (ARAÚJO, 2004). Isso evidencia a possibilidade de uma intensa atividade decompositora. Esse trabalho corrobora com os resultados encontrados por Artigas (1998); Kirschner & Velimirov (1997) e Carvalho et al. (2003).

Enquanto que na área 02 as bactérias totais e as bactérias totais livres por epifluorescência e clorofila *a* obtiveram uma correlação positiva, mas um pouco menos significativa do que a de Chicheportiche (2007) que encontrou em seu trabalho boa correlação ( $r=0.91$ ) entre bactérias totais e clorofila no Amazonas entre Santarém e Macapá (incluindo alguns afluentes, nos quais se observaram situações de *blooms* de fitoplâncton). Essa correlação entre clorofila e bactérias é compatível com a literatura quando se consideram sistemas com alta produtividade fitoplanctônica também (BIRD & KALFF, 1984; COLE et al., 1988)

Observou-se que o pico do bacterioplâncton no ponto 5B foi o que equivaleu ao maior valor de clorofila nesse estudo. Esses resultados sugerem que na área 02 do Rio Amazonas há presença de possíveis *blooms* de fitoplâncton (principalmente em estações de menor profundidade como a estação 5B), sendo então possível que o fitoplâncton esteja mais tempo na zona fótica nesse ambiente e que provavelmente a matéria orgânica dissolvida proveniente da produção primária fitoplanctônica seja consumida pelo metabolismo bacteriano de preferência, já que é a mais degradável.

#### **4.2. Dinâmica Bacteriana na Área 01 (Macapá)**

Estudos da regulação e abundância bacteriana em ecossistemas aquáticos têm sido o foco de muitos trabalhos. No entanto, a maioria desses se refere a lagos e rios de regiões temperadas (DEL GIORGIO & GASOL, 1995; LIU & LEFF, 2002; IZAGUIRRE et al., 2003). No Brasil, esses são bastante escassos principalmente em ecossistemas lóticos.

A abundância bacteriana por microscopia de epifluorescência foi um pouco mais expressiva do que a técnica de citometria de fluxo. Fry & Herbert (1990) advertem que há uma grande interferência com a matéria orgânica das amostras

muito turvas, o que é precisamente o caso do Amazonas. De fato, estas podem facilmente mascarar bactérias presas a essas partículas. Além do mais, tendo a fluorescência do DAPI uma duração limitada, já que os campos são muito carregados, torna-se então difícil contar todas as bactérias sem que um turvamento mais ou menos forte venha a comprometer essa contagem (CHICHEPORTICHE, 2007).

Pela técnica de microscopia e de citometria observou-se estatisticamente que o número de bactérias totais foi mais expressivo no período seco, devido a menor diluição e também pelo fato das coletas terem sido realizadas na maré vazante, logo sendo inversamente proporcionais o volume de água e a concentração de bactérias.

Trabalhos sobre bacterioplâncton são raros na Amazônia ainda mais quando se trata de ambientes lóticos. Segundo Araújo (2004) no Rio Pitimbu a abundância de bactérias no período seco variou de  $4,20 \times 10^7$  a aproximadamente  $4,80 \times 10^7$  células  $\text{mL}^{-1}$ , enquanto que no período chuvoso de  $2,67 \times 10^7$  a aproximadamente  $3,60 \times 10^7$  células  $\text{mL}^{-1}$ . Esses valores também foram mais elevados no período seco, embora sejam mais altos do que os encontrados no Rio Amazonas, provavelmente por ser um ambiente menor com pouca profundidade tendo assim maior influência de bactérias do sedimento em suspensão.

Não ocorreu uma variação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para a abundância bacteriana nas estações como se esperava, mas provavelmente haveria nas análises dos coliformes fecais como previsto em função da localização dos pontos e a influência de fatores externos. No entanto, infelizmente só foram feitas análises iniciais para os coliformes fecais (por falta de material) as quais não contêm dados suficientes para avaliação. Pequenas variações no número de bactérias totais são explicadas a seguir.

Embora não haja uma variação temporal marcante, o ponto 1 foi o que apresentou o maior número de bactérias por microscopia. Isso provavelmente deve-se a localização desse ponto na frente da cidade de Macapá a qual não possui um sistema de tratamento do esgoto que é lançado "*in natura*" no seus corpos d'água. Recebendo assim, despejos de ação antrópica que ocasionam um aumento das comunidades bacterianas locais. Esse aumento não foi significativo na abundância total de bactérias e mesmo se fosse, não poderia indicar e afirmar que haveria uma contaminação já que são bactérias totais e não coliformes fecais.

O ponto 3 apresentou o segundo maior número de bactérias. Esse valor de bactérias provavelmente deve-se a localização desse ponto ser bem próxima a região insular e a um igarapé. Em virtude disso, grande quantidade de matéria orgânica é carregada para o rio quando o nível da água desce (em função das variações de maré) favorecendo assim a multiplicação dessas bactérias.

O ponto 2 obteve o menor número de bactérias de todos os pontos, embora esses valores estejam próximos ao do ponto 3. A localização do ponto 2 situada no canal do Rio Amazonas, entre os dois outros pontos, recebe menos influência da cidade e das ilhas demonstrando assim a menor quantidade de bactérias nesse ponto.

Já que essas diferenças não são significativas então só podem ser feitas especulações e concluir que precisa-se de mais pontos de amostragens em condições de marés diferentes e com análises de coliformes fecais.

Vários estudos demonstram diferenças no tamanho (ABREU et al., 1992; ARTIGAS, 1998), na atividade (SIMON, 1985) e na composição genética (De LONG, 1993) entre as bactérias livres e aderidas. Essas bactérias heterotróficas rapidamente crescem utilizando a matéria orgânica dissolvida e particulada (BIDDANDA, 1988).

A abundância de bactérias livres foi mais elevada no período seco, do que as aderidas que foram mais expressivas no período chuvoso. No entanto, a quantidade de bactérias aderidas no período chuvoso foi mais elevada, devido a uma quantidade significativa de matéria em suspensão possibilitando assim que as bactérias encontrem um substrato e assim se fixem a ele. Segundo De Flaun (1983) a abundância de bactérias aderidas também depende da forma ou qualidade da partícula.

A entrada de detrito particulado na coluna d'água é rapidamente colonizada por bactérias livres abundantes. As bactérias aderidas solubilizam os detritos particulados, enquanto as bactérias livres utilizam a maior parte desses produtos dissolvidos e produzem biomassa ligando a cadeia alimentar detrítica aos níveis tróficos superiores (ANÉSIO et al., 2003).

O reconhecimento das bactérias aderidas é indispensável no caso de um meio submetido a aportes terrígenos importantes, podendo servir de suporte eventual aos microorganismos (BIANCHI et al, 1989).

O número de bactérias aderidas nesse estudo é semelhante às encontradas por Artigas (1998) no estuário do Gironde que encontrou mais de 30% de células aderidas e mais de 60% de cocos livres. Estas não podem ser consideradas ecologicamente desprezíveis no bacterioplâncton em função de: sua contribuição relevante para a biomassa total de bactérias; sua funcionalidade no ambiente diferente da funcionalidade das bactérias livres; por aumentar a qualidade nutricional da partícula; por serem importantes fontes alimentares para outros organismos maiores do plâncton, quando consumidas diretamente (KIRCHMAN, 1983). Em estudos de estuários túrbidos como a Gironde, (ARTIGAS, 1998) e na zona costeira e estuários da Guiana Francesa (ARTIGAS et al., 2007), as bactérias aderidas podem se fixar sobre substratos de pobre qualidade e degradabilidade, assim como em substratos de maior degradabilidade no momento de *blooms* de fitoplâncton ou resuspensão de microfitobêntos.

O estudo das variações temporais na composição dos morfotipos bacterianos pode levar à elucidação de importantes variações na densidade e biomassa do bacterioplâncton num sistema aquático (KIRSCHNER & VELIMIROV, 1997).

Os morfotipos não têm nenhuma relação com a diversidade de espécies, visto que uma mesma espécie pode ser representada por diferentes morfotipos. No entanto, podem indicar variações metabólicas necessitando estudos de produtividade bacteriana.

Os cocos foram o morfotipo mais encontrados nas bactérias livres e aderidas. Estes estão de acordo com os resultados encontrados no estuário do Amazonas por Chicheportiche (2007) e na Baía de Biscay por Artigas (1998). Segundo Artigas (1998), a sucessão de morfotipos sazonais causa mudanças na média dos volumes celulares os quais podem influenciar mais ou menos os padrões de evolução da biomassa, principalmente no número de bactérias. Nesse trabalho as bactérias apresentaram provavelmente uma baixa média de volume, devido a alta proporção de células cocos aderidas nessa população.

A importância das células de formas muito pequenas podem constituir um refúgio das bactérias, pois são capazes de escapar de predadores (ARTIGAS, 1998). Esses geralmente preferem as células em divisão, células de maiores tamanhos e metabolicamente mais ativas (DEL GIORGIO et al, 1996; KRAMBECK, 1988; SHERR et al, 1992). Os menores valores das células em divisão em todos os pontos

indicam que provavelmente essas estejam sofrendo um processo de predação seletiva pelos protozoários (GONZALEZ et al, 1990). O pt1 foi o que apresentou os valores mais expressivos do morfotipo em divisão indicando assim que nessa área provavelmente está ocorrendo uma provável atividade bacteriana porventura de grande quantidade de matéria orgânica de origem antrópica disponível.

Alguns trabalhos citam indícios de que as variações morfológicas são decorrentes das condições tróficas (FERRARI, 2002; La FERLA et al, 2004).

Segundo Racy (2004), os cocos em ambientes com maior disponibilidade de recursos, a atividade metabólica dos organismos com estas formas seria facilitada tanto pela quantidade de alimentos disponíveis no ambiente quanto pela facilidade de conduzi-los para o interior das células. Este fato poderia estar promovendo o crescimento rápido assim como uma rápida reprodução (estratégia “r”) o que resultaria em uma maior densidade.

#### **4.3. Dinâmica Espacial e Sazonal no Transecto Macapá – Bailique (área 02)**

A abundância de bactérias nessa área também foi maior na microscopia do que na citometria. Não foi observada uma sazonalidade marcante em relação a abundância de bactérias totais por microscopia nessa área. Apenas ocorreu uma maior variabilidade no período de seca do que no período de chuvas, mas a amostragem nessa área no período seco foi em meio de bastante chuva. Isso provavelmente pode ser o motivo de uma abundância maior de bactérias no ponto 5B, o qual por se situar na entrada do igarapé do pau mulato, sofre grande influência das áreas do entorno quando o nível de água desce (em função da variação da maré) e vem carreando grande quantidade de matéria orgânica favorecendo assim a multiplicação de bactérias nesse ponto. Nessa estação o pico bacteriano correspondeu a 54% das bactérias aderidas e foi onde obtivemos também os maiores índices de clorofila *a* e a máxima percentagem de clorofila/stocks. Assim, o que é mais importante para a variação entre as estações, mesmo que a amostragem tenha sido coletada em meio a chuva no período seco, é a possibilidade de provavelmente ter maior produtividade primária pontual no período seco e também no período chuvoso com uma maior % de COP nas estações 4 a 8.

Observou-se que a dinâmica das bactérias livres e aderidas nessa área também foi a mesma da área 01, onde as livres foram mais expressivas no período

seco e as aderidas no período chuvoso. Segundo LIND & LIND (1991) alguns autores constataram que quanto maior a quantidade de material em suspensão na coluna d'água, maiores são a adesão de bactérias ao substrato. Isso se explica pela grande quantidade de matéria em suspensão que é carregada para esses ecossistemas aquáticos no período de chuvas.

Os morfotipos da área 02 foram todos os encontrados na área 01 predominando também os cocos como o morfotipo mais freqüente entre as bactérias livres e aderidas.

Pela técnica de citometria não foi observada uma sazonalidade marcante em relação as bactérias totais. Nessa área apenas ocorreu uma variação maior no período chuvoso. Essa variação pode ter ocorrido, devido a uma interferência da fluorescência da matéria em suspensão detrítica sobre as bactérias, apesar de essa interferência ser bem reduzida com o Sybr Green II. A citometria pode sobre-estimar a quantidade total de bactérias vez que ela conta tudo que tem em um pequeno volume de água (70µl) e multiplica no total.

Ocorreu uma correlação positiva entre clorofila e cocos livres ( $r=0.81$ ) e bactérias totais livres ( $r=0.84$ ). Segundo Ricklefs, (2003) isso provavelmente demonstra que conforme a concentração de clorofila nessa área seja elevada, maior será a disponibilidade de recursos favorecendo o desenvolvimento das espécies "r" estrategistas. No entanto, precisaríamos de estudos mais específicos, para compreender essa dinâmica.

#### **4.4. Citometria de Fluxo e Microscopia de Epifluorescência**

Citometria de fluxo exhibe três propriedades técnicas de potencial alto para o estudo microbiológico de sistemas aquáticos: (i) velocidade tremenda para processar e obter dados; (ii) a capacidade de ordenação de alguns citômetros, os quais permitem a transferência de populações específicas ou mesmo de células individuais para localização determinada, assim permitindo mais análises químicas, físicas, moleculares ou biológicas; e (iii) alta velocidade de aquisição de dados multiparâmetros e análise de dados multivariados. As principais limitações de infraestrutura da citometria de fluxo são: custo, necessidade de operadores bem treinados e capacitados, e de um sistema de refrigeração adequado para os lasers de alta potência e ordenadores de células (VIVES-REGO et al., 2000). Afirnam

também que outros obstáculos dessa técnica seriam o tamanho bem menor das bactérias de ecossistemas aquáticos e da quantidade reduzida de suas moléculas estruturais.

O avanço com a técnica de microscopia por epifluorescência melhorou a quantificação das comunidades bacterianas deixando as antigas técnicas de contagem de células em placas em gradativo processo de desuso.

Apesar de a microscopia de epifluorescência ter revolucionado a microbiologia aquática, um problema fundamental e não totalmente solucionado é a determinação com acurácia da proporção de bactérias livres e aderidas ao material particulado em suspensão (YOON & ROSSON, 1990). Segundo Anésio (1994), esta técnica não permite fazer distinções qualitativas da comunidade bacteriana, ou seja, distinguir diferentes espécies de bactérias. Desta forma, as bactérias de origem terrestre são normalmente incluídas nas observações ao microscópio, uma vez que não podem ser diferenciadas das bactérias próprias do meio ambiente aquático.

Ocorreu uma variabilidade pequena entre as duas técnicas que é mais difícil de considerar neste ambiente que precisa de técnicas de separação das bactérias aderidas nas partículas e que está sujeita aos problemas de fluorescência da matéria detritica segundo o tipo de marcação, provocando possíveis interferências que podem conduzir a contagens sobre ou subestimadas das bactérias totais. No entanto, as abundâncias de bactérias calculadas nas duas áreas são próximas, onde observou-se que as técnicas em relação as duas áreas não diferem entre si estatisticamente ( $p > 0,05$ ) e que as interferências podem ocorrer tanto nas contagens de citometria como nas de microscopia.

#### **4.5. LNA e HNA**

As contagens por citometria revelam populações de bacterioplâncton diferentes e heterogêneas permitindo a distinção de dois grupos gerais segundo o ácido nucleico: HNA e LNA (ANDRADE et al, 2003; GASOL et al, 2000; JOCHEM et al, 2004). Entretanto a relevância funcional e filogenética citometricamente definida em grupos ainda permanece mal entendida (MARY, 2006).

As bactérias LNA são caracterizadas por células de tamanhos pequenos com baixa concentração de ácido nucléico. Essas características indicam que há uma baixa atividade celular desses microrganismos sugerindo que eles podem estar

mortos, dormentes ou inativos (GASOL, 1995). Enquanto que as HNA apresentam uma alta quantidade de ácido nucléico sendo assim em teoria as mais ativas.

Na área 01 observou-se uma distribuição espacial uniforme, com a dominância de bactérias HNA, indicando que as comunidades em todas as estações provavelmente possam ser controladas por um mesmo fator ambiental. Não foi encontrada nenhuma regulação por “bottom-up”, então se sugere que possa ter ocorrido um controle por “top-down”. Isso foi também proposto por Gonzáles et al (2006).

A abundância de bactérias totais no período seco na área 01 foi representada pela porcentagem mais expressiva de bactérias metabolicamente mais ativas das áreas. No estudo de Lebaron et al. (2001) as bactérias HNA foram consideradas membros ativos de uma comunidade já que elas foram responsáveis por mais de 95% do total da produção de carbono.

O ponto 1 foi o que apresentou a maior quantidade de bactérias HNA, provavelmente pela maior quantidade de matéria orgânica a ser degradada, enquanto que no ponto 2 e 3 obtiveram tanto HNA como LNA.

Uma significativa correlação no período seco na área 02, entre as HNA e bactérias totais por citometria ( $r=0.98$ ) e LNA e bactérias totais ( $r=0.99$ ) indica que há presença de bactérias de baixa e alta atividade celular que são responsáveis pela dinâmica bacteriana, seja pela produção específica de uma das categorias, seja pela predação não seletiva que afeta as duas comunidades, já que se só uma delas tivesse sido consumida, então teríamos uma regulação de uma delas contra uma acumulação da outra comunidade. As LNA podem, segundo alguns estudos, retomar a atividade em algumas condições.

A correlação negativa com a transparência supõe que as HNA estão em maior abundância em águas mais turbidas com maior quantidade de matéria em suspensão e conseqüentemente com bactérias aderidas a esses substratos que são citadas como bactérias individuais aderidas mais ativas do que as bactérias livres (GRIFFITH et al., 1994; PEDRÓS-ALIÓ & BROCK, 1983), dependendo da natureza e qualidade das partículas.

Enquanto que em novembro de 2008 foram mais expressivas as LNA o que supõe que essas bactérias podem ser importantes em momentos de maior produção primária potencial ou que as bactérias HNA foram reguladas pela predação, deixando se acumular só as LNA.

## 5. CONCLUSÕES

1. Os fatores físico-químicos não apresentaram correlações significativas com a abundância de bactérias totais. Altas concentrações de bactérias foram encontradas tanto em locais ricos em nutrientes como em pontos com menores quantidades destes compostos;

2. Na área 01 não foi observada uma relação positiva entre biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*) e bacterioplâncton indicando que o carbono orgânico dissolvido gerado a partir do fitoplâncton não é o substrato mais importante para a abundância bacteriana evidenciando a possibilidade de uma intensa atividade decompositora;

3. Na área 02 observou-se um ambiente no qual o bacterioplâncton está relacionado com a comunidade fitoplanctônica contribuindo provavelmente para que em algumas estações ocorram conexões entre bactérias, fitoplâncton e níveis tróficos superiores;

4. A sazonalidade na área 01 influenciou a abundância do bacterioplâncton sendo mais expressivo no período seco, enquanto que na área 02 não foi observada uma sazonalidade marcante;

5. As bactérias aderidas foram mais expressivas no período chuvoso principalmente pelo maior aporte de matéria em suspensão carregada pela chuva;

6. O morfotipo mais expressivo foi o cocos, seguido dos bacilos;

7. As técnicas de microscopia de epifluorescência e citometria de fluxo sofreram apenas pequenas variações, mas estatisticamente não são significativas;

8. As HNA foram as mais expressivas na área 01, indicando que há uma intensa atividade nessas áreas, sendo que o ponto 1 foi o que apresentou a maior quantidade dessas bactérias em função da maior quantidade de matéria orgânica;

9. As HNA e LNA na área 02 (período seco) apresentaram correlações bem significativas com as bactérias totais, indicando que há tanto a presença de bactérias de baixa e alta atividade celular que são responsáveis pela dinâmica bacteriana, seja pela produção específica de uma das categorias, seja pela predação não seletiva que afeta as duas comunidades.

## REFERÊNCIAS

ABREU, P.C.; BIDDANDA, B. B. & ODEBRECHT, C. Bacterial dynamics of the Patos lagoon estuary, southern Brazil (32° 0' S, 52° 0' W) relationship with phytoplankton production and suspended material. **Est. Coast. Shelf Sci.**, 35: 621-635, 1992.

AGOSTINHO, A.A.; THOMAZ, S.M.; GOMES, L.C. Conservação da biodiversidade em águas continentais do Brasil. **Megadiversidade**, v: 1-1, 2005.

ALLDREDDGE, A.L.; PASSOW, U.; LOGAN, B.E. The abundance and significance of a class of large, transparent, organic particles in the ocean. **Deep Sea Research Part I – Oceanographic Research Papers**, 40 (6): 1131-1140, 1993.

AMADO, A.M.; FARJALLA, V.F.; ESTEVES, F.A.; BOZELLI, R.L.; ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A. Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake. **FEMS Microbiology Ecology**, 56: 8-17, 2006.

AMINOT, A. & KÉROUEL R. Hydrologie des écosystèmes marins, paramètres et analyses. **Ifremer** : 172-194, 2004.

ANDRADE, L. GONZÁLEZ, A.M.; REZENDE, C.E.; SUZUKI, M.; VALENTIN, J.L.; PARANHOS, R. Distribution of HNA and LNA bacterial groups in the southwest atlantic ocean. **Brazilian Journal of Microbiology**, 38: 330-336, 2007.

ANDRADE, L.; GONZALEZ, A.M.; ARAUJO, F.V.; PARANHOS, R. Flow cytometry assessment of bacterioplankton in tropical marine environments. **J. Microbiol. Meth.**, 55: 841-850, 2003.

ANÉSIO, A.M.; ABREU, P.C.; BIDDANDA, B.A. The role of free and attached microorganisms in the decomposition of estuarine macrophyte detritus. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, 56: 197-201, 2003.

ANÉSIO, A.M. Densidade, biomassa e produtividade do bacterioplâncton em um lago amazônico (lago Batata\_PA) impactado por rejeito de bauxita. **Dissertação de mestrado** – Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1994.

APHA (American Public Health Association). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. Washington, DC, 1996.

ARAÚJO, M.F.F. Ecologia do protozooplâncton, bacterioplâncton e virioplâncton em um sistema fluvial-lagunar do nordeste brasileiro. **Tese doutorado** – Universidade de São Carlos, 97 p. 2004.

ARTIGAS, L.F.; JAUSSAUD, I.R.M.; TERNON, J.F.; THYSSEN, M.; BAKLOUTI, M.; BECKER, B. & GUIRAL, D. Bacterioplankton dynamics and ecological role in estuarine, coastal and shelf waters of French Guiana. **VII ECOLAB Workshop** – Macapá – AP – BRASIL, 2007.

ARTIGAS, L.F. Seasonal variability in microplanktonic biomasses in the Gironde dilution plume (Bay of Biscay): relative importance of bacteria. **Oceanologica ACTA** - VOL. 21 – N° 4, 1998.

AZAM F.; SMITH, D.C.; STEWARD, G.F; HAGSTRON, A. Bacteria – Organic matter coupling and its significance for oceanic carbon cycling. **Microbial Ecology**, 28: 167-179, 1993.

AZAM F.; FENCHEL T.; FIELD J.G.; GRAY J.S.; MEYER-REIL L.A. & THINGSTAD F. The ecological role of Water Column Microbes in the Sea. **Mar.Ecol.Prog.Ser.**, 10: 257-263, 1983.

BARBOSA, F.A.R.; SOUZA, E.M.M.; VIEIRA, F.,RENAULT, G.P.C.P.; ROCHA, L.A.; MAIA-BARBOSA, P.M.; OBERDÁ, S.M. & MINGOTI, S.A. Impactos antrópicos e biodiversidade aquática. In: Paula J.A. (coord.). **Biodiversidade, população e economia: uma região de Mata Atlântica**. UFMG/CEDEPLAR, ECMVS; PADTC, Rona Editora, Belo Horizonte, 345-454, 1997.

BARLETTA, A. Structure and seasonal dynamics of larval and juvenile fish in the mangrove-fringed estuary of the Rio Caeté in North Brazil. **Zentrum für Marine Tropenökologie**. Bremen. 220f, 1999.

BENNER, R. & M. STROM. A critical evaluation of the analytic blank associated with DOC measurements by high-temperature catalytic oxidation. **Mar. Chem.**, 41: 153-160, 1993.

BIANCHI, M. ; MARTY, D. ; BERTRAND, JC. ; CAUMETTE, P. ; GAUTHIER, M. Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques. **Masson : 2ème part.** Chap.3 & 4, 1989.

BIANCHINI, JR., I. Aspectos dos processos de decomposição nos ecossistemas aquáticos continentais. In: PÔMPEO, M. L.M (Ed.). **Perspectivas de Liminologia no Brasil**. Gráfica e Editora União, São Luís, p. 21-43, 1999.

BIDDANDA, B.A. & COTNER, J.B. Love handles in aquatic ecosystems: The role of dissolved organic carbon drawdown, resuspended sediments, and terrigenous inputs in the carbon balance of Lake Michigan. **Ecosystems**, 5: 431- 445, 2002.

BIDDANDA, B. A., & Pomeroy, L. R. Microbial aggregation and degradation of phytoplankton-derived detritus in seawater. I. Microbial succession. **Marine Ecology Progress Series**, 42: 79–88, 1988.

BIRD, D.F.; KALFF J. Empirical relationship between bacterial abundance and chlorophyll concentration in fresh and marine waters. **Can. J. Fish. Aquatic. Sci.** 41: 1015-1023, 1984.

BOZELLI, R.L & HUSZAR, V.L.M. Comunidades Fito e Zooplanctônicas Continentais em tempo de Avaliação. **Limnotemas, Publicação da Sociedade Brasileira de Limnologia**, 2003.

BRANDINI, F.P.; LOPES, R.M.; GUTSEIT, K.S.; SPACH, H.L. & SASSI, R. Planctonologia na plata-forma continental do Brasil: **Diagnose e revisão bibliográfica**. MMA, CIRM, FEMAR. 196 p, 1997.

CARVALHO, P., THOMAZ, S.M., BINI, L.M. Effects of water level, abiotic and biotic factors on bacterioplankton abundance in lagoons of a tropical floodplain (Paraná River, Brazil). **Hydrobiologia**, 510: 67-74, 2003.

CASTILLO, M.M; KLING, G.W.; ALLAN, J.D,. Bottom-up controls on bacterial production in tropical lowland rivers. **Limnol. Oceanogr.** 48: 1466-1475, 2003.

CASTILLO, M.M. Influence of hydrological seasonality on bacterioplankton in two neotropical floodplain lakes. **Hydrobiologia**, 437:57-69, 2000.

CÉSAR, D.E; ABREU, P.C. Ecology of aquatic microorganisms in Southern Brazil: State of art. In: FARIA, B.M. et al. (Ed.). Aquatic microbial ecology in Brazil. Rio de Janeiro:Universidade Federal do Rio de Janeiro, **Séries Oc. ecologia Brasiliensis**, 9: 153-171, 2001.

CHEVALDONNÉ P.; GODFROY A. Enumeration of microorganisms from deep-sea hydrothermal chimney samples. **FEMS Microbiol Lett**, 146: 211–216, 1997.

CHICHEPORTICHE, J. Approche du compartiment microbien et phytoplanctonique de la zone estuarienne Amazonienne. **2ème année option Génie Environnement Responsable de stage Année universitaire**, 2007.

COLE, J.J. Aquatic microbiology for ecosystem scientists: new and recycled paradigms in ecological microbiology. **Ecoystems**, 2: 215–225, 1999.

COLE, J. J., S. FINDLAY & M. L. PACE. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 43: 1-10, 1988.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). **Resolução CONAMA n. 357**, março, 2005.

COVENEY, M. E; WETZEL, R. G. Effects of nutrients on specific growth rate of bacterioplankton in oligotrophic lake water cultures. **Appl. Environ. Microbiol.**, 58: 150-156, 1995.

CRUMP, B.C.; KLING, G.W.; BARH, M.; HOBBI, J.E. Bacterioplankton community shifts in an arctic lake correlate with seasonal changes in organic matter source. **Appl. Env. Microbiol.**, 2253-2268, 2003.

CUNHA, A.C.; CUNHA, H.F.A; BRASIL, A.C.P.J.; DANIEL, L.A. & SCHULZ, H. E. Qualidade microbiológica da água em rios de áreas urbanas e periurbanas no baixo Amazonas: o caso do Amapá. **Eng. Sant. Ambient.** 9 (4): 322-328, 2004.

CUNHA, A.C.; SOUSA, J.A; GOMES, W.L.; BAÍA, J.S.F. & CUNHA, H.F.A. Estudo preliminar sobre a variação espaço-temporal de parâmetros da qualidade da água no igarapé da fortaleza. **Diagnóstico de Ressacas do Estado do Amapá: Bacias do Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú**.123-151, 2004.

CURRIE, D. J. Large-scale variability and interactions among phytoplankton, bacterioplankton, and phosphorous. **Limnol. Oceanogr.**, 35: 1437-1455,1990.

DE FLAUN M., MAYER L., Relationships between bacteria and grain surfaces in intertidal sediments, **Limnol. Oceanogr.**, 28(5) : 873-881, 1983.

De LONG, E.F.; FRANKS, D.G & ALLDREDGE, A.L. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs. free-living marine bacterial assemblages. **Limnol. Oceanogr.**, 38 (5): 924-934, 1993.

Del GIORGIO, P.A.; BIRD, D.F.; PRAIRIE, Y.T.; PLANAS, D. Flow cytometric determination of bacterial abundance in lake plankton with the green nucleic acid stain syto 13. **Limnol Oceanogr.**, 41(4): 783-789, 1996.

Del GIORGIO, P.A. & WILLIAMS, P.J. Respiration in aquatic ecosystems. **Oxford University Press**, Oxford, 2005.

Del GIORGIO, P.A., GASOL, J.M. Biomass distribution in freshwater plankton communities. **The American Naturalist.**, 146: 135-152, 1995.

Di SIERVE, M.A.; MARIAZZI, A. A.; DONADELLI, J. L. Bacterioplankton and phytoplankton production in a large Patagonian reservoir (República Argentina). **Hydrobiol.**, 297: 123-129, 1995.

DUCKLOW, H. W. Factors regulating bottom up control of bacteria biomass in open ocean plankton communities. **Arch. Hydrobiol. Beih.**, 37: 207-217, 1992.

ELSER, J., L. STABLER, AND R. HASSET. Nutrient limitation of bacterial growth and rates of bacterivory in lakes and oceans: A comparative study. **Aquat. Microb. Ecol.**, 9: 105-112, 1995.

FALKOWISK, P.; SCHOLLES, R.J.; BOYLE, E.; CANADELL, J.; CANFIELD, D.; ELSER, J.; GRUBER, N.; HIBBARD, K.; HOGBER, P.; LINDER, S.; MACKENZIE, F.T.; MOORE, B.; PEDERSEN, T.; ROSENTHAL, Y.; SEITZINGER, S.; SMETACEK, V.; STEFFEN, W.; The global carbon cycle: a test of our knowledge of Earth as a system. **Science**. Washington, 290: 291-296, 2000.

FARJALLA, V.F.; AZEVEDO, D.A.; ESTEVES, F.A.; BOZELLI, R.L.; ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A. Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake. **Microbial Ecology**, 52: 334-344, 2006.

FARJALLA, V.F.; FARIA, B.M. & ESTEVES, F.A. The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons. **Archiv für Hydrobiologie**, 156: 97-119, 2002.

FATIBELLO, S.H.S.A. Estudo sobre a Ocorrência e Caracterização das Partículas de exopolímeros Transparentes (TEP) no Reservatório de Barra Bonita e sua Colonização por Bactérias. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Carlos, 2005.

FENCHEL, T. Marine plankton food chains. **Ann. Rev. Ecol. Syst.**, 19: 19-38, 1988.

FERRARI, A.C. Comunidade de bactérias e nanoflagelados ao longo de um gradiente trófico em ambientes subtropicais rasos. **Dissertação** (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais)- Departamento de Ecologia e Biologia Evolutiva, Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, Brasil, 117 p, 2002.

FRY, J.C. & HEBERT, A. Direct Methods and Biomass Estimation in Methods in, Microbiology Vol 22 : **Techniques in Microbial Ecology**, R. Grigorova, John Robert Norris Ed., Academic press, 41-87, 1990.

GAO *et al.* The bacterioplankton of Lake Thau, China: abundance, biomass, and production. **Hydrobiologia**, 581: 177-188, 2007.

GASOL, J.M.; DEL GIORGIO, P.A. Effects of filtration on bacterial activity and picoplankton community structure as assessed by flow cytometry. **Aquatic. Microb. Ecol.**, 16: 251-264, 2000.

GASOL, J.M.; ZWEIFEL, U.L.; PETERS, F.; FUHRMAN, J.A.; HAGSTRÖM, A. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, 65(10): 4475-4483, 1999.

GASOL, J.M.; DEL GIORGIO, P.A.; MASSANA, R.; DUARTE, C.M. Active versus inactive bacteria : size dependence in a coastal marine plankton community. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 128: 91-97, 1995.

GEYER, W.E. ; BEARDSLEY, R. C.; LENTZ, S.J.; CANDELA, J.; LIMEBURNER, R.; JHONS, W.E.; CASTRO, B.M.; SOARES, I.D. Physical Oceanography of the Amazon shelf. **Cont. Shelf. Res.**, 16: 575-616, 1996.

GONZALEZ, J.M; SHERR, E.B.; SHERR, B.F. Size-selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. **App. Environ. Microbiol.**, 56 (3): 583-589, 1990.

GONZALEZ, A.M.; PARANHOS,R.; LUTTERBACH, M.S. Heterotrophic Bacteria Abundances in Rodrigo de Freitas Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil). **Brazilian Journal of Microbiology**, 37: 428-433, 2006.

GRIFFITH, P., SHIAH, F.-K., GLOERSEN, K., DUCKLOW, H. W., & FLETCHER, M. Activity and distribution of attached bacteria in Chesapeake Bay. **Marine Ecology Progress Series**, 108: 1–10, 1994.

GROSSART, H.P. & SIMON, M. Limnetic macroscopic organic aggregate (lake snow) – occurrence, characteristics and microbial dynamics in lake constance. **Limnology and Oceanography**, 38 (3): 1651-1659, 1993.

HELLEBUST, J.A. A extracellular products. In: STEWART, W.D.P. (Ed.) **Algal Physiology and Biochemistry**. Botanical Monographs, 10: 838-863, 1974.

HOUGHTON, R.A.; SKOLE, D.; NOBRE, C. A.; HACKLER, J. L.;LAWRENCE, K. T.; CHOMENTOWSKI, W. H. Annual fluxes of carbon from deforestation and regrowth in the Brazilian Amazon. **Nature**, 403 (67): 301-304, 2000.

HUBAS C.; LAMY D.; ARTIGAS L.F.; DAVOULT, D. Seasonal variability of intertidal bacterial metabolism and growth efficiency in an exposed sandy beach during low tide. **Mar. Biol.**, 151: 41–52, 2007.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia: [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br) acessado em 05 de janeiro de 2009.

IZAGUIRRE, I., ALLENDE, L., MARINONE, M.C., Comparative study of the planktonic communities of three lakes of contrasting trophic state at Hope Bay (Antartic Península). **J. Plankton Res.**, 25: 1079- 1097, 2003.

JAHNKE, R.A. & CRAVEN, D.B. Quantifying the role of heterotrophic bacteria in the carbon cycle: a need for respiration rate measurements. **Limnol Oceanogr.**, 40: 436–441, 1995.

JANSSON, M. *et al.* Nutrient limitation of bacterioplankton and phytoplankton in humic lakes in northern Sweden. **Freshwater Biology**, 46: 653-666, 2001.

JOCHEM, F.J.; LAVRENTYEV; P.J.; FIRST, M.R. Growth and grazing rates of bacteria groups with different apparent DNA content in the Gulf of Mexico. **Mar. Biol.**, 145: 1213-1225, 2004.

JORGENSEN, S.E. & VOLLENWEIDER, R.A. Técnicas para resolução de problemas. **Diretrizes para gerenciamento de lagos, Princípios para o gerenciamento de lagos**. São Carlos,1: 87-102, 2000.

JURGENS, K. PERNTHALER, J.; SCHALLA, S.; AMANN, R. Morphological and compositional changes in a planktonic bacterial community in response to enhanced protozoa grazing. **Apply. Environ. Microbiol**, 65: 1241-1255, 1999.

KARLSSON, J.; JANSSON, M.; JONSSON, A. Similar relationships between pelagic primary and bacterial production in a clearwater and humic lakes. **Ecology**, 83 (10): 2902-2910, 2002.

KIRCHMAN, D. The production of bacterial attached to particles suspended in a freshwater pond. **Limnol. Oceanogr.**, 28 (5): 858 – 872, 1983.

KIRSCHNER, A.K.T.,VELIMIROV, B. A seasonal study of bacterial community succession in a backwater system, indicated by variation in morphotype numbers, biomass and secondary production. **Microb. Ecol.**, 34: 27-28, 1997.

KISAND, V. & NOGES, T. Abiotic and biotic factors regulating dynamics of bacterioplankton in a large shallow lake. **MicrobiologyEcology**, 50: 51-62, 2004.

KISAND, V., TUVIKENE, L., NÕGES, T. Role of phosphorus and nitrogen for bacteria and phytoplankton development in a large shallow lake. **Hydrobiologia**, 457: 187-197, 2001.

KISAND, V. & TAMMERT, H. Bacterioplankton strategies for leucine and glucose uptake after a cyanobacterial bloom in a eutrophic shallow lake. **Soil Biology and Biogeochemistry**, 32: 1965-1972, 2000.

KOLM, H.E & ANDRETTA, L. Bacterioplankton in different tides of the Perequê tidal creel, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, 34: 97 -103, 2003.

KOLM, H.E.; GIAMBERARDINO FILHO, R.E.; KORMAN, M.C. Spatial distribution and temporal variability of heterotrophic bacteria in the sediments of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, **Brazil. Rev. Microbiol.**, 28: 230-238, 1997.

KRAMBECH, C. Control of bacterioplâncton structures by grazing and nutrients supply during the decline of an algal bloom. **Vesh. Internat. Verein. Limno.**, 23: 496-502, 1988.

LA FERLA, R.; Lo GIUDICE, A.; MAIMONE, G. Morphology and LPS content for the estimation of marine bacterioplankton biomass in the Ionian sea. **Sc. Marine**, 68 (1): 23-31, 2004.

LA FERLA R. & LEONARDI M. Ecological implications of biomass and morphotype variations of bacterioplankton: an example in a coastal zone of the Northern Adriatic Sea (Mediterranean). **Marine Ecology**, 26: 82-88, 2005.

LAMY, D.; ARTIGAS, L.F.; JAUZEIN, C., LIZON, F.; CORNILLE, V. Coastal bacterial viability and production in the eastern English Channel: a case study during a *Phaeocystis globosa* bloom. **Journal of Sea Research**, 56: 227-238, 2006.

LE, J.; WEHR, J.D.; CAMPBELL L. Uncoupling of bacterioplankton and phytoplankton production in fresh waters is affected by inorganic nutrient limitation. **Apply. Environ. Microbiol.** 60 (6): 2086-2093, 1994.

LEBARON, P.; SERVAIS, P.; AGONGUÉ, H.; COURTIES, C.; JOUX, F. Does the high nucleic acid content of individual bacterial cells allow us to discriminate between active cells and inactive cells in aquatic systems? **Appl. Environ. Microbiol.**, 67: 1775-1782, 2001.

LEBARON, P.; PARTHUISOT, N.; CATALA, P. Comparison of blue nucleic acid dyes for flow cytometric enumeration of bacteria in aquatic systems. **Appl. Environ. Microbiol.**, 64(5): 1725-1730, 1998.

LENNON, J.T. & PFAFF, L.E. Source and supply of terrestrial organic matter affects aquatic microbial metabolism. **Aquatic Microbial Ecology**, 39: 107-119, 2005.

LIND, O.T & LIND, L.D. Association of turbidity and organic carbon with bacterial abundance and cell size in a large, turbid, tropical lake. **Limnol.Oceanogr.**, 36 (6): 1200-1208, 1991.

LIU, J., LEFF, L.G. Temporal changes in the bacterioplâncton of a Northeast Ohio (USA) River. **Hydrobiologia**, 489: 151-159, 2002.

MARY, I.; HEYWOOD, J.L.; FUCHS, B.M.; AMANN, R.; BURKILL, P.H.; TARRAN, G.A.; ZUBKOV, M.V. SAR11 dominance among metabolically active low nucleic acid bacterioplankton in surface waters along an Atlantic meridional transect. **Aquat. Microb. Ecol.**, 45: 107-113, 2006.

MASÍN, N.; JEZBERA, J.; NEDOMA, J.; STRÁSKRABOVÁ, V.; HEJSLAR, J.; SIMÉK, K. Changes in bacterial community composition and microbial activities along the longitudinal axis of two canyon-shaped reservoirs with different inflow loading. **Hydrobiologia**, 504: 99-113, 2003.

MCT (Ministério da Ciência e Tecnologia). **Primeiro inventário brasileiro de emissões antrópicas de gases de efeito estufa**. Brasília, 2002.

MUYLAERT, K., VAN DER GUCHT, K., VLOEMANS, N., MEESTER, L., GILLIS, M., VYVERMAN, W. Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in flour eutrophic shallow lakes. **Appl. Environ. Microbiol.**, 68: 4740- 4650, 2002.

NOBRE, A.D. & NOBRE C.A. O Carbono e a Amazônia. **Ciência e Ambiente**, 31: 39-48, 2005.

ODUM, E.P. **Ecologia**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 434 p., 1988.

OECD, Eutrophication of waters. **Monitoring, assesement and control.**, Paris, 154 p., 1982.

OVERBECK, J. & CHRÓST. **Aquatic microbial ecology, biochemical and molecular approaches**. Springer-Verlag. New York Inc, 1990.

PASSOW, U. Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. **Progress in Oceanography** 55(3-4): 287-283, 2002.

PEDRO´ S-ALIO, C., & BROCK, T. D. The importance of attachment to particles for planktonic bacteria. **Archiv fu¨r Hydrobiologie**, 98: 354–379, 1983.

PERES, Ariadne da Costa. A Comunidade zooplanctônica em um canal de maré no estuário do rio Caeté, Bragança (Pará, Brasil). **Dissertação** (Mestrado) – Curso de Mestrado em Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará e Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém. 91 f, 1999.

PETRÚCIO, M. Produtividade Bacterioplânctonica e Fitoplânctonica nos Ecossistemas Aquáticos do Trecho Médio da Bacia do Rio Doce – MG. São Carlos: UFSCAr, **Tese de Doutorado**, 2003.

POC, Outline of Standard Protocols for Particulate Organic Carbon -POC- Analyses, 1995.

POMEROY, L.R. The ocean's foodweb a changing paradigm. **Bioscienci**, 24: 499-504, 1974.

PORTER, K. G. & Y. S. FEIG. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. **Limnology and Oceanography**, 25: 943–948, 1980.

RACY, F.P.P. Aspectos numéricos, morfológicos e morfométricos das comunidades bacterianas em diferentes escalas trófica e temporal, em reservatórios, 63 p. **Dissertação** (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais), Universidade Federal de São Carlos, 2004.

RAM, A.S.P.; NAIR, S.; CHANDRAMOHAN D. Bacterial Growth Efficiency in Tropical Estuary: Seasonal Variability Subsidized by Allocthonous Carbon. **Microbial ecology**, 53: 591-599, 2007.

RICHEY, J. E. *et al.* Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO<sub>2</sub>. **Nature**, 416: 617-620, 2002.

RICKLEFS, R.E. **A economia da natureza**. 5 ed. 503 pp. Edit Guanabara Koogan S. A. Rio de Janeiro – Brasil, 2003.

RIEGMAN R.; KUIPERS B.R.; NOORDELOS A.A.M.; WITTE H.J. Size-differential control of phytoplankton and the structure of plankton communities. **Neth. J. Sea Res.**, 3: 255-265, 1993.

SALAS, H. J. & MARTINO, P. A simplified phosphorus trophic state model for warme-water tropical lakes. **Wat. Res.**, 25: 341-350, 1991.

SAMUELSSON, K. *et al.* Structural changes in an aquatic microbial food web caused by inorganic nutrient addition. **Aquat. Microb. Ecol.**, Oldendorf, 29: 29-38, 2002.

SHERR, B.F.; SHERR, E.B; McDANIEL, J. Effect of protistan grazing on the frequency of dividing cells in bacterioplâncton assemblages. **Appl. Environ. Microbiol.**, 58 (8): 2381-2385, 1992.

SHIAH, F. K. & DUCKLOW, H. W.. Temperature regulation of heterotrophic bacterioplâncton abundance, production, and specific growth rate in Chesapeake Bay. **Limnol. Oceanogr.**, 39: 1243-1258, 1994.

SIMON, M. Specific uptake rates of amino acids by attached and free-living bacteria in a mesotrophic lake. **Appl. Environ. Microbiol.**, 49 (5): 1254-1259, 1985.

SIQUEIRA, G.; LIMA, W. N.; MENDES, A. S.; APRILE, F.M.; DARWICH, A.J. **Boletim do Laboratório de Hidrobiologia**, 16: 5-20, 2003.

SMITH, M.E. & PRAIRIE, Y.T. Bacteria metabolism and growth efficient in lakes: the importance of phosphorus availability. **Limnology and Oceanography**, 49(1): 137-147, 2004.

SUHETT, A.L.; AMADO, A.M.; BOZELLI, R.L.; ESTEVES, F.A; FARJALLA, V.F. O papel da foto-degradação do carbono orgânico dissolvido (COD) nos ecossistemas aquáticos. **Oc. ecol. Bras.**, 10 (2): 186-204, 2006.

TAKIYAMA, L. R.; SILVA, A.Q.; COSTA, W.J.P. & NASCIMENTO, H.S. Qualidade das águas das ressacas das bacias do igarapé da fortaleza e do rio curiaú. **Diagnóstico de Ressacas do Estado do Amapá: Bacias do Igarapé da Fortaleza e do Rio Curiaú**. 99-121, 2004.

TORRÉTON, J.P. Importance de bactéries hétérotrophes aérobies dans une lagune eutrophe tropicale (Lagune Ebrié). Biomasse, productions, exportations. **Thèse de Doctorat d'Université d'Aix –Marseille II**, 246 p., 1991.

TRANVIK, L.J. Allochthonous dissolved organic matter as an energy source for pelagic bacteria and the concept of the microbial loop. **Hydrobiologia**, 229: 107–114, 1992.

TREES, C.C.; KENNICUTT, M.C.; BROOKS, J.M. Erros associated with the standard fluorimetric determination of chlorophylls and phaeopigments. **Mar.Chem.**, 17: 1-12, 1985.

VILLENA, E.P. *et al.* El papel de la escala en los patrones de variación del bacterioplancton em lagunas de alta montaña. **Limnética**, 22 (1-2):183-193, 2003.

VIVES-REGO, J.; LEBARON, P.; CARON, N.V. Current and future applications of flow cytometry in aquatic microbiology. **FEMS Microbiology Reviews**, 24: 429-448, 2000.

WETZEL, R.G. **Limnology**. Philadelphia: Saunders College Publishing, 767p., 1983.

WHITE, P.A., J. KALFF, J. B. RASMUSSEN & J. M.GASOL. The effect of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. **Microb. Ecol.**, 21: 99-118, 1991.

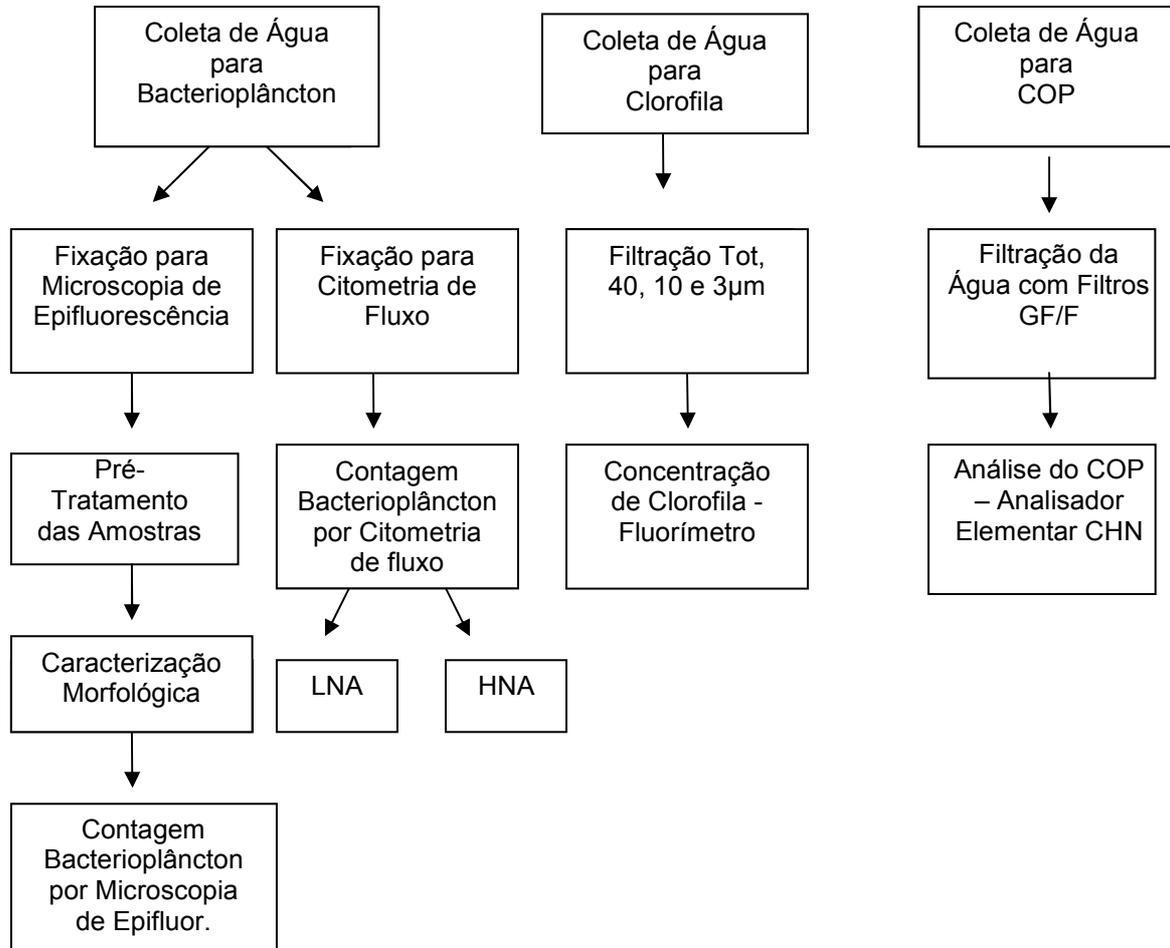
ZEE, (Zoneamento Ecológico Econômico). Primeira aproximação do zoneamento ecológico econômico do Amapá. Representação escala 1/1.000.000. **Relatório final**. Versão simplificada. Macapá: IEPA-ZEE 106 p., 1997.

YENTSCH, C.S. & MENZEL, D.W. "A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence." **Deep Sea Res.**, 10: 221-231, 1963.  
YONEDA, N.T. **Plâncton**. Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, 1999.

YOON, W.B. & ROSSON, R.A. Improved method of enumeration of attached bacteria for study of fluctuation in the abundance of attached and free-living bacteria in response to diel variation in sea water turbidity. **Appl. Environ. Microbiol.**, 56 (3): 595-600, 1990.

## ANEXO

**ANEXO A** - Esquema geral das metodologias para o bacterioplâncton, clorofila e carbono orgânico particulado (COP).



**ANEXO B – Médias das variáveis físico-químicas, bacterioplâncton e clorofila das áreas de estudo orla (Orl.) e Bailique (Bail) por períodos.**

Período Seco		Período Chuvoso		Período Seco		Período Chuvoso	
Variable	Méd.Orl	Variable	Méd. Orl	Variable	Méd Bail	Variable	Méd Bail
pH	7	pH	7	pH		pH	7
C.E.	60	C.E.	47	C.E.	52	C.E.	44
Turb	45	Turb	42	Turb	13	Turb	19
Temp	30	Temp	29	Temp	30	Temp	29
O.D.	7	O.D.	6	O.D.	7	O.D.	5
Secchi	29	Secchi	20	Secchi	34	Secchi	22
S.S	46	S.S	89	S.S	49	S.S	54
NO3	0	NO3	0	NO3	0	NO3	0
NO2	0	NO2	0	NO2	0	NO2	0
NH3	0	NH3	0	NH3	0	NH3	0
PO4	0	PO4	0	PO4	1	PO4	
Bac Liv	108445	Bacil Liv	131444	Bacil Liv	130833	Bacil Liv	110667
Cocos Liv	609636	Cocos Liv	671111	Cocos Liv	606333	Cocos Liv	478556
Vibrião Liv	69573	Vibrião Liv	94244	Vibrião Liv	87656	Vibrião Liv	75622
Divisão Liv	44718	Divisão Liv	60767	Divisão Liv	51078	Divisão Liv	51367
Bacil Ader	76709	Bacil Ader	66122	Bacil Ader	89650	Bacil Ader	59100
Cocos Ader	256927	Cocos Ader	270433	Cocos Ader	241875	Cocos Ader	350333
Vibrião Ader	64718	Vibrião Ader	32525	Vibrião Ader	53799	Vibrião Ader	42867
Divisão Ader	43146	Divisão Ader	26139	Divisão Ader	37698	Divisão Ader	40944
Bact Tot Liv	833091	Bact Tot Liv	958111	Bact Tot Liv	876333	Bact Tot Liv	716111
Bact Tot Ader	474636	Bact Tot Ader	483667	Bact Tot Ader	376111	Bact Tot Ader	493333
Bact Tot Epifl	1507273	Bact Tot Epif	1345333	Bact Tot Epifl	1252556	Bact Tot Epifl	1207778
Bact Citom	1095545	Bact Citom	476444	Bact Citom	596111	Bact Citom	1493444
HNA	737591	HNA	154556	HNA	191556	HNA	974778
LNA	354455	LNA	318000	LNA	400444	LNA	701333
Clorof Tot	1	Clorof Tot	1	Clor Tot	2	Clor Tot	1
>40	0	>40	0	>40	0	>40	0
40-10	1	40-10	0	40-10	1	40-10	0
10-3	1	10-3	0	10-3	1	10-3	0
<3	0	<3	0	<3	0	<3	0
Feop Tot	1	Feop Tot	1	Feop Tot	1	Feop Tot	1
>40	0	>40	0	>40	-0	>40	0
40-10	1	40-10	1	40-10	1	40-10	0
10-3	1	10-3	0	10-3	1	10-3	0
<3	0	<3	0	<3	0	<3	0
Stock Tot	3	Stock Tot	2	Stock Tot	3	Stock Tot	1
>40	-0	>40	0	>40	0	>40	0
40-10	1	40-10	1	40-10	2	40-10	1
10-3	1	10-3	1	10-3	1	10-3	1
<3	1	<3	-0	<3	0	<3	0
COP	1	COP	1	COP	1	COP	1
MES	58	MES	88	MES	47	MES	38

**ANEXO C** - Análises de componentes principais das variáveis estudadas (Principais componentes grifados com valores > 700000.

Variáveis	Fator1	Fator2	Fator 3
pH	0.07223	-0.66601	-0.25863
C.E.	0.04039	-0.60343	0.507347
Turbidez	-0.11499	-0.62348	0.16882
Temperatura	0.07737	-0.60876	0.493128
O.D.	-0.09696	-0.42897	<b>0.743871</b>
Transparência	-0.09567	0.503457	0.40013
MES	-0.20614	-0.68499	0.402146
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.01638	0.088902	<b>-0.75165</b>
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.31497	0.058555	-0.52188
NH <sub>3</sub>	-0.04066	0.4457	-0.30347
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	0.18486	0.024185	-0.07898
Bacilos Livres	<b>-0.97468</b>	0.076717	0.025708
Cocos Livres	<b>-0.97709</b>	0.091163	0.019913
Vibriões Livres	<b>-0.97385</b>	0.074735	0.027221
Divisão Livres	<b>-0.97593</b>	0.071684	0.024908
Bacilos Aderidos	<b>-0.7517</b>	0.119084	-0.06963
Cocos Aderidos	<b>-0.90793</b>	-0.00178	-0.03942
Vibriões Aderidos	<b>-0.81274</b>	0.105857	-0.02418
Divisão Aderidos	<b>-0.74306</b>	0.048966	0.011526
Bactérias Totais Liv.	<b>-0.97742</b>	0.086602	0.020828
Bactérias Totais Ad.	<b>-0.91706</b>	0.007931	-0.03022
Bactérias Tot. Epifluo	<b>-0.9829</b>	0.07735	0.01892
Bactérias Tot. Citom.	<b>-0.9752</b>	0.104567	-0.07297
HNA	<b>-0.96464</b>	0.100437	-0.14175
LNA	<b>-0.98165</b>	0.079702	-0.02421
Clorofia Total	0.10426	<b>0.876607</b>	0.26633
>40 µm	0.234	0.150583	-0.30271
40-10 µm	0.38976	<b>0.715458</b>	0.216993
10-3 µm	0.32336	0.564809	-0.12071
3 µm	0.17553	-0.1015	0.28272
Feopigmentos Totais	0.08136	<b>0.773601</b>	0.411487
>40 µm	0.20216	0.213328	0.095138
40-10 µm	0.38153	0.42276	0.260232
10-3 µm	0.34071	0.342475	-0.16508
3 µm	0.18976	0.094395	0.202731
StockTotal	-0.29218	<b>0.85615</b>	0.328671
>40 µm	0.1413	-0.0554	-0.08873
40-10 µm	0.12295	0.644003	0.267666
10-3 µm	0.12971	0.576754	0.020385
3	0.1585	0.08317	0.23794
COP	0.0832	-0.15018	-0.28404
Expl.Var	13.10501	6.872008	3.3879
Prp.Totl	0.31963	0.16761	0.082632

# 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](#)