

Universidade Federal do Rio de Janeiro
Centro de Ciências da Saúde
Instituto de Biologia
Programa de Pós Graduação em Ecologia

Fatores Ecológicos Independentes e Interativos na Regulação do Bacterioplâncton

Ellen da Silva Fonte

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Esteves

**Rio de Janeiro, RJ – Brasil.
Maio de 2009**

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO/UFRJ
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA-PPGE

CX.POSTAL 68.020 – ILHA DO FUNDÃO
CEP: 21941-590 – RIO DE JANEIRO – RJ – BRASIL
TEL./FAX: (21) 290-3308 TEL.: (21) 562-6320

Fatores Ecológicos Independentes e Interativos da Regulação Ascendente e Descendente do Bacterioplâncton

Ellen da Silva Fonte

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ecologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia.

Prof^o. Alexandre Soares Rosado, Dr.

Prof^o. Francisco de Assis Esteves, Dr.

Prof^{ta}. Renata de Fátima Panosso, Dr.

Rio de Janeiro – RJ
Maio de 2009

Ficha Catalográfica:

FONTE, ELLEN DA SILVA.

**Fatores Ecológicos Independentes e Interativos na Regulação do Bacterioplâncton
[Rio de Janeiro 2009]**

81 p. 29,7 cm (Instituto de Biologia/UFRJ, M. Sc. Ecologia, 2009)

Dissertação - Universidade Federal do Rio de Janeiro, PPGE.

1. Bacterioplâncton, 2. Controle ascendente, 3. Controle descendente
4. Carbono Orgânico Dissolvido, 5. Interação.

I. IB/UFRJ II. Título (série)

“Não é digno de saborear o mel aquele que se afasta da colméia com medo das picadelas das abelhas”. William Shakespeare

"A ausência da evidência não significa evidência da ausência". Carl Sagan - Astrônomo Americano

*“Nós ainda não sabemos um milésimo de um por cento do que a natureza já nos revelou”.
Albert Einstein*

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof^o Francisco Esteves, por ter me iniciado no estudo da Limnologia, me deixando fazer parte do seu grupo de trabalho, pela liberdade, pelas broncas, pelos ensinamentos que sempre levarei comigo e principalmente pelo seu exemplo de dedicação no desenvolvimento e divulgação da ciência.

Ao Prof^o Vinicius Farjalla, que embora não sendo meu orientador, já gastou muito tempo escutando as minhas idéias e me dando sugestões.

Ao Prof^o Reinaldo Bozelli por sua atenção e incentivo.

Aos membros da pré-banca, Prof^o Fabio Roland e Prof^a Ana Petry, pelas considerações valorosas e correções indispensáveis da dissertação.

À Prof^a Renata Panosso e ao Prof^o Alexandre Rosado por terem aceitado participar da minha banca avaliadora.

Ao Prof^a Jean Remy e a Prof^a Ana Petry pela disponibilidade como suplentes da banca avaliadora.

À minha família... precisaria de uma página inteira para agradece-la...pelo incentivo, carinho, compreensão, por agüentar o meu mau humor...enfim...sempre me faltarão palavras pra expressar minha eterna gratidão...

À Luciana, por ter me convidado para trabalhar com ela em seu experimento e com isso permitido a geração de uma das partes desta dissertação e também pela disponibilidade em me ajudar... Ao Caliman por responder meus inúmeros questionamentos e por estar sempre me ajudando... Bem...estes dois realmente merecem todo meu agradecimento!

Ao Albert por estar sempre me “ajudando a pensar” e pela grande contribuição nesta dissertação.

Ao Prof^o André Megali Amado, que embora estando agora distante continua me auxiliando nos meus trabalhos. Realmente muito obrigada!!

As minhas amigas Fernanda e Paloma pelo companheirismo, pelo ombro amigo, pelos momentos de risada, pela hospedagem da “retirante”, pelos momentos gastronômicos, pelo incentivo...”bichas réias”..vocês são indispensável para minha vida!

Ao Baiano (meu amigo forrozeiro de todos os momentos), Adriana (e Gabriel) (pelas inúmeras caronas e pelo carinho), Jaymilson (pela voz amiga de sempre), Tassionilda

(minha conterrânea, sempre super disposta, amiga para todos os momentos!!), Fabi (minha mestra da contagem de bactérias e amiga), Fredegundo (pelos momentos de risada e pela ajuda e confiança), Jabour (pelas muitas caronas e por tirar minhas dúvidas frequentes) e Cíntia, Dani e Bruno (que embora distantes, sempre estão torcendo por mim!).

À Família Limnológica, que torna os dias de trabalho muito mais divertidos...Sandra e Rose (as mãezonas), Maquinhos, Tais, Claudão, Tafonildo, Lúcia, Mario, Ana Cláudia, Letícia, Camilinha, Camila Guimarães, Daniely, Alinay, João Leal, Monalisa, Telma, Wilsinho e a muitos outros que agora não consigo lembrar...muito obrigada pela força e companinha de vocês!!

Ao Laboratório de Microbiologia (UFRJ), Fernanda, Camilinha e Vinícius pela análise molecular das amostras.

À toda equipe do Núcleo de Desenvolvimento Sócio Ambiental de Macaé, especialmente a Lena e ao João Marcelo.

À Marcinha e Dona Sueli da secretaria do PPGE, pela simpatia e por sempre estarem resolvendo os “pepinos”.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado, que permitiu que eu desenvolvesse este trabalho.

Aos professores do departamento de Ecologia e do PPGE pela troca de conhecimentos e ensinamentos.

A todos vocês dedico o resultado deste trabalho.

Ellen da Silva Fonte
Rio de Janeiro, maio 2009.

Resumo

O conhecimento dos fatores que regulam a produção e o metabolismo das bactérias heterotróficas é fundamental para o entendimento do funcionamento dos ecossistemas aquáticos, no que diz respeito a ciclagem de nutrientes e ao fluxo de energia. Muitos fatores (ascendentes e descendentes) reconhecidamente afetam a dinâmica da comunidade bacteriana nos ecossistemas aquáticos. Este trabalho teve como objetivo avaliar através de abordagens experimentais: 1) Os efeitos individuais e interativos da disponibilidade de recursos (adição de N e P) e da configuração da teia alimentar (presença de um peixe onívoro) na magnitude da produção bacteriana (PB) em uma lagoa húmica (Capítulo I); e 2) A resposta do processos bacterianos à presença de três fontes de carbono orgânico dissolvido (COD) distintas e de suas possíveis combinações, assim como a ocorrência de efeitos interativos proporcionados pela combinação das mesmas (Capítulo II). No experimento em mesocosmos (Capítulo I), observamos que a disponibilidade das formas inorgânicas de N e P, independe da configuração da teia alimentar aquática (com ou sem peixe), foi o fator mais importante na determinação direta da PB. A interação entre a adição de nutrientes e a presença do peixe não foi significativa para a PB. A reciclagem de nutrientes, proporcionada pelo comportamento onívoro de cadeias-múltiplas, foi provavelmente o principal mecanismo que explica o efeito positivo do peixe sobre a PB, apresentado em condições de baixa concentração de nutrientes. No experimento em microcosmos (Capítulo II) observamos que o número de fontes de COD influencia a magnitude dos processos bacterianos, e que efeitos complementares na utilização das fontes de COD presentes no meio aquático possibilitam uma maior eficiência na utilização do COD tanto autóctone quanto alóctone. Além disso, os efeitos não-aditivos encontrados se devem às características de cada mistura e não a composição da comunidade bacteriana. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que estudos futuros sobre os fatores reguladores da comunidade bacteriana planctônica devem considerar os efeitos interativos entre os diferentes recursos, principalmente entre as diferentes fontes de COD encontradas no ambiente aquático, assim como os efeitos dos macro e micro-componentes da teia alimentar.

Abstract

The knowledge about the factors that regulate heterotrophic bacteria is fundamental to the comprehension of aquatic ecosystems functioning. Many factors (bottom-up and top-down) are known to affect bacterial community in aquatic ecosystems. However despite the vast literature about the bottom-up and top-down control of the bacterioplankton there are still many gaps on this subject. Considering this scenario, this study aimed to evaluate through experimental approaches: 1) The individual and interactive effects of the availability of resources (N and P addition) and the food web configuration (presence of an omnivorous fish) in the magnitude of bacterial production (BP) in a humic lake (Chapter I); and 2) The response of bacterial metabolism to the presence of three distinct sources of dissolved organic carbon (COD) and their possible combinations, as well the occurrence of interactive effects provided by the COD different sources combination (Chapter II). In the mesocosms experiment (Chapter I), we observed that the availability of the inorganic forms of N and P, independently of aquatic food web configuration (with and without fish), was apparently the most important bottom-up factor that directly drives BP. The interaction between nutrients addition and fish presence was not significant. And the nutrients recycling mediated by the omnivorous multi-chains behavior, probable was the main mechanism that explains the positive fish effect on BP, observed in low nutrient conditions. In the microcosm experiment (Chapter II) we observed that the quantity of C source influence the bacterial process magnitude. The complementary effect on the use of C sources presented in the aquatic environment, undoubtedly could enable a greater efficiency of both autochthonous and allochthonous COD use. Moreover observed non-additives effects are due to characteristics of each COD mixture and not to the bacterial community composition. The results obtained in our study suggest that future studies, about the regulate factors of microbial plankton communities, should consider the interactive effects between different resources, mainly different COD sources found in aquatic systems, as well the effects of the macro- and micro- components of the food web.

Sumário

Introdução geral	1
Capítulo I	7
Introdução.....	8
Área de Estudo.....	10
Materiais e Métodos.....	12
Resultados.....	18
Discussão.....	26
Capítulo II	32
Introdução.....	33
Área de Estudo.....	35
Materiais e Métodos.....	36
Resultados.....	42
Discussão.....	50
Discussão e Conclusão Geral	56
Referências	69

Introdução Geral

Bactérias são os organismos de vida livre mais abundantes nos ambientes de águas doces, possuindo dessa maneira uma grande relevância ecológica (Sigge 2005). Uma das formas de classificar estes organismos é através de sua atividade metabólica. Temos assim no ambiente aquático, desde bactérias aeróbicas (autotróficas quimiosintetizantes e heterotróficas não-fotossintetizantes) até bactérias anaeróbicas (autotróficas fotossintetizantes, heterotróficas fotossintetizantes, e heterotróficas não-fotossintéticas). A grande maioria das bactérias encontradas no ecossistema de água doce estão dentro do grupo das bactérias aeróbicas heterotróficas não-fotossintetizantes, e vivem dos compostos orgânicos presentes no meio aquático, sendo assim, quimio-organo-heterotróficas* (Sigge 2005). Este grande grupo de bactérias heterotróficas utiliza as substâncias orgânicas como doadoras de energia e elétrons, e o oxigênio comoceptor de elétrons. Desempenham assim, um papel chave no direcionamento dos processos biogeoquímicos no ambiente aquático (Biddanda et al. 2001), sendo consideradas uma das maiores remineralizadoras do carbono orgânico (C) e dos nutrientes (Kritzberg et al. 2005).

O carbono orgânico que entra no “pool” bacteriano tem dois destinos imediatos: pode ser remineralizado a CO₂ através da respiração bacteriana (RB), ou incorporado na biomassa através da produção bacteriana (PB) ou produção secundária (Hall e Cotner 2007). Por meio da combinação dessas taxas foi criado um parâmetro cinético, a eficiência do crescimento bacteriano ($ECB = PB / (RB + PB)$) o qual demonstra a proporção de C do estoque bacteriano que foi incorporado em biomassa (Hall e Cotner 2007). Muitas vezes consideram RB e PB de forma acoplada, no entanto já foi sugerido que estas taxas podem se comportar de forma independente, estando assim desacopladas em situações específicas (Smith e Prairie 2004). Este desacoplamento propicia às bactérias a flexibilidade necessária para enfrentar ambientes altamente oligotróficos e em constante mudança (del Giorgio e Cole 1998). Apesar de já ter sido demonstrado que RB pode ocorrer na ausência do metabolismo anabólico (Russell e Cook 1995, Dauner et al. 2001), o anabolismo não pode ocorrer na ausência do catabolismo (Hall e Cotner 2007).

A produção bacteriana pode ser considerada um elo entre o carbono orgânico dissolvido e os organismos de níveis tróficos superiores (Azam et al. 1983). De acordo com

* ao longo do texto quando forem utilizados os termos “bactéria”, “bacterioplâncton” e “procaríotos heterotróficos” estaremos nos referindo ao grupo das bactérias heterotróficas não-fotossintetizantes aeróbicas, quimio-organo-heterotróficas.

Work e colaboradores, o C bacteriano representa 25% do C total que passa para o mesozooplâncton, e quase metade do C que passa para o micro-zooplâncton e protozoários (Work et al. 2005). Por outro lado, o C bacteriano pode ser amplamente respirado dentro da teia alimentar microbiana (Ducklow et al. 1986). Desta forma, a atividade metabólica das bactérias heterotróficas têm grandes implicações para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Lennon e Pfaff 2005). O conhecimento dos fatores que regulam a atividade bacteriana, ou melhor, sua respiração e produção é fundamental para o entendimento do funcionamento dos ecossistemas aquáticos.

Uma infinidade de fatores reconhecidamente afetam a comunidade bacteriana nos ecossistemas aquáticos, incluindo predação, parasitismo, disponibilidade de nutrientes inorgânicos e de carbono orgânico dissolvido (COD). Em termos da teia alimentar microbiana, estes diferentes fatores operam através do controle ascendente ou descendente. Além dos fatores relacionados à teia alimentar, mudanças químicas e físicas no ambiente (i.e. redução da concentração de O₂ e/ou variação da temperatura da água) também afetam a comunidade bacteriana planctônica (White et al. 1991). A importância relativa do controle ascendente e descendente sobre o bacterioplâncton é um assunto que tem sido muito discutido.

Dentre os fatores ascendentes sabe-se que a disponibilidade de nutrientes inorgânicos, como fósforo e o nitrogênio, influenciam a abundância, PB e ECB (Toolan et al. 1991, Elser et al. 1995, Rivkin e Anderson 1997, del Giorgio e Cole 1998, Smith e Prairie 2004). Comparada à maioria dos organismos eucariotos, as bactérias possuem baixa razão C:N e C:P, e aparentemente possuem pouca capacidade de mudar sua estequiometria celular (Goldman et al. 1987). Embora o requerimento desses organismos por fósforo seja bem menor que por nitrogênio, o fósforo é considerado um dos principais macronutrientes limitantes do crescimento em ambientes de água doce. A ECB está positivamente relacionada com a concentração de fósforo em lagos (Arvola e Tulongen 1998, Smith e Prairie 2004), e inversamente relacionado com a razão C:N do substrato (Kroer 1993, Cimleris e Kalff 1998). Não se sabe com certeza se esta relação com o fósforo se dá diretamente através do aprimoramento do desempenho da bactéria, ou da melhor qualidade dos substratos orgânicos dos lagos onde o fósforo se encontra abundante (Biddanda et al. 2001, Kragh et al. 2008). Além disso, em ambientes pobres em nutrientes, a utilização da

matéria orgânica dissolvida pelo bacterioplâncton é influenciada fortemente pela disponibilidade de nutrientes inorgânicos (Tranvik 1988, Muylaert et al. 2002, Smith e Prairie 2004).

O metabolismo bacteriano também pode ser afetado pelos atributos químicos das diferentes fontes de matéria orgânica dissolvida, incluindo seu estado de oxidação (Vallino et al. 1996), peso molecular (Amon e Benner 1996, Weiss e Simon 1999), conteúdo húmico (Moran e Hodson 1990), percentual de compostos alifáticos (Sun et al. 1997) e a razão estequiométrica dos nutrientes limitantes do crescimento (Amon e Benner 1996, Hunt et al. 2000, Castillo et al. 2003). Desta maneira, a origem do COD pode afetar a composição química da água, e conseqüentemente o metabolismo da comunidade aquática microbiana. As fontes de COD de um corpo d'água podem tanto serem originadas de processos autóctones quanto alóctones, sendo as bactérias heterotróficas, os principais organismos capazes de utilizar o carbono orgânico dissolvido de maneira a suportar sua demanda energética. Aproximadamente metade do COD adquirido pela bactéria é de origem autóctone em vez de alóctone (Kritzberg et al. 2004, Kritzberg et al. 2005). Comumente o C derivado do fitoplâncton vem sendo considerado a mais importante fonte de substrato orgânico para bactéria assim como para outras produções secundárias (Kritzberg et al. 2005). Isto sugere que o metabolismo bacteriano está intimamente associado à produção de matéria orgânica dissolvida de origem fotossintética. Porém a demanda de C pelo bacterioplâncton algumas vezes pode exceder a produtividade primária (del Giorgio e Cole 1997, del Giorgio et al. 1999, Cole et al. 2000, Jonsson et al. 2003). Uma possível explicação para este desacoplamento, é que a demanda de C do bacterioplâncton pode ser subsidiada pela matéria orgânica dissolvida de origem terrestre (Lennon e Pfaff 2005). Existe assim uma grande capacidade suporte para o bacterioplâncton em lagos húmicos (Balogh e Voros 1997).

Em relação ao controle descendente do bacterioplâncton, muitos autores citam os protozoários, principalmente os ciliados, como os principais consumidores de bactérias em condições eutróficas (Simek et al. 1995, Weisse e Frahm 2001, Sherr e Sherr 2002, Samuelsson e Andersson 2003, Agasild e Nøges 2005, Sigge 2005, Zingel et al. 2007). Kisand e Zingel (2000), estudando o lago Võrtsjärv na Estônia, demonstrou que os ciliados são eficientes em controlar a produção bacteriana. Já outros trabalhos consideram os

flagelados heterotróficos os principais consumidores das bactérias nos ecossistemas de águas doces (Riemann 1985, Gude 1986). Os nanoflagelados heterotróficos (NFH) (2-20 µm) são capazes de alimentar-se de suspensões diluídas de bactérias mais eficientemente do que os demais consumidores de bactérias. Assim, os NFH são os maiores consumidores do picoplâncton em inúmeros ambientes de água doce (Sanders et al. 1992, Gasol et al. 1995, Pernthaler 2005).

Apesar dos protozoários serem considerados os principais consumidores das bactérias, alguns metazoários podem desempenhar um importante papel na regulação das comunidades bacterianas (Gasol e Vaquer 1993, Jürgens 1994). Experimentos com comunidades zooplantônicas naturais ou de cultivo, demonstram que o efeito dos microcrustáceos sobre o bacterioplâncton tem sido reportado como nulo ou fraco (Pace e Cole 1994, Burns e Schallenberg 1996, Vrede 1996), negativo (Riemann 1985, Hessen e Andersen 1990, Pace e Cole 1996, Jurgens e Jeppesen 1998, Thouvenot et al. 1999) ou positivo (Gude 1988, Tranvik e Hansson 1997, Vrede et al. 1999). Os efeitos negativos estão todos relacionados a grandes populações de *Daphnia* (Cladocera), as quais são capazes de se alimentar eficientemente do bacterioplâncton (Jürgens 1994). O efeito positivo tem sido explicado de duas formas: 1) diminuição da pressão de predação sobre as bactérias, através do controle descendente dos protozoários pelos microcrustáceos (Tranvik e Hansson 1997, Jeppesen et al. 1998); e 2) liberação de COD pelo zooplâncton, o qual tem sido considerado como a principal via do C orgânico do fitoplâncton para o bacterioplâncton (Jumars et al. 1989, Peduzzi e Herndl 1992, Jeppesen et al. 1998).

Além dos predadores de bactérias citados acima, alguns estudos já demonstram que a perda da biomassa bacteriana através da lise viral é similar, e em alguns casos maior do que através de protozoários, como ciliados (Weinbauer e Hofle 1998, Pedros-Alio et al. 2000, Fischer e Velimirov 2002, Jacquet et al. 2005, Pirlot et al. 2007). No entanto, Berttarel et al (2004) verificaram que a perda bacteriana através da lise viral foi quase sempre menor do que a perda através da predação por protistas. Apesar da potencialidade dos vírus como reguladores do crescimento bacteriano, modelos teóricos e levantamentos empíricos defendem que a predação por protozoários é mais influente na limitação da abundância e da biomassa do bacterioplâncton, enquanto que os vírus afetam em maior grau a diversidade da comunidade de procariotos (Thingstad 2000, Matz et al. 2002). O

efeito diferenciado de protozoários e vírus sobre a comunidade bacteriana pode ser explicado pelo fato dos protozoários serem onívoros (em relação aos protistas heterotróficos). Ou seja, podem se alimentar de uma ampla faixa de espécies de bactérias, enquanto que os vírus exibem tipicamente uma pequena faixa de hospedeiros espécie-específicos (Pernthaler 2005). Além disso, a mortalidade de bactérias por vírus é altamente dependente da densidade. Em uma assembléia mista de bactérias, os vírus, irão afetar primeiramente a população mais densa e com taxa de crescimento maior (Thingstad 2000).

Apesar da vasta literatura que existe acerca do controle ascendente e descendente do bacterioplâncton ainda existem muitas lacunas sobre este assunto. Primeiramente, grande parte dos estudos sobre o controle ascendente do bacterioplâncton não testa o possível efeito interativo entre as diferentes fontes de carbono sobre o metabolismo bacteriano, restringindo-se apenas à observação da interação entre um ou dois nutrientes e uma fonte de carbono específica. No entanto, no ambiente aquático podemos encontrar uma infinidade de compostos com características distintas, em um mesmo momento. Em adição, variações na composição do COD poderiam propiciar novos nichos para o crescimento bacteriano, o que por sua vez poderia suportar uma comunidade bacteriana mais diversa. Além disso, a maioria dos estudos sobre os mecanismos controladores do bacterioplâncton tenta explicar os efeitos diretos da predação e/ou limitação por recursos (Jurgens e Jeppesen 1998). No entanto, os componentes da teia trófica possuem muitas interdependências e estão interligados de diversas formas, com importantes repercussões para a transferência de matéria e energia (Turner e Roff 1993). Por exemplo, em ambientes pouco produtivos, sistemas onde a alça microbiana é dominante, a atividade viral pode resultar em um incremento na ciclagem de matéria orgânica entre o bacterioplâncton e o “pool” de matéria orgânica dissolvida, influenciando assim, a transferência de matéria orgânica para os níveis tróficos superiores (Bettarel et al. 2004). Mesmo os trabalhos que consideram a interação entre os componentes da teia alimentar, utilizam poucos níveis tróficos, em geral dois, excluindo a influência dos níveis tróficos superiores sobre o bacterioplâncton. Os animais vertebrados, como peixes, são raramente incluídos nesses experimentos, por causa disso, pouco se sabe sobre os efeitos indiretos dos níveis tróficos superiores sobre o metabolismo bacteriano. Tendo em vista as inúmeras lacunas que ainda existem a cerca da regulação

ascendente e descendente do bacterioplâncton, este trabalho tem como objetivo avaliar através de abordagens experimentais:

1) Os efeitos individuais e interativos da disponibilidade de recursos (adição de N e P) e da configuração da teia alimentar (presença de um peixe onívoro) na magnitude da produção bacteriana em uma lagoa húmica (**Capítulo I**).

2) A resposta da PB, RB e ECB bacterianos à presença de três fontes de COD e de suas possíveis combinações; assim como a ocorrência de efeitos interativos proporcionados pela combinação das mesmas (**Capítulo II**).

Capítulo I

Os Efeitos da Disponibilidade de Recursos e da Configuração da Teia Alimentar sobre a Produção Bacteriana

Introdução

As bactérias heterotróficas são um dos componentes chaves no direcionamento dos processos biogeoquímicos nos ecossistemas aquáticos (Biddanda et al. 2001). Elas estão entre os organismos planctônicos mais numerosos, e também são os principais remineralizadores do carbono orgânico e dos nutrientes (Kritzenberg et al. 2005). A sua produção pode ser considerada um elo entre o carbono orgânico dissolvido (COD) e os organismos de níveis tróficos superiores (Azam et al. 1983). A relevância do papel do bacterioplâncton nos ecossistemas aquáticos, tanto como remineralizadores quanto como elo da teia alimentar, torna o conhecimento sobre os fatores reguladores deste grupo de organismos, de suma importância para o entendimento do funcionamento do ecossistema aquático. Inúmeros fatores podem regular a biomassa e produção das bactérias planctônicas, dentre eles o suprimento de recursos orgânicos e inorgânicos (controle ascendente) e a predação por organismos aquáticos (controle descendente) (Jurgens e Jeppesen 1998).

Mudanças na atividade microbiana mediadas por recursos têm o potencial de alterar os processos ecossistêmicos, como a produção e a respiração do material orgânico (Lennon e Cottingham 2008). Sendo assim, o entendimento dos efeitos da variabilidade de recursos sobre os microorganismos é indispensável para a predição de mudanças potenciais no funcionamento dos ecossistemas em resposta às mudanças do ambiente (Lennon e Cottingham 2008). Sabe-se que a abundância e produção bacteriana são influenciadas fortemente pela concentração de nutrientes inorgânicos (Toolan et al. 1991, Elser et al. 1995, Rivkin e Anderson 1997, Smith e Prairie 2004). A limitação do crescimento bacteriano por nutrientes inorgânicos, principalmente por fósforo, já foi demonstrada em muitos ecossistemas aquáticos (Chrzanowski et al. 1995, Thingstad et al. 1998, Farjalla et al. 2002a, Castillo et al. 2003). A disponibilidade e qualidade do C são outras variáveis que podem influenciar a comunidade bacteriana. Comumente, o carbono originado das algas tem um valor nutricional superior ao de origem terrestre (Wetzel 2001). Sendo assim, a produção de material orgânico lábil pelo fitoplâncton é considerada a fonte de substrato orgânico mais importante para a bactéria (Cole 1982). Alguns estudos mostraram que a respiração e produção bacteriana aumentam quantitativamente ao longo de gradientes

crescentes de clorofila e produtividade primária (Cole et al. 1988, Biddanda et al. 2001). No entanto, algumas vezes o metabolismo bacteriano pode estar desacoplado da produtividade primária local (Del Giorgio et al. 1997, Cole et al. 2000, Jonsson et al. 2003), o que pode ser explicado pelo subsídio de material orgânico de origem terrestre (Lennon e Pfaff 2005).

Assim como a disponibilidade de recursos, alguns predadores também regulam a comunidade bacteriana. A predação pode influenciar a dinâmica populacional tanto diretamente pela remoção de presas, quanto indiretamente através de interações tróficas complexas (Samuelsson e Andersson 2003). Muitos autores citam os protozoários, principalmente os ciliados, como os principais consumidores das bactérias em condições eutróficas (Weisse e Frahm 2001, Sherr e Sherr 2002, Samuelsson e Andersson 2003, Agasild e Nøges 2005, Sigge 2005, Zingel et al. 2007). Kisand e Zingel, estudando o Lago Vörtsjärvi, demonstraram que os ciliados são eficientes no controle da produção bacteriana (Kisand e Zingel 2000). No entanto, a pressão de predação dos protozoários sobre as bactérias pode ser atenuada, ou algumas vezes anulada, pelas cascatas tróficas. O consumo de protozoários e de pequenos metazoários por copépodos pode afetar as bactérias e o fitoplâncton, já que reduz a predação destas comunidades (Adrian e Schneider-Olt 1999, Hansen 2000). Apesar do efeito positivo do zooplâncton (Cladocera, Copepoda e Rotifera) na comunidade bacteriana, alguns efeitos negativos diretos de predação deste grupo sobre as bactérias já foram reportados (Hessen e Andersen 1990, Pace e Cole 1996, Jurgens e Jeppesen 1998, Thouvenot et al. 1999). Assim como protozoários e zooplânctons, os peixes desempenham um importante papel estruturador do ecossistema pelágico de lagos rasos (Jeppesen et al. 1992). No entanto, pouco se sabe sobre o impacto da cascata trófica desencadeada por peixes sobre comunidade microbiana pelágica (Pace e Funke 1991).

A maioria destes estudos sobre os mecanismos controladores do bacterioplâncton focam os efeitos diretos dos nutrientes e dos predadores (Jurgens e Jeppesen 1998). Porém, estudos mais recentes revelaram que os micro e macrocomponentes da teia alimentar têm inúmeras interdependências e estão interligados de muitas maneiras diferentes, tendo assim importantes repercussões para a transferência de matéria e energia nos ecossistemas (Turner e Roff 1993). O conhecimento dos efeitos individuais e interativos dos mecanismos ascendentes e descendentes da regulação bacteriana em teias tróficas reais,

compostas tanto por macro e micro organismos, é muito incipiente. Em geral, os estudos sobre a comunidade bacteriana que focam a interação trófica utilizam somente dois níveis tróficos e excluem o grupo dos vertebrados, como peixes. Este cenário é preocupante, já que algumas espécies de peixes são muito sensíveis a mudanças ambientais e à interferência antrópica, apresentando um alto risco de extinção. Além disso, sabe-se que predadores (como os peixes) podem controlar direta ou indiretamente a biomassa e composição de espécies dos níveis tróficos inferiores (Vanni et al. 2002).

Em lagos de águas mornas os peixes onívoros são particularmente bem sucedidos devido a sua plasticidade alimentar, explorando diversas fontes de alimento de vários níveis tróficos (Fernando 1991, Kolding 1993, Starling et al. 2002). A onivoria pode ter um efeito profundo na dinâmica das comunidades e dos ecossistemas, no entanto, o efeito do peixe onívoro sobre a comunidade microbiana permanece amplamente desconhecido. Neste estudo utilizamos mesocosmos, estrutura que permite se ter uma ampla escala espacial, grandes tamanhos populacionais e boa aproximação da complexidade do habitat de lagos reais (Forrest e Arnott 2007). Avaliamos, durante sete semanas, os efeitos da disponibilidade de recursos (adição de N e P) e os efeitos da configuração da teia trófica (presença do peixe onívoro *Hyphessobrycon bifasciatus*) sobre a magnitude da produção bacteriana em uma lagoa húmica. Sendo assim, este trabalho visa testar as seguintes hipóteses: 1) A interação entre os fatores ascendentes (adição de nutrientes) e descendentes (presença do peixe onívoro) influencia a produção bacteriana. 2) O efeito da adição de nutrientes exerce maior influência sobre a produção bacteriana do que o efeito da presença do peixe onívoro.

Área de Estudo

Este estudo foi realizado na Lagoa Cabiúnas, localizada no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil (22° 15' S, 41° 40' O) (Fig.I- 1). Seus limites físicos estão contidos no domínio geomorfológico da planície de sedimentação aluvial, sendo sua gênese referente ao período terciário (Soffiati 2000). Cabiúnas é uma lagoa costeira húmica, com baixa salinidade e baixa concentração de nutrientes (Petruccio 1998, Farjalla et al. 2001). Permanece separada do oceano por uma barra de areia, possuindo uma

área superficial de 0.35 km² e profundidade média de 2.5 m. É levemente ácida (pH 6.3), com a concentração de C de aproximadamente 20 mg.L⁻¹, e temperatura média anual de 23.6 °C. A tabela I-1 apresenta alguns parâmetros limnológicos medidos durante o período do experimento (maio a junho de 2005).

Tabela I-1 Valores médios das variáveis abióticas da lagoa Cabiúnas medidas durante o período do experimento: PT (fósforo total), NT (nitrogênio total), Clor. *a* (clorofila *a*) e Secchi (profundidade do disco de Secchi).

PT (μM)	NT (μM)	Clor. <i>a</i> (μg.L ⁻¹)	Secchi (m)
15	50	30	0.5

A lagoa apresenta elevada biodiversidade no que se refere à fauna e flora pelágica possuindo o maior número de táxons zooplancônicos (Castelo-Branco 1998), fitoplanctônicos (de Mello e Suzuki 1998) e ictiológicos (Caramaschi et al. 2004) documentados para as lagoas costeiras da região. A maior parte da ictiofauna é composta por peixes de hábitos onívoros associados à região litorânea da lagoa (Caramaschi et al. 2004).



Fig.I-1 Foto aérea da Lagoa Cabiúnas. O mapa no canto superior esquerdo indica a localização geográfica de Macaé. Na foto a seta aponta o braço da lagoa em que os mesocosmos foram instalados.

Os mesocosmos foram instalados perto da região litorânea, a qual suporta densos bancos de macrófitas *Typha domingensis* (Pers.), mas nenhuma macrófita foi enclausurada nos mesocosmos (Fig.I- 2A e B).



Fig.I-2 Foto em detalhe do local onde os mesocosmos foram instalados (A) e da estrutura dos mesmos (B).

Materiais e Métodos

-Estrutura dos mesocosmos

Os mesocosmos consistem em cilindros (2,0 m de diâmetro x 2,4 m de altura) construídos com polietileno translúcido (300 mm de espessura) e equipados com anéis de ferro em cada extremidade para permitir estabilidade estrutural e o acoplamento de bóias e âncoras. Os mesocosmos foram abertos para a atmosfera e para o sedimento. No entanto, para evitar a fuga de peixes e ao mesmo tempo permitir o seu acesso ao sedimento, a extremidade inferior de cada mesocosmo foi firmemente enterrada (~0.1m) no sedimento e ancorada com placas de concreto. Todos os mesocosmos foram colocados em profundidades de aproximadamente 2m, de maneira que a parte superior permanecesse 0.3m acima do nível d'água evitando a entrada de água da lagoa pela ação da turbulência. Esta profundidade foi escolhida porque representa a profundidade média da lagoa em

questão, sendo o volume médio do mesocosmos nesta profundidade de aproximadamente 6.300 L. Após a instalação, cada mesocosmos foi inspecionado visualmente, não sendo detectada a presença de peixes em nenhum deles (Fig.I-3).

-Desenho experimental

O desenho experimental consistiu em um arranjo fatorial do tipo 2x2 com dois níveis do fator nutriente (com e sem adição) e dois níveis do fator peixe (presente e ausente), resultando nos seguintes tratamentos: NP0 (controle), N+ (com adição de nutrientes), P+ (com presença de peixe), NP+ (com adição de nutrientes e presença de peixes). Cada tratamento foi replicado quatro vezes e cada réplica igualmente distribuída em quatro blocos de forma a minimizar potenciais efeitos da heterogeneidade ambiental de forma homogênea entre os tratamentos (Fig.I-3).

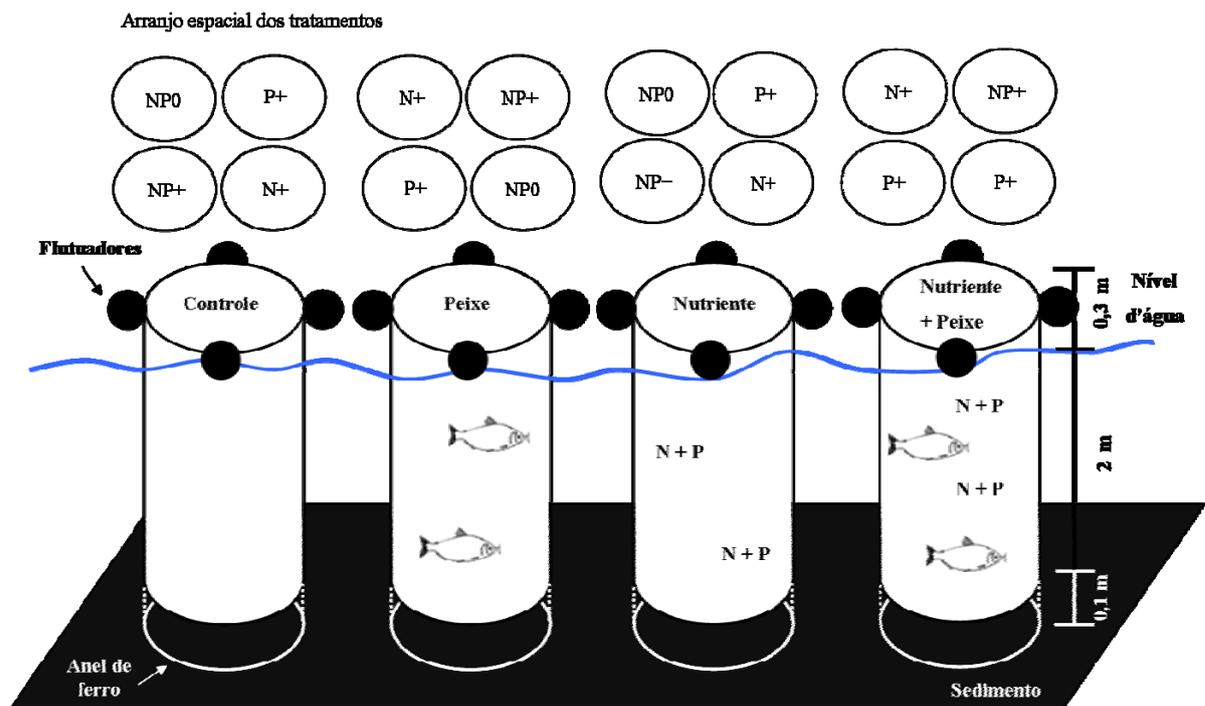


Fig.I-3 Representação esquemática do desenho experimental adotado e detalhes estruturais dos mesocosmos.

-Procedimento experimental

Os tratamentos só foram estabelecidos uma semana após a instalação dos mesocosmos, para detectar possíveis efeitos da heterogeneidade das variáveis mensuradas. Neste período os mesocosmos foram amostrados para avaliar a homogeneidade das

condições iniciais entre os diferentes tratamentos. Após a primeira semana nutrientes e peixes foram adicionados aos seus respectivos tratamentos. As formas inorgânicas de nitrogênio (NH_4NO_3) e fósforo (KH_2PO_4 e K_2HPO_4) foram adicionadas semanalmente aos tratamentos N+ e NP+, de forma a manter constante durante todo o experimento as concentrações finais de $200\mu\text{M}$ de nitrogênio e $40\mu\text{M}$ de fósforo. Os nutrientes foram adicionados diluindo a quantidade específica desejada em um balde contendo água do próprio mesocosmos. Em seguida, a água era retornada para o mesocosmos e homogeneizada cuidadosamente. Este procedimento foi repetido em períodos intercalados à coletas das variáveis, o que além de permitir a homogeneização dos nutrientes, minimiza o processo de decantação do seston, que é mais acelerado em experimentos de mesocosmos (Stephen et al. 2004). A determinação semanal da concentração das formas inorgânicas de N e P permitiu calcular a quantidade necessária de N e P a ser adicionada em cada mesocosmo.

Embora estas concentrações finais reflitam a de um ambiente hipertrófico, elas foram determinadas com base em um experimento piloto realizado previamente na lagoa Cabiúnas, onde foi demonstrado que após 48h, havia a redução de aproximadamente 70 a 85 % de N e P adicionados, respectivamente. Alguns estudos mostram que esta redução se deve principalmente à absorção de nutrientes pelo sedimento (Schindler e Eby 1997, Carpenter et al. 2001). Portanto, a adição de quantidades menores de nutrientes a sistemas experimentais onde existe contato entre o sedimento e a coluna d'água pode prejudicar o objetivo da manipulação. Entretanto, as concentrações utilizadas não se apresentaram tóxicas as comunidades aquáticas e estão dentro da amplitude de variação daquelas utilizadas em experimentos que buscam avaliar os efeitos do enriquecimento e predação por peixes sobre comunidades planctônicas (Stephen et al. 2004).

A densidade de peixes foi manipulada através da introdução de 40 indivíduos adultos de *Hyphessobrycon bifasciatus* Ellis, 1911 (Characidae) nos tratamentos P+ e NP+, atingindo a densidade final de 13 ind/m^2 . Os indivíduos de *H. bifasciatus* foram capturados na região litorânea próxima à área do experimento com auxílio de uma rede de arrasto e imediatamente acondicionados em tanques rede dentro da Lagoa Cabiúnas por 24h, para se recuperarem do estresse associado à captura. Somente indivíduos presumivelmente saudáveis e ativos foram usados no experimento. O tamanho individual dos peixes variou

de 3 a 3.5 cm (comprimento padrão) e a biomassa variou de 0,3 a 0,5 g/ind. *H. bifasciatus* é um peixe com hábitos onívoros (Sánchez-Botero 2005), que se alimenta de zooplâncton, invertebrados, perifiton e detritos, forrageando tanto na teia alimentar pelágica quanto na bentônica (Fig.I-4). Esta espécie foi escolhida por apresentar ampla distribuição nas lagoas costeiras da região Norte Fluminense (Caramaschi et al. 2004) e em ecossistemas de água doce na América do Sul (Carvalho e Bertaco 2006). Inspeções diárias permitiram detectar indivíduos mortos que foram imediatamente substituídos por indivíduos saudáveis (ativos) da rede tanque. No entanto, a mortalidade de peixes no período do experimento foi baixa (<10%), mantendo então, a densidade desejada de peixes ao longo do experimento.



Fig.I-4 Indivíduo adulto de *Hyphessobrycon bifasciatus*. A espécie é comumente encontrada na região litorânea da Lagoa Cabiúnas (Macaé, RJ), e possui hábitos onívoros, alimentando-se de perifiton, detritos orgânicos, zooplâncton, invertebrados aquáticos e insetos terrestres. (Crédito da foto – www.fishbase.org).

-Amostragem e análise das variáveis

Para evitar efeitos relacionados às variações diárias das variáveis analisadas, as amostragens foram sempre realizadas entre 10:00 e 12:00h. Semanalmente, amostras de água da superfície e do fundo de cada mesocosmo foram coletadas com auxílio de garrafa tipo Van Dorn e integradas, de onde foram retiradas amostras para a mensuração da concentração de Clorofila a (uma aproximação da biomassa fitoplanctônica), nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) e ortofosfato, COD, cor e PB. Além disso, foram feitas medidas de oxigênio dissolvido e temperatura da superfície, meio e fundo de cada

mesocosmo. A concentração de clorofila *a* foi estimada através de determinação por espectrofluorimetria (Turner® 3A). A concentração de NID foi determinada, depois da digestão em persufato, através de um analisador de nutrientes (FIA) pelo método de redução de nitrato a nitrito em coluna de cádmio (Golterman et al. 1978). Através do método colorimétrico do ácido molibídico foi mensurada, em espectrofotômetro Beckman Du®Ro, a concentração de ortofosfato (Golterman et al. 1978). A concentração de COD foi mensurada através de um catalisador de Pt pelo método de combustão em alta temperatura, utilizando um analisador de carbono TOC-5000 Shimadzu. Para se obter os valores de cor, a absorbância foi medida em comprimento de onda de 430 nm em espectrofotômetro Beckman Du®Ro e cubeta de quartzo 1 cm. Calculamos também a razão cor/COD para avaliar a fração não húmica do COD.

A produção bacteriana foi estimada através da incorporação de ³H-Leucina no DNA bacteriano. Os valores de PB foram obtidos logo após a coleta das amostras de água dos mesocosmos, incubando-se 1,3 mL da amostra com 0,1mL de ³H-Leucina (solução 159 Ci.mmol⁻¹, Amersham, diluída 5 vezes), concentração final de 10 nM, no escuro por 45 min. Após o tempo de incubação, foi adicionado 90 µL de TCA 100%, a fim de paralisar a reação. Cada amostra foi lavada seqüencialmente com TCA 5% e etanol 80%, e após este procedimento 500 µL de Coquetel de Cintilação (Aquasol 2, Dupont) foi adicionado a cada amostra. A atividade (DPM) foi mensurada em Sistema de Cintilação Líquida Beckman LS-5600. A produção bacteriana foi calculada assumindo-se um fator de diluição da leucina intracelular igual a 2, e uma razão celular carbono-para-proteína igual a 0.86 (Wetzel e Likens 1991).

As amostragens da comunidade zooplanctônica foram feitas através de arrastos verticais (1,6 m) realizados com uma rede de plâncton de 65 µm, sendo imediatamente fixadas em solução açucarada de formalina a 4%. Os organismos zooplanctônicos foram contados e identificados a nível específico em microscópio estereoscópico. Os organismos foram agrupados em cladoceros, copépodes (Calanoida e Cyclopoida) e rotíferos.

-Análise dos Dados

Uma análise de variância com medidas repetidas (RM-ANOVA) foi feita, a fim de detectar os efeitos independentes e interativos da adição dos fatores peixes e nutrientes

sobre a produção bacteriana. Nutrientes, peixes e seu efeito interativo foram tratados como fatores principais e o tempo de amostragem (6 semanas, não considerando a 1ª semana) foi tratado como o fator repetido. A opção por este tipo de análise se deve ao fato da RM-ANOVA considerar a correlação temporal entre amostras. Para analisar como as variáveis abióticas (COD e Cor/COD) e bióticas (Clorofila a, densidade dos grupos zooplanctônicos) afetaram a produção bacteriana no decorrer do experimento, foram efetuadas regressões lineares considerando todos os tratamentos conjuntamente. Análises de variância simples (ANOVA) foram feitas para todas as variáveis com apenas os dados da 1ª semana (antes da implementação dos tratamentos) para avaliar se haviam diferenças prévias entre os mesocosmos que compreenderiam o tratamento. E RM-ANOVAS fatoriais foram feitas para detectar diferença entre os tratamentos em relação a temperatura, oxigênio dissolvido, NID e ortofosfato. Todos os dados foram logaritimizadas na base 10 para reduzir a heterogeneidade das variâncias. Todas as análises foram feitas através do programas STATISTICA 7.0 (StatSoft 2001).

Para estimar a intensidade de cada fator (peixe e nutriente) sobre a magnitude da PB, a intensidade dos efeitos da presença de peixes e da adição de nutrientes (“*effect sizes*”) sobre a produção bacteriana foi calculada como a diferença padronizada entre as médias (D) conforme proposto por Gurevitch & Hedges (1993), de acordo com a seguinte equação:

$$D = \frac{\hat{\chi}_T - \hat{\chi}_C}{S} J$$

Onde $\hat{\chi}_T$ e $\hat{\chi}_C$ são respectivamente as médias da PB do tratamento manipulado e seu respectivo controle. S é o desvio padrão agrupado e J corrige os desvios gerados pela diferença de tamanho amostral. Uma vez que a variância geralmente aumenta com o aumento da média, é vantajoso complementar a variação das réplicas (S) no cálculo da intensidade do efeito. A diferença entre as duas médias, portanto é padronizada pelo desvio conjunto de ambos os tratamentos. O desvio padrão é calculado conforme a expressão:

$$S = \sqrt{\frac{(n_T - 1)(SD_T)^2 + (n_C - 1)(SD_C)^2}{(n_T + n_C - 2)}}$$

Onde n é o número de réplicas e SD o desvio padrão dos tratamentos. J é calculado como:

$$J = 1 - \frac{3}{4(n_T + n_C - 2) - 1}$$

Desta forma para cada semana (exceto a 1ª semana) a magnitude do efeito da presença de peixes (D_{peixe}) e da adição de nutrientes ($D_{nutriente}$) foram calculados. $D_{nutriente}$ foi calculado tanto na ausência do peixe, onde X_t foi o tratamento N+ e X_c o tratamento NP0, e na presença do peixe, onde X_t foi o tratamento NF+ e X_c o tratamento F+. O mesmo procedimento foi usado para calcular D_{peixe} , tanto sem a adição de nutrientes ($X_t = P+$ and $X_c = NP0$) e com adição de nutrientes ($X_t = NF+$ and $X_c = N+$)

Resultados

Os resultados das variáveis abióticas para a fase pré-tratamento, avaliados através de análises de variância (ANOVA) simples, demonstraram não haver diferenças significativas nas condições iniciais dos 16 mesocosmos. A semana 1, anterior à adição de nutrientes e peixes, apresentou temperatura média máxima da água de 23,4°C [(±0,42), ANOVA F = 0,29; P = 0,83], concentração de oxigênio máxima de 3,5 mg.L⁻¹ [(±0,47), ANOVA F = 0,63; P = 0,59], NID de 6,3 mmol. L⁻¹ [(±2,27), ANOVA F = 0,26; P = 0,85], ortofosfato de 0.11 mmol. L⁻¹ [(±0,02), ANOVA F = 0,55; P = 0,65] e razão de NID:ortofosfato de 57,07 [(±18,77), ANOVA F = 0,26; P = 0,84]. As condições iniciais da composição das comunidades zooplanctônicas e os valores de produção bacteriana também não foram significativamente diferentes nos 4 tratamentos, fato que garantiu que a manipulação experimental fosse comparável. A densidade média de rotíferos foi 29.897 ind.m³ [(±13243) ANOVA F=0,04; P=0,99], a de Calanoidas 2.44 inv.m³ [(±1505) ANOVA F=0,14; P=0,93], a de Cyclopoidas 693,7 ind.m³ [(± 288,5) ANOVA F=0,49 P=0,69] e a PB média foi de 4,34 μM C. h⁻¹ [(± 1,89) ANOVA F=0,66; P=0,59].

A análise de variância repetida (RM-ANOVA) demonstrou um aumento significativo e consistente das concentrações de nutrientes dissolvidos (NID e ortofosfato) durante o experimento. Com a adição (correção) semanal sistemática de nutrientes, estes

valores persistiram inalterados até sétima semana, tanto no tratamento N+ quanto NP+. A razão NID:ortofosfato também permaneceu constante e próxima do valor desejado (5:1) nos tratamentos onde foram adicionados nutrientes. As concentrações de nutrientes no NP0 e no tratamento P+ permaneceram estáveis e semelhantes às concentrações do ambiente no início do experimento (Tabela I-2). A temperatura variou entre as três profundidades mensuradas, mas não sofreu nenhuma alteração significativa no curso do experimento entre os diferentes tratamentos (RM-ANOVA; Tabela I-2). No entanto, as concentrações de oxigênio na superfície sofreram um significativo aumento nos tratamentos com nutrientes (particularmente o tratamento (PEIXE+NUT), como resultado provável de maior atividade fotossintética pelo aumento da biomassa fitoplanctônica (RM-ANOVA; Tabela I-2).

Os tratamentos que receberam adição de nutrientes (N+ e NP+) mantiveram os maiores valores de PB durante as seis semanas do experimento. Os tratamentos NP0 e P+ apresentaram os menores valores de PB, no entanto o tratamento P+ apresentou valores ligeiramente mais altos que o controle (NP0). Os valores mais altos de PB de cada tratamento ocorreram em semanas coincidentes, notavelmente na 4^a, 5^a e 7^a semanas (Fig. I-4). Os efeitos dos peixes, nutrientes e do tempo foram significativos para a PB. Porém o efeito interativo desses fatores não foi significativo. Individualmente, tanto a presença do peixe quanto a adição de nutrientes aumentaram a produção bacteriana. Todos os efeitos variaram consistentemente com o tempo, mas nenhum deles expressou uma variação temporal peculiar aos outros, o que foi demonstrado pela ausência de efeitos interativos entre o tempo e os tratamentos (Tabela I-3).

Considerando a intensidade e direção (positiva ou negativa) do efeito de cada um desses fatores (peixe e nutrientes) sobre a PB dos diferentes tratamentos, e o possível efeito interativo entre eles, a intensidade do efeito do peixe foi dependente da condição trófica (Fig.I-5). Ou melhor, o efeito do peixe só foi significativo sem adição de nutrientes (Fig.I-5). Sendo assim, a adição de nutriente inibiu o efeito potencial do peixe. Embora a intensidade do efeito do nutriente tenha sido consistente tanto na ausência quanto na presença do peixe, a intensidade do efeito individual da adição de nutrientes foi muito maior, quando comparado ao efeito do nutriente na presença do peixe. De forma geral, a

soma da intensidade dos efeitos do nutriente quando comparada à soma da intensidade dos efeitos do peixe teve uma influência positiva maior sobre a magnitude da PB (Fig.I-5).

A PB apresentou uma relação significativa positiva com a concentração de COD ($p=0.0082$ $r^2= 0.0862$) e com a concentração e clorofila a ($p< 0.0001$, $r^2= 0.4455$) (Fig. I-6A e C). No entanto, a razão cor/COD não apresentou nenhuma relação com a PB ($p=0.8694$ $r^2<0.001$) (Fig.I-6 B). Tanto a densidade de Cladocera quanto a de Copepoda Cyclopida tiveram uma relação positiva com a PB ($p=0.0084$ $r^2=0.071$ and $p<0,0001$ $r^2=0.2308$ respectivamente) (Fig.I-7A e B). Mas a densidade de Rotifera e Copepoda Calanóida não apresentou nenhuma relação com a PB ($p=0.3322$; $r^2=0.0100$ and $p=0.9600$; $r^2<0.0001$ respectivamente) (Fig.I-7 C and D) . Através da nuvem de pontos da dispersão na figura 7 é possível observar que as maiores densidades de zooplâncton são encontradas nos tratamentos que receberam adição de nutrientes (N+ and NP+).

Tabela I-2 Comparações gerais das variáveis abióticas da coluna d'água entre tratamentos e a condição inicial (CI) do experimento. Os resultados representam a média (\pm DP) ao longo das semanas. Resultados marcados com letras diferentes são estatisticamente distintos (RM-ANOVA, Análise de Contraste como pós-teste).

	CI	NF0	P+	N+	NP+
Temperatura ($^{\circ}$C)					
Prof.(m)					
0,1	23,36 (\pm 0,42)	22,57 (\pm 1,09) ^a	22,74 (\pm 1,22) ^a	22,86 (\pm 1,17) ^a	22,94 (\pm 1,27) ^a
0,9	22,53 (\pm 0,11)	21,47 (\pm 0,83) ^a	21,48 (\pm 0,84) ^a	21,44 (\pm 0,84) ^a	21,46 (\pm 0,86) ^a
1,8	22,40 (\pm 0,06)	21,29 (\pm 0,81) ^a	21,31 (\pm 0,82) ^a	21,29 (\pm 0,81) ^a	21,28 (\pm 0,80) ^a
Oxigênio (mg.L⁻¹)					
Prof.(m)					
0,1	3,52 (\pm 0,47)	4,41 (\pm 0,68) ^a	4,61 (\pm 1,12) ^{ab}	6,37 (\pm 3,72) ^b	9,23 (\pm 3,64) ^c
0,9	3,03 (\pm 0,48)	3,95 (\pm 0,73) ^a	4,04 (\pm 0,98) ^a	4,07 (\pm 2,29) ^a	5,38 (\pm 1,91) ^a
1,8	2,88 (\pm 0,47)	3,22 (\pm 0,86) ^a	3,18 (\pm 0,95) ^a	2,82 (\pm 1,61) ^a	3,52 (\pm 1,49) ^a
NID (μmol.L⁻¹)	6,31 (\pm 2,27)	11,86 (\pm 9,64) ^a	5,88 (\pm 4,10) ^a	128,8 (\pm 47,11) ^b	135,8 (\pm 56,56) ^b
PID (μmol.L⁻¹)	0,11 (\pm 0,22)	0,21 (\pm 0,38) ^a	0,11 (\pm 0,15) ^a	28,73 (\pm 3,99) ^b	32,01 (\pm 6,70) ^b
Razão NID/PID	57,07 (\pm 18,77)	231,4 (\pm 370,5) ^a	240,0 (\pm 371,1) ^a	4,44 (\pm 1,40) ^b	4,27 (\pm 1,54) ^b

Tabela I-3 Resultado da RM-ANOVA, mostrando os efeitos independentes e interativos do tempo, presença de peixes e adição de nutrientes sobre a PB. Valores de P em negrito indicam efeitos significativos ($P < 0,05$). SQ (soma dos quadrados), GI (grau de liberdade), MQ (média dos quadrados). As setas indicam a direção do efeito.

	SQ	GI	MQ	F	P
Peixe	0.141	1	0.141	12.30	0.004* ↑
Nutriente	1.943	1	1.943	169.90	0.000* ↑
Peixe*Nutriente	0.000	1	0.000	0.00	0.956
Tempo	0.905	5	0.181	15.80	0.000* ↑
Tempo*Peixe	0.031	5	0.006	0.50	0.738
Tempo*Nutriente	0.101	5	0.020	1.80	0.134
Tempo*Peixe*Nutriente	0.066	5	0.013	1.10	0.346

* $p < 0.05$

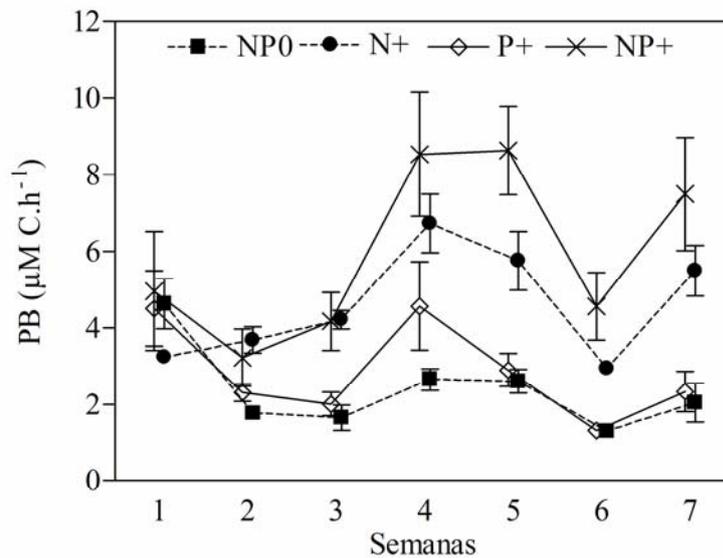


Fig.I-4 Variação temporal da PB de cada tratamento durante sete semanas. Os tratamentos estão representados por letras: NP0 (tratamento controle), N+ (tratamento com adição de nutrientes), P+ (tratamento com presença de peixes) e NP+ (tratamento com presença de peixes e adição de nutrientes).

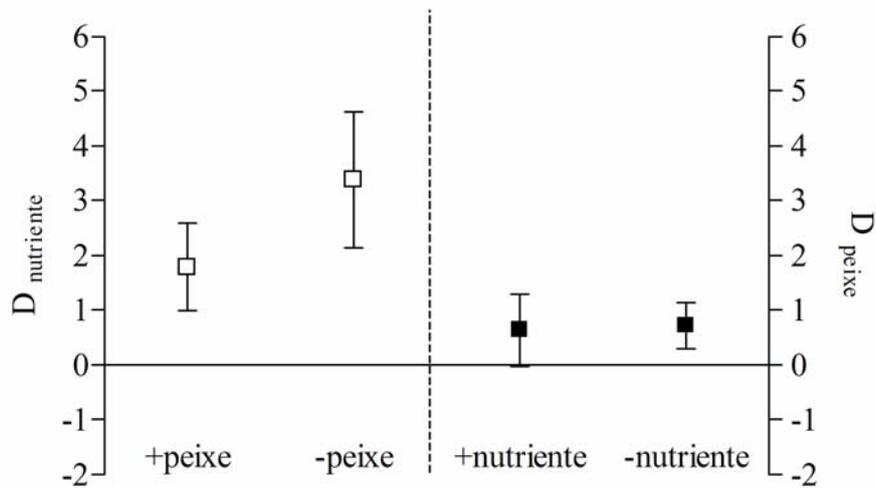


Fig.I-5 Magnitude do efeito da presença do peixe sobre a produção bacteriana com e sem a adição de nutrientes (D_{peixe}), e magnitude do efeito da adição de nutrientes sobre a produção bacteriana na ausência e na presença dos peixes ($D_{\text{nutriente}}$). Os símbolos representam a média e as barras intervalos de confiança (95%). Quando as barras do intervalo de confiança se sobrepõem ao eixo X o efeito não é significativo. E efeitos com sobreposição de intervalos de confiança não são estatisticamente diferentes.

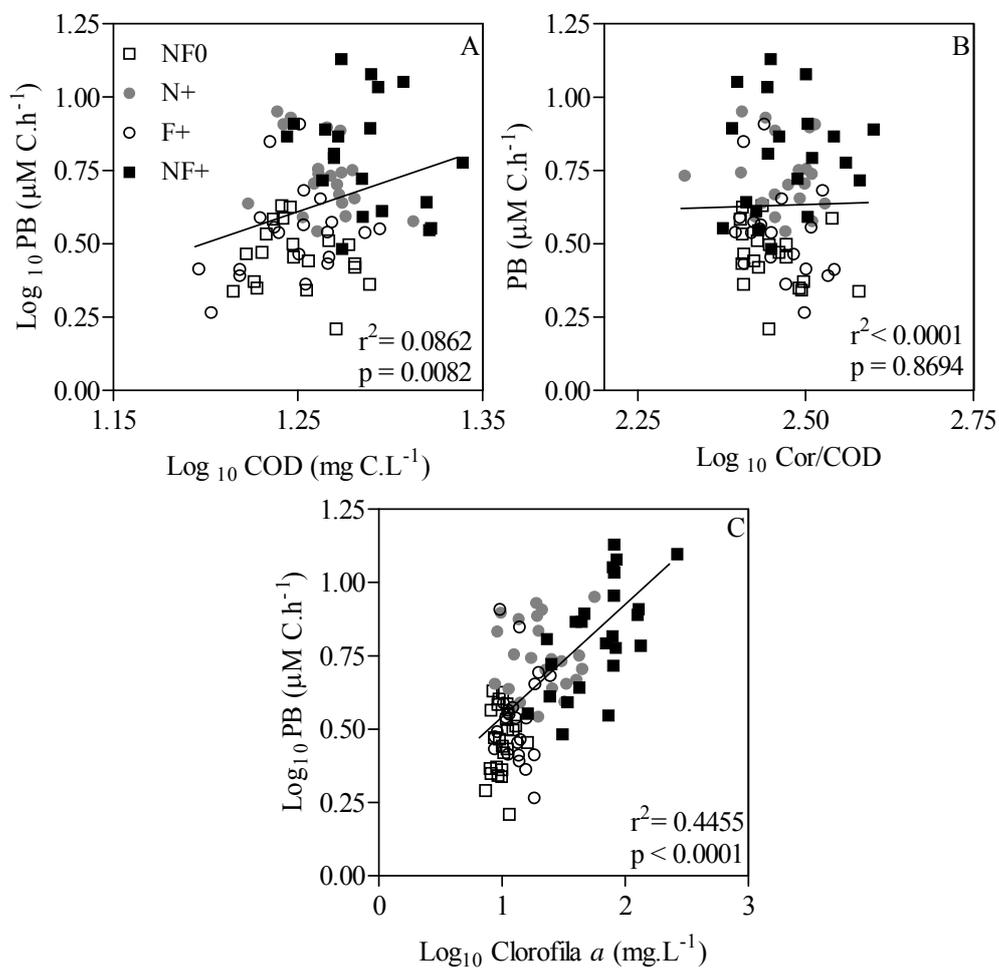


Fig.I-6. Regressões lineares entre a PB e a concentração de COD (carbono orgânico dissolvido), a razão cor/COD (representa a fração não-húmica do COD) e a concentração de clorofila. Todas as regressões são significativas, exceto no painel B. Cada ponto representa um mesocosmo em uma determinada semana.

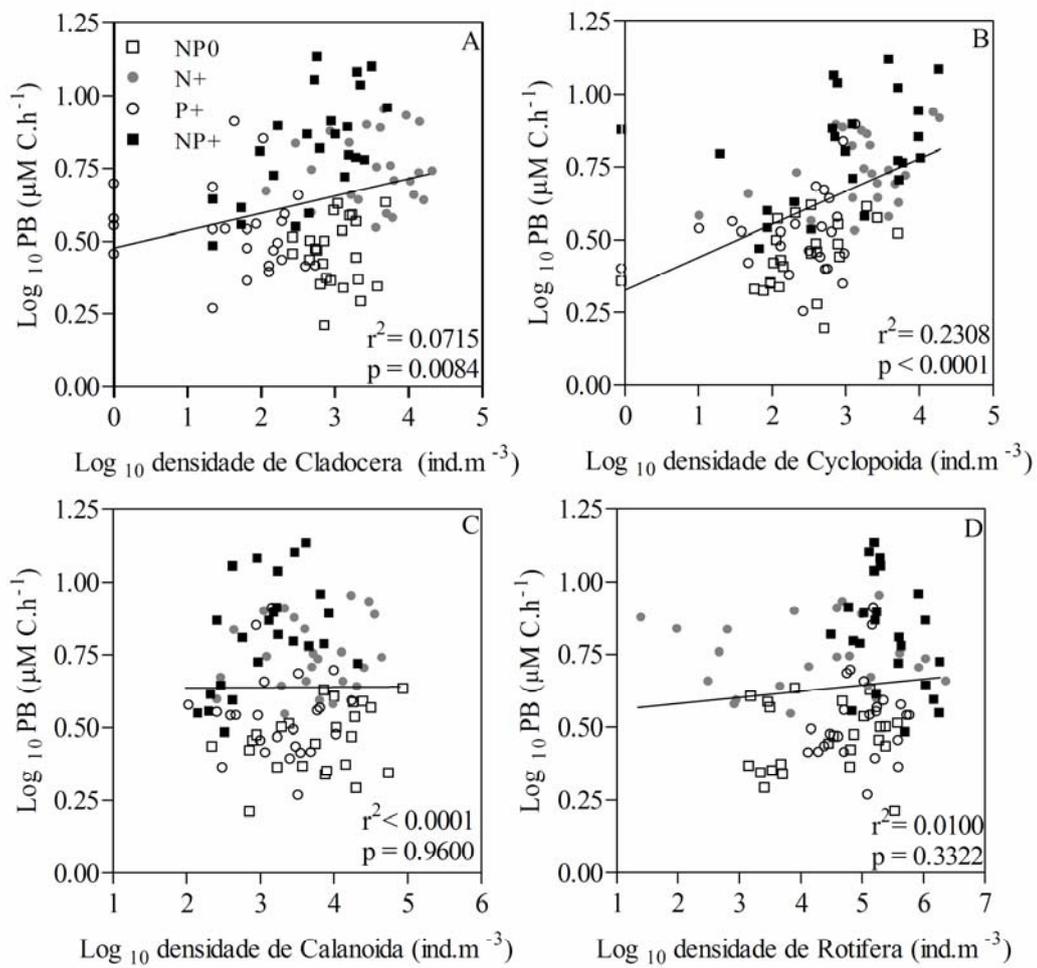


Fig.I-7. Regressões lineares entre a produção bacteriana e a densidade dos grupos de zooplâncton: Copepoda Cyclopoida, Copepoda Calanoida, Cladocera e Rotifera. Somente as regressões lineares A e B são significantes. Cada ponto representa um mesocosmo em uma determinada semana.

Discussão

Este experimento foi delineado de acordo com recomendações de Frost et al. (2001) que dizem que muitas das importantes interações que acontecem no plâncton estão bem representadas em experimentos de mesocosmos de mais 1 m³, com um tempo de duração de pelo menos uma semana. Nosso experimento conduzido no campo incluiu elementos que representam importantes componentes dos ecossistemas aquáticos, como o padrão de circulação térmica, o contato com o sedimento e interações com a comunidade perifítica. As manipulações dos peixes e dos nutrientes foram eficientes, i.e., a densidade de peixes foi estável durante as 7 semanas experimentais, e a concentração de N e P dissolvido foi mantida maior nos tratamentos enriquecidos do que nos tratamentos com concentração ambiente. Sendo assim, as condições realísticas adotadas neste experimento revelaram padrões confiáveis na distribuição de biomassa dos níveis tróficos em resposta a pressão de predação e ao efeito de nutrientes.

A utilização de mesocosmos provou ser uma ferramenta poderosa para a avaliação do efeito dos nutrientes e da configuração da teia alimentar sobre a PB. Durante sete semanas, utilizando mesocosmos, em uma lagoa de água doce e húmica, avaliamos os efeitos diretos da disponibilidade de recursos (adição de N e P) e os efeitos indiretos de um peixe onívoro sobre a magnitude da PB. Tanto a adição de nutrientes quanto a presença do peixe estimularam a PB, no entanto o efeito do nutriente foi muito mais intenso do que o efeito do peixe, corroborando uma recente meta-análise, que mostrou assimetrias significantes entre a regulação ascendente e descendente sobre a magnitude dos processos das comunidades (Borer et al. 2006). Embora a análise de variância tenha mostrado que o efeito do peixe e do nutriente não tiveram um efeito interativo significativo sobre a PB, o tamanho dos efeitos mostrou que o efeito positivo do peixe foi reduzido quando a concentração de nutrientes se encontrava alta. Nossos resultados corroboram estudos prévios, que mostraram que a PB é altamente dependente da disponibilidade de nutrientes (del Giorgio e Cole 1998, Farjalla et al. 2002a, Farjalla et al. 2002b), mas, além disso, eles adicionam uma importante informação, amplamente negligenciada na literatura, sobre os efeitos indiretos de macroconsumidores nos processos microbianos de teias alimentares naturais.

Os efeitos ascendentes da adição de nutrientes sobre a PB podem ter operado através de mecanismos distintos. Muitos estudos já reportaram que a limitação por nutrientes é um importante aspecto que limita o crescimento bacteriano em muitos ecossistemas aquáticos (Toolan et al. 1991, Rivkin e Anderson 1997). De fato, Farjalla (1998), utilizando experimentos em culturas, mostrou que o fósforo é o principal nutriente limitante para a produção e abundância do bacterioplâncton na lagoa Cabiúnas. No entanto, outro estudo conduzido no mesmo ecossistema mostrou que a qualidade do carbono orgânico é também importante na determinação das taxas de crescimento do bacterioplâncton (Farjalla et al. 2002b). Em geral, o carbono lábil originado do fitoplâncton tem um maior potencial de estimular a PB do que o carbono recalcitrante originado de fontes terrestres (Cole 1982, Carpenter et al. 2005, Kritzberg et al. 2005, Farjalla et al. 2006). Observamos que a PB mostrou uma relação positiva com a concentração de COD e clorofila a (Fig.I-6). Sendo assim, o aumento na concentração de nutrientes pode ter estimulado a PB diretamente, através do aumento da disponibilidade de N e P, e indiretamente, através do aumento do crescimento fitoplanctônico e por consequência o aumento da disponibilidade de carbono lábil para o consumo microbiano. No entanto, não foi observada nenhuma relação positiva entre a razão cor/COD e a PB, o que provavelmente indica que a relação positiva observada entre a concentração de Clorofila a (assim como a de COD) e a PB é espúria. Ou melhor, pode ser simplesmente uma resposta comum destas variáveis em decorrência do aumento da disponibilidade de nutrientes, em vez de uma resposta da PB ao estímulo ocasionado pelo aumento casual da disponibilidade de carbono lábil. Tomados em conjunto, estes resultados indicam que a maior disponibilidade das formas inorgânicas de N e P é aparentemente o fator mais importante na determinação da produção bacteriana no nosso experimento. Uma evidência que nos ajuda a confirmar esta hipótese, é a observação de valores significativos de $D_{nutriente}$ sobre a PB, tanto na presença quanto na ausência de peixes, o que indica que o efeito da disponibilidade de nutrientes é consistente independentemente da manipulação da teia alimentar.

No entanto, como a presença de um peixe onívoro pode ter mediado a observação de efeitos positivos sobre a PB? Considerando que *H. bifasciatus* não forrageia diretamente sobre o bacterioplâncton, o efeito da presença do peixe sobre a PB pode ter

ocorrido inteiramente através do desencadeamento de interações tróficas indiretas, via predação do zooplâncton, ou através da reciclagem de nutrientes mediada pelo peixe (Vanni e Layne 1997, Vanni et al. 2005). Até então, muitos estudos têm demonstrado que o zooplâncton pode exercer uma forte pressão de predação sobre as bactérias (Riemann 1985, Hessen e Andersen 1990, Pace e Cole 1996, Jurgens e Jeppesen 1998). No entanto, o efeito negativo do zooplâncton sobre a comunidade bacteriana está associado em geral à atividade de forrageamento do zooplâncton de maior dimensão, como *Daphnia* (Jürgens 1994), os quais não são encontrados na lagoa Cabiúnas. Além disso, outros estudos têm demonstrado que as teias alimentares microbianas diferem marcadamente entre ambientes com e sem populações abundantes de *Daphnia* (Pace et al. 1990, Zollner et al. 2003). Conjuntamente, estas evidências sugerem que os efeitos do zooplâncton sobre o bacterioplâncton podem ter ocorrido diretamente, através de seu consumo, ou indiretamente através de mudanças da estrutura da teia alimentar microbiana. Nossos resultados mostraram uma relação positiva entre a densidade de cladoceros e de copepodas Cyclopoida com a PB. Se considerarmos que a PB é o produto da taxa de crescimento bacteriano e biomassa, e que pode estar positivamente relacionada com a abundância bacteriana (Pace e Cole 1996), o efeito positivo denso-dependente dos cladoceros e cyclopoidas sobre a PB, sugerem que estes microcrustáceos exerceram um estímulo indireto sobre a PB, mais do que um controle descendente através do consumo da comunidade bacteriana.

Inicialmente hipotetizamos que os organismos zooplânctônicos poderiam predação o fitoplâncton, o que por sua vez aliviaria a competição entre bactérias e algas por nutrientes. Secundariamente, hipotetizamos que os cladoceros e copepodas Cyclopoida poderiam reduzir a pressão de predação sobre as bactérias através do controle descendente dos consumidores de bactérias, como os protozoários, os quais não tiveram a sua densidade avaliada em nosso experimento. Muitos autores citam os protozoários, principalmente os ciliados, como os principais responsáveis pela predação das bactérias em condições eutróficas (Sherr e Sherr 2002, Samuelsson e Andersson 2003, Agasild e Nøges 2005). Auer e colaboradores (2004) mostraram que, em lagos da Alemanha, os protozoários correspondem respectivamente a 24% e 42% a biomassa total de zooplâncton registrada em lagos mesotróficos e hipertróficos. Aparentemente os peixes

tiveram um efeito negativo sobre a densidade de cladoceros e de copepoda Cyclopoida, mas somente nos tratamento P+. Sob estas condições, o controle descendente exercido pelo zooplâncton sobre os consumidores de bactérias não seria tão intenso. Por outro lado, a presença do peixe não controlou a densidade dos organismos zooplânctônicos quando os nutrientes foram adicionados (tratamentos NP+), e nessas condições o zooplâncton pode ter controlado mais eficientemente a densidade dos protozoários e assim, permitido o aumento da PB. No entanto, mesmo que esta hipótese explique parcialmente nossos resultados, a razão do efeito do peixe só ser significativo para PB em condições de baixa concentração de nutrientes permanece inexplicada (Fig.I-5).

Estudos sobre o efeito do controle descendente dos peixes nas teias alimentares planctônicas mostram que os peixes podem estimular a biomassa dos níveis tróficos basais não somente via cascatas tróficas clássicas como também através do aumento da reciclagem de nutrientes, o que vem sendo chamado de controle ascendente de cima (Vanni e Layne 1997, Attayde e Hansson 2001). A predação do zooplâncton por peixes altera a estrutura e o tamanho da comunidade, geralmente favorecendo a dominância de pequenos zooplânctons, como os rotíferos, os quais não são visualmente detectados pelos peixes (Vanni 1986). Espécies de pequeno porte possuem taxas metabólicas mais altas e dessa forma aumentam a ciclagem do carbono orgânico e a reciclagem de nutrientes (Jeppesen et al. 1998, Otsuki et al. 2000). Além disso, alguns estudos mostraram que pequenos zooplânctons, em média, excretam nutrientes em uma razão estequiométrica mais baixa de N:P do que os zooplânctons grandes, e dessa forma contribuem para uma maior produção dos níveis tróficos basais (Vanni 1987, Vanni e Layne 1997).

Mas, os peixes também podem mediar a reciclagem de nutrientes diretamente, através de sua própria excreção. Estudos teóricos e empíricos mostraram que os peixes onívoros possuem uma grande capacidade de aumentar a regeneração de nutrientes (ex. reciclagem e translocação) nos ecossistemas aquáticos, já que podem forragear em diferentes compartimentos aquáticos, como as regiões litorâneas e sedimentos; com esta mobilidade eles regeneram nutrientes através da excreção e subsidiam a produção no compartimento pelágico (Schindler e Scheuerell 2002, Vadeboncoeur et al. 2002, Vander Zanden e Vadeboncoeur 2002, Vanni et al. 2004). Este comportamento onívoro de multi-cadeias (sensu, Vadeboncoeur et al. 2005) pode ter aumentado a translocação de

nutrientes do sistema bentônico para o compartimento pelágico no nosso experimento, já que *H. bifasciatus* forrageou consistentemente sobre os invertebrados bentônicos e perifiton (dados não mostrados). O controle descendente do peixe mediado pela reciclagem de nutrientes é provavelmente o principal mecanismo que explica a ausência do efeito positivo do peixe sobre a PB em altas concentrações de nutrientes. Este argumento é reforçado se pensarmos que, sob altas concentrações de nutrientes a reciclagem de nutrientes mediada pelo peixe teve um efeito muito pequeno sobre a PB, o que explica a ausência de efeitos significativos do peixe sobre a PB em condições enriquecidas com nutrientes.

Em conclusão, observamos que tanto a disponibilidade de nutrientes quanto a presença do peixe afetam individualmente e de forma significativa a PB. Embora a disponibilidade de nutrientes tenha sido a principal responsável pelo incremento da PB em nosso experimento, a presença do peixe também foi um fator importante no incremento da PB em condições não-enriquecidas com nutrientes. Estes resultados sugerem que a magnitude do controle descendente do peixe sobre as comunidade microbianas irá depender da produtividade do sistema em questão, resultado este que já foi demonstrado em outro estudo sobre cascata trófica onde o fitoplâncton era o principal foco do estudo (Benndorf et al. 2002). Considerando que a eutrofização e a extinção e adição de predadores estão ocorrendo em taxas alarmantes nos ecossistemas aquáticos continentais de todo o mundo (Dudgeon et al. 2006), e que as comunidades microbianas são componentes chaves para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, os estudos futuros devem abranger tanto os macro e micro-componentes das teias alimentares, ganhando uma visão mais holística de como os ecossistemas aquáticos irão responder as mudanças antropogênicas (Cochran-Stafira e von Ende 1998). No que diz respeito ao funcionamento de ecossistemas tropicais de águas escuras, onde a produção primária pelo fitoplâncton pode ser substancialmente limitada pela disponibilidade de luz e onde os peixes onívoros são abundantantes, é importante compreender os fatores que mediam os processos microbianos heterotróficos, já que a transferência de energia e carbono via o elo microbiano pode ser muito importante (Kritzberg et al. 2006). Por último, a natureza é comumente construída por complexas teias alimentares em vez de cadeias alimentares (Pace et al. 1999). A utilização de mesocosmos em uma escala de tempo relevante para

os processos relativos às comunidades microbianas, nos permitiu construir modelos replicados da natureza. Nestes a maioria dos processos ecológicos relevantes para o estudo dos ecossistemas estiveram presentes e os fatores relacionados as hipóteses testadas foram experimentalmente variados (Lawton 1995, Naeem 2001), o que fornece um maior realismo aos nossos resultados quando comparados aos observados em sistemas laboratoriais.

Capítulo II

Efeitos Independentes e Interativos da Origem do Carbono sobre a Magnitude e Direção de Processos Bacterianos

Introdução

Em todos os sistemas aquáticos desde o mar até as águas subterrâneas e lagos, a fração mais abundante de carbono orgânico consiste em carbono orgânico dissolvido (COD) (Tulonen 2004). O COD é uma mistura heterogênea de compostos orgânicos, com variadas concentrações de carbono, encontrado em todas as águas naturais, que pode ser originado no próprio sistema aquático (autóctone) ou externamente, na bacia hidrográfica circundante (alóctone) (Williamson et al. 1999), sendo operacionalmente definido como o carbono orgânico menor que 0,2 μm (Suhett et al. 2006). O COD autóctone é gerado em grande parte a partir do fitoplâncton e das macrófitas aquáticas, apresentando elevada disponibilidade (lábeis) para a degradação bacteriana. Por outro lado, o COD alóctone é formado a partir da decomposição parcial de vegetais superiores e, é composto por moléculas com baixa disponibilidade para a degradação bacteriana (recalcitrantes), como os ácidos húmicos e flúvicos, que geralmente apresentam coloração amarelada, amarronzada e até mesmo preta (Williamson et al. 1999, Wetzel 2001).

As bactérias heterotróficas são os componentes biológicos envolvidos na degradação e mineralização do estoque de COD, podendo assim afetar significativamente o seu destino nos ecossistemas aquáticos (Chróst 1990). Estes organismos utilizam a matéria orgânica dissolvida para suprir suas demandas energéticas. O carbono orgânico absorvido pelas bactérias tem dois destinos imediatos: pode ser remineralizado a CO_2 através da respiração bacteriana (RB) ou pode ser incorporado na biomassa bacteriana através da produção secundária bacteriana (PB). Conjuntamente, estes dois processos são utilizados para calcular a eficiência do crescimento bacteriano (ECB), que corresponde à proporção de carbono absorvido pelas bactérias que é utilizado para produção de biomassa, em detrimento do consumo de energia, sendo dada pela seguinte fórmula: $\text{ECB} = \text{PB}/(\text{RB} + \text{PB})$ (Hall e Cotner 2007). Apesar do conceito da ECB envolver a PB e a RB, alguns estudos sugeriram que estes dois processos são regulados por fatores independentes e podem estar desacoplados em situações específicas (Smith e Prairie 2004). Embora já tenha sido demonstrado que a RB pode ocorrer na ausência do metabolismo anabólico (Russell e Cook 1995, Dauner et al. 2001), o último não pode ocorrer na ausência do metabolismo catabólico (Hall e Cotner 2007).

Desta forma, o bacterioplâncton pode ser considerado um elo entre o COD e os organismos de níveis tróficos superiores (Azam et al. 1983). Um estudo de Work et al. (2005), mostrou que o carbono bacteriano representa 25% do carbono total que chega ao meso-zooplâncton, e praticamente metade do que chega ao micro-zooplâncton. Já outro estudo observou que o COD terrestre é um grande subsidiador da respiração bacteriana, mas muito pouco do carbono bacteriano é passado para teia alimentar (Cole et al. 2006). Desta forma, embora a atividade metabólica das bactérias heterotróficas tenha importantes implicações para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos (Lennon e Pfaff 2005), em que extensão o COD absorvido pelas mesmas é realmente transportado através da teia alimentar, tem sido uma questão crítica na Ecologia Aquática nas últimas décadas (Tulonen 2004). De maneira geral, o que irá influenciar a utilização do COD pelo bacterioplâncton serão os atributos químicos de suas diferentes fontes de COD, incluindo seu estado de oxidação (Vallino et al. 1996), peso molecular (Amon e Benner 1996, Weiss e Simon 1999), conteúdo húmico (Moran e Hodson 1990), porcentagem de compostos alifáticos (Sun et al. 1997) e a razão estequiométrica dos nutrientes limitantes para o crescimento (Amon e Benner 1996, Hunt et al. 2000, Castillo et al. 2003). O COD originado do fitoplâncton tem sido considerado a mais importante fonte de matéria orgânica para o bacterioplâncton (Kritzberg et al. 2005). Já foi demonstrado que o metabolismo bacteriano aumenta ao longo de gradientes crescentes de clorofila/produzitividade primária (Cole et al. 1988, Biddanda et al. 2001). No entanto, a demanda de carbono do bacterioplâncton também pode ser subsidiada pelo carbono de origem terrestre (Lennon e Pfaff 2005). Alguns estudos mostram que as substâncias húmicas podem ser usadas pelas bactérias como fontes consideráveis de carbono e energia, podendo sustentar aproximadamente 50% do crescimento bacteriano em alguns ambientes (Moran e Hodson 1990, Tranvik 1990, McCKnight e Aiken 1998). Desta forma tanto o COD de origem alóctone quanto o COD de origem autóctone podem influenciar o metabolismo bacteriano.

A maioria dos estudos sobre a influência da qualidade do COD sobre o metabolismo do bacterioplâncton, foca apenas efeitos isolados, desconsiderando os potenciais efeitos interativos entre as diversas fontes de COD. Estudos sobre a comunidade microbiana do solo sugerem que os diferentes substratos orgânicos presentes

no solo podem interferir no consumo um do outro. Ou melhor, a mistura de substratos orgânicos pode exercer efeitos interativos na química do solo, na composição e diversidade da comunidade microbiana do mesmo (Orwin et al. 2006), e por conseguinte nas funções ecossistêmicas desempenhadas por estes microorganismos (Loreau 2001). Da mesma forma, este processo pode ter um grande potencial nos ecossistemas aquáticos, já que nestes ambientes podemos encontrar uma infinidade de compostos misturados na coluna d'água. A mistura de compostos distintos pode produzir efeitos diferentes do esperado pela contribuição individual (aditiva) das espécies componentes das misturas, os chamados efeitos não-aditivos. Considerando que as comunidades microbianas podem responder a diferentes substratos tanto se adaptando fisiologicamente quanto mudando a composição de espécies (Eiler et al. 2003), variações na composição do COD poderiam criar novos nichos para o crescimento bacteriano, o qual por sua vez poderia suportar uma comunidade microbiana mais diversa, com um maior potencial de decomposição da matéria orgânica. Tendo em vista a carência de trabalhos que tratem dos efeitos interativos entre o COD de diferentes origens sobre o bacterioplâncton, este trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da mistura de diferentes fontes de COD, sobre o metabolismo e a estrutura da comunidade bacteriana de uma lagoa costeira. Para atingir tal objetivo, testamos as seguintes hipóteses: 1) A mistura de COD de diferentes origens propicia a ocorrência de efeitos não-aditivos positivos sobre processos bacterianos; e 2) A estrutura da comunidade bacteriana das misturas de COD de diferentes origens é diferente de suas respectivas monoculturas. Este trabalho foi realizado utilizando uma abordagem experimental em microcosmos e três fontes distintas de COD e todas as possíveis combinações entre as mesmas.

Área de Estudo

No presente estudo, utilizamos três fontes de C distintas (extrato de algas, extrato de substâncias húmicas e água da Lagoa Cabiúnas). Dois desses extratos são oriundos de ecossistemas aquáticos húmicos – o Atoleiro e a Lagoa Cabiúnas – ambos inseridos no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba. O Atoleiro é formado pela elevação do lençol freático, principalmente no período chuvoso, apresentando uma coloração muito escura e

altas concentrações de carbono, aproximadamente 170 mg C.L^{-1} (Fig. II-1). Por ser um corpo aquático recentemente descrito dentro do PARNA da Restinga de Jurubatiba, ainda existem poucos trabalhos que abordem suas características físicas e limnológicas. A caracterização da Lagoa Cabiúnas foi anteriormente feita no Capítulo I desta dissertação (ver pág. 10).

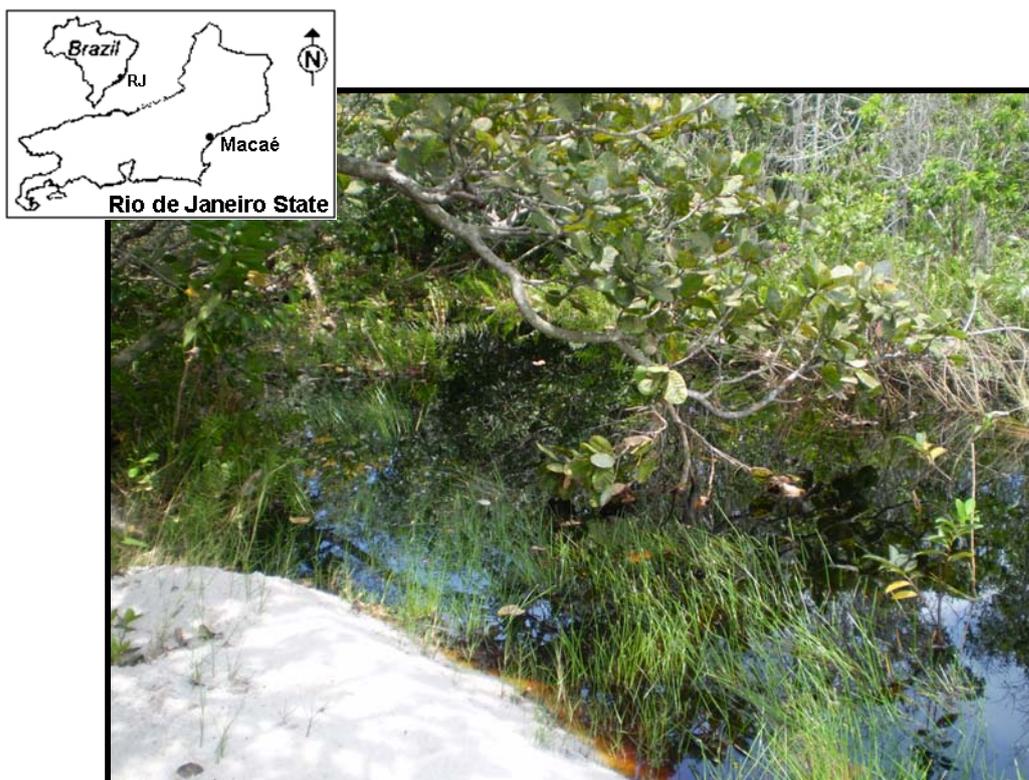


Fig.II-1 Foto do Atoleiro. O mapa no canto superior esquerdo indica a localização geográfica de Macaé. Na foto pode-se perceber a coloração escura da água desta lagoa

Materiais e Métodos

-Amostragem

Amostras de água da Lagoa Cabiúnas e do Atoleiro foram coletadas em frascos de 1L, e posteriormente filtradas em malha de fibra de vidro de $0,7 \mu\text{m}$ (Whatman GF/F), a fim de remover os predadores de bactérias (e.g., Protozoários). As amostras de água foram mantidas refrigeradas no escuro até a preparação do experimento.

- *Obtenção das fontes de carbono*

Os compostos húmicos do Atoleiro foram extraídos através do fracionamento da matéria orgânica dissolvida em resina XAD-8. Esta resina é um material padrão para o isolamento e concentração de compostos húmicos da água, onde as substâncias húmicas são operacionalmente definidas como os compostos que ficam aderidos à resina em pH 2,0 (na forma protonada) (Moran e Hodson 1990). O processo de extração é feito pela retenção dos compostos com carga negativa na resina. A resina foi lavada intensivamente com metanol antes de ser empacotada em uma coluna de troca iônica. A água do Atoleiro, rica em compostos húmicos, foi acidificada a pH 2,0, e passada pela coluna a qual a resina foi inserida. Finalmente, as substâncias húmicas foram extraídas através da lavagem da coluna com uma solução alcalina de NaOH (0.1 N) (Bussmann 1999).

A água da Lagoa Cabiúnas foi filtrada em membrana de éster de celulose com 0,22 de porosidade (Millipore), para a remoção de bactérias e posteriormente usada *in natura* nos ensaios. O carbono originado das algas foi extraído de uma cultura de *Ankistrodesmus* sp. crescida em meio Z8 até a fase estacionária de crescimento, segundo a metodologia adotada por Farjalla (2003). As algas foram colocadas em tubos de centrifuga de 15 mL e centrifugadas a 1.000 rpm por 20 min. Os sobrenadantes foram descartados e os precipitados ressuspensos em 10 mL de solução isotônica de NaCl, previamente preparada com água Milli-Q. Este procedimento foi repetido 4 vezes para evitar possíveis contaminações com nutrientes do meio de cultura das algas. Os precipitados foram ressuspensos em água Mili-Q e as células foram termicamente fraturadas (congelamento a 4°C e rápido aquecimento a ~36°C). Este procedimento foi repetido três vezes. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 8.000 rpm por 30 min, seus sobrenadantes removidos, e o decantado, contendo o extrato de algas, cuidadosamente removido e reservado.

Todas as fontes de COD foram diluídas em água Mili-Q a fim de apresentarem a concentração final de aproximadamente 4 mg C. L⁻¹ e o pH das mesmas foi ajustado para 7,0. As três fontes de COD foram mantidas refrigeradas até o início do experimento.

-Preparação dos tratamentos

Os tratamentos foram estabelecidos usando-se uma (meios únicos), duas (meios duplos) e três fontes de COD (meios triplos), contendo assim todas as combinações possíveis entre as fontes de COD utilizadas, totalizando sete tratamentos: extrato de algas (Al), extratos de substâncias húmicas (Sh), água da Lagoa Cabiúnas (Ca), água da Lagoa Cabiúnas+extrato de substâncias húmicas (Ca+Sh), água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas (Ca+Al), extrato de algas + extrato de substâncias húmicas (Sh+Al) e extrato de algas + extrato de substâncias húmicas + água da Lagoa Cabiúnas (Al+Ca+Sh). As fontes de COD dos tratamentos foram misturadas em proporções iguais. Todos os tratamentos foram filtrados em membrana de éster de celulose com 0,22 µm de porosidade (Millipore), para a remoção das bactérias.

-Preparação do inóculo de bactérias

Aproximadamente 500 mL da água da Lagoa Cabiúnas, foi filtrada através de filtros de fibra de vidro (0,7 µm, Whatman GF/F), e posteriormente por uma membrana de éster de celulose (0,22 µm, Millipore), retendo grande parte das bactérias presentes na água da Lagoa Cabiúnas. Este filtro foi cuidadosamente cortado com pinças estéreis dentro de um frasco contendo 100 mL de solução salina estéril (0,9% NaCl). Desta maneira as bactérias aderidas ao filtro foram ressuspensas na solução salina. O inóculo foi mantido refrigerado (por menos de 12 h) até a montagem das culturas. Este procedimento, quando testado anteriormente, mostrou redução de apenas 35% da densidade bacteriana inicial (dados não mostrados). O inóculo da comunidade bacteriana foi utilizado com densidade final de $2,2 \times 10^5$ cél.mL⁻¹.

-Estabelecimento dos cultivos e coletas de amostras

As culturas foram montadas em frascos BOD (150 mL), previamente lavados com HCl 10% e água Mili-Q. O volume total do frasco foi preenchido com 95% do tratamento (solução com as fontes de COD) e 5% com o inóculo de bactérias, de forma que nenhuma atmosfera interna permanecesse dentro do frasco. Para que o crescimento bacteriano não fosse limitado por nutrientes, cada cultura foi enriquecida com solução de NH₄NO₃ (concentração final de 50 µM N. L⁻¹) e KH₂PO₄ (concentração final de 5 µM

P.L⁻¹). Dessa forma, garantimos que qualquer efeito entre os tratamentos fosse decorrente de diferenças entre as distintas fontes ou combinações de fontes de COD. Todos os frascos foram acondicionados em câmara incubadora no escuro em temperatura ambiente (25°C) por 120 horas. A cada 24 h foram medidas as concentrações de O₂ e retiradas alíquotas de 3,15 mL de cada tratamento para a contagem de bactérias. Estas alíquotas foram preservadas com formol tamponado (concentração final de 3,7%), e conservadas em geladeira. Ao término do experimento (após 120h) as réplicas de cada tratamento foram misturadas, e posteriormente filtradas em membranas de nitrocelulose de 0,2 µm de porosidade (Millipore). Estes filtros foram cuidadosamente acondicionados em tubos do tipo eppendorf estéreis, onde foram mantidos congelados até o momento do processamento

-Métodos Analíticos

A concentração de COD foi medida através da combustão em alta temperatura, utilizando um analisador de carbono TOC-5000 Shimadzu. A RB foi estimada através do consumo de O₂ das culturas, pela diferença na concentração O₂ ($[O_2]_{\text{inicial}} - [O_2]_{\text{final}}$) a cada 24h. As concentrações de O₂ foram mensuradas com um micro-eletrodo de O₂ de alta precisão (Unisense) acoplado a um pico-amperímetro (Unisense). Para a determinação da biomassa de bactérias amostras foram coradas com laranja de acridina (concentração final de 0.01%), preparadas sobre lâminas de vidro, e as bactérias contadas e medidas em microscópio de epifluorescência (Axiovert Zeiss Universal) com um micrômetro ocular em aumento de 1.600 vezes (Hobbie et al. 1977). As bactérias foram divididas em quatro classes (cocos, bastonetes, víbrios e espirilos), e pelo menos 300 bactérias ou 30 campos por lâmina foram contados. O biovolume foi estimado como o proposto por Bratbak e Thingstad (1985), e convertido à biomassa pelo fator de conversão de $5,6 \times 10^{13}$ g de C µm⁻³.

Através dos valores de produção bacteriana (PB) e respiração bacteriana (RB) foram calculados a eficiência do crescimento bacteriano (ECB), a taxa de bio-remoção de COD (COD_{rem}) e a taxa de COD bio-disponível (COD_L). COD_{rem} é a quantidade de COD removido pela comunidade bacteriana, sendo obtido pela soma do COD incorporado à biomassa mais o COD respirado (PB+RB). COD_L é a fração do COD que está disponível

para o crescimento bacteriano e é calculado pela divisão do COD_{rem} pelo COD total. A ECB representa a fração do carbono consumida que é convertida em biomassa ($ECB=PB/(RB+PB)$) (Sondergaard et al. 1997). Todas as taxas e parâmetros foram calculados na fase de crescimento exponencial das bactérias.

A fim de avaliar a existência de possíveis efeitos não-aditivos nas misturas, foi utilizado um modelo nulo proposto por Wardle et al. (1997), no qual a hipótese nula prediz que os rendimentos observados são determinados apenas pela contribuição de cada espécie na mistura ($D_i=0$). D_i mede o desvio proporcional do desempenho das misturas em relação ao esperado pelas monoculturas, oferecendo uma maneira padronizada de comparar o desempenho da mistura na ausência de interação. Este índice foi calculado da seguinte forma:

$$D_i = \frac{O_i - E_i}{E_i}$$

Onde O_i e E_i são respectivamente os valores observados e esperados da mistura (Loreau 1998). Quando a mistura de COD de origens distintas gera resultados diferentes do esperado pela contribuição individual (aditiva) das fontes de COD componentes da mistura, estes resultados são chamados de não-aditivos. Estes efeitos não aditivos podem tanto ser positivos (super-rendimento em relação ao esperado, $D_i>0$) quanto negativos (sub-rendimento em relação ao esperado, $D_i<0$). Uma das maneiras de se demonstrar a ocorrência de complementaridade entre as misturas é comparar diretamente o rendimento da policultura com o da monocultura componente de menor ou maior rendimento (Hector 1998). Quando a mistura ultrapassa o rendimento da componente de maior rendimento na monocultura (*Max mono*), chamamos de super-rendimento transgressivo ($D_{max}>0$). Da mesma forma, quando o rendimento da mistura é menor do que o da componente de menor rendimento na monocultura (*Min mono*), chamamos de sub-rendimento transgressivo ($D_{min}<0$). De maneira semelhante ao D_i , D_{max} e D_{min} são calculados de acordo com as seguintes fórmulas:

$$D_{max} = \frac{O_i - Max\ mono}{Max\ mono}$$

$$D_{min} = \frac{O_i - Min\ mono}{Min\ mono}$$

-Análise Molecular

A estrutura dominante da comunidade bacteriana foi avaliada através da eletroforese em gel de gradiente desnaturante (DGGE). A extração das amostras foi realizada de forma direta utilizando um “kit” de extração de DNA para solo (FastDNA® Spin kit for soil) e meio filtro.

Após a extração, os fragmentos foram amplificados utilizando a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) com iniciadores específicos U968f – GC1 (grupo GC + 5' AAC GCG AAG AAC CTT AC 3'), que é homólogo à região 968-984 do gene rRNA 16S de *Escherichia coli*, e L1401r (5'GCG TGT GTA CAA GAC cg 3') que é homólogo à região 1385-1401 do mesmo gene (Nubel et al. 1996). A solução do “Mix” de PCR é formada por 5µl de tampão da enzima *Taq*-polimerase, 5µl de MgCl₂, 1µl de de dNTP (constituída pelas quatro bases nitrogenadas: guanina, citosina, timina e adenina), 1µl de cada iniciador mencionado acima, 0,5µl de BSA (concentração 1%), 0,5µl de formamida, e 0,5µl da enzima *Taq*-polimerase e 33,5µl de água Mili-Q, e 2µl de amostra extraída totalizando 50 µl. Esta solução foi submetida ao programa de PCR constituído de 1 ciclo de desnaturação das fitas de DNA por 3 minutos a 94°C, seguido por 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 55°C e 1 minuto a 72°C, e 10 minutos a 72°C para a extensão. A amplificação foi confirmada através de uma eletroforese em gel de agarose 1,2%, aplicando 5µl de amostra e 3µl de corante, sob uma tensão de 75V embebido em tampão TBE 1X, e corado com brometo de etídio por 15 minutos, com posterior visualização em um transluminador (Fisher Scientific).

As amostras foram submetidas a eletroforese no gel de acrilamida, contendo o gradiente linear de desnaturante de 45% a 65%, formado a partir das soluções 0% e 70%. Para este procedimento utilizou-se 30µl do produto de PCR com 15µl de corante. O gel polimerizou em torno de 2 horas e em seguida foi acoplado ao aparelho com tampão TAE 0,5 pré-aquecido a 60°C. A eletroforese foi realizada sob uma tensão de a 75V, 60 °C e 16h. O gel foi corado com uma solução de SYBER Green, que cora apenas DNA e foi revelado e digitalizado pelo sistema de captura de imagem STORM. Os géis foram analisados pelo programa Bionumerics. As bandas posicionadas em diferentes pontos do gel foram consideradas como sendo estirpes diferentes, e desta forma representativas da riqueza ou diversidade genética. A partir destas bandas foi criada uma matriz de presença

e ausência que foi utilizada nas análises estatísticas para a comparação das comunidades bacterianas de cada tratamento.

-Análises Estatísticas

A fim de reduzir a heterogeneidade das variâncias, foi calculado o arco seno dos dados percentuais e o logaritmo na base 10 dos demais dados (Underwood 1997). Após este procedimento, os coeficientes de variação apresentados pelos dados foram menores que 20%. Baseados neste fato, utilizamos ANOVA com pós-teste de Tukey para avaliar as diferenças significativas entre os tratamentos em relação a PB, DB, RB, ECB, COD_{rem} e COD_L. Para testar a significância dos valores de D_t , D_{max} e D_{min} , foram feitos testes-t de uma única amostra comparando os valores de D_t , D_{max} e D_{min} de cada mistura contra o valor hipotético de zero, esperado no caso da ausência de efeitos não-aditivos (Dang et al. 2005). Foram feitas regressões lineares entre os valores de ECB, PB, DB, RB, COD_{rem} e COD_L e o número de fontes carbono utilizadas nas misturas, e também entre a PB e a RB e entre as mesmas com a ECB.

As dissimilaridades entre a composição da comunidade bacteriana (padrão de bandas do DGGE) dos tratamentos foram avaliadas através de uma análise de agrupamento (Cluster) da matriz de presença e ausência, utilizando a distancia de $1 - r$ de Pearson, onde somente foram consideradas dissimilaridades até 50% . Todas as análises foram feitas através do programa STATISTICA 7.0 (StatSoft 2001).

Resultados

O período de crescimento logarítmico das células bacterianas correspondeu às primeiras 24 horas. As misturas (exceto o tratamento Ca+Sh) e o tratamento Al apresentaram os maiores valores de PB. Os tratamentos Ca e Sh obtiveram os menores valores de PB, e são estaticamente diferentes de Ca+Al, Sh+Al, Ca+Al+Sh and Al. A PB do tratamento Ca+Sh foi levemente menor do que a das outras misturas. A magnitude da PB dos meios duplos e triplos não foram diferentes do meio único com maior valor (Al) (Tabela II-1). As diferenças entre os tratamentos em relação a DB foram similares as apresentadas para PB, no entanto a DB do tratamento Al foi significativamente maior que

a do tratamento Ca+Sh. Os tratamentos Al e Ca apresentaram os maiores valores de RB, diferindo dos tratamentos Sh, Ca+Al, Sh+Al, Ca+Sh e Ca+Al+Sh. A RB do tratamento Ca+Sh foi significativamente menor do que a dos tratamentos Ca+Al e Sh+Al. O tratamento Al e as misturas apresentaram os maiores valores de ECB. Os valores de ECB dos tratamentos Ca e Sh foram significativamente menores quando comparada aos demais tratamentos. Os valores de COD_{rem} e COD_L dos tratamentos Ca, Sh e Ca+Sh foram significativamente menores do que os dos tratamentos Al, Ca+Al, Sh+Al e Ca+Al+Sh (Tabela II-1).

Embora somente o meio triplo tenha apresentado efeitos não-aditivos positivos para a PB, e somente os tratamentos Ca+Sh e Ca+Al+Sh tenham apresentado efeitos não-aditivos positivos para a DB (Fig.II-2B e D), a PB e DB apresentaram uma tendência positiva de interação. Todas as misturas apresentaram efeitos não-aditivos negativos em relação à RB, no entanto somente os tratamentos Ca+Sh e Ca+Al apresentaram sub-rendimentos transgressivos (Fig.II-2A e Fig.II-3B). A ECB de todas as misturas apresentou efeitos não-aditivos positivos, e também super-rendimentos transgressivos (Fig.II-2C e Fig.II-3A). Em relação ao COD_L , somente o tratamento Ca+Sh apresentou efeitos não-aditivos negativo e de sub-rendimento transgressivo (Fig.II-2F e Fig.II-3C). Um efeito não-aditivo negativo no tratamento Ca+Sh e um efeito não-aditivo positivo no tratamento Ca+Al+SH foram observados para a COD_{rem} (Fig.II-2E).

A regressão linear entre o gradiente crescente do número de fontes de C e os valores de ECB, PB, DB e COD_{rem} apresentaram uma relação positiva significativa (Fig.II-4B, C, D e E). Já a RB apresentou uma relação linear negativa com o número de fontes de C, e os valores de COD_L não apresentaram nenhuma relação com os últimos (Fig.II-4A e F). A RB não apresentou nenhuma relação tanto com a PB e DB quanto com a ECB (Fig.II-5A, B e D). No entanto a PB obteve uma relação linear forte com a ECB (Fig.II-5C).

Através da análise de agrupamento, pode-se perceber que os tratamentos que receberam a adição de extrato de algas apresentaram maior semelhança entre si do que os demais. No entanto, dentre estes tratamentos os mais similares foram Sh+Al e Al+Ca. As composições dos tratamentos Sh, Ca e Sh+Ca foram dissimilares entre si e em relação aos demais tratamentos (Fig.II-6).

Tabela II-1 Valores de densidade bacteriana (DB), produção bacteriana (PB), respiração bacteriana (RB), eficiência do crescimento bacteriano (ECB), COD bio-disponível (COD_L) e COD removido (COD_{rem}). Todas as taxas e parâmetros foram calculados na fase de crescimento logarítmico. Letras diferentes significam diferenças significativas (pós-teste de Tukey, p<0,05). Al= extrato de algas, Sh= extrato de substâncias húmicas, Ca= água da Lagoa Cabiúnas, Ca+Sh = água da Lagoa Cabiúnas + extrato de substâncias húmicas, Hs+Al= do extrato de substâncias húmicas + extrato de algas, Ca+Al= b água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas e Ca+Al+Sh= água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas + extrato de substâncias húmicas. Médias (± desvio padrão)

Tratamentos	DB (*10 ⁹ cél.L ⁻¹)	RB (μM C.h ⁻¹)	PB (μM C.h ⁻¹)	ECB %	COD _L %	COD _{rem} (μM C.dia ⁻¹)
Ca	0,95 (± 0,25) ^A	1,54 (± 0,23) ^A	0,55 (± 0,11) ^A	26,5 (± 7,08) ^A	18,9 (± 1,15) ^A	50,0 (± 3,05) A
Sh	0,57 (± 0,46) ^A	1,07 (± 0,06) ^B	0,48 (± 0,32) ^A	28,9 (± 13,4) ^A	19,8 (± 3,91) ^A	37,0 (± 7,33) A
Al	2,44 (± 0,40) ^B	1,67 (± 0,07) ^A	2,15 (± 0,58) ^B	55,6 (± 6,79) ^B	47,96 (± 7,48) ^B	91,7 (± 14,3) B
Ca+Sh	0,79 (± 0,16) ^A	0,85 (± 0,08) ^{BC}	0,78 (± 0,30) ^{AB}	46,8 (± 7,35) ^B	11,01 (± 2,55) ^A	39,2 (± 9,08) A
Sh+Al	3,49 (± 1,64) ^B	1,12 (± 0,03) ^{BD}	4,37 (± 2,06) ^B	77,2 (± 8,51) ^B	43,2 (± 16,3) ^B	132,0 (± 49,8) B
Ca+Al	3,56 (± 0,79) ^B	1,25 (± 0,03) ^{BD}	3,80 (± 1,60) ^B	72,9 (± 10,2) ^B	39,2 (± 12,3) ^B	121,0 (± 38,0) B
Ca+Al+Sh	2,85 (± 0,89) ^B	1,05 (± 0,03) ^B	3,19 (± 1,08) ^B	74,0 (± 5,91) ^B	42,6 (± 11,0) ^B	102,0 (± 26,2) B

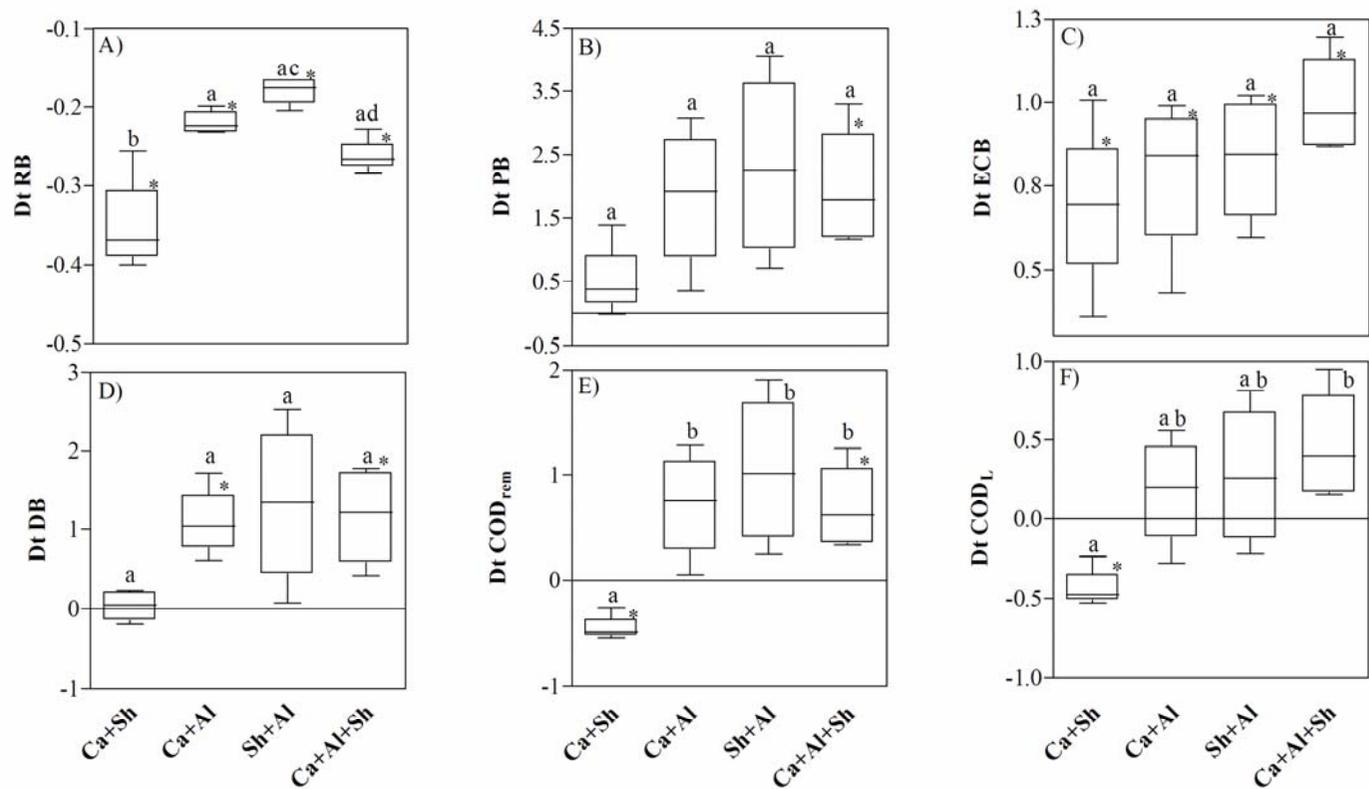


Fig.II-2 Desvios proporcionais do desempenho das misturas em relação ao esperado pelas monoculturas (Dt). O símbolo * significa que Dt é estatisticamente diferente de zero ($p < 0,05$), e letras diferentes significam diferenças significativas (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). DB = densidade bacteriana, PB= produção bacteriana, RB= respiração bacteriana e ECB = eficiência do crescimento bacteriano. COD_{rem} é a quantidade de COD removido pela comunidade bacteriana, e COD_L é a fração do COD que está disponível para o crescimento bacteriano. Ca+Sh = água da Lagoa Cabiúnas + extrato de substâncias húmicas, Hs+Al= do extrato de substâncias húmicas + extrato de algas, Ca+Al= água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas e Ca+Al+Sh = água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas + extrato de substâncias húmica.

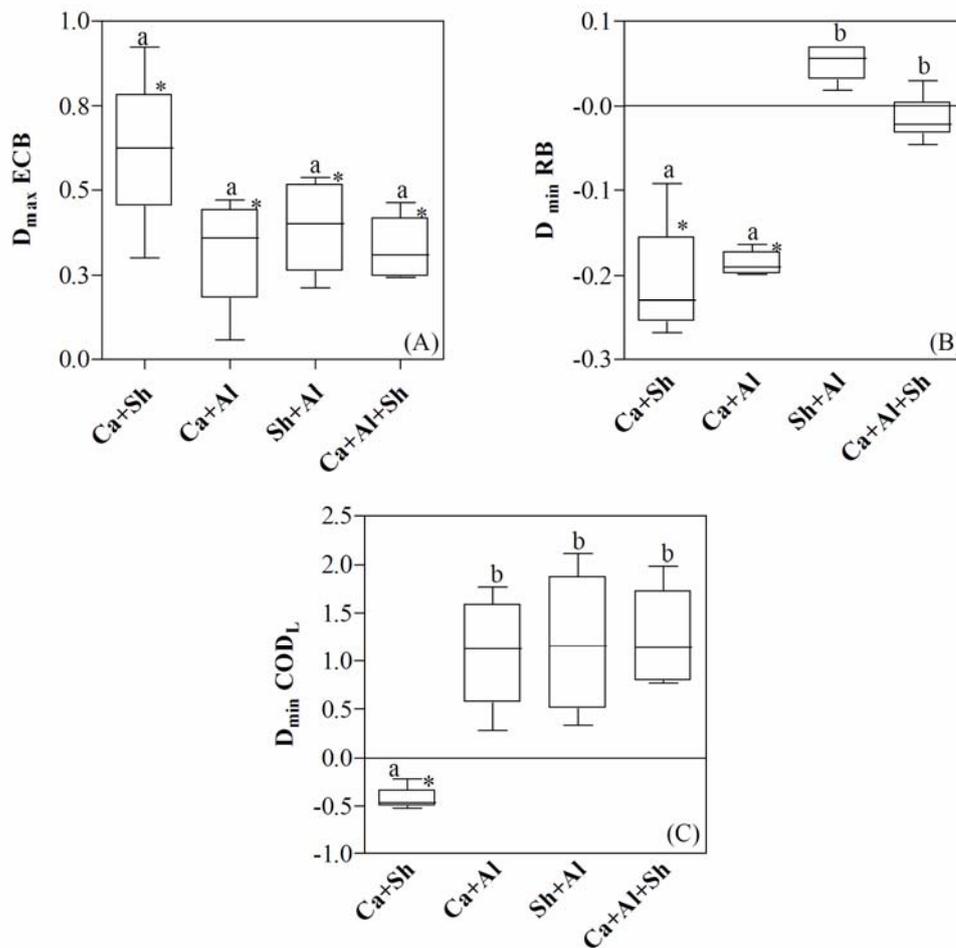


Fig.II-3 Desvios proporcionais do observado em relação à monocultura de menor valor (D_{min}) e desvios proporcionais do observado em relação à monocultura de maior valor (D_{max}). O símbolo * significa que D_t é estatisticamente diferente de zero ($p < 0,05$), e letras diferentes significam diferenças significativas (pós-teste de Tukey, $p < 0,05$). RB = respiração bacteriana, ECB = eficiência do crescimento bacteriano e CODrem = COD removido pela comunidade bacteriana. Ca+Sh = água da Lagoa Cabiúnas + extrato de substâncias húmicas, Hs+Al= do extrato de substâncias húmicas + extrato de algas, Ca+Al= b água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas e Ca+Al+Sh= água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas +extrato de substâncias húmicas

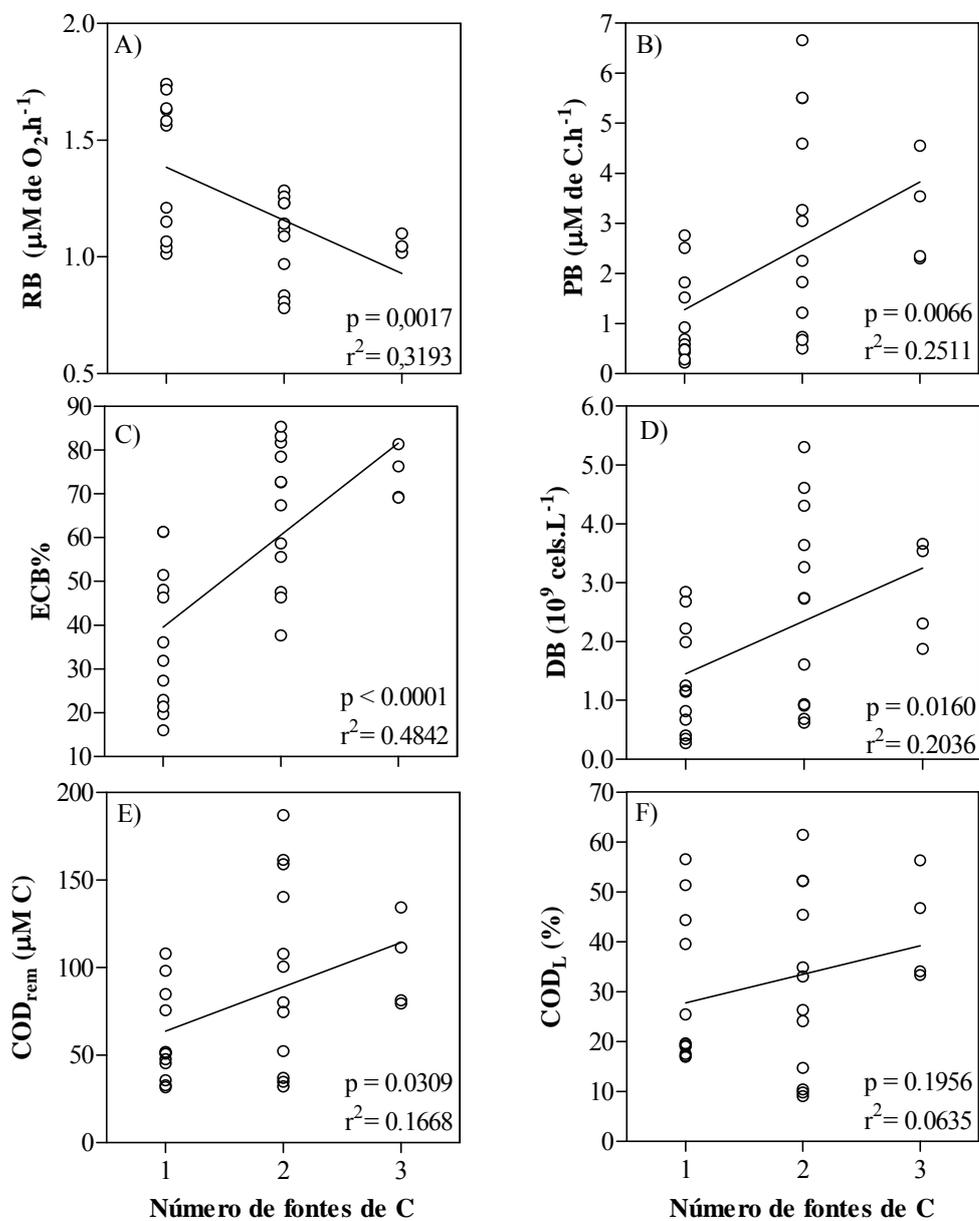


Fig.II-4 Regressões lineares entre o número de fontes de carbono (C) utilizadas e a DB (densidade bacteriana), PB (produção bacteriana), ECB (eficiência do crescimento bacteriano), COD_{rem} (COD removido) e COD_L (COD biodisponível). Os valores de p indicam a significância das regressões lineares. Todas as regressões acima são significativas, exceto F.

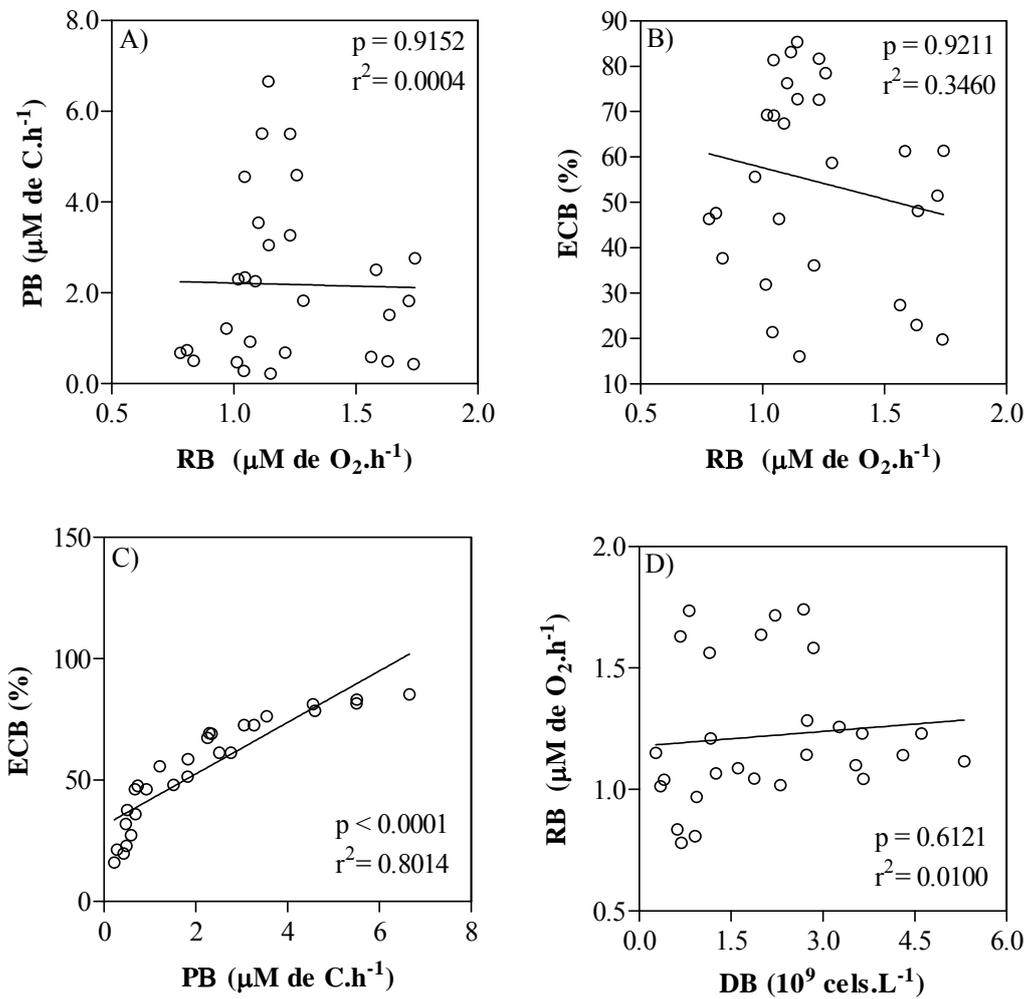


Fig.II-5 Relação linear entre o a RB (respiração bacteriana) e a ECB (eficiência do crescimento bacteriano), a RB e a PB (produção bacteriana), e a PB e a ECB. Os valores de p indicam a significância das regressões lineares. Somente a regressões C é significativa.

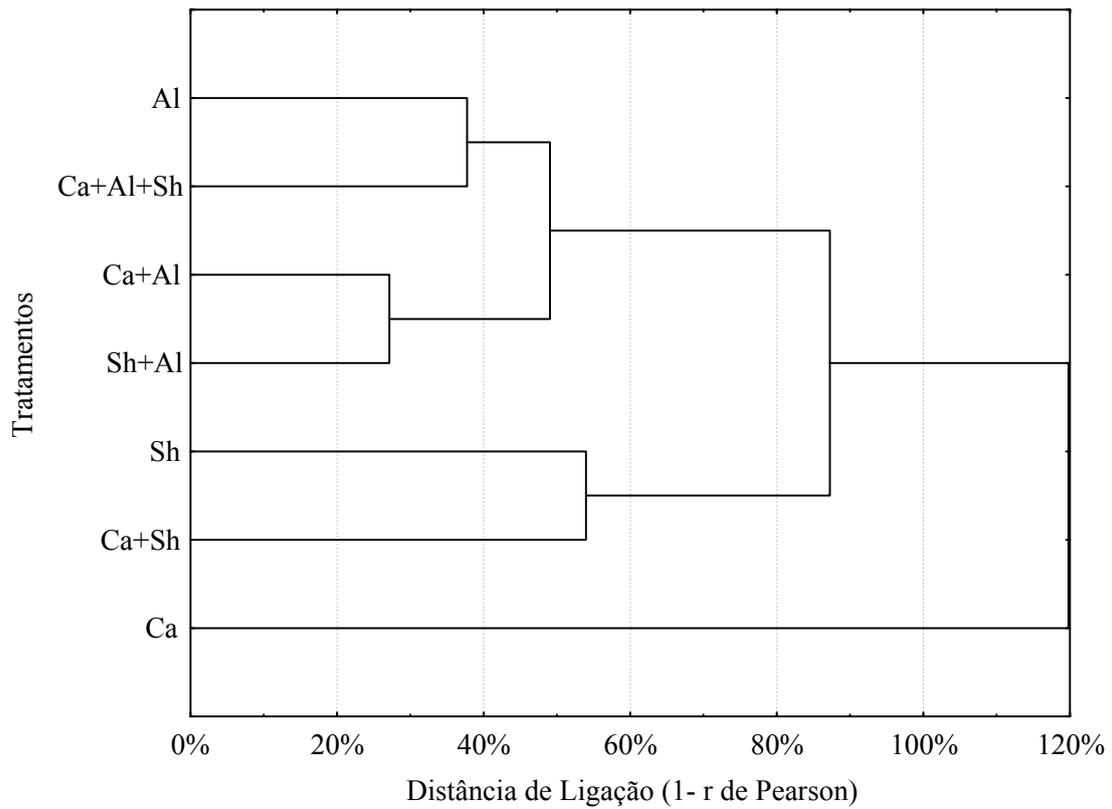


Fig.II-6 Dissimilaridades entre a composição da comunidade bacteriana dos tratamentos. Análise de Cluster da matriz de presença e ausência, utilizando a distancia de $1 - r$ de Pearson. Somente foram consideradas dissimilaridades até 50%.). Al= extrato de algas, Sh= extrato de substâncias húmicas, Ca= água da Lagoa Cabiúnas, Ca+Sh = água da Lagoa Cabiúnas + extrato de substâncias húmicas, Sh+Al= do extrato de substâncias húmicas + extrato de algas, Ca+Al= b água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas e Ca+Al+Sh= água da Lagoa Cabiúnas + extrato de algas + extrato de substâncias húmicas.

Discussão

Neste estudo avaliamos a resposta do metabolismo bacteriano na presença de três fontes de COD distintas, a ocorrência de efeitos não-aditivos proporcionados pelas combinações entre as diferentes fontes de COD, assim como a similaridade das comunidades bacterianas entre os tratamentos. A monocultura Al apresentou os maiores valores para todas as taxas mensuradas. Os meios duplos e triplos apresentaram efeitos não-aditivos para alguns dos parâmetros avaliados. Alguns tratamentos mostraram-se dissimilares em relação à composição de suas comunidades, no entanto a similaridade entre as comunidades bacterianas não explicou a variação da magnitude das taxas e dos parâmetros mensurados.

Apesar do tratamento Ca ter apresentado um dos maiores valores de RB, se comparado ao tratamento Al, seus valores de PB, DB, ECB, COD_{rem} e COD_L foram inferiores, assemelhando-se aos da monocultura Sh. Este desacoplamento entre a PB e RB do tratamento Ca, demonstra que existe um grande gasto de energia associado ao consumo do substrato orgânico deste tratamento. A baixa eficiência de incorporação do tratamento Ca pode ser devida a características específicas do substrato, relacionadas a sua energia relativa e a seu conteúdo de carbono. Isto porque a utilização do COD pela bactéria está relacionada principalmente à composição do COD, ao grau de diagênese e à disponibilidade de nutrientes (Hedges et al. 1994, Amon e Benner 1996, Sun et al. 1997, Hunt et al. 2000).

O tratamento SH também se mostrou muito refratário para a utilização pelo bacterioplâncton, pois apresentou valores muito baixos para todos os parâmetros e taxas mensuradas. No entanto, apresentou valores de PB, COD_L e COD_{rem} similares ao tratamento Ca, sem que houvesse uma RB tão alta. Embora a água da Lagoa Cabiúnas também possua compostos húmicos, o extrato de substâncias húmicas em questão é oriundo do afloramento de um lençol freático, ou seja, os compostos húmicos presentes nesse extrato possivelmente possuem um menor grau de diagênese, ou seja, são moléculas com menor grau de degradação biológica do que as presentes na água da Lagoa Cabiúnas. Talvez, por possuir moléculas mais jovens, o COD do tratamento Sh tenha sido consumido pelo bacterioplâncton mais facilmente, com um menor gasto de energia, do que o

tratamento Ca, resultando assim em menor RB. Além disso, o fato da comunidade bacteriana do tratamento Ca ser dissimilar do tratamento Sh, também pode ser um dos motivos para os menores valores de RB do tratamento Sh.

Embora se saiba que as bactérias podem degradar os compostos húmicos (De Haan 1974), utilizando-os como fonte considerável de energia (Moran e Hodson 1990), os processos diagenéticos sofridos durante o transporte do ambiente terrestre para o meio aquático e também a alta razão molar C:N dos compostos de lignina diminuem a sua bio-disponibilidade (Hedges et al. 1994, Farjalla et al. 2006). Jonsson et al. (2001) observou que 95% do COD em um lago temperado da Suécia era composto por substâncias húmicas de origem alóctone, no entanto, menos de 10% era consumido pelo bacterioplâncton. Sendo assim, comparado ao desempenho das monoculturas, seria esperado que o tratamento Al apresentasse os maiores valores para todos os parâmetros mensurados. Esta resposta já foi observada em outros estudos, os quais citam o C de origem autóctone (principalmente de origem algal) como o preferencialmente utilizado pelas bactérias (Kritzberg et al. 2004, Kritzberg et al. 2005). Moléculas jovens, com alta razão de carbono alifático em relação ao aromático, e baixas razões C:N são mais bio-disponíveis para as bactérias do que moléculas complexas com alta razão de C aromático, como a maioria das substâncias húmicas (Amon e Benner 1996, Sun et al. 1997, Wetzel 2001). A produção de matéria lábil pelo fitoplâncton é considerada a mais importante fonte de substrato orgânico para as bactérias (Cole 1982, Kritzberg et al. 2005). Aproximadamente metade do COD adquirido pelas bactérias é de origem autóctone em vez de alóctone (Kritzberg et al. 2004, Kritzberg et al. 2005).

Os tratamentos duplos e triplos apresentaram, para alguns parâmetros, valores maiores e algumas vezes menores do que o esperado com base nas monoculturas. As combinações entre as diferentes fontes de COD possibilitaram a redução da RB, o que ficou evidenciado pelos efeitos não-aditivos negativos de todas as misturas e pelos sub-rendimentos transgressivos apresentados por alguns meios duplos. Além disso, existe uma relação negativa entre o número de fontes de COD utilizadas e a RB, o que evidencia uma tendência de redução da RB média das culturas com o aumento do número de fontes de COD. Suhett (2007) também encontrou efeitos não-aditivos negativos sobre a respiração

bacteriana, assim como uma tendência negativa entre riqueza de substratos (macrófitas aquáticas) e a respiração microbiana.

Apesar de nem todas as misturas terem apresentado efeitos não-aditivos em relação a PB, DB e CODrem, existe uma tendência linear positiva entre estes parâmetros e o número de fonte de C. Já o COD_L apresentou sub-rendimento transgressivo somente para o tratamento Ca+Sh, e nenhuma relação com o número de fontes de C. A ECB não somente apresentou efeitos não-aditivos para todas as combinações possíveis, como também super-rendimentos transgressivos. Farjalla et al. (no prelo) também observaram a ocorrência de super-rendimentos transgressivos para a ECB de misturas de água da Lagoa Cabiúnas com lixiviados de macrófitas e nutrientes.

Muitos processos determinam a ECB, e cada qual pode responder a um conjunto de fatores distintos (del Giorgio e Cole 1998). Neste contexto, tanto a RB quanto a PB podem ter sido reguladas por fatores diferentes. No experimento em questão, a redução da RB das misturas não significou uma diminuição correspondente da PB. Este desacoplamento pode ser explicado pelo fato da energia metabólica ser distribuída para 2 demandas: energia para os processos de biossíntese, os quais produzem um aumento líquido da biomassa; e energia para a demanda de outros processos que não incrementam a biomassa (e.g. regulação do pH e da pressão osmótica celular) (del Giorgio e Cole 1998). Ou seja, as bactérias utilizam grandes quantidades de energia em atividades que não estão relacionadas diretamente ao crescimento (Russell e Cook 1995). Por exemplo, um composto de baixa qualidade pode ser preferencialmente catabolizado para a manutenção dos requerimentos energéticos do que para o crescimento celular, resultando em baixa ECB (del Giorgio e Cole 1998). Além disso, grandes moléculas e colóides presentes no “pool” de COD têm que ser hidrolisadas por exo-enzimas antes de serem utilizadas pela bactéria (Sinsabaugh et al. 1997), e para que haja a biosíntese dessas substâncias é necessária muita energia celular (Russell e Cook 1995). Em um estudo feito por Roland e Cole (1999), foi visto que a RB pode ser mais conservativa do que a PB, pois enquanto a PB variou em 100 vezes, a RB variou somente em 10 vezes. Sendo assim, a forte relação encontrada entre a PB e a ECB, e a ausência de relação dessas últimas duas com a RB, pode ter se dado pelo menor dinamismo da RB quando comparado a PB.

A mistura de substratos permitiu uma utilização mais eficiente da energia contida nas moléculas de COD, já que mesmo com a redução da RB a PB manteve uma tendência de aumento. As substâncias húmicas são muito heterogêneas em composição, estando cada composto presente em pequenas quantidades (Perdue 1998). O alto custo de energia para a síntese de enzimas extracelulares pode reduzir a metabolização de compostos complexos específicos presentes em baixas concentrações nas substâncias húmicas (Farjalla et al. no prelo). No entanto, estes compostos, presentes nos tratamentos Ca+Al, Ca+Al+Sh e Al+Sh, podem ter sido degradados por enzimas produzidas especificamente para degradar outro composto menos complexo e encontrado em maior concentração, como os carboidratos do extrato de algas, os quais são energeticamente mais rentáveis. Isto explicaria o aumento da PB, DB e COD_{rem}, assim como a redução da respiração das misturas contendo extrato algal, considerando que uma mesma exo-enzima poderia ser utilizada para metabolizar substratos distintos, aumentando a eficiência de utilização do COD. Desta forma, uma possível explicação para os efeitos não-aditivos encontrados é a ocorrência de co-metabolismo. Farjalla et al (no prelo) também consideraram o processo de co-metabolismo, como o direcionador do sinergismo observado em suas culturas mistas. De Haan (1974) em um experimento com *Pseudomonas* sp mostrou que a presença de ácidos fúlvicos no meio de lactato causa um incremento na taxa de crescimento, sugerindo que o co-metabolismo de compostos orgânicos refratários pode ocorrer. Além disso, neste experimento pode-se perceber que a toxicidade dos produtos da oxidação dos ácidos fúlvicos poderia inviabilizar o sistema enzimático bacteriano, impedindo a metabolização completa destes compostos. Mas, na presença de outros compostos, os produtos da oxidação parcial dos ácidos fúlvicos poderiam ser utilizados como fonte alternativa de C para o crescimento bacteriano.

O fato do tratamento Ca+Sh, também ter apresentado efeitos não-aditivos e super-rendimentos transgressivos para a ECB, pode ser atribuído à redução da atividade bacteriana, já que a combinação dessas duas fontes de C permitiu a redução do COD_{rem}, COD_L e da RB. No entanto, embora estas taxas tenham sido reduzidas, a PB da mistura não foi significativamente diferente das monoculturas, o que permitiu uma melhor eficiência do crescimento bacteriano. O tratamento Sh+Ca originou uma a composição da comunidade bacteriana diferente de seus respectivos meios únicos (Ca e Sh), o que pode ter levado ao melhor desempenho da cultura em meio duplo. Além disso, usando como exemplo o

experimento realizado por De Haan (1974), é possível que o sistema enzimático do bacterioplâncton não consiga metabolizar totalmente os produtos oriundos da oxidação do tratamento SH e/ou estes produtos ao longo do tempo tornam-se muito tóxicos. No entanto, tendo a água da Lagoa Cabiúnas como uma fonte adicional de COD os produtos da oxidação dos substratos orgânicos da bi-cultura podem ter se tornado menos tóxicos para o bacterioplâncton, resultando em melhor ECB.

Outros fatores também podem ter influenciado o melhor desempenho das misturas. Por exemplo, enzimas livres dissolvidas podem estar com sua superfície protéica coberta pelas partes polifenólicas das substâncias húmicas, o que pode modificar suas propriedades e potencial catalítico, mas também pode agir como proteção contra inibidores e proteólise (Wetzel e Likens 1991). Sendo assim, a presença de compostos húmicos poderia aumentar a “vida útil” das exo-enzimas, reduzindo assim a taxa de produção das mesmas e a energia gasta com este processo. O efeito estimulante da presença das substâncias húmicas sobre o crescimento também pode ser explicado em termos do aumento da disponibilidade de elementos essenciais para as bactérias (micronutrientes) através da quelação (Schnitzer & Skinner, 1963).

Além disso, considerando que a composição da matéria orgânica pode alterar a comunidade aquática microbiana (Pinhassi et al. 1999, Findlay et al. 2003), uma maior diversidade de compostos na mistura poderia suportar uma comunidade bacteriana mais diversa e com taxas metabólicas mais altas (Carlson et al. 2002, Szabo et al. 2007). No entanto, embora o tratamento Ca+Sh tenha apresentado uma composição bacteriana diferente de suas respectivas monoculturas, de forma geral a similaridade entre as comunidades bacterianas das diferentes misturas não explicam as diferenças encontradas entre os parâmetros e as taxas dos diferentes tratamentos. Isto porque, tratamentos com composição similar apresentaram parâmetros e taxas com magnitude diferentes, assim como tratamentos com composição dissimilares apresentaram parâmetros e taxas estatisticamente iguais. Este fato sugere que os efeitos não-aditivos encontrados se devem às características de cada mistura e não à composição da comunidade bacteriana. Talvez exista uma grande redundância funcional entre as comunidades bacterianas dos tratamentos. Embora seja possível encontrar comunidades bacterianas em que seus componentes sejam complementares, muitas espécies bacterianas são funcionalmente

redundantes quando testadas em substratos individuais (Yin et al. 2000). Ou seja, embora algumas misturas tenham apresentado comunidades com composições distintas, a redundância funcional entre seus componentes pode ser muito grande, de modo que não tenha sido possível observar uma relação entre as magnitudes dos processos e a composição da comunidade bacteriana.

O estabelecimento de vias exatas dos processos relacionados ao metabolismo bacteriano torna-se muito difícil devido as limitações de observação, principalmente relacionadas à escala e às metodologias existentes. A avaliação das taxas de PB e RB é uma maneira simplista de avaliar os inúmeros processos que podem ocorrer em escala microbiana na coluna d'água. Para se estabelecerem as rotas exatas são necessários estudos sobre os aspectos moleculares e bioquímicos do metabolismo do bacterioplâncton. Apesar destas dificuldades, podemos concluir que o número de fontes de COD influencia a magnitude dos processos bacterianos, reduzindo a RB e aumentando a PB, DB, ECB e CODrem. E que indubitavelmente a mistura de fontes de COD de origens distintas produz antagonismo em relação à RB e de sinergismo em relação a ECB. Ou melhor, efeitos complementares entre as fontes de C presentes no meio aquático possibilitam uma maior eficiência na utilização do COD, tanto autóctone quanto alóctone. Além disso, a variação na composição da comunidade bacteriana não explica a maioria dos efeitos não-aditivos encontrados, o que nos leva a crer que possa existir uma grande redundância funcional entre o bacterioplâncton. Em geral, os efeitos não-aditivos encontrados se devem às características de cada mistura e não à composição da comunidade bacteriana.

Embora a PB possa ser considerada um importante elo entre o COD e os consumidores de níveis tróficos superiores (Azam et al. 1983), alguns autores apontam que a produtividade do bacterioplâncton é relativamente baixa, não sendo capaz de sustentar de forma significativa os níveis tróficos superiores (Ducklow et al. 1986, Cole et al. 1992, Kritzberg et al. 2005, Stepanauskas et al. 2005, Cole et al. 2006). Estes autores consideram que mesmo tendo capacidade de consumir uma quantidade considerável de COD, o bacterioplâncton tem uma ECB baixa, convergindo uma grande parte do COD consumido para a respiração, especialmente em sistemas oligotróficos (del Giorgio e Cole 1998, Farjalla et al. 2002b, Kritzberg et al. 2004). No entanto, se a interação entre diferentes substratos orgânicos pode reduzir a RB e aumentar a ECB, talvez variações sazonais

relacionadas à entrada de material alóctone e a mudanças na concentração e qualidade do material autóctone, possam aumentar a contribuição do bacterioplâncton no seu papel de elo alimentar entre o COD e os níveis tróficos superiores.

Discussão e Conclusão Geral

As bactérias heterotróficas receberam grande atenção nas últimas décadas tanto por seu papel na decomposição e remineralização da matéria orgânica e nutrientes (Kritzberg et al. 2005), quanto pela sua participação como elo microbiano entre o COD e os níveis tróficos superiores (Azam et al. 1983). Uma infinidade de fatores (ascendentes e descendentes) reconhecidamente afetam a comunidade bacteriana nos ecossistemas aquáticos, incluindo predação, parasitismo, disponibilidade de nutrientes inorgânicos e disponibilidade de carbono orgânico dissolvido (COD), dentre outros. No entanto, embora existam inúmeros estudos a cerca da regulação do bacterioplâncton, ainda há muitas incertezas sobre como alguns fatores podem influenciar a comunidade bacteriana. Pouco se sabe sobre os efeitos diretos e indiretos de vertebrados sobre o bacterioplâncton. Além disso, embora o efeito da disponibilidade de recurso sobre o metabolismo bacteriano tenha sido intensamente estudado, poucos estudos consideram a interação entre as diferentes fontes de matéria orgânica como um fator importante para regulação. Levando em consideração este cenário o presente estudo teve como objetivos avaliar através de abordagens experimentais: 1) Os efeitos individuais e interativos da disponibilidade de recursos (adição de N e P) e da configuração da teia alimentar (presença de um peixe onívoro) na magnitude da produção bacteriana em uma lagoa húmica (Capítulo I) e 2) A resposta do metabolismo bacteriano à presença de três fontes de COD distintas e de suas possíveis combinações; assim como a ocorrência de efeitos não-aditivos proporcionados pela combinação das mesmas (Capítulo II).

No experimento em mesocosmos (Capítulo I), observamos que tanto a adição de nutrientes quanto a presença do peixe onívoro tiveram um efeito positivo sobre a PB, no entanto, o controle ascendente (disponibilidade de nutrientes inorgânicos) foi mais forte do que o efeito indireto do controle descendente (presença do peixe). A disponibilidade das formas inorgânicas de N e P foi, aparentemente, o fator mais importante na determinação

direta da PB em nosso experimento. Além disso, observamos que o efeito da adição de nutrientes independe da configuração da teia alimentar aquática (com ou sem peixe). Considerando a PB o produto da taxa de crescimento bacteriano e a biomassa (Pace e Cole 1996), e que Cladoceras e copepodas Cyclopida que apresentaram um efeito positivo denso-dependente sobre a PB. Acreditamos que estes microcrustáceos exerceram um estímulo positivo indireto sobre a comunidade bacteriana em vez de um controle descendente, provavelmente consumindo predadores potenciais das bactérias, como por exemplo os protozoários. Embora individualmente a adição de nutrientes e a presença do peixe tenha apresentado um efeito positivo na PB, a interação entre estes dois fatores não foi significativa, possivelmente pelo fato do efeito do peixe só ser significativo em condições de baixa disponibilidade de nutrientes. A reciclagem de nutrientes, proporcionada pelo comportamento onívoro de cadeias-múltiplas (sensu, Vadeboncoeur et al. 2005), provavelmente é o principal mecanismo que explica o efeito positivo apresentado pela presença do peixe em condições de baixa concentração de nutrientes. O nosso argumento é reforçado pelo fato de *H. bifasciatus* ter forrageado tanto sobre os invertebrados bentônicos quanto sobre o perifíton (dados não apresentados). Sendo assim, a comunidade bacteriana da Lagoa Cabiúnas é fortemente influenciada pela disponibilidade de recursos, no entanto, esta disponibilidade pode ser regulada tanto por fatores ascendentes quanto descendentes, dependendo da condição trófica do ecossistema.

No experimento em microcosmos (Capítulo II), onde avaliamos a influência de fontes de COD de diferentes origens, observamos que o número dessas influencia a magnitude dos processos bacterianos, reduzindo a RB e aumentando a PB, DB, ECB e CODrem. Indubitavelmente, efeitos complementares entre as fontes de C presentes no meio aquático possibilitam uma maior eficiência na utilização do COD tanto autóctone quanto alóctone, reduzindo a RB e aumentando a ECB. Além disso, a variação na composição da comunidade bacteriana não explica a maioria dos efeitos não-aditivos encontrados, o que nos leva a crer que os efeitos não-aditivos encontrados se devem as características de cada mistura e não a composição da comunidade bacteriana de cada tratamento. Embora não possamos identificar o mecanismo responsável pelo efeito de complementaridade entre as fontes de C, consideramos o co-metabolismo das diferentes fontes de C, a interação entre substâncias húmicas e as exo-enzimas produzidas pelas bactérias e a propriedade de

quelação (de micronutrientes) apresentada pelas substâncias húmicas. Considerando que nos ambientes aquáticos podemos encontrar uma infinidade de compostos misturados na coluna d'água, e que a dinâmica do COD e das bactérias planctônicas variam sazonalmente nas lagoas costeiras (Farjalla 2003), mudanças proporcionais na contribuição de cada uma das fontes de carbono, sejam elas substâncias húmicas, exudatos do fitoplâncton, lixiviado de macrófitas, exudatos de perifiton, etc, podem individualmente e conjuntamente alterar o metabolismo bacteriano aumentando a contribuição do mesmo como elo alimentar entre o COD e os níveis tróficos superiores.

Neste estudo mostramos que a variação da disponibilidade de recursos, tanto nutrientes inorgânicos quanto diferentes formas de COD, podem alterar o metabolismo bacteriano. Além disso, que a presença de peixes onívoros influencia a PB em condições de baixa disponibilidade de nutrientes (condições normalmente encontradas na lagoa Cabiúnas). Sendo assim, modificações na fauna e flora pelágica e nas concentrações, qualidade e diversidade das fontes de COD podem influenciar a comunidade bacteriana e por sua vez, os processos ecossistêmicos em que as mesmas estão envolvidas. Estas modificações podem ocorrer de forma natural (gradientes longitudinais de salinidade, variações temporais nas características físico-químicas, descarga de rios tributários, precipitação, evaporação, etc) (Esteves 1998), mas também através da influência antrópica (despejo de esgotos, aberturas artificiais da barra, introdução de espécies, etc). Mesmo estando localizada em uma unidade de conservação, a lagoa está bem próxima dos limites do parque com uma área em crescente processo de ocupação, sendo freqüentemente afetada por aberturas da barra de areia que a separa do mar bem como possíveis despejos pontuais de esgoto (Suhett 2007).

Aproximadamente 12% da costa da América do Sul é composta por lagoas costeiras (Güneç e Wolflin 2004). E a presença destas lagoas estimula o desenvolvimento regional e subsidia populações tradicionais locais com benefícios econômicos (pesca) e estéticos (beleza cênica, lazer) (Esteves et al. 2008). Como consequência grande parte das lagoas costeiras se localizam em regiões densamente povoadas, o que coloca estes ecossistemas entre os mais impactados do mundo (Esteves et al. 2008). Considerando que a eutrofização e a adição e extinção de predadores estão ocorrendo em taxas alarmantes nos ecossistemas aquáticos continentais no mundo todo (Dudgeon et al. 2006) e que as comunidades

microbianas são componentes chaves para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos, devemos considerar futuramente, como estas comunidades irão responder a estas influências antrópicas.

Estudos *a posteriori* sobre os fatores reguladores da comunidade bacteriana planctônica devem considerar os efeitos interativos entre os diferentes recursos, principalmente entre as diferentes fontes de COD encontradas no ambiente aquático, assim como os efeitos dos macro e micro-componentes da teia alimentar. Para isso, é necessário que os pesquisadores busquem uma visão integradora do ecossistema aquático. É impossível entender os mecanismos que regulam as teias alimentares microbianas com idéias lineares, principalmente em ecossistemas aquáticos continentais tropicais, onde o hábito onívoro é predominante. “... devemos ter em mente que o estudo das teias alimentares microbianas é fundamentado em questões gerais sobre a estrutura e função dos ecossistemas. Nesse espírito, é crucial que os estudos microbianos não se tornem uma disciplina ultra-especializada que soluciona os problemas somente dos ecólogos microbianos” (Pace e Cole 1994).

Referências Bibliográficas

- Adrian, R. e Schneider-Olt, B. (1999). Top-down effects of crustacean zooplankton on pelagic microorganisms in a mesotrophic lake. *Journal of Plankton Research* 21:2175-2190.
- Agasild, H. e Nøges, T. (2005). Cladoceran and rotifer grazing on bacteria and phytoplankton in two shallow eutrophic lakes: in situ measurement with fluorescent microspheres. *Journal of Plankton Research* 27:1155-1174.
- Amon, R. M. W. e Benner, R. (1996). Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 41:41-51.
- Arvola, L. e Tilonen, T. (1998). Effects of allochthonous dissolved organic matter and inorganic nutrients on the growth of bacteria and algae from a highly humic lake. *Environment International* 24:509-520.
- Attayde, J. L. e Hansson, L. A. (2001). Fish-mediated nutrient recycling and the trophic cascade in lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 58:1924-1931.
- Auer, B., Elzer, U. e Arndt, H. (2004). Comparison of pelagic food webs in lakes along a trophic gradient and with seasonal aspects: influence of resource and predation. *Journal of Plankton Research* 26:697-709.

- Azam, F., Fenchel, T., Field, J. G., Gray, J. S., Meyerreil, L. A. e Thingstad, F. (1983). The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology-Progress Series* 10:257-263.
- Balogh, K. V. e Voros, L. (1997). High bacterial production in hypertrophic shallow reservoirs rich in humic substances. *Hydrobiologia* 342:63-70.
- Benndorf, J., Boing, W., Koop, J. e Neubauer, I. (2002). Top-down control of phytoplankton: the role of time scale, lake depth and trophic state. *Freshwater Biology* 47:2282-2295.
- Bettarel, Y., Sime-Ngando, T., Amblard, C. e Dolan, J. (2004). Viral activity in two contrasting lake ecosystems. *Applied and Environmental Microbiology* 70:2941-2951.
- Biddanda, B., Ogdahl, M. e Cotner, J. (2001). Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnology and Oceanography* 46:730-739.
- Borer, E. T., Halpern, B. S. e Seabloom, E. W. (2006). Asymmetry in community regulation: Effects of predators and productivity. *Ecology* 87:2813-2820.
- Bratbak, G. e Thingstad, T. F. (1985). Phytoplankton-Bacteria Interactions - an Apparent Paradox - Analysis of a Model System with Both Competition and Commensalism. *Marine Ecology-Progress Series* 25:23-30.
- Burns, C. W. e Schallenberg, M. (1996). Relative impacts of copepods, cladocerans and nutrients on the microbial food web of a mesotrophic lake. *Journal of Plankton Research* 18:683-714.
- Bussmann, I. (1999). Bacterial utilization of humic substances from the Arctic Ocean. *Aquatic Microbial Ecology* 19:37-45.
- Caramaschi, E. P., Sánchez-Botero, J. I., Hollanda-Carvalho, P., Brandão, C. A. S., Soares, C. L., Novaes, J. L. C. e Bartolette, R. (2004). Peixes das lagoas costeiras do norte fluminense: estudo de caso. *in* Rocha, C. F. D., Esteves, F. A. e Scarano, F. R., editors. *Pesquisas de Longa Duração na Restinga de Jurubatiba: ecologia, história natural e conservação*. Rima Editora, Rio de Janeiro: 376.
- Carlson, C. A., Giovannoni, S. J., Hansell, D. A., Goldberg, S. J., Parsons, R., Otero, M. P., Vergin, K. e Wheeler, B. R. (2002). Effect of nutrient amendments on bacterioplankton production, community structure, and DOC utilization in the northwestern Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 30:19-36.
- Carpenter, S. R., Cole, J. J., Hodgson, J. R., Kitchell, J. F., Pace, M. L., Bade, D., Cottingham, K. L., Essington, T. E., Houser, J. N. e Schindler, D. E. (2001). Trophic cascades, nutrients, and lake productivity: whole-lake experiments. *Ecological Monographs* 71:163-186.
- Carpenter, S. R., Cole, J. J., Pace, M. L., Van de Bogert, M., Bade, D. L., Bastviken, D., Gille, C. M., Hodgson, J. R., Kitchell, J. F. e Kritzberg, E. S. (2005). Ecosystem subsidies: Terrestrial support of aquatic food webs from C-13 addition to contrasting lakes. *Ecology* 86:2737-2750.
- Carvalho, T. P. e Bertaco, V. A. (2006). Two new species of Hyphessobrycon (Teleostei: Characidae) from the upper rio Tapajos basin on Chapada dos Percis, Central Brazil. *Neotropical Ichthyology* 3:301-308.

- Castelo-Branco, C. W. (1998). Composição e aspectos ecológicos das comunidades zooplantônicas nas lagoas Imboassica, Cabiúnas e Comprida. *in* Esteves, F. A., editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Nupem/UFRJ, Rio de Janeiro: 464.
- Castillo, M. M., Kling, G. W. e Allan, J. D. (2003). Bottom-up controls on bacterial production in tropical lowland rivers. *Limnology and Oceanography* 48:1466-1475.
- Chróst, R. J. (1990). Microbial ectoenzymes in aquatic environments. *in* Overbeck, J. e Chróst, R. J., editors. *Aquatic Microbial Ecology*. Springer-Verlag, New York: 47-78.
- Chrzanowski, T. H., Sterner, R. W. e Elser, J. J. (1995). Nutrient Enrichment and Nutrient Regeneration Stimulate Bacterioplankton Growth. *Microbial Ecology* 29:221-230.
- Cimblaris, A. C. P. e Kalff, J. (1998). Planktonic bacterial respiration as a function of C : N : P ratios across temperate lakes. *Hydrobiologia* 384:89-100.
- Cochran-Stafira, D. L. e von Ende, C. N. (1998). Integrating bacteria into food webs: Studies with *Sarracenia purpurea* inquilines. *Ecology* 79:880-898.
- Cole, J. J. (1982). Interactions between bacteria and algae in aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13:291-314.
- Cole, J. J., Caraco, N. F. e Peierls, B. L. (1992). Can Phytoplankton Maintain a Positive Carbon Balance in a Turbid, Fresh-Water, Tidal Estuary. *Limnology and Oceanography* 37:1608-1617.
- Cole, J. J., Carpenter, S. R., Pace, M. L., Van de Bogert, M. C., Kitchell, J. L. e Hodgson, J. R. (2006). Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. *Ecology Letters* 9:558-568.
- Cole, J. J., Findlay, S. e Pace, M. L. (1988). Bacterial Production in Fresh and Saltwater Ecosystems - a Cross-System Overview. *Marine Ecology-Progress Series* 43:1-10.
- Cole, J. J., Pace, M. L., Carpenter, S. R. e Kitchell, J. F. (2000). Persistence of net heterotrophy in lakes during nutrient addition and food web manipulations. *Limnology and Oceanography* 45:1718-1730.
- Dang, C. K., Chauvet, E. e Gessner, M. O. (2005). Magnitude and variability of process rates in fungal diversity-litter decomposition relationships. *Ecology Letters* 8:1129-1137.
- Dauner, M., Storni, T. e Sauer, U. (2001). *Bacillus subtilis* metabolism and energetics in carbon-limited and excess-carbon chemostat culture. *Journal of Bacteriology* 183:7308-7317.
- De Haan, H. (1974). Effect of a fulvic acid fraction on the growth of a *Pseudomonas* from Tjeukemeer (The Netherlands). *Freshwater Biology* 4:301-310.
- de Mello, S. e Suzuki, M. S. (1998). Variações temporais e espaciais do fitoplâncton das lagoas Imboassica, Cabiúnas e Comprida. *in* Esteves, F. A., editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Nupem/UFRJ, Rio de Janeiro: 464.

- del Giorgio, P. A. e Cole, J. J. (1997). Photosynthesis or planktonic respiration? Reply. *Nature* 388:132-133.
- del Giorgio, P. A. e Cole, J. J. (1998). Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 29:503-541.
- del Giorgio, P. A., Cole, J. J., Caraco, N. F. e Peters, R. H. (1999). Linking planktonic biomass and metabolism to net gas fluxes in northern temperate lakes. *Ecology* 80:1422-1431.
- Del Giorgio, P. A., Cole, J. J. e Cimleris, A. (1997). Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. *Nature* 385:148-151.
- Ducklow, H. W., Purdie, D. A., Williams, P. J. L. e Davies, J. M. (1986). Bacterioplankton - a Sink for Carbon in a Coastal Marine Plankton Community. *Science* 232:865-867.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Leveque, C., Naiman, R. J., Prieur-Richard, A. H., Soto, D., Stiassny, M. L. J. e Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* 81:163-182.
- Eiler, A., Langenheder, S., Bertilsson, S. e Tranvik, L. J. (2003). Heterotrophic bacterial growth efficiency and community structure at different natural organic carbon concentrations. *Applied and Environmental Microbiology* 69:3701-3709.
- Elser, J. J., Stabler, L. B. e Hassett, R. P. (1995). Nutrient Limitation of Bacterial-Growth and Rates of Bacterivory in Lakes and Oceans - a Comparative-Study. *Aquatic Microbial Ecology* 9:105-110.
- Esteves, F. A. (1998). Lagoas Costeiras: origem, funcionamento e possibilidades de manejo. *in* Esteves, F. A., editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Nupem/UFRJ, Rio de Janeiro: 464.
- Esteves, F. A., Caliman, A., Santangelo, J. M., Guariento, R. D., Farjalla, V. F. e Bozelli, R. L. (2008). Neotropical coastal lagoons: An appraisal of their biodiversity, functioning, threats and conservation management. *Brazilian Journal of Biology* 68:967-981.
- Farjalla, V. F. (1998). Nutrientes limitantes ao crescimento do bacterioplâncton nas lagoas Carapebus, Comprida, Cabiúnas e Iodada. *in* Esteves, F. A., editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Nupem/UFRJ, Rio de Janeiro: 464.
- Farjalla, V. F. (2003). Fontes de matéria orgânica dissolvida (MOD) e seu consumo pelas bactérias planctônicas em Lagoas Costeiras e em um Lago Amazônico. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Farjalla, V. F., Amado, A. M. e Suhett, A. L. (no prelo). Dissolved humic substances – Reviewing DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems *Environmental Science & Pollution Research*:1-10.
- Farjalla, V. F., Azevedo, D. A., Esteves, F. A., Bozelli, R. L., Roland, F. e Enrich-Prast, A. (2006). Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake. *Microbial Ecology* 52:334-344.

- Farjalla, V. F., Esteves, F. A., Bozelli, R. L. e Roland, F. (2002a). Nutrient limitation of bacterial production in clear water Amazonian ecosystems. *Hydrobiologia* 489:197-205.
- Farjalla, V. F., Faria, B. M. e Esteves, F. A. (2002b). The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons. *Archiv Fur Hydrobiologie* 156:97-119.
- Farjalla, V. F., Faria, B. M., Esteves, F. A. e Bozelli, R. L. (2001). Bacterial density and biomass, and relations with abiotic factors, in 14 coastal lagoons of Rio de Janeiro State. *in* Faria, B. M., Farjalla, V. F. e Esteves, F. A., editors. *Oecologia Brasiliensis: Aquatic Microbial Ecology in Brazil*. UFRJ, Rio de Janeiro: 65-76.
- Fernando, C. H. (1991). Impacts of fish introductions in tropical Asia and America *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 48:24–32.
- Findlay, S. E. G., Sinsabaugh, R. L., Sobczak, W. V. e Hoostal, M. (2003). Metabolic and structural response of hyporheic microbial communities to variations in supply of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 48:1608-1617.
- Fischer, U. R. e Velimirov, B. (2002). High control of bacterial production by viruses in a eutrophic oxbow lake. *Aquatic Microbial Ecology* 27:1-12.
- Forrest, J. e Arnott, S. E. (2007). Variability and predictability in a zooplankton community: The roles of disturbance and dispersal. *Ecoscience* 14:137-145.
- Frost, T. M., Ulanowicz, R. E., Blumenshine, S. C., Allen, T. F. H., Taub, F. e Rodgers, J. H. (2001). Scaling issues in experimental ecology: freshwater ecosystems. *Scaling relations in experimental ecology*. Columbia University Press, New York:253–280.
- Gasol, J. M., Simons, A. M. e Kalff, J. (1995). Patterns in the Top-Down Versus Bottom-up Regulation of Heterotrophic Nanoflagellates in Temperate Lakes. *Journal of Plankton Research* 17:1879-1903.
- Gasol, J. M. e Vaque, D. (1993). Lack of Coupling between Heterotrophic Nanoflagellates and Bacteria - a General Phenomenon across Aquatic Systems. *Limnology and Oceanography* 38:657-665.
- Goldman, J. C., Caron, D. A. e Dennett, M. R. (1987). Regulation of Gross Growth Efficiency and Ammonium Regeneration in Bacteria by Substrate C-N Ratio. *Limnology and Oceanography* 32:1239-1252.
- Golterman, H. L., Clymo, R. S. e Ohnstad, M. A. M. (1978). *Methods for physical and chemical analysis of freshwater*. Blackwell Scientific Publication, Oxford.
- Gude, H. (1986). Loss Processes Influencing Growth of Planktonic Bacterial-Populations in Lake Constance. *Journal of Plankton Research* 8:795-810.
- Gude, H. (1988). Direct and Indirect Influences of Crustacean Zooplankton on Bacterioplankton of Lake Constance. *Hydrobiologia* 159:63-73.
- Güneç, I. E. e Wolflin, J. P. (2004). *Coastal Lagoons: ecosystems processes and modeling for sustainable use and development*. CRC Press, New York.

- Gurevitch, J. e Hedges, L. V. (1993). Meta-analysis: combining the results of independent experiments. *in* Scheiner, S. M. e Gurevitch, J., editors. *Design and Analysis of Ecological Experiments*. Chapman and Hall,, New York: 378–398.
- Hall, E. K. e Cotner, J. B. (2007). Interactive effect of temperature and resources on carbon cycling by freshwater bacterioplankton communities. *Aquatic Microbial Ecology* 49:35-45.
- Hansen, A. M. (2000). Response of ciliates and *Cryptomonas* to the spring cohort of a cyclopoid copepod in a shallow hypereutrophic lake. *Journal of Plankton Research* 22:185-203.
- Hector, A. (1998). The effect of diversity on productivity: detecting the role of species complementarity. *Oikos* 82:597-599.
- Hedges, J. I., Cowie, G. L., Richey, J. E., Quay, P. D., Benner, R., Strom, M. e Forsberg, B. R. (1994). Origins and Processing of Organic-Matter in the Amazon River as Indicated by Carbohydrates and Amino-Acids. *Limnology and Oceanography* 39:743-761.
- Hessen, D. O. e Andersen, T. (1990). Bacteria as a Source of Phosphorus for Zooplankton. *Hydrobiologia* 206:217-223.
- Hobbie, J. E., Daley, R. J. e Jasper, S. (1977). Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* 33:1225-1228.
- Hunt, A. P., Parry, J. D. e Hamilton-Taylor, J. (2000). Further evidence of elemental composition as an indicator of the bioavailability of humic substances to bacteria. *Limnology and Oceanography* 45:237-241.
- Jacquet, S., Domaizon, I., Personnic, S., Ram, A. S. P., Hedal, M., Duhamal, S. e Sime-Ngando, T. (2005). Estimates of protozoan- and viral-mediated mortality of bacterioplankton in Lake Bourget (France). *Freshwater Biology* 50:627-645.
- Jeppesen, E., Sondergaard, M., Jensen, J. P., Mortensen, E., Hansen, A. M. e Jorgensen, T. (1998). Cascading trophic interactions from fish to bacteria and nutrients after reduced sewage loading: An 18-year study of a shallow hypertrophic lake. *Ecosystems* 1:250-267.
- Jeppesen, E., Sondergaard, M., Sortkjaer, O. e Erlandsen, M. (1992). Trophic cascade on heterotrophic bacterioplankton production in two shallow fish-manipulated lakes.
- Jonsson, A., Karlsson, J. e Jansson, M. (2003). Sources of carbon dioxide supersaturation in clearwater and humic lakes in northern Sweden. *Ecosystems* 6:224-235.
- Jonsson, A., Meili, M., Bergstrom, A. K. e Jansson, M. (2001). Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Ortrasket, N. Sweden). *Limnology and Oceanography* 46:1691-1700.
- Jumars, P. A., Penry, D. L., Baross, J. A., Perry, M. J. e Frost, B. W. (1989). Closing the Microbial Loop - Dissolved Carbon Pathway to Heterotrophic Bacteria from Incomplete Ingestion, Digestion and Absorption in Animals. *Deep-Sea Research Part a-Oceanographic Research Papers* 36:483-495.
- Jürgens, K. (1994). The impact of *Daphnia* on microbial food webs- a review. *Mar. Microb. Food Webs* 8:295-324.

- Jurgens, K. e Jeppesen, E. (1998). Cascading Effects on Microbial Food Web Structure in Dense Macrophyte Bed. *in* Jeppesen, E., Sondergaard, M. O. e Christoffersen, K., editors. *The Structuring role of Submerged Macrophytes in lakes*. Ecological Studies Springer Verlag: 262 - 273.
- Kisand, V. e Zingel, P. (2000). Dominance of ciliate grazing on bacteria during spring in a shallow eutrophic lake. *Aquatic Microbial Ecology* 22:135-142.
- Kolding, J. (1993). Population dynamics and life-history styles of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, in Ferguson's Gulf, Lake Turkana, Kenya. *Environmental Biology of Fishes* 37: 25-46.
- Kragh, T., Sondergaard, M. e Tranvik, L. (2008). Effect of exposure to sunlight and phosphorus-limitation on bacterial degradation of coloured dissolved organic matter (CDOM) in freshwater. *Fems Microbiology Ecology* 64:230-239.
- Kritzberg, E. S., Cole, J. J., Pace, M. L., Graneli, W. e Bade, D. L. (2004). Autochthonous versus allochthonous carbon sources of bacteria: Results from whole-lake C-13 addition experiments. *Limnology and Oceanography* 49:588-596.
- Kritzberg, E. S., Cole, J. J., Pace, M. M. e Graneli, W. (2006). Bacterial growth on allochthonous carbon in humic and nutrient-enriched lakes: Results from whole-lake C-13 addition experiments. *Ecosystems* 9:489-499.
- Kritzberg, E. S., Cole, J. J., Pace, M. M. e Granéli, W. (2005). Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs? *Aquatic Microbial Ecology* 38:103-111.
- Kritzenberg, E. S., Cole, J. J., Pace, M. L. e Granéli, W. (2005). Does authochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs? *Aquat Microb Ecol* 38:103-111.
- Kroer, N. (1993). Bacterial-Growth Efficiency on Natural Dissolved Organic-Matter. *Limnology and Oceanography* 38:1282-1290.
- Lawton, J. H. (1995). Ecological experiments with model systems. *Science* 269:328-331.
- Lennon, J. T. e Cottingham, K. L. (2008). Microbial productivity in variable resource environments. *Ecology* 89:1001-1014.
- Lennon, J. T. e Pfaff, L. E. (2005). Source and supply of terrestrial organic matter affects aquatic microbial metabolism. *Aquatic Microbial Ecology* 39:107-119.
- Loreau, M. (1998). Separating sampling and other effects in biodiversity experiments. *Oikos* 82:600-602.
- Loreau, M. (2001). Microbial diversity, producer-decomposer interactions and ecosystem processes: a theoretical model. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 268:303-309.

- Matz, C., Boenigk, J., Arndt, H. e Jurgens, K. (2002). Role of bacterial phenotypic traits in selective feeding of the heterotrophic nanoflagellate *Spumella* sp. *Aquatic Microbial Ecology* 27:137-148.
- McCknigh, D. M. e Aiken, G. R. (1998). Sources and age of aquatic humus. *in* Hessen, D. O. e Tranvik, L. J., editors. *Ecological Studies: Aquatic humic substances*. Springer-Verlag, Berlin: 9-39.
- Moran, M. A. e Hodson, R. E. (1990). Bacterial Production on Humic and Nonhumic Components of Dissolved Organic-Carbon. *Limnology and Oceanography* 35:1744-1756.
- Muylaert, K., Van der Gucht, K., Vloemans, N., De Meester, L., Gillis, M. e Vyverman, W. (2002). Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in four eutrophic shallow lakes. *Applied and Environmental Microbiology* 68:4740-4750.
- Naeem, S. (2001). Experimental validity and ecological scale as criteria for evaluating research programs. *in* Gardner, R. H., Kemp, W. M., Kennedy, V. S. e Petersen, J. E., editors. *Scaling relations in experimental ecology*. Columbia University Press, New York: 223-250.
- Nubel, U., Engelen, B., Felske, A., Snaidr, J., Wieshuber, A., Amann, R. I., Ludwig, W. e Backhaus, H. (1996). Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology* 178:5636-5643.
- Orwin, K. H., Wardle, D. A. e Greenfield, L. G. (2006). Ecological consequences of carbon substrate identity and diversity in a laboratory study. *Ecology* 87:580-593.
- Otsuki, A., Park, J. C., Fukushima, T., Aizaki, M. e Kong, D. S. (2000). Effect of omnivorous fish on the production of labile and refractory dissolved organic carbon by zooplankton excretion in a simulated eutrophic lake. *Water Research* 34:230-238.
- Pace, M., Cole, J., Carpenter, S. e Kitchell, J. (1999). Trophic cascades revealed in diverse ecosystems. *TREE* 14:483-488.
- Pace, M. L. e Cole, J. J. (1994). Comparative and Experimental Approaches to Top-Down and Bottom-up Regulation of Bacteria. *Microbial Ecology* 28:181-193.
- Pace, M. L. e Cole, J. J. (1996). Regulation of bacteria by resources and predation tested in whole-lake experiments. *Limnology and Oceanography* 41:1448-1460.
- Pace, M. L. e Funke, E. (1991). Regulation of planktonic microbial communities by nutrients and herbivores. *Ecology* 72:904-914.
- Pace, M. L., McManus, G. B. e Findlay, S. E. G. (1990). Planktonic Community Structure Determines the Fate of Bacterial Production in a Temperate Lake. *Limnology and Oceanography* 35:795-808.
- Pedros-Alio, C., Calderon-Paz, J. I. e Gasol, J. M. (2000). Comparative analysis shows that bacterivory, not viral lysis, controls the abundance of heterotrophic prokaryotic plankton. *Fems Microbiology Ecology* 32:157-165.

- Peduzzi, P. e Herndl, G. J. (1992). Zooplankton Activity Fueling the Microbial Loop - Differential Growth-Response of Bacteria from Oligotrophic and Eutrophic Waters. *Limnology and Oceanography* 37:1087-1092.
- Perdue, E. M. (1998). Chemical composition, structure and metal binding properties. *in* Hessen, D. O. e Tranvik, L. J., editors. *Aquatic Humic Substances: Ecology and Biogeochemistry*. Springer-Verlag, Berlin, German: 41-61.
- Pernthaler, J. (2005). Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications (vol 3, pg 537, 2005). *Nature Reviews Microbiology* 3.
- Petrucio, M. M. (1998). Caracterização das lagoas Imboassica, Cabiúnas, Comprida e Carapebus a partir da temperatura, salinidade, condutividade, alcalinidade, O₂ dissolvido, pH, transparência e material em suspensão. *in* Esteves, F. A., editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Nupem/UFRJ, Rio de Janeiro: 464.
- Pinhassi, J., Azam, F., Hemphala, J., Long, R. A., Martinez, J., Zweifel, U. L. e Hagstrom, A. (1999). Coupling between bacterioplankton species composition, population dynamics, and organic matter degradation. *Aquatic Microbial Ecology* 17:13-26.
- Pirlot, S., Unrein, F., Descy, J. P. e Servais, P. (2007). Fate of heterotrophic bacteria in Lake Tanganyika (East Africa). *Fems Microbiology Ecology* 62:354-364.
- Riemann, B. (1985). Potential Importance of Fish Predation and Zooplankton Grazing on Natural-Populations of Fresh-Water Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 50:187-193.
- Rivkin, R. B. e Anderson, M. R. (1997). Inorganic nutrient limitation of oceanic bacterioplankton. *Limnology and Oceanography* 42:730-740.
- Roland, F. e Cole, J. J. (1999). Regulation of bacterial growth efficiency in a large turbid estuary. *Aquatic Microbial Ecology* 20:31-38.
- Russell, J. B. e Cook, G. M. (1995). Energetics of Bacterial-Growth - Balance of Anabolic and Catabolic Reactions. *Microbiological Reviews* 59:48-62.
- Samuelsson, K. e Andersson, A. (2003). Predation limitation in the pelagic microbial food web in an oligotrophic aquatic system. *Aquatic Microbial Ecology* 30:239-250.
- Sánchez-Botero, R. I. (2005). Efeitos de distúrbios naturais e antrópicos sobre a fauna ictífica em lagoas costeiras na região de Macaé. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Sanders, R. W., Caron, D. A. e Berninger, U. G. (1992). Relationships between Bacteria and Heterotrophic Nanoplankton in Marine and Fresh Waters - an Inter-Ecosystem Comparison. *Marine Ecology-Progress Series* 86:1-14.
- Schindler, D. E. e Eby, L. A. (1997). Stoichiometry of fishes and their prey: Implications for nutrient recycling. *Ecology* 78:1816-1831.
- Schindler, D. E. e Scheuerell, M. D. (2002). Habitat coupling in lake ecosystems. *Oikos* 98:177-189.

- Sherr, E. B. e Sherr, B. F. (2002). Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. *Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology* 81:293-308.
- Sigge, D. (2005). *Freshwater Microbiology: biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment*. John Wiley & Sons Ltd, Southern Gate, Chichester, West Sussex, England.
- Simek, K., Bobkova, J., Macek, M., Nedoma, J. e Psenner, R. (1995). Ciliate Grazing on Picoplankton in a Eutrophic Reservoir During the Summer Phytoplankton Maximum - a Study at the Species and Community-Level. *Limnology and Oceanography* 40:1077-1090.
- Sinsabaugh, R. L., Findlay, S., Franchini, P. e Fisher, D. (1997). Enzymatic analysis of riverine bacterioplankton production. *Limnology and Oceanography* 42:29-38.
- Smith, E. M. e Prairie, Y. T. (2004). Bacterial metabolism and growth efficiency in lakes: The importance of phosphorus availability. *Limnology and Oceanography* 49:137-147.
- Soffiati, A. (2000). Aspectos históricos das restingas da eco-região Norte do Estado do Rio de Janeiro - Brasil. *in* Esteves, F. A. e Lacerda, L. D., editors. *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. Núcleo de Pesquisas Ecológicas de Macaé (NUPEM/UFRJ), Rio de Janeiro: 446.
- Sondergaard, M., Theil-Nielsen, J., Christoffersen, K., Schlüter, L., Jeppesen, E. e Sondergaard, M. (1997). Bacterioplankton and carbon turnover in a dense macrophyte canopy. *in* Jeppesen, E., Sondergaard, M., Sondergaard, M. e Christoffersen, K., editors. *The structuring role of submerged macrophytes in lakes*. Springer-Verlag, New York.
- Starling, F., Lazzaro, X., Cavalcanti, C. e Moreira, R. (2002). Contribution of omnivorous tilapia to eutrophication of a shallow tropical reservoir: evidence from a fish kill. *Freshwater Biology* 47:2443-2452.
- Stepanauskas, R., Moran, M. A., Bergamasch, B. A. e Hollibaugh, J. T. (2005). Sources, bioavailability, and photoreactivity of dissolved organic carbon in the Sacramento-San Joaquin River Delta. *Biogeochemistry* 74:131-149.
- Stephen, D., Balayla, D. M., Becares, E., Collings, S. E., Fernandez-Alaez, C., Fernandez-Alaez, M., Ferriol, C., Garcia, P., Goma, J., Gyllstrom, M., Hansson, L. A., Hietala, J., Kairesalo, T., Miracle, M. R., Romo, S., Rueda, J., Stahl-Delbanco, A., Svensson, M., Vakkilainen, K., Valentin, M., Van de Bund, W. J., Van Donk, E., Vicente, E., Villena, M. J. e Moss, B. (2004). Continental-scale patterns of nutrient and fish effects on shallow lakes: introduction to a pan-European mesocosm experiment. *Freshwater Biology* 49:1517-1524.
- Suhett, A. L. (2007). Efeitos da biodiversidade de macrófitas aquáticas sobre sua decomposição. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Suhett, A. L., Amado, A. M., Bozelli, R. L., Esteves, F. A. e Farjalla, V. F. (2006). The role of dissolved organic carbon (DOC) photo-oxidation in aquatic ecosystems. *Oecologia Brasiliensis* 10:186-204.
- Sun, L., Perdue, E. M., Meyer, J. L. e Weis, J. (1997). Use of elemental composition to predict bioavailability of dissolved organic matter in a Georgia river. *Limnology and Oceanography* 42:714-721.

- Szabo, K. E., Itor, P. O. B., Bertilsson, S., Tranvik, L., Eiler, A. e Iy. (2007). Importance of rare and abundant populations for the structure and functional potential of freshwater bacterial communities. *Aquatic Microbial Ecology* 47:1-10.
- Thingstad, T. F. (2000). Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnology and Oceanography* 45:1320-1328.
- Thingstad, T. F., Zweifel, U. L. e Rassoulzadegan, F. (1998). P limitation of heterotrophic bacteria and phytoplankton in the northwest Mediterranean. *Limnology and Oceanography* 43:88-94.
- Thouvenot, A., Richardot, M., Debroas, D. e Devaux, J. (1999). Bacterivory of metazooplankton, ciliates and flagellates in a newly flooded reservoir. *Journal of Plankton Research* 21:1659-1679.
- Toolan, T., Wehr, J. D. e Findlay, S. (1991). Inorganic Phosphorus Stimulation of Bacterioplankton Production in a Meso-Eutrophic Lake. *Applied and Environmental Microbiology* 57:2074-2078.
- Tranvik, L. J. (1988). Availability of Dissolved Organic-Carbon for Planktonic Bacteria in Oligotrophic Lakes of Differing Humic Content. *Microbial Ecology* 16:311-322.
- Tranvik, L. J. (1990). Bacterioplankton Growth on Fractions of Dissolved Organic-Carbon of Different Molecular-Weights from Humic and Clear Waters. *Applied and Environmental Microbiology* 56:1672-1677.
- Tranvik, L. J. e Hansson, L. A. (1997). Predator regulation of aquatic microbial abundance in simple food webs of sub-Antarctic lakes. *Oikos* 79:347-356.
- Tulonen, T. (2004). Role of allochthonous and autochthonous dissolved organic matter (DOM) as a carbon source for bacterioplankton in boreal humic lakes. University of Helsinki, Lammi.
- Turner, J. T. e Roff, J. C. (1993). Trophic levels and trophospecies in marine plankton: lessons from the microbial food. *Mar. Microb. Food Webs* 7:225-248.
- Underwood, A. J. (1997). *Experiments in Ecology: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press.
- Vadeboncoeur, Y., McCann, K. S., VanderZanden, M. J. e Rasmussen, J. B. (2005). Effects of multi-chain omnivory on the strength of trophic control in lakes. *Ecosystems* 8:682-693.
- Vadeboncoeur, Y., Vander Zanden, M. J. e Lodge, D. M. (2002). Putting the lake back together: Reintegrating benthic pathways into lake food web models. *Bioscience* 52:44-54.
- Vallino, J. J., Hopkinson, C. S. e Hobbie, J. E. (1996). Modeling bacterial utilization of dissolved organic matter: Optimization replaces Monod growth kinetics. *Limnology and Oceanography* 41:1591-1609.
- Vander Zanden, M. J. e Vadeboncoeur, Y. (2002). Fishes as integrators of benthic and pelagic food webs in lakes. *Ecology* 83:2152-2161.

- Vanni, M. J. (1986). Competition in Zooplankton Communities - Suppression of Small Species by *Daphnia-Pulex*. *Limnology and Oceanography* 31:1039-1056.
- Vanni, M. J. (1987). Effects of Nutrients and Zooplankton Size on the Structure of a Phytoplankton Community. *Ecology* 68:624-635.
- Vanni, M. J., Arend, K. K., Bremigan, M. T., Bunnell, D. B., Garvey, J. E., Gonzalez, M. J., Renwick, W. H., Soranno, P. A. e Stein, R. A. (2005). Linking landscapes and food webs: Effects of omnivorous fish and watersheds on reservoir ecosystems. *Bioscience* 55:155-167.
- Vanni, M. J., DeAngelis, D. L., Schindler, D. E. e Huxel, G. R. (2004). Cross-habitat flux of nutrients and detritus. *in* Polis, G. A., Power, M. E. e Huxel, G. R., editors. *Food webs at the landscape level*. The University of Chicago Press, Chicago, USA: 3 -11.
- Vanni, M. J., Flecker, A. S., Hood, J. M. e Headworth, J. L. (2002). Stoichiometry of nutrient recycling by vertebrates in a tropical stream: linking species identity and ecosystem processes. *Ecology Letters* 5:285-293.
- Vanni, M. J. e Layne, C. D. (1997). Nutrient recycling and herbivory as mechanisms in the "top-down" effect of fish on algae in lakes. *Ecology* 78:21-40.
- Vrede, K. (1996). Regulation of bacterioplankton production and biomass in an oligotrophic clearwater lake - The importance of the phytoplankton community. *Journal of Plankton Research* 18:1009-1032.
- Vrede, K., Vrede, T., Isaksson, A. e Karlsson, A. (1999). Effects of nutrients (phosphorous, nitrogen, and carbon) and zooplankton on bacterioplankton and phytoplankton - a seasonal study. *Limnology and Oceanography* 44:1616-1624.
- Wardle, D. A., Bonner, K. I. e Nicholson, K. S. (1997). Biodiversity and plant litter: Experimental evidence which does not support the view that enhanced species richness improves ecosystem function. *Oikos* 79:247-258.
- Weinbauer, M. G. e Hofle, M. G. (1998). Significance of viral lysis and flagellate grazing as factors controlling bacterioplankton production in a eutrophic lake. *Applied and Environmental Microbiology* 64:431-438.
- Weiss, M. e Simon, M. (1999). Consumption of labile dissolved organic matter by limnetic bacterioplankton: the relative significance of amino acids and carbohydrates. *Aquatic Microbial Ecology* 17:1-12.
- Weisse, T. e Frahm, A. (2001). Species-specific interactions between small planktonic ciliates (*Urotricha* spp.) and rotifers (*Keratella* spp.). *Journal of Plankton Research* 23:1329-1338.
- Wetzel, R. G. (2001). *Limnology: lake and river ecosystems*. Academic Press.
- Wetzel, R. G. e Likens, G. E. (1991). *Limnological Analyses*. – Springer-Verlag, NewYork.
- White, P. A., Kalf, J., Rasmussen, J. B. e Gasol, J. M. (1991). The Effect of Temperature and Algal Biomass on Bacterial Production and Specific Growth-Rate in Fresh-Water and Marine Habitats. *Microbial Ecology* 21:99-118.

- Williamson, C. E., Morris, D. P., Pace, M. L. e Olson, A. G. (1999). Dissolved organic carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography* 44:795-803.
- Work, K., Havens, K., Sharfstein, B. e East, T. (2005). How important is bacterial carbon to planktonic grazers in a turbid, subtropical lake? *Journal of Plankton Research* 27:357-372.
- Yin, B., Crowley, D., Sparovek, G., De Melo, W. J. e Borneman, J. (2000). Bacterial functional redundancy along a soil reclamation gradient. *Applied and Environmental Microbiology* 66:4361-4365.
- Zingel, P., Agasild, H., Noges, T. e Kisand, V. (2007). Ciliates are the dominant grazers on pico- and nanoplankton in a shallow, naturally highly eutrophic lake. *Microbial Ecology* 53:134-142.
- Zollner, E., Santer, B., Boersma, M., Hoppe, H. G. e Jurgens, K. (2003). Cascading predation effects of *Daphnia* and copepods on microbial food web components. *Freshwater Biology* 48:2174-2193.

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](#)