

Universidade Federal de Juiz de Fora  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia

Saulo Machado de Souza Jacques

**Influência de Fatores Ascendentes sobre a Produção Bacteriana em Ecossistemas  
Aquáticos Continentais Tropicais**

Juiz de Fora

2011

Saulo Machado de Souza Jacques

**Influência de Fatores Ascendentes sobre a Produção Bacteriana em Ecossistemas  
Aquáticos Continentais Tropicais**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ecologia Aplicada a Conservação e Manejo de Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla

Juiz de Fora

2011

# **Influência de Fatores Ascendentes sobre a Produção Bacteriana em Ecossistemas Aquáticos Continentais Tropicais**

**Saulo Machado de Souza Jacques**

Orientador: Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto de Biologia da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia Aplicada ao Manejo e Conservação de Recursos Naturais.

---

Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla  
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

---

Prof. Dr. Fábio Roland  
Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)

---

Prof. Dr. André Megali Amado  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN)

## **Agradecimentos**

Esta seção é muito importante para mim, mas ao mesmo tempo pode se tornar a mais difícil de se escrever. Lembrar de todos os envolvidos na construção e execução deste trabalho e do meu mestrado se torna um grande desafio quando se tem que expressar em papel.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Vinicius Fortes Farjalla, pela confiança, apoio, amizade e conselhos. Devo muito pelo que aprendi nestes anos como orientado onde muitas vezes se desdobrou para reuniões não programadas.

Ao Laboratório de Limnologia - UFRJ, em relação a sua estrutura, fundamental para a realização deste experimento e que se deve muito ao trabalho e esforço do Prof. Dr. Francisco Esteves. Ao professor Dr. Reinaldo Bozelli pelo amor à prática docente e que tive o prazer de ser aluno.

Agradeço aos professores Dr. André Megali Amado e Dr. Fábio Roland por terem aceito ao convite para participar da banca avaliadora e por contribuírem com sugestões para esta dissertação. A Albert Suhett, Frederico Meirelles e Rafael Guariento que revisaram as primeiras versões deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Limnologia – UFRJ, e aos que de alguma forma participaram/ contribuíram para este trabalho: Anderson (Taf), Fernanda, Ellen, Aliny. Agradeço ao “companheiro” Vinicius Scofield (Wilsinho), pelo trabalho e discussões durante este experimento, pelas caronas para Niterói com as conversas mais heterogêneas que se possa imaginar; e Thaís Laque, pela ajuda imprescindível durante a parte inicial do experimento.

Ao Prof. Dr. Jean Remy Davée Guimarães e ao Laboratório de Traçadores Wolfgang C. Pfeiffer pela estrutura durante parte do experimento. Também a Márcio

Miranda, que mesmo em meio à finalização da tese do doutorado pôde me ajudar durante o processo de extração e leitura das amostras.

Aos amigos de Juiz de Fora. Anderson Freitas, grande amigo e que me recebeu sem nem ao menos me conhecer. A Felipe Siqueira, Marcela, Lúcia Lobão, Rafael “Papel” e Simone. Ao Laboratório de Ecologia Aquática da Universidade federal de Juiz de Fora, em especial à Luciana Vidal, Natália e Guilherme (Bianchi) que me ajudaram na finalização das leituras de minhas amostras.

Obrigado ao PGECOL-UFJF e aos professores do programa de pós-graduação pela estrutura e disciplinas oferecidas que contribuíram imensamente para a minha formação. E à COPPETEC pela concessão da bolsa de mestrado.

Aos meus familiares, que sempre me apoiaram: Tiago, meus avós, mãe e pai, e à Luisa Arueira que ainda hoje resiste ao meu lado mesmo após variações constantes de humor e gosto musical.

## Resumo

Bactérias heterotróficas são importantes componentes do plâncton, participando ativamente do ciclo do carbono em ecossistemas aquáticos, como por exemplo, através da incorporação de carbono à biomassa pelo processo de produção bacteriana (PB). Alterações nos ecossistemas aquáticos influenciam a atividade bacteriana e, conseqüentemente, o ciclo do carbono nestes sistemas. Este estudo se propôs a avaliar a influência da temperatura, da concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) e da disponibilidade de nutrientes sobre a PB em cinco lagoas costeiras tropicais, que representam um gradiente natural de concentração de carbono (12; 18,3; 46,7; 86 e 117,1 mg/L). Amostras de água de todas as lagoas foram incubadas em três temperaturas diferentes (25, 30 e 35° C), combinadas fatorialmente com a adição de nutrientes: carbono (C), nitrogênio (N), fósforo (P) e nitrogênio + fósforo (NP). Os resultados revelaram que a adição de nutrientes estimulou a PB, mas de maneira distinta em cada uma das lagoas. Em sistemas com maiores concentrações de COD, a adição de C estimulou a PB, enquanto que em lagoas com menores concentrações, a adição de N e P resultou maiores taxas de PB. No geral, o aumento de temperatura afetou negativamente a PB. Segundo os resultados observados, o efeito da temperatura e da adição de nutrientes sobre a PB é dependente de algumas características do estoque de carbono dos ecossistemas aquáticos, como sua qualidade para o consumo bacteriano. Desta forma, espera-se que a temperatura e a qualidade de C sejam mais importantes sobre as taxas de PB em ecossistemas com maiores concentrações de COD húmico, enquanto em ecossistemas com baixa concentração de COD estes dois fatores exercem fraca ou nenhuma influência sobre PB. Diante dos atuais eventos de eutrofização e alterações climáticas, espera-se observar alterações da atividade da comunidade

bacteriana em ecossistemas aquáticos, com consequência para toda a teia alimentar. Os resultados deste trabalho apontam que fatores como a qualidade do substrato e a estrutura da comunidade bacteriana merecem especial atenção em estudos futuros para uma melhor compreensão da influência da temperatura e de nutrientes sobre a PB em ecossistemas aquáticos húmicos tropicais.

Palavras-chave: Bacterioplâncton, produção bacteriana, fatores ascendentes, lagoas costeiras húmicas

## **Abstract**

Heterotrophic bacteria are important components of plankton, actively participating in the carbon cycle in aquatic ecosystems and incorporating carbon biomass through the process of bacterial production (BP). Changes in ecosystems influence bacterial activity and thus the carbon cycle in these systems. This study aimed to evaluate the influence of temperature, dissolved organic carbon (DOC) concentration and nutrient availability on the BP in five tropical coastal lagoons, which represented a gradient of carbon concentration (12; 18,3; 46,7; 86 and 117,1 mg/L). Water samples from the lagoons were incubated at three different temperatures (25, 30 and 35° C) factorially combined with the addition of nutrients: carbon (C), nitrogen (N), phosphorus (P) and nitrogen + phosphorus (NP). The results revealed that the addition of nutrients stimulates the BP, but differently in each of the lagoons. In systems with higher DOC concentration, the addition of C stimulated the BP, while in lakes with lower DOC, the addition of N and P resulted in higher BP rates. In general, the temperature increase negatively affected BP. According to the results, the effect of temperature and nutrient addition on the BP is dependent of some characteristics of the carbon stock of aquatic ecosystems, as well on its quality for bacterial consumption. Thus, it is expected that the temperature and quality of C are more important on the rates of BP in the ecosystem with the highest humic carbon concentrations, while in ecosystems with low DOC, these two factors play weak or no influence on BP. Given the current events of eutrophication and climate change, a reduction in the activity of bacterial communities in aquatic ecosystems would be expected, with consequences for the entire food web. The present results point out that factors like substrate quality and



the structure of the bacterial community deserve special attention in future studies for a better understanding of the influence of temperature and nutrient on BP in humic tropical aquatic ecosystems.

Keywords: Bacterioplankton, bacterial production, bottom-up factors, humic coastal lagoon.

## SUMÁRIO

1.	<b>Introdução</b> -----	1
2.	<b>Materiais e Métodos</b> -----	10
2.1.	Área de Estudo -----	10
2.2.	Coletas das Amostras e Desenho experimental -----	11
2.3.	Método Analítico da Produção Bacteriana -----	13
2.4.	Estatística e Análise dos Dados -----	14
3.	<b>Resultados</b> -----	16
4.	<b>Discussão</b> -----	23
5.	<b>Conclusões</b> -----	32
6.	<b>Referências</b> -----	33

## 1. INTRODUÇÃO

As bactérias heterotróficas são importantes componentes do plâncton e participam ativamente no metabolismo de ecossistemas aquáticos (Currie & Kalff 1984, del Giorgio & Cole 1998, Azam e Malfatti 2007). Suas atividades metabólicas possuem grandes implicações para o funcionamento destes ambientes (Lennon & Pfaff 2005), desde um papel como remineralizadores de matéria orgânica até fonte de energia e matéria para a cadeia trófica.

O reconhecimento da importância de bactérias heterotróficas no metabolismo de ecossistemas aquáticos foi sugerido inicialmente por Lindeman em seu trabalho seminal de 1942 que atribuiu às bactérias papel central nos processos de decomposição de matéria orgânica morta e de remineralização de nutrientes nos ecossistemas aquáticos. Neste sentido, por muitos anos, as bactérias eram apontadas apenas como decompositores de matéria orgânica, com sua atividade limitada à ciclagem de nutrientes em ecossistemas aquáticos. Apenas a partir das décadas de 1970 e 1980 (Pomeroy 1974, Azam et al. 1983, Smith & Azam 1992), com a adoção de métodos que possibilitaram a avaliação direta dos processos da comunidade bacteriana, foi possível a maior compreensão do papel das bactérias para o ecossistema.

Em 1974, Pomeroy sugeriu às bactérias uma nova importância para a cadeia trófica e, conseqüentemente, para o ciclo do carbono em ecossistemas aquáticos disponibilizando energia e matéria para níveis tróficos superiores dentro das teias alimentares. Assim, a fonte de energia e matéria dentro de ecossistemas aquáticos não seriam exclusivamente os organismos autotróficos (fitoplâncton), mas também organismos heterotróficos (bacterioplâncton). Anos mais tarde foi observado que a abundância e a produtividade do bacterioplâncton são maiores do que se imaginava anteriormente (Hobbie et al. 1977, Fuhrman & Azam 1982) e, a partir destes trabalhos, Azam e colaboradores (1983) introduziram o conceito da alça microbiana (microbial loop, em inglês) ao estudo de ecossistemas aquáticos. Segundo este conceito, o carbono orgânico dissolvido (COD),

antes considerado indisponível para consumidores, é disponibilizado pela bactéria na forma particulada (biomassa bacteriana) para níveis tróficos superiores, realizando uma mobilidade heterotrófica de energia e matéria em teias alimentares aquáticas.

A adoção de novas técnicas no estudo de ecologia aquática (Fuhrman & Azam 1982, Smith & Azam 1983, Kirchman et al. 1985) possibilitaram, nas últimas décadas, maior compreensão das etapas do metabolismo bacteriano, como a respiração bacteriana (RB), processo catabólico de geração de energia para atividades celulares a partir da oxidação de compostos orgânicos, e a produção secundária bacteriana (PB), processo anabólico pelo qual o bacterioplâncton produz biomassa a partir da MOD, importante no estudo da contribuição da alça microbiana para a cadeia trófica (del Giorgio & Cole 1998, Karlsson 2007, Fenchel 2008). Particularmente, a produção secundária de biomassa bacteriana, ou PB está envolvida no fluxo de carbono em ecossistemas aquáticos, uma vez que ao aumentar em biomassa, disponibiliza maior quantidade de carbono para consumidores secundários apresentando papel chave para a ciclagem deste elemento (Lampert & Sommer 2007, Chróst et al. 2009).

As taxas de PB variam entre os ecossistemas aquáticos nas diversas regiões do planeta. Kirschner e Velimirov (1997) observaram, em ecossistemas lóticos temperados, taxas de PB variando de 0,3 a 10  $\mu\text{M C h}^{-1}$ , enquanto que em regiões árticas as taxas de PB apresentaram-se bastante inferiores como revelam os trabalhos de Kirchman e colaboradores (2005) – 0,016– 0,32  $\mu\text{M C h}^{-1}$  –, e Adams e Colaboradores (2010) – 0,02 a 0,57  $\mu\text{M C h}^{-1}$ . Em ecossistemas tropicais, as taxas de PB também são aparentemente baixas, com magnitude semelhante aos trabalhos supramencionados, como revelaram trabalhos de Lee e colaboradores (2009) em estuários – 0,05 a 0,51  $\mu\text{M C h}^{-1}$  –, e Farjalla e colaboradores desenvolvidos em lagoas costeiras (Farjalla et al. 2002b) – 0,014 a 1,42  $\mu\text{M C h}^{-1}$  – e em lagoas amazônicas (Farjalla et al. 2002a) – 0,11 a 0,63  $\mu\text{M C h}^{-1}$ .

A atividade bacteriana em ecossistemas aquáticos pode ser afetada por diversos fatores que são comumente classificados como descendentes, como a predação pelos níveis tróficos superiores; e ascendentes, como a concentração e a qualidade do estoque de COD, a disponibilidade de nutrientes inorgânicos (nitrogênio e fósforo) e a temperatura da água. A concentração de COD é particularmente limitante em oceanos abertos e grandes lagos, onde as fontes de carbono para os ecossistemas aquáticos são restritas (apenas fontes autóctones), sendo estas geralmente limitadas pela disponibilidade de nutrientes e luz (Carlson & Ducklow 1995). Porém, a grande maioria dos ecossistemas aquáticos continentais é rasa, onde várias fontes alóctones e autóctones de carbono estão presentes, resultando em concentrações mais elevadas de COD na coluna d'água (Arvola et al. 1996, Stepanauskas et al. 2000, Farjalla et al. 2009a). Nestes casos, a qualidade deste estoque de COD frequentemente é mais relevante do que a sua concentração para a PB (Farjalla et al. 2009a).

A qualidade do estoque de COD para a PB está diretamente relacionada com a sua origem. Estudos avaliando a disponibilidade das diferentes fontes de MOD para o bacterioplâncton observaram que matéria orgânica de origem autóctone geralmente apresenta maior disponibilidade se comparada com a matéria orgânica alóctone (Anesio et al. 1997, Farjalla et al. 2002b). Em alguns ecossistemas aquáticos, o carbono autóctone é, de fato, o principal mantenedor da PB, nos quais observa-se forte correlação entre produção primária (PP) e a PB (Petit et al. 1999, Apple et al. 2008). Em contrapartida, o carbono alóctone seria, supostamente, o principal subsídio para as atividades microbianas em ecossistemas sob forte influência da bacia de drenagem, onde este carbono, devido a algumas características que alteram as características físico-químicas da coluna d'água – e.g. atenuação da incidência luminosa e a alteração da estequiometria na coluna d'água (Lindell et al. 1995), pode inibir a atividade fitoplanctônica, e conseqüentemente reduzir a contribuição autóctone para o COD.

A qualidade do estoque de COD para utilização microbiana não é dada somente pela sua

origem; outras características, como a razão estequiométrica dos nutrientes (Amon & Benner 1997, Castillo et al. 2003), a composição específica de grupamentos químicos (Sun et al. 1997), o peso molecular do estoque (Amon & Benner 1996) e o estado de oxidação (Hopkins et al. 1998) podem ser também relevantes para a PB. A razão estequiométrica é um indicador da qualidade da MOD disponível no ecossistema aquático, baixas razões C:N e C:P tendem a resultar em maiores eficiências na utilização do substrato pelo bacterioplâncton. Desta forma, o metabolismo da MOD autóctone fitoplanctônica, recém disponibilizado no ambiente aquático, ocorre com maior eficiência do que a MOD alóctone, muitas vezes já expostos a processos de oxidação antes de alcançar o ecossistema aquático e em grande parte apresentando altas razões C:N e C:P (Cole et al. 1988, Kamjunke et al. 2006, Karlsson 2007).

Estoques de COD de mesma origem também podem apresentar distintos níveis de disponibilidade para o bacterioplâncton. A exposição prévia do COD a processos de fotodegradação e decomposição são fundamentais para definir suas características, como a proporção de compostos aromáticos em relação a moléculas alifáticas, a coloração escura e a concentração de ácidos fúlvicos e húmicos (Lindell et al. 1995, Williamson et al. 1999, Farjalla et al. 2002b). Além disso, quanto mais tempo estes compostos estão expostos a processos oxidativos, sua biodisponibilidade é reduzida, com aumento de compostos recalcitrantes em relação à porção lábil. Esta relação com a disponibilidade do COD é demonstrada em estudos avaliando a atividade bacteriana em lagoas costeiras húmicas, revelando a baixa eficiência na utilização do COD destes ambientes, em relação a outros ecossistemas aquáticos (Farjalla et al. 2009a). Nestas lagoas húmicas, a parcela recalcitrante do carbono alóctone pode chegar a 95% de todo o COD (Farjalla et al. 2002b), comprometendo o papel do bacterioplâncton como via alternativa de energia e matéria para a teia trófica (Farjalla et al. 2009a). Por outro lado, o aumento na qualidade da matéria orgânica e a diversidade de subsídio de carbono (Farjalla et al. 2009b) tendem a aumentar a

eficiência da produção bacteriana mesmo nestes ecossistemas húmicos (del Giorgio & Cole, 1998).

A matéria orgânica também é uma das principais fontes de nutrientes limitantes da atividade bacteriana, como nitrogênio (N) e fósforo (P), em ecossistemas aquáticos. Proteínas ricas em nitrogênio são importantes componentes da MOD (Hollibaugh & Azam 1983, Chróst 2009), enquanto que ácidos nucleicos (DNA e RNA) presentes na MOD resultantes do extravasamento celular pela ação de predadores e vírus podem ser uma importante fonte de fósforo para a PB (Lovell & Konopka 1984, Karl 1999, Chróst et al. 2009). A princípio, estudos sobre a atividade bacteriana apontavam a concentração do COD e sua disponibilidade como principais fatores limitantes da PB. Porém, paradoxalmente, observou-se em alguns ecossistemas aquáticos o acúmulo de COD lábil, sugerindo que outros fatores – e.g. razão estequiométrica dos principais nutrientes na coluna d'água – poderiam estar envolvidos na regulação da PB (Søndergaard & Middelboe 1995, Vadstein et al. 2003). Deste modo, a concentração do nitrogênio e fósforo, além de suas influências sobre as taxas de incorporação de carbono e produção de biomassa bacteriana, passaram a ser consideradas variáveis importantes nos estudos do ciclo de carbono nestes ecossistemas (Elser et al. 1995, Farjalla et al. 2002a, Scott et al. 2008).

A atividade bacteriana pode responder de forma distinta às concentrações de carbono, nitrogênio e fósforo, além de ser dependente da razão estequiométrica destes nutrientes na coluna d'água. O bacterioplâncton apresenta reduzidas razões C:P e C:N, comparada com organismos eucariotos, e o P é considerado o principal nutriente limitante da PB em ecossistemas aquáticos (Cotner & Biddanda 2002). A adição de P, como já foi observada em experimentos realizados em ecossistemas temperados, pode ser responsável por até 86% de incremento na PB (Vadstein et al. 2003). Da mesma forma, em experimentos realizados em ecossistemas amazônicos e lagoas costeiras do Norte Fluminense a atividade bacteriana também revelou forte relação positivamente à adição de P, superando as respostas observadas sob tratamentos utilizando N e C (Farjalla et al.

2002a, Farjalla et al. 2002b).

A regulação ascendente da PB em ecossistemas aquáticos não está relacionada apenas à concentração e qualidade do estoque de nutrientes, mas também com outros fatores, como a temperatura, que desempenha forte controle sobre as atividades metabólicas nos mais diversos ecossistemas do planeta (Rose 1967, Ricklefs 2003, Lee et al. 2009, Pomeroy & Wiebe 2001), e mesmo a combinação de alguns desses fatores, e.g. nutrientes e temperatura (Berggren et al 2010). A comunidade bacteriana pode responder de forma distinta às baixas temperaturas, apresentando ou não alterações na sua atividade metabólica e na afinidade com o substrato, dependendo da composição da comunidade presente em ecossistemas aquáticos (Autio 1998, Kirchman et al. 2005, Hall et al. 2009, Berggren et al 2010). Porém, a influência deste fator na PB ainda é pouco conhecido, mesmo em ecossistemas temperados, onde estudos já relataram tanto influências positivas (Hall & Cotner 2007, Adams et al. 2010), quanto negativas (Autio 1998, Kirchman et al. 2005) da temperatura na PB.

Estudos abordando a influência da temperatura na atividade bacteriana, em sua maioria foram desenvolvidos em ecossistemas aquáticos de regiões temperadas onde há forte influência da sazonalidade sobre estes ambientes (Hoch & Kirchman 1993, Lee et al. 2009). Neste sentido, alguns estudos revelaram a influência indireta da temperatura sobre a comunidade bacteriana, quando o aumento deste fator observado durante a primavera estimulou a produção fitoplanctônica e, conseqüentemente, a PB (Hoch & Kirchman 1993, Sinsabaugh & Shah 2010). Outros estudos revelaram que a temperatura também influencia diretamente a comunidade bacteriana e sua atividade metabólica em ecossistemas aquáticos (Cottrell & Kirchman 2000, Apple et al. 2006, Lopez-Urrutia et al. 2007, Hall et al. 2009, Adams et al. 2010), seja alterando a fluidez membranar, o equilíbrio osmótico ou a atividade enzimática (Farjalla et al. 2005, Hall & Cotner 2007, Kritzberg et al. 2010a).



A influência do aumento da temperatura na PB em uma lagoa costeira rasa sugere que este fator pode influenciar negativamente a atividade bacteriana possivelmente devido a alterações da atividade enzimática nestes organismos (Farjalla et al. 2005). Porém, apesar deste estudo, pouco foi estudado com foco na importância da alteração da temperatura para atividade bacteriana em ecossistemas aquáticos tropicais e sua interação com outros fatores, como a concentração de nutrientes e a disponibilidade de carbono.

Lagoas costeiras tropicais podem ser consideradas mosaicos de condições ambientais, onde são observadas grandes variações nos níveis de pH, salinidade e do balanço C:N:P – com desequilíbrio na concentração de carbono em relação a nitrogênio e fósforo; além de diferenças na influência da temperatura, da bacia de drenagem e nas fontes de MOD – vegetação de entorno, macrófitas aquáticas e lençol freático (Esteves 1998a, Esteves 1998b, Farjalla et al. 2002b). Ecossistemas que apresentam menores profundidades sofrem grande influência da variação da temperatura na coluna d'água e do aporte de nutrientes em menor escala de tempo por conta de sua maior razão perímetro-volume (Gerten & Adrian 2000, Mooij et al. 2005, Feuchtmayr et al. 2009), estas características fazem com que pequenas variações sejam capazes de resultar em grandes impactos nestes ambientes. Um estudo realizado em duas lagoas tropicais observou que o aumento da temperatura em lagoas rasas tropicais afetou apenas a lagoa com menor profundidade, que estão mais expostas às variações ambientais, em comparação com lagoas mais profundas (Farjalla et al. 2005). Em grande parte destes ecossistemas, a MOD alóctone é a principal fonte de carbono e nutrientes para o bacterioplâncton. A alta concentração de COD e as baixas taxas de PB indicam que a baixa qualidade deste estoque de carbono e o desbalanço de nutrientes na coluna d'água são importantes fatores influenciando a atividade bacteriana e o fluxo do carbono dentro da cadeia trófica (Farjalla et al. 2002a, Farjalla et al. 2002b, Farjalla et al. 2005).

O planeta hoje passa por uma crise ambiental sem precedentes com grandes consequências sobre o clima. Alterações nos regimes térmico e pluviométricos são esperadas em praticamente todas as regiões, com consequências para o funcionamento dos ecossistemas (Hughes et al. 2003, Sahoo et al. 2010). Particularmente, alterações no regime térmico podem afetar a atividade bacteriana de maneira positiva ou negativa tanto em ecossistemas tropicais, quanto em temperados (Pomeroy & Wiebe 2001, Kirchman et al. 2005, Berggren et al. 2010). Alterações nos regimes pluviométricos, por sua vez, podem alterar os padrões de entrada de nutrientes nos ecossistemas aquáticos com consequências para a comunidade bacteriana (Schindler 1978, Sahoo et al. 2010, Ram et al. 2003, Jansson et al. 2007).

No Sudeste brasileiro são previstos, ainda para este século, um ligeiro aumento da temperatura da água e alterações na frequência e intensidade dos eventos de chuva, principalmente nos meses de verão (Marengo et al. 2010). Assim, estudos relacionados ao aumento da temperatura da água e da concentração e qualidade dos estoques de nutrientes são de grande importância para o melhor entendimento do metabolismo bacteriano e ciclagem do carbono nos ecossistemas aquáticos, principalmente nas regiões tropicais.

Diante dos atuais eventos de alterações climáticas globais, com reflexos sobre a temperatura média do planeta e os padrões de precipitação, espera-se que o aumento do aporte de matéria orgânica alóctone, intensificado pelo aumento das chuvas, e a alteração na temperatura média da água em ecossistemas aquáticos influenciem significativamente o metabolismo nestes ambientes. A compreensão destas alterações sobre a comunidade bacteriana pode ser auxiliar como ferramenta preditiva do quanto, ou como, estes fatores influenciam o metabolismo em ecossistemas aquáticos localizados em regiões tropicais do planeta.

Neste sentido, foram formuladas as seguintes hipóteses:

– Devido à possível alteração sobre a estrutura e funcionamento celular causada pela alteração extrema na temperatura, é esperado que, dentro da faixa de variação considerada neste estudo, este fator apresente influência negativa na PB.

– De acordo com estudos anteriores abordando a limitação da PB por N e P, espera-se que a PB apresente relação positiva com a adição de nutrientes, com maior limitação à concentração de fósforo.

– Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência da temperatura e da adição de nutrientes, utilizando uma abordagem experimental, sobre a PB em cinco lagoas costeiras tropicais que representam um gradiente de concentração de COD. Estudos anteriores abordaram a regulação da PB pela adição de nutrientes e variação na temperatura, porém de forma isolada. O presente estudo propôs avaliar a influência destes fatores, tentando representar de forma mais próxima possível o que ocorre em ambientes naturais, onde as influências da temperatura e da concentração de nitrogênio, fósforo e carbono ocorrem de forma isolada e simultânea sobre a comunidade bacteriana.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 ÁREA DE ESTUDO

Todas as coletas para esta pesquisa foram realizadas no mês de Setembro de 2009 em cinco lagoas localizadas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PARNA Restinga de Jurubatiba), no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Este PARNA é caracterizado por um grande número de lagoas costeiras com características distintas e sob diferentes influências antrópicas. O clima é quente (temperatura média anual do ar de 22,6 °C) e úmido (média de precipitação anual de 1,500 mm) com maiores precipitações observadas durante o verão (Farjalla et al. 2002b, Marinho et al. 2010).

As lagoas localizadas no Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba (PARNA de Jurubatiba) são ecossistemas que sofrem forte influência da vegetação de restinga em seu entorno e de macrófitas aquáticas presentes em algumas destas lagoas (Marinho et al. 2010), que contribuem intensamente para a concentração de COD encontrada em suas águas. O aporte de matéria orgânica da restinga para estas lagoas ocorre principalmente através do lençol freático, após processo de percolação da MOD através do solo arenoso, influenciado pela precipitação. A alta concentração de compostos húmicos é responsável pela coloração escura da água observada nestas lagoas (Farjalla et al. 2002b).

Nesta pesquisa, amostras de água e bactérias foram coletadas nas lagoas Amarra-boi, Cabiúnas, Comprida e Carapebus e o afloramento de lençol freático Atoleiro (aqui abordado também como Lagoa). Tais ecossistemas diferem-se quanto as propriedades físicas, físico-químicas e biológicas, como profundidade, morfologia, salinidade, concentrações de nutrientes (carbono, nitrogênio e fósforo) na água, concentração de pigmentos (indicadores da biomassa fitoplanctônica) e pH (Tabela 1).

Particularmente importantes para este estudo, o COD destas lagoas apresentam um marcante

gradiente de concentração de carbono entre estes ecossistemas. Com menores concentrações encontradas nas águas das lagoas Carapebus e Cabiúnas. Vale ressaltar que o mesmo gradiente também é encontrado na coloração da água, indicando que as substâncias húmicas dominam o estoque de carbono destes ecossistemas.

**Tabela 1:** Valores representando as médias e valores mínimos e máximos (entre parênteses), de algumas variáveis abióticas das lagoas estudadas (período dos dados: Outubro de 2008 a Outubro de 2010).

Lagoa	Profundidade (m)	Secchi (m)	pH	COD (mg/L)	Cor (430nm)	Clorofila ( $\mu\text{g/l}$ )	Temperatura Água ( $^{\circ}\text{C}$ )
Cabiúnas	3,59 (1,90 – 5,80)	1,18 (0,20 – 2,30)	6,64 (6,16 – 6,93)	12,00 (7,72 – 20,35)	0,63 (0,38 – 0,81)	1,03 (0,00 – 2,03)	25,68 (20,80 – 31,30)
Carapebus	0,85 (0,50 – 1,00)	0,77 (0,30 – 1,00)	7,47 (6,57 – 7,95)	18,27 (14,36 – 24,80)	0,64 (0,59 – 0,72)	1,08 (0,12 – 2,70)	25,83 (21,60 – 30,40)
Comprida	2,45 (0,90 – 4,00)	0,28 (0,20 – 0,40)	4,18 (3,85 – 4,44)	46,72 (31,89 – 57,23)	0,88 (0,61 – 0,99)	0,61 (0,00 – 1,70)	25,30 (20,40 – 29,50)
Amarra-Boi	0,64 (0,30 – 1,00)	0,20 (0,00 – 0,40)	3,99 (3,50 – 5,56)	86,00 (55,65 – 125,70)	1,08 (0,73 – 1,22)	0,48 (0,10 – 1,19)	25,66 (19,60 – 30,20)
Atoleiro	0,58 (0,30 – 1,00)	0,15 (0,10 – 0,30)	3,51 (3,07 – 3,70)	117,06 (83,17 – 160,50)	1,25 (0,60 – 1,48)	0,92 (0,00 – 2,56)	23,61 (19,40 – 27,60)

## 2.2. COLETAS DAS AMOSTRAS E DESENHO EXPERIMENTAL

Foram realizadas coletas de água de cada uma das lagoas estudadas em garrafas de polietileno previamente lavadas com HCl a 10% e enxaguadas com água deionizada. Ao chegar no laboratório, as amostras foram levadas ao laboratório e filtradas a vácuo através de filtro de fibra de vidro com malha correspondente a 0,7  $\mu\text{m}$  (Macherey-Nagel MN-3) para obtenção de um filtrado ausente de grandes partículas e organismos maiores que viessem a interferir nas análises de PB.

A avaliação das influências independentes e interativas das variáveis sobre a PB dentro de um

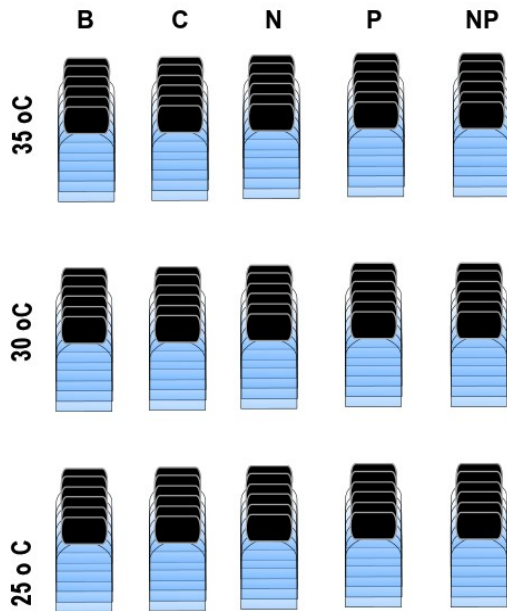
gradiente de concentração de COD, foi realizada utilizando um desenho fatorial que possibilitou abranger todas as combinações possíveis dos níveis entre os fatores temperatura, nutriente e lagoa.

Os microcosmos foram criados adicionando amostras filtradas de cada uma das lagoas em frascos de 20 mL de vidro esterilizados (autoclavados por 30 min a 120 °C e 1 atm). Estas amostras foram tratadas com adição de nutrientes e incubadas em três câmaras com temperaturas controladas (25 °C, 30 °C, 35 °C) por 48 horas. Para cada lagoa foram criadas 15 combinações Temperatura + Nutriente, com duas réplicas para cada um dos três blocos, totalizando 450 microcosmos (figura 1).

Para os tratamentos com nutrientes, os microcosmos receberam adição segundo as seguintes concentrações: N – concentração final de 50 µM; P – concentração final de 5 µM; C – concentração final de 500µM; NP – onde foi utilizada a combinação N e P; além da amostra controle (B), na qual não foi adicionada nutriente.

Ao término do período de incubação, 1,2 mL da água de cada microcosmo foram transferidos para frascos eppendorf (microtubo eppendorf de 2mL) seguido pela adição de  $H^3$  – Leucina, em concentração final de 20nM. Dentre as amostras utilizadas para avaliação da PB, foram estabelecidas amostras denominadas “Branco”, onde foi utilizado 1,2 mL de uma amostra aleatória de cada lagoa adicionada em frasco eppendorf contendo 90µL ácido tricloroacético (TCA) a 100% e  $H^3$  – Leucina, em concentração final de 20nM.

Logo após a adição de  $H^3$  – Leucina, as amostras foram levadas para incubação no escuro em temperatura controlada por 45 minutos para incorporação em biomassa bacteriana. Após o período de incubação, a incorporação foi interrompida adicionando 90µL de ácido tricloroacético – TCA – (100%) em cada uma das réplicas, segundo Kirchman e colaboradores (1985).



**Figura 1 - Tratamentos Utilizados por Lagoa** - Esquema representando os cinco níveis de tratamento com nutrientes e três com temperatura, considerando todos os três blocos.

**Legenda:**

*B* – Branco;  
*C* – Carbono;  
*N* – Nitrogênio;  
*P* – Fósforo;  
*NP* – Nitrogênio + Fósforo

### 2.3. MÉTODO ANALÍTICO DA PRODUÇÃO BACTERIANA

A PB foi estimada através do método de incorporação de um marcador radioativo (no caso, leucina) pela comunidade bacteriana. Este método que consiste em adicionar a  $H^3$ -Leucina às amostras de água e posteriormente avaliar sua incorporação em proteína bacteriana (Kirchman et al. 1985). Para avaliar a incorporação de  $H^3$ -Leucina em proteínas bacteriana foi utilizado o método de extração de proteína por TCA (Kirchman et al. 1985), com algumas modificações. As amostras acidificadas foram centrifugadas a 14000 RPM, durante 10 minutos e, após este período, o sobrenadante de cada uma foi extraído por meio de sucção a vácuo, cautelosamente para não extrair o material sedimentado (*pellet*).

Em seguida, foram realizadas mais duas sequências adicionando-se 1 mL de água MilliQ em cada um dos frascos e levados ao vórtex por um minuto. Os microtubos foram centrifugados (14000 rpm/ 10min) e tiveram os seus sobrenadantes novamente retirados por meio da bomba de sucção a vácuo. Os mesmos passos descritos na etapa da água MilliQ se deram com a utilização de Etanol

frio a 80%, que também foi realizado duas vezes, e teve o sobrenadante descartado, preservando o *pellet* e aguardando seu conteúdo evaporar para adicionar o coquetel de cintilação.

Em cada amostra foi adicionado 1mL de coquetel de cintilação (Ecolite(+)<sup>TM</sup> Liquid Scintillation Fluid) e incubadas durante 48 horas no escuro com a finalidade de maximizar a detecção da radioatividade (Kirchman et al. 2005). Após este período, a radioatividade nas amostras foi medida através de um Sistema de Cintilação Líquida (LS – 6500) e a conversão para se obter a incorporação da leucina (nM) foi realizada através da multiplicação do valor obtido na medição (decaimento por minuto - DPM) por 2,02 Ci/mole, correspondente ao valor da atividade da <sup>3</sup>H-Leucina. A taxa de conversão Carbono–Proteína foi igual a 0,86, como proposto por Wetzel e Likens (1991).

#### **2.4. ESTATÍSTICA E ANÁLISES DOS DADOS**

Com objetivo de avaliar os efeitos isolados e interativos dos tratamentos na PB, foi utilizada uma análise de variância trifatorial (Three Way – Anova, função 1). A PB bacteriana foi considerada como variável dependente, as amostras das lagoas e os tratamentos com nutrientes e temperatura foram tratados como fatores categóricos principais, e os blocos tratados como fator repetido.

Nas análises detalhando a PB por lagoa, foi utilizada a análise de variância bifatorial (Two Way – ANOVA), com o objetivo de analisar o efeito independente e interativo dos tratamentos com nutrientes e temperatura. Análises de contrastes do modelo da ANOVA foram utilizadas para distinguir diferenças significativas entre os níveis dentro dos tratamentos de nutriente e temperatura em cada lagoa. Por fim, o grau de influência de cada fator (Effect Size) sobre a PB foi estabelecido a partir do valor da média quadrática (MQ) de cada um deles presente na tabela de análise de variância.



Os testes estatísticos foram realizados através do programa R. Para todos os testes, o nível mínimo de significância aceito para os testes estatísticos foi de  $p < 0,05$ .

**Quadro 1** – Fórmulas utilizadas no programa R e seus respectivos objetivos.

<b>Função</b>	<b>Objetivo</b>
<code>anova(lm(Production~Lake+Block+Treatment*Temperature*Lake))</code>	Avaliar o efeito independente e interativo dos fatores utilizados.
<code>anova(lm(Production~Lake+Block+Contrast1+Treatment+Temperature+Contrast1:Temperature+Treatment:Temperature))</code>	Avaliar se os 4 tratamentos diferem do controle e se diferem entre si.
<code>anova(lm(Production~Lake+Block+contrast1+Treatment+Lake+contrast1:Lake+Treatment:Lake))</code>	Avaliar se há interação significativa do controle com as lagoas, ou dos tratamentos e as lagoas.

### 3. RESULTADOS

A produção bacteriana, de modo geral, variou entre as lagoas abordadas neste estudo (Tabela 2, Fig. 3). As lagoas Cabiúnas e Carapebus, apresentaram menores concentrações de COD, porém maiores taxas de produção bacteriana em comparação com as outras três lagoas: Comprida, Amarraboí e Atoleiro (Tabela 1, Fig. 3), sugerindo a influência negativa da concentração de COD das lagoas na PB (Fig. 3).

Nos tratamentos com adição de nutrientes, os maiores resultados de PB foram encontrados nos tratamentos N, P e NP. O tratamento C demonstrou aumento significativo da PB em relação ao controle (B) ( $p = 0,001$ ; Fig. 5), porém o aumento da PB foi inferior aos observados nos tratamentos N, P e NP. Por fim, não foi detectada diferença significativa nas taxas de PB entre os tratamentos N, P e NP (Fig. 5).

As taxas de PB, de maneira geral, foram reduzidas com o aumento da temperatura, de forma que as taxas de PB nas incubações a 25 °C foram superiores às taxas nas incubações a 35 °C. Contudo, os valores da PB a 30 °C não diferiram significativamente dos valores de PB nas demais temperaturas (Fig. 6). Além disso, as análises de variância da adição de nutrientes e do aumento da temperatura demonstraram que estas variáveis influenciaram significativamente as taxas de PB. Enquanto a PB respondeu positivamente à adição de nutrientes ( $p < 0,001$ ; Tabela 2, Fig. 3), o aumento da temperatura apresentou influência negativa na PB ( $p < 0,05$ ; Tabela 2, Fig. 4).

A análise de variância trifatorial (Three-Way ANOVA) demonstrou que a interação entre os fatores “lagoa” e “nutriente” foi estatisticamente significativa influenciando as taxas de PB. Por outro lado a interação entre os fatores “lagoa” e “temperatura”, e entre os fatores “temperatura” e “nutriente” não revelaram influência sobre as taxas de PB nas amostras analisadas (Tabela 2). Da mesma forma que a interação entre os três fatores – “lagoa”, “temperatura” e “nutriente” – não demonstrou influência significativa sobre estas taxas (Tabela 2).

As análises de variância sobre a influência da temperatura e da adição de nutrientes na PB em cada uma das lagoas utilizadas demonstrou respostas distintas entre elas. Enquanto nas lagoas Cabiúnas e Carapebus a temperatura não influenciou a PB, nas lagoas Comprida, Amarra-Boi e Atoleiro este fator foi estatisticamente significativo para as taxas de PB (Tabela 2). a adição de nutrientes influenciou significativamente a PB nas lagoas estudadas, com exceção da lagoa Comprida, onde este fator não afetou significativamente as taxas de PB (Tabela 2). Por fim, a interação entre nutrientes e temperatura só revelou influência significativa sobre a PB nas amostras da lagoa Atoleiro.

Com relação aos tratamentos com nutrientes, nas lagoas Carapebus e Cabiúnas as taxas de PB foram significativamente maiores nos tratamentos N, P e NP em relação aos demais, mas não diferenciaram estatisticamente entre si (Fig. 6 A e B). Na lagoa Amarra-Boi apenas os tratamentos C e N apresentaram taxas de PB superiores ao controle (Fig. 6 D), enquanto que na lagoa Atoleiro, o tratamento C foi o único a revelar diferença estatística em relação ao controle e estimular a PB (Fig. 6 E).

Os resultados da influência da temperatura sobre a PB nas lagoas Comprida e Atoleiro demonstraram que este fator foi significativo reduzindo as taxas de PB apenas nos tratamentos a 35 °C em relação aos tratamentos incubados a 25 °C (Fig. 7 C e E). Já na lagoa Amarra-Boi, a PB foi influenciada por todos os tratamentos utilizados, foi a única lagoa onde a variação de 5 °C influenciou reduzindo significativamente as taxas de PB (Fig. 7 D).

Finalmente, em relação à importância de cada fator sobre a PB, observamos que a variação entre lagoas foi o principal fator influenciando estas taxas entre as amostras do experimento (MQ=2,39; Tabela 2), seguida pelos tratamentos com nutrientes (MQ=0,16; Tabela 2) e, finalmente, pelos tratamentos com temperatura (MQ=0,05; Tabela 2).

**Tabela 2** – Resultado das análises de variância trifatorial (Three-way ANOVA) mostrando os efeitos independentes e interativos entre as lagoas estudadas e os tratamentos com diferentes adições de nutrientes e diferentes temperaturas de incubação sobre a PB. Resultados significativos realçados em negrito.

<b>Fator</b>	<b>gl</b>	<b>SQ</b>	<b>MQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Nutriente	4	0,664	0,166	14,587	<b>4,397e-11***</b>
Lagoa	4	9,559	2,390	210,088	<b>&lt;2,2e-16***</b>
Temperatura	2	0,097	0,048	4,256	<b>0,01488*</b>
Nutriente*Lagoa	16	1,214	0,076	6,671	<b>2,260e-13***</b>
Nutriente*Temperatura	8	0,164	0,020	1,798	0,076
Temperatura*Lagoa	8	0,155	0,019	1,705	0,096
Nutriente*Temperatura*Lagoa	32	0,219	0,007	0,603	0,959
Resíduos	375	4,265	0,011		

**Legendas:** SQ – Soma dos quadrados; MQ – Média Quadrática; gl – grau de liberdade

**Tabela 3** – Resultado das análises de variância bifatoriais (Two-Way ANOVA) por lagoa estudada, mostrando efeitos independentes e interativos dos tratamentos com nutrientes e temperatura na PB. Valores de P em negrito indicam efeitos significativos dos tratamentos.

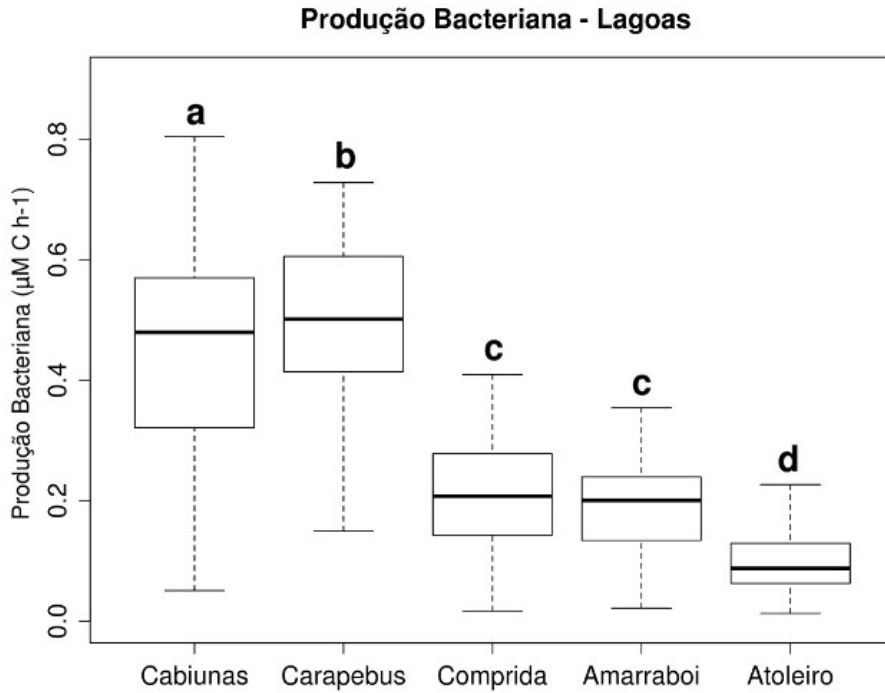
<b>Fatores</b>	<b>gl</b>	<b>Cabiúnas</b>			<b>Carapebus</b>		
		<b>SQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>SQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Nutriente	4	0,933	9,387	<b>3,313e-06***</b>	0,776	9,977	<b>1,580e-06***</b>
Temperatura	2	0,067	1,358	0,263	0,004	0,112	0,894
Nutriente*Temperatura	8	0,139	0,700	0,691	0,104	0,666	0,72
Resíduo		1,864			1,458		

<b>Fatores</b>	<b>gl</b>	<b>Comprida</b>			<b>Amarra-Boi</b>		
		<b>SQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>	<b>SQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Nutriente	4	0,052	2,142	0,084	0,058	3,472	<b>0,012*</b>
Temperatura	2	0,052	4,292	<b>0,0172*</b>	0,096	11,406	<b>4,734e-05***</b>
Nutriente*Temperatura	8	0,057	1,164	0,332	0,025	0,744	0,653
Resíduo		0,457			0,315		

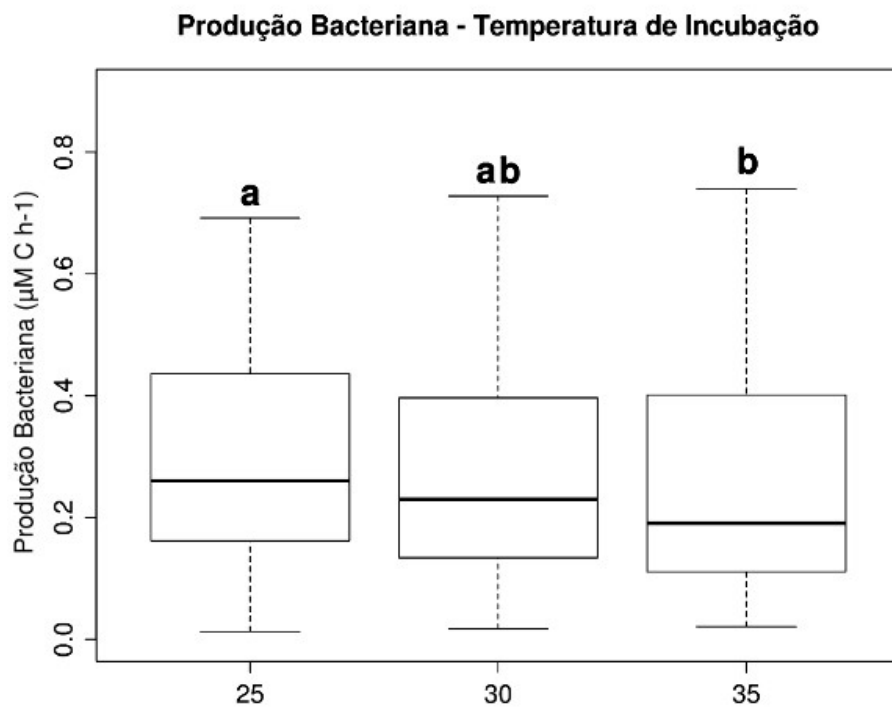
<b>Fatores</b>	<b>gl</b>	<b>Atoleiro</b>		
		<b>SQ</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Nutriente	4	0,058	6,372	<b>0,0002**</b>
Temperatura	2	0,032	6,988	<b>0,002**</b>
Nutriente*Temperatura	8	0,058	3,207	<b>0,003**</b>
Resíduo		0,171		

**Legendas:** SQ – Soma dos quadrados  
gl – grau de liberdade  
\* - 0,05  
\*\* - 0,01  
\*\*\* - 0,001

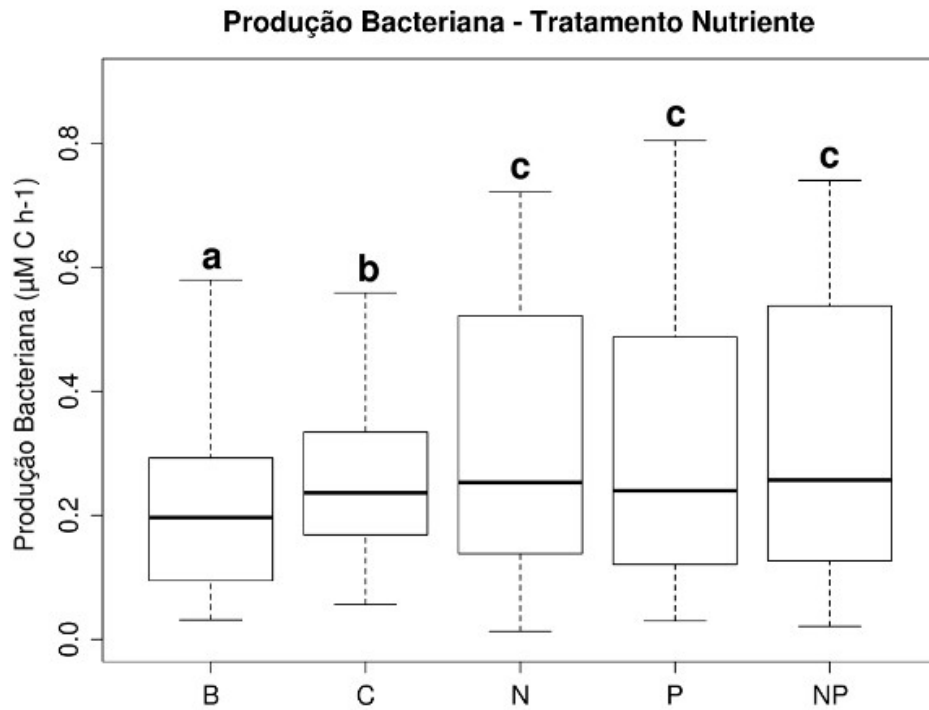
**Figura 3** – PB nas cinco lagoas costeiras estudadas (ordenadas segundo o gradiente de concentração de COD), considerando todas as adições de nutrientes e temperaturas de incubação. Letras iguais indicam lagoas que não apresentaram diferença estatística significativa entre os resultados de PB.



**Figura 4** – Influência da temperatura (°C; eixo x) sobre as taxas de PB, considerando todas as lagoas utilizadas no experimento e as diferentes adições de nutrientes. Letras iguais indicam temperaturas que não apresentaram diferença estatística significativa entre os resultados de PB.

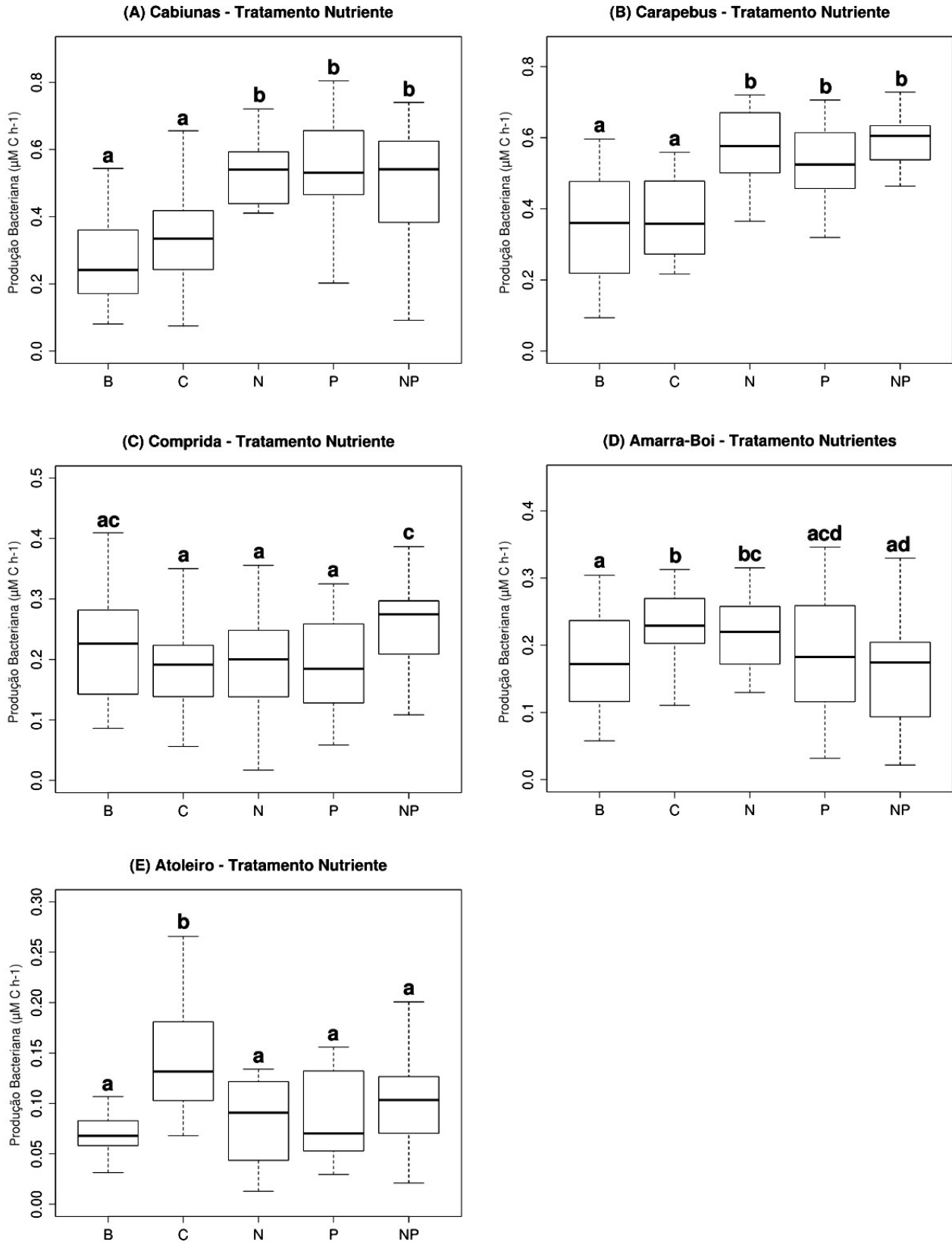


**Figura 5** – Resposta da PB aos tratamentos com adição de nitrogênio (N), fósforo (P), carbono (C) e a combinação entre fósforo e nitrogênio (NP), considerando todas as cinco lagoas utilizadas no experimento e a três temperaturas de incubação. Letras iguais indicam tratamentos sem diferença significativa entre os resultados das taxas de PB.



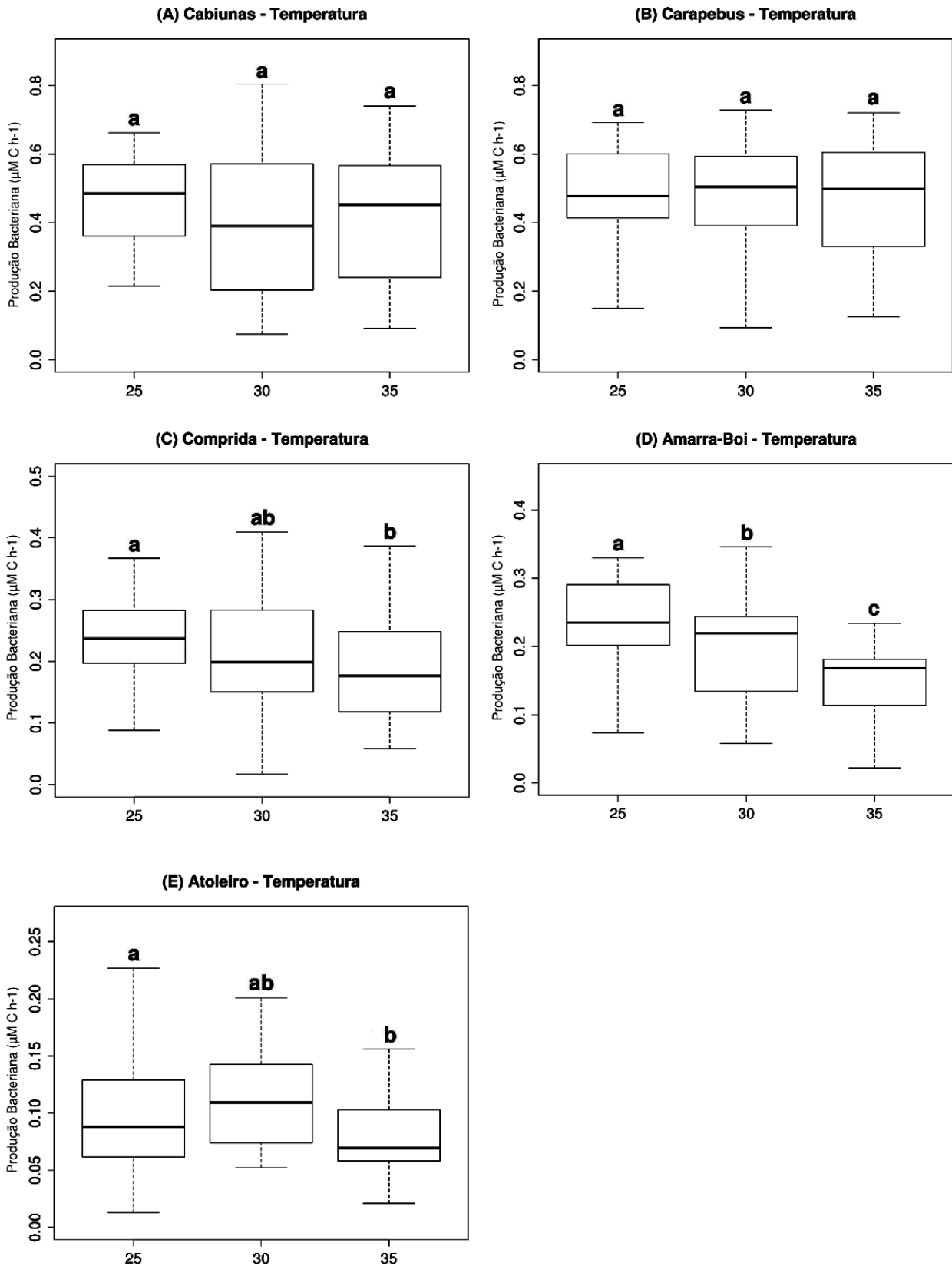
-1

**Figura 6** – Resposta da PB ( $\mu\text{M C h}^{-1}$ ), por lagoa, aos tratamentos com nitrogênio (N), fósforo (P), carbono (C) e a combinação entre fósforo e nitrogênio (NP). Tratamento controle representado pela letra B. Letras diferentes indicam onde houve diferença significativa entre tratamentos na análise com contraste. Note a diferença na escala entre as figuras.



-1

**Figura 7** – Influência da temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ; eixo x) sobre a PB ( $\mu\text{M C h}^{-1}$ ) de cada amostra de lagoas utilizadas no experimento. Letras diferentes indicam onde houve diferença significativa entre tratamentos na análise com contraste. Note a diferença na escala entre as figuras.





#### 4. DISCUSSÃO

Os resultados do experimento revelaram que a a concentração de COD húmico (tratamento lagoa) foi o principal fator influenciando as taxas de PB. A PB entre as lagoas estudadas variou entre 0,017 e 1,566  $\mu\text{g CL}^{-1} \text{h}^{-1}$ , valores baixos se comparado com resultados para PB encontrados em outros ecossistemas aquáticos localizados em regiões temperadas e árticas (del Giorgio & Cole 1998), confirmando a baixa biodisponibilidade do COD observada nestes ecossistemas (Suhett et al. 2004; Farjalla et al. 2009a). Em relação à adição de nutrientes, o aumento da taxa de PB foi observado principalmente nas amostras onde se adicionou N e P, como já descrito largamente na literatura. Porém, a avaliação da PB detalhada por lagoas sugere forte influência da qualidade do COD definindo o nutriente limitante deste processo.

Em ecossistemas temperados, o aumento da temperatura apresenta relação positiva com a PB (Kirchman et al. 2005, Hall & Cotner 2007, Adams et al. 2010). Nestes ambientes, as reduzidas temperaturas podem comprometer a atividade bacteriana através da redução do seu metabolismo, atividade enzimática e alterações físico-químicas da estrutura celular, como resultado da redução de sua fluidez (Nedwell 1999, Mansilla et al. 2004). Em ecossistemas aquáticos tropicais, por outro lado, as temperaturas encontradas normalmente estão próximas à ótima observada para a atividade celular (Siah et al. 2003, Apple et al. 2006, Adams et al. 2010), e o aumento da temperatura influenciaria negativamente o metabolismo de biomassa bacteriana, refletindo na redução das taxas de PB. Como ficou evidenciado no presente estudo, onde os tratamentos com temperatura, de forma geral, afetou negativamente a PB.

As lagoas estudadas neste trabalho apresentaram distintas taxas de PB. Cabiúnas e Carapebus foram as duas lagoas com os maiores valores observados de PB, enquanto que nas lagoas Comprida, Amarra-Boi e Atoleiro a PB apresentou reduzidos valores. Estes resultados podem estar relacionados com os distintos graus de influência da vegetação do entorno, do lençol freático e a

presença de canais afluentes e bancos de macrófitas aquáticas que podem ter influenciado a atividade bacteriana nestes ecossistemas. O tamanho das lagoas também pode ser um fator determinante para a concentração e disponibilidade de nutrientes, pois define o grau de influência das variáveis externas sobre estes ambientes (Smith 1994, Panosso et al. 1998).

Além disso, a bacia de drenagem apresenta influência com diferentes graus de intensidade sobre as lagoas do PARNA Jurubatiba. Quanto maior a razão entre a área da bacia de drenagem e a área da lagoa, menor a capacidade do sistema aquático em diluir materiais dissolvidos ou particulados que são transportados através desta bacia de drenagem (Panosso et al. 1998). Desta forma, o aporte de nutrientes e matéria orgânica em ecossistemas apresentando alta razão área da bacia de drenagem: área da lagoa, refletiria em maior impacto sobre as características físico-químicas da coluna d'água.

Nestas lagoas a principal fonte de carbono para a coluna d'água é a matéria orgânica parcialmente degradada da vegetação terrestre, que chega a estes ecossistemas percoladas através do solo arenoso pela ação da chuva (Suhett et al. 2007, Marinho et al. 2010). As baixas concentrações de clorofila-a encontradas nestas lagoas, variando entre 0,048 µg/L na lagoa Amarra-boi, e 1,08 µg/L na lagoa Carapebus, como já observado também em estudos anteriores (Roland 1998, Farjalla et al. 2001), eram esperadas devido a reduzida penetração da luz na coluna d'água resultante da alta concentração de substâncias húmicas compondo o COD. Particularmente nas lagoas Cabiúnas e Carapebus também há a presença do canal Macaé-Campos, que corta estas estes ambientes e contribui como mais uma fonte de matéria orgânica. Tais ecossistemas também apresentam extensos bancos de macrófitas aquáticas e maior penetração de luz na coluna d'água, que podem refletir significativamente em maior contribuição da matéria orgânica autóctone para a composição da MOD (Stepanauskas et al. 2000, Farjalla et al. 2009). Por outro lado, nas lagoas Atoleiro e Amarra-Boi a matéria orgânica é predominantemente alóctone e chega a estes

ecossistemas pela percolação através do solo, muitas vezes sendo exposta à oxidação durante este processo, reduzindo sua disponibilidade para o bacterioplâncton (Jansson et al. 2000, Stepanauskas et al. 2000, Jasser et al. 2009). Além disso, as reduzidas ocorrências de precipitações podem ter influenciado os resultados encontrados, aumentando o período de residência do COD nestas lagoas e expondo este estoque de carbono a constantes processos de degradação, resultando na coluna d'água apenas carbono com baixa labilidade (Cole, Findlay & Pace 1988, Kamjunke et al. 2006, Karlsson 2007).

A porção mais lábil do COD, rico em carbono alifático, é metabolizada com maior eficiência pelo bacterioplâncton, logo que é disponibilizado na coluna d'água (Goldman et al. 1987, Jansson et al. 2000, Jansson et al. 2006). Em contrapartida a parcela húmica do COD – que nas lagoas estudadas pode representar mais de 90% de todo o COD (Suhett et al. 2004, Farjalla et al. 2009a) – tende a acumular nos ecossistemas, e quando metabolizada pelo bacterioplâncton, em grande parte, é utilizada com baixa eficiência (Jansson et al. 2000, Berggren et al. 2010) e direcionada principalmente para sustentar os custos dos processos catabólicos – e.g. funcionamento da membrana, transporte membranar de substrato em baixas concentrações e síntese de enzimas extracelulares envolvida na despolimerização (Chróst & Rai 1993, Middelboe & Søndergaard 1993, Russel & Cook 1995, Eiler et al. 2003). O fato de as lagoas com maiores concentrações de COD apresentarem menor pH, associado ao fato de nas lagoas mais escuras a adição de glicose ter resultado em aumento da PB, indicam que a qualidade do COD das lagoas é baixa e, assim, limita a PB como já observado em outros estudos (del Giorgio & Cole 1998, Jansson et al. 2000, Karlsson et al. 2002, Farjalla et al. 2009a). Assim, a biodisponibilidade do carbono exerce pressão ascendente maior do que a concentração de P e N, nutrientes importantes na constituição de biomoléculas, ácidos proteicos e síntese de biomassa (del Giorgio & Cole 1998, Faria & Esteves 2001, Judd et al. 2006, Kamjunke et al. 2006, Berggren et al. 2010), como observado nas amostras das lagoas

Atoleiro e Amarra-Boi, onde o tratamento C resultou no aumento da PB, superando a resposta ao tratamento P.

A adição de carbono lábil em amostras de lagoas com alta concentração de carbono semi-lábil e recalcitrante pode estimular o metabolismo bacteriano também destes compostos, antes indisponíveis ao bacterioplâncton (de Haan 1974, Carlson et al. 2002, Farjalla et al. 2009). O aumento nestas taxas é atribuído em grande parte à atividade de enzimas bacterianas, a princípio sintetizadas para degradar a parcela lábil de carbono, e que, conseqüentemente, degradam parcela dos compostos mais complexos, resultando no aumento das taxas de PB (De Haan 1974, Thomas 1997, Farjalla et al. 2009a). Desta forma, a adição de glicose nas lagoas Amarra-boi e Atoleiro pode ter estimulado o bacterioplâncton a também consumir outras formas de carbono antes inacessíveis – e.g. macromoléculas, compostos aromáticos.

Em lagoas com menores concentrações de COD, a PB apresentou forte limitação por P, seguida de N. Nestes ecossistemas, a ocorrência de águas mais claras pode favorecer a produção primária fitoplanctônica, além de densos bancos de macrófitas aquáticas, que contribuiriam para a composição do COD. Assim, as respostas das taxas de PB à adição de P e N nas lagoas Carapebus e Cabiúnas podem estar relacionadas ao maior equilíbrio estequiométrico de nutrientes limitantes (Vedstein et al. 2003, Jansson et al. 2006, Keiblinger et al. 2010) e às menores concentrações de COD húmicos (Jansson et al. 2006, Farjalla et al. 2009) refletindo, assim, no aumento da PB após adição destes nutrientes, e a ausência de diferença significativa entre os tratamentos C e B. Embora já se tenha observado a influência significativa de fósforo na PB em estudos abordando a lagoa Comprida (Farjalla et al. 2002b), no presente estudo a atividade bacteriana variou pouco entre os tratamentos com nutrientes utilizados, sugerindo que outros fatores podem ter influenciado estes resultados, como o aumento na demanda energética para a manutenção celular (Russell & Cook 1995, Karlsson 2007), ou a alteração sazonal nas médias de precipitação interferindo no aporte de

MOD alóctone (Suhett et al. 2007, Farjalla et al. 2009a). Desta forma, a influência estatisticamente significativa da interação entre lagoas e nutrientes nas taxas de PB – com C limitando a PB em lagoas com altas concentrações de compostos húmicos, e P e N estimulando este processo em lagoas com baixas concentrações de carbono húmico – corroboram com o que já foi exposto anteriormente em relação à qualidade do COD e sua biodisponibilidade para o bacterioplâncton.

Tanto em ecossistemas temperados, quanto tropicais, a temperatura é uma importante variável influenciando a PB. Estudos realizados em ecossistemas temperados e árticos apontam, de maneira geral, relação positiva entre a PB e a temperatura (Kirchman et al. 2005, Adams et al. 2010, Kritzberg et al. 2010). No presente estudo a influência da temperatura também foi significativa para a PB nas lagoas estudadas.

A análise geral da influência da temperatura sobre a PB não revelou alteração significativa quando se comparou o aumento em 5° C entre as amostras, contudo a alteração de 10° C refletiu na redução da PB. Estes resultados sugerem que a temperatura teve papel fundamental inibindo os efeitos positivos da adição de nutrientes nas taxas de PB. A redução da PB observada com o aumento da temperatura pode estar relacionada com redução da eficiência do bacterioplâncton em assimilar os nutrientes disponíveis na coluna d'água através de alterações na estrutura e nos processos celulares que não foram considerados neste estudo. Alterações extremas na temperatura muitas vezes comprometem funções vitais da célula, como o controle osmótico e, conseqüentemente, as trocas gasosas (van de Vossenberg et al. 1999). Neste sentido, caso o aumento da temperatura seja de magnitude capaz de aumentar a fluidez membranar ou a temperatura ótima para metabolismo, esta alteração pode refletir em aumento da demanda energética para manutenção das características específicas da membrana bacteriana e, assim, reduzir a eficiência de suas atividades (Vrij et al. 1988, Mansillas et al. 2004, Hall & Cotner 2007).

A composição da comunidade bacteriana deve ser levada em consideração em estudos

abordando a influência da temperatura em processos microbianos (Kirchman et al. 2005, Apple et al. 2006, Hall & Cotner 2007, Adams et al. 2010). A temperatura é um importante fator estruturante da composição da comunidade bacteriana, com reflexo na ocorrência de diferentes filos bacterianos, de forma que, diferentes temperaturas favorecem a dominância de diferentes grupos bacterianos (Crump & Hobbie 2005, Lymer et al. 2008, Kritzberg et al. 2010b). Desta forma, a alta diversidade bacteriana em ecossistemas aquáticos refletiria em maior estabilidade do metabolismo destes organismos mesmo sob em cenários de variações de temperatura (Kirchman et al. 2005, Adams et al. 2010), onde a redução das taxas metabólicas em comunidades não adaptadas a certa temperatura seria suprida pelo aumento em outras mais adaptadas que, antes metabolicamente inibidas, passariam a colonizar o meio e serem metabolicamente ativas, após alterações na temperatura (Kirchman et al. 2005, Adams et al. 2010, Berggren et al. 2010). Assim, as grandes alterações na PB seriam observadas apenas durante a fase transicional sendo, em seguida, retomada a estabilidade da atividade bacteriana (Kirchman et al. 2005).

Além destas alterações estruturais e influência nos processos internos celulares, a alteração da temperatura pode comprometer processos que dependem da ação enzimática para serem realizados (Kirchman et al. 2004, Mansillas et al. 2004).

Enzimas são complexos proteicos indispensáveis para qualquer processo bioquímico, atuando como catalisadoras de diversas etapas de reações envolvidas na degradação de moléculas de nutrientes, participando na transformação de energia química e na síntese de macromoléculas a partir de um precursor simples (Lehninger 2007). Através da atividade enzimática é possível a regulação dos processos metabólicos para a manutenção equilibrada de atividades vitais da célula (Lehninger 2007). Porém estas funções podem ser comprometidas quando expostas a situações ambientais extremas, como na alteração da temperatura do meio (Lehninger 2007).

Além da influência independente da temperatura e do nutriente, a interação entre estes dois

fatores revelou resposta significativa da PB apenas na lagoa Atoleiro. Comparando com o efeito dos fatores atuando de forma isolada sobre a atividade bacteriana, a interação apresentou fraca influência sobre as taxas de PB. A qualidade da matéria orgânica pode ter sido determinante para a resposta significativa das taxas de PB à influência interativa entre variação de temperatura e adição de nutrientes. Um estudo experimental, abordando a diversidade bacteriana, observou que não apenas a composição da comunidade, mas também a qualidade da matéria orgânica dissolvida e razão estequiométrica da coluna d'água são determinantes para a densidade e atividade metabólica microbiana (Fuchs et al. 2000). Assim, a disponibilidade de substrato também pode definir a importância da temperatura para as taxas PB e os resultados reforçam esta afirmação.

O custo energético da variação na temperatura para o bacterioplâncton pode ser alto, e a baixa disponibilidade de substrato resultaria na redução das taxas de PB, devido à utilização deste substrato preferencialmente na manutenção de processos catabólicos. Porém, em um cenário de alta disponibilidade de substrato, a variação de temperatura não influenciaria a atividade bacteriana, pois o uso de recurso para manter processos catabólicos não comprometeriam a disponibilidade também para manter os processos anabólicos (Berggren et al. 2010). A partir destas observações pode-se sugerir que a qualidade do substrato e da razão estequiométrica da coluna d'água foram fatores importantes para a PB nas lagoas utilizadas neste experimento e devem ser considerados ao se avaliar a atividade bacteriana em ecossistemas aquáticos.

A influência isolada ou interativa de fatores como a biodisponibilidade do COD, a concentração de nutrientes e a variação de temperatura ainda são pouco conhecidas, embora muitos trabalhos já tenham abordado a influência de cada um destes fatores isoladamente (Farjalla et al. 2005, Hall et al. 2009, Adams et al. 2010, Berggren et al. 2010). Particularmente, o efeito da temperatura no metabolismo bacteriano do carbono é complexo e pouco ainda se conhece sobre seus efeitos em ecossistemas tropicais.

Os resultados deste trabalho confirmam a importância da temperatura em ambientes com maiores concentrações de compostos húmicos, superando a influência da concentração de nutrientes nas taxas de produção bacteriana. O aumento da PB após adição de glicose nestes ambientes revelou baixa disponibilidade do C nas lagoas com maiores concentrações de COD húmico, o que em trabalhos anteriores foi apontado como fator determinando a importância da temperatura sobre a atividade bacteriana (Autio 1998, Lee et al. 2009).

O aumento da concentração de substâncias húmicas compondo o COD em ecossistemas naturais tende a reduzir a atividade bacteriana (PB), principalmente pela sua reduzida biodisponibilidade e o alto custo metabólico para sua assimilação. Os resultados deste estudo sugerem que o aumento da temperatura média da água e, principalmente, o aumento da parcela recalcitrante compondo a MOD podem ter impacto deletério sobre ecossistemas aquáticos tropicais, com o acúmulo de COD húmico nestes ecossistemas e possivelmente no aumento das taxas de respiração bacteriana em relação à produção de biomassa nestes organismos.

Porém, alguns fatores característicos da abordagem experimental podem ter influenciados os resultados obtidos. Estudos anteriores observaram alterações da composição da comunidade microbiana ao longo do período de incubação (Adams et al. 2010) e a influência do período de incubação sobre a composição da comunidade. Ao utilizarmos apenas 48 horas de incubação, avaliou-se o efeito não imediato da temperatura na PB e pode ter influenciado nos resultados da PB, pois o longo período de incubação aumentaria as chances de adaptação ou aclimatação da comunidade bacteriana.

Os tratamentos com nutrientes utilizados neste experimento não consideraram também a combinação CP e CNP, já demonstrado em estudos anteriores influência positiva sobre as taxas de PB em ambientes com alta concentração de carbono recalcitrante, superando os tratamentos utilizando estes nutrientes isoladamente ( Farjalla et al. 2002a, Farjalla et al. 2002b, Lignell et al.



2008, Hoikkala et al. 2009). Na lagoa Imboassica, por exemplo, altas razões C:N e C:P refletem em baixa utilização do COD pelo bacterioplâncton (Farjalla et al. 2006). Assim, a utilização de tratamentos com C associados à adição de P e N poderia evidenciar de forma mais clara o quanto a PB é controlada pela adição de carbono lábil e se a disponibilidade do carbono nas amostras destes ambientes foi determinante para que as taxas da produção bacteriana nos tratamentos N, NP e P fossem baixas. Além disso, as coletas foram realizadas apenas em um período do ano e apenas no ponto central de cada lagoa, limitando a representatividade espaço-temporal do experimento. Contudo, em lagoas costeiras são observadas misturas constantes da massa d'água (Esteves et al. 2008), tornando representativa a coleta no ponto central destas. Por fim, a utilização de microcosmos para análise das comunidades microbianas, isolando-as do ambiente natural, foi realizada para melhor compreender os fatores responsáveis pela regulação do metabolismo bacteriano, reduzindo a ocorrência de efeitos de outros fatores externos. Assim, a compreensão dos fatores utilizados neste experimento possibilitarão estudos futuros considerando também outras variáveis influenciando a PB.

Embora este estudo tenha observado a influência da temperatura e da qualidade do carbono sobre a PB em lagoas com altas concentrações de compostos húmicos, e influência apenas da adição de nutrientes (P e N) em lagoas com menores concentrações de COD, são necessários estudos que avaliem outras variáveis, como a importância da fonte de COD, heterogeneidade, concentração e qualidade da MOD, o balanço estequiométrico da massa de nutrientes e a composição da comunidade influenciando a atividade bacteriana em lagoas tropicais húmicas.

## 5. CONCLUSÕES

- A qualidade do COD foi o principal fator controlando a PB, resultando na redução deste processo em ecossistemas com maiores concentrações de COD húmico. Conclui-se que a PB é influenciada principalmente pela qualidade do estoque de carbono nestas lagoas.
- A adição de nutrientes revelou respostas distintas sobre a PB entre as lagoas estudadas, com indicações de limitação pela concentração de N e P nas lagoas com menores concentrações de COD, e por carbono nas lagoas com maiores concentrações de COD, sugerindo a baixa qualidade deste estoque de carbono.
- Pode-se concluir que o aumento da temperatura influencia negativamente a atividade bacteriana – PB – em ecossistemas aquáticos tropicais. Na análise detalhada por lagoas, esta variável revelou influência somente nas lagoas com maiores concentrações de COD, sugerindo que a qualidade substrato pode ser importante fator a ser levado em consideração em trabalhos avaliando a influência da temperatura na atividade microbiana em ecossistemas aquáticos.

## 6. REFERÊNCIA

- Adams, H. E., B. C. Crump, & G. W. Kling. 2010. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. *Environmental microbiology* 12(5), 1319-33.
- Amado, A. M., V. F. Farjalla, F. A. Esteves, R. L. Bozelli, F. Roland, & A. Enrich-Prast. 2006. Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake. *FEMS Microbiology Ecology* 56(1), 8-17.
- Amon, R. M. W. & R. Benner. 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 41(1), 41-51.
- Anesio, A. M., P. C. Abreu & F. D. Esteves. 1997. Influence of the hydrological cycle on the bacterioplankton of an impacted clear water amazonian lake. *Microbial Ecology* 34, 66-73.
- Apple, J., P. del Giorgio, & W. Kemp. 2006. Temperature regulation of bacterial production, respiration, and growth efficiency in a temperate salt-marsh estuary. *Aquatic Microbial Ecology* 43, 243-254.
- Apple, J. K., E. M. Smith, & T. J. Boyd. 2008. Temperature, Salinity, Nutrients, and the Covariation of Bacterial Production and Chlorophyll-a in Estuarine Ecosystems. *Journal of Coastal Research* 55, 59-75.
- Arvola, L. & T. Tulongen. 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(5), 509-520.
- Autio, R. 1998. Response of Seasonally Cold-water Bacterioplankton to Temperature and Substrate Treatments. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 46(4), 465-474.

- Azam, F., T. Fenchel, J. G. Field, J. S. Gray, L. A. Meyer-Reil, & F. Thingstad. 1983. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. *Marine Ecology Progress Series* 10, 257-263.
- Azam, F. & F. Malfatti. 2007. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature reviews. Microbiology* 5(10), 782-91.
- Berggren, M., H. Laudon, A. Jonsson, & M. Jansson. 2010. Nutrient Constraints on Metabolism Affect the Temperature Regulation of Aquatic Bacterial Growth Efficiency. *Microbial ecology* 60(4), 894-902.
- Carlson, C. A., & H. W. Ducklow. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. *Aquat Microb Ecol* 10, 69–85.
- Carlson, C., S. Giovannoni, D. Hansell, S. Goldberg, R. Parsons, M. Otero, K. Vergin, & B. R. Wheeler. 2002. Effect of nutrient amendments on bacterioplankton production, community structure, and DOC utilization in the northwestern Sargasso Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 30, 19-36.
- Castillo, M., G. W. Kling, & J. D. Allan. 2003. Bottom-up controls on bacterial production in tropical lowland rivers. *Limnology and Oceanography* 48 (4), 1474.
- Chróst, R. J. & H. Rai. 1993. Ectoenzyme Activity and Bacterial Secondary Production in Nutrient- Impoverished and Nutrient-Enriched Freshwater Mesocosms. *Microbial Ecology* 25(2), 131-150.
- Chróst, R. J. 2009. Effect of Organic Phosphorus and Nitrogen Enrichment of Mesotrophic Lake Water on Dynamics and Diversity of Planktonic Microbial Communities - DNA and Protein Case Studies (Mesocosm Experiments). *Polish Journal of Microbiology* 58(2), 163-180.
- Chróst, R. J., T. Adamczewski, K. Kalinowska, & A. Skowrońska. 2009. Effect of organic

phosphorus and nitrogen enrichment of mesotrophic lake water on dynamics and diversity of planktonic microbial communities--DNA and protein case studies (mesocosm experiments). Polish journal of microbiology 58(2), 163-80.

Cole, J. J., S. Findlay, & M. L. Pace. 1988. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. Marine Ecology Progress Series 43, 1-10.

Cole, J. J., S. R. Carpenter, M. L. Pace, M. C. Van de Bogert, J. L. Kitchell, & J. R. Hodgson. 2006. Differential support of lake food webs by three types of terrestrial organic carbon. Ecology letters 9(5), 558-68.

Cotner, J. B. & B. A. Biddanda. 2002. Small Players, Large Role: Microbial Influence on Biogeochemical Processes in Pelagic Aquatic Ecosystems. Ecosystems 5(2), 105-121.

Cottrell, M. T. & D. L. Kirchman. 2000. Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the Cytophaga-Flavobacter cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter. Applied and environmental microbiology 66(4), 1692-7.

Currie, D. J. & J. Kalff. 1984. Can Bacteria Outcompete Phytoplankton for Phosphorus? A Chemostat Test. Microbial Ecology 10, 205-216.

De Haan, H. 1974. Effect of fulvic acid fraction on the growth of a *Pseudomonas* from Tjeukemeer (The Netherlands). Freshwater Biology 4:301–310.

de Vrij, W., R. A. Bulthuis, & W. N. Konings. 1988. Comparative Energy-Transducing Cytoplasmic Mesophilic Thermophilic. Journal Of Bacteriology 170(5), 2359-2366.

del Giorgio, P. A. & J. J. Cole. 1998. Bacterial Growth Efficiency in Natural Aquatic Systems. Annual Review of Ecology and Systematics 29(1), 503-541.

Eiler, A., S. Langenheder, S. Bertilsson, & L. J. Tranvik. 2003. Heterotrophic Bacterial Growth

Efficiency and Community Structure at Different Natural Organic Carbon Concentrations. *Society* 69(7), 3701-3709.

Elser, J. J., L. B. Stabler, & R. P. Hassett. 1995. Nutrient limitation of bacterial growth and rates of bacterivory in lakes and oceans: a comparative study. *Aquatic Microbial Ecology* 9:105–10.

Esteves, F. A. 1998a. *Fundamentos de Limnologia*. 2. ed. Interciência. Rio de Janeiro.

Esteves, F. A. 1998b. Lagoas costeiras: origem, funcionamento e possibilidades de manejo. p. 63-90 in F. A. Esteves, editor. *Ecologia das Lagoas Costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*, Rio de Janeiro.

Esteves, F. A., A. Caliman, J. M. Santangelo, R. D. Guariento, V. F. Farjalla, & R. L. Bozelli. 2008. Neotropical coastal lagoons: an appraisal of their biodiversity, functioning, threats and conservation management. *Brazilian journal of biology* 68(4 Suppl), 967-81.

Faria, B. M. & F. A. Esteves. 2001. DOC in Two Brazilian Coastal Lagoon. *Oecologia Brasiliensis* 9, 57-64.

Farjalla, V. F., A. M. Anesio, S. Bertilsson, & W. Graneli. 2001. Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response. *Aquatic Microbial Ecology* 24(2), 187-195.

Farjalla, V. F., T. Laque, A. L. Suhett, A. M. Amado, & F. A. Esteves. 2005. Diel variation of bacterial abundance and productivity in tropical coastal lagoons: the importance of bottom-up factors in a short-time scale. *Acta Limnologica Brasiliensia* 17(4), 373-383.

Farjalla, V. F., A. Enrich-Prast, F. A. Esteves, & A. C. P. Cimblaris. 2006. Bacterial growth and DOC consumption in a tropical coastal lagoon. *Brazilian journal of biology* 66(2A), 383-92.

Farjalla, V. F., F. A. Esteves, R. L. Bozelli, & F. Roland. 2002a. Nutrient limitation of bacterial

production in clear water Amazonian ecosystems. *Hydrobiologia* 489, 197-205.

Farjalla, V. F., A. M. Amado, A. L. Suhett, & F. Meirelles-Pereira. 2009a. DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems. *Environmental science and pollution research international* 16(5), 531-8.

Farjalla, V. F., C. C. Marinho, B. M. Faria, A. M. Amado, F. A. Esteves, R. L. Bozelli, & D. Giroldo. 2009b. Synergy of fresh and accumulated organic matter to bacterial growth. *Microbial Ecology* 57(4), 657-66.

Farjalla, V. F., B. M. Faria, & F. A. Esteves. 2002b. The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons. *Archiv fur Hydrobiologie* 156(1), 97-119.

Fenchel, T. 2008. The microbial loop – 25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366(1-2), 99-103.

Feuchtmayr, H., R. Moran, K. Hatton, L. Connor, T. Heyes, B. Moss, I. Harvey, et al. 2009. Global warming and eutrophication: effects on water chemistry and autotrophic communities in experimental hypertrophic shallow lake mesocosms. *Journal of Applied Ecology* 46(3), 713-723.

Fuchs, B.M., M. V. Zubkov, K. Sahm, P. H. Burkill, & R. Amann. 2000. Changes in community composition during dilution cultures of marine bacterioplankton as assessed by flow cytometric and molecular biological techniques. *Environmental Microbiology* 2: 191–202.

Fuhrman, J. A. & F. Azam. 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Marine Biology* 66. 109-120

Gerten D. & R. Adrian. 2000. Climate-driven changes in spring plankton dynamics and the sensitivity of shallow polymictic lakes to the North Atlantic Oscillation. *Limnology and*

Oceanography 45: 1058–1066.

- Goldman, J. C., D. A. Caron, & M. R. Dennett. 1987. Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C:N ratio. *Limnology and Oceanography: methods* 32(6), 1239-1252.
- Hall, E. K., A. R. Dzialowski, S. M. Stoxen, & J. B. Cotner. 2009. The effect of temperature on the coupling between phosphorus and growth in lacustrine bacterioplankton communities. *BioScience* 54(3), 880-889.
- Hall, E. K. & J. B. Cotner. 2007. Interactive effect of temperature and resources on carbon cycling by freshwater bacterioplankton communities. *Aquatic Microbial Ecology* 49, 35-45.
- Hobbie, J. E., R. J. Daley, & S. Jasper. 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and environmental microbiology* 33(5), 1225-1228.
- Hoch, M. & D. L. Kirchman. 1993. Seasonal and inter-annual variability in bacterial production and biomass in a temperate estuary. *Marine Ecology Progress Series* 98, 283-295.
- Hoikkala, L., H. Aarnos, & R. Lignell. 2009. Changes in Nutrient and Carbon Availability and Temperature as Factors Controlling Bacterial Growth in the Northern Baltic Sea. *Estuaries and Coasts* 32(4), 720-733.
- Hollibaugh, J. T. & F. Azam. 1983. Microbial-degradation of dissolved proteins in seawater. *Limnology and Oceanography* 28, 1104–1116.
- Hughes, T. P., A. H. Baird, D. R. Bellwood, M. Card, S. R. Connolly, C. Folke, R. Grosberg, et al. 2003. Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science* 301(5635), 929-33.
- Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2001. *Climate Change 2001: The Scientific*



Basis. Contribution of Working Group I to the IPCC Third Assessment Report. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). 2007. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Jansson, M., Bergström, A. -K., Blomqvist, P. e Drakare, S. (2000). Allochthonous Organic Carbon and Phytoplankton/Bacterioplankton Production Relationships in Lakes. *Ecology* 81(11), 3250-3255.

Jansson, M., A. -K. Bergström, D. Lymer, K. Vrede, & J. Karlsson. 2006. Bacterioplankton growth and nutrient use efficiencies under variable organic carbon and inorganic phosphorus ratios. *Microbial ecology* 52(2), 358-64.

Jansson, M., L. Persson, A. M. De Roos, R. I. Jones, & L. J. Tranvik. 2007. Terrestrial carbon and intraspecific size-variation shape lake ecosystems. *Trends in ecology e evolution* 22(6), 316-22.

Jasser, I., I. Kostrzewska-Szlakowska, J. Ejsmont-Karabin, K. Kalinowska, & T. Węgleńska. 2009. Autotrophic Versus Heterotrophic production and components of trophic chain in humic lakes: the role of microbial communities. *Polish Journal of Ecology* 57(3), 423-439.

Judd, K. E., B. C. Crump, & G. W. Kling. 2006. Variation in dissolved organic matter controls bacterial production and community composition. *Ecology* 87:2068- 2079.

Kamjunke, N., C. Bohn, & J. Grey. 2006. Utilisation of dissolved organic carbon from different sources by pelagic bacteria in an acidic mining lake. *Archiv für Hydrobiologie* 165(3), 355-364.

Karl D. M. 1999. A sea of change: biogeochemical variability in the North Pacific subtropical gyre.

Ecosystems 2:181–214.

- Karlsson, J. 2007. Different carbon support for respiration and secondary production in unproductive lakes. *Oikos* 116, 1691-1696.
- Karlsson, J., M. Jansson, & A. Jonsson. 2002. Similar Relationships Between Pelagic Primary and Bacterial Production in Clearwater and Humic Lakes. *Ecology* 83(10), 2902-2910.
- Keiblinger, K. M., E. K. Hall, W. Wanek, U. Szukics, I. Hämmerle, G. Ellersdorfer, S. Böck, J. Strauss, K. Sterflinger, A. Richter, & S. Zechmeister-Boltenstern. 2010. The effect of resource quantity and resource stoichiometry on microbial carbon-use-efficiency. *FEMS microbiology ecology* 73(3), 430-40.
- Kieber D. J., J. McDaniel, & K. Mopper. 1989. Photochemical source of biological substrates in sea water. implications for carbon cycling. *Nature* 341:637-639.
- Kirchman, D., E. K'nees, & R. Hodson. 1985. Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. *Applied and environmental microbiology* 49(3), 599-607.
- Kirchman, D. L., A. Dittel, S. Findlay, & D. Fischer. 2004. Changes in bacterial activity and community structure in response to dissolved organic matter in the Hudson River, New York. *Aquatic Microbial Ecology* 35, 243-257.
- Kirchman, D. L., R. Malmstrom, & M. Cottrell. 2005. Control of bacterial growth by temperature and organic matter in the Western Arctic. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 52(24-26), 3386-3395.
- Kirschner, A. & B. Velimirov. 1997. A Seasonal Study of Bacterial Community Succession in a Temperate Backwater System, Indicated by Variation in Morphotype Numbers, Biomass, and Secondary Production. *Microbial ecology* 34(1), 27-38.

- Kritzberg, E., J. Arrieta, & C. Duarte. 2010a. Temperature and phosphorus regulating carbon flux through bacteria in a coastal marine system. *Aquatic Microbial Ecology* 58, 141-151.
- Kritzberg, E., J. J. Cole, M. M. Pace, & W. Granéli. 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.
- Kritzberg, E. S., C. M. Duarte, & P. Wassmann. 2010b. Changes in Arctic marine bacterial carbon metabolism in response to increasing temperature. *Polar Biology* 33(12), 1673-1682.
- Lampert W. & U. Sommer. 1997. *Limnoecology: the Ecology of Lakes and Streams*. Oxford University Press, New York.
- Lee, C. W., C. W. Bong, & Y. S. Hii. 2009. Temporal variation of bacterial respiration and growth efficiency in tropical coastal waters. *Applied and environmental microbiology* 75(24), 7594-601.
- Lennon, J. T. 2004. Experimental evidence that terrestrial carbon subsidies increase CO<sub>2</sub> flux from lake ecosystems. *Oecologia* 138(4), 584-91
- Lennon, J. T. & L. E. Pfaff. 2005. Source and supply of terrestrial organic matter affects aquatic microbial metabolism. *Aquatic Microbial Ecology* 39: 107–119.
- Lignell, R., L. Hoikkala, & T. Lahtinen. 2008. Effects of inorganic nutrients, glucose and solar radiation on bacterial growth and exploitation of dissolved organic carbon and nitrogen in the northern Baltic Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 51, 209-221.
- Lindell, M. J., W. Granéli, & L. J. Tranvik. 1995. Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography* 40(1), 195–199.

- Lindeman R. L. 1942. The trophic-dynamic aspects of ecology. *Ecology* 23,399–418.
- Lopez-Urrutia A., & X. A. G. Moran. 2007. Resource limitation of bacterial production distorts the temperature dependence of oceanic carbon cycling. *Ecology* 88 (4), 817-822.
- Lovell, C. R. & A. Konopka. 1985. Primary and bacterial production in two dimictic indiana lakes. *Applied and environmental microbiology* 49(3), 485-91.
- Mansilla, M. C., L. E. Cybulski, D. Albanesi, & D. D. Mendoza. 2004. Control of Membrane Lipid Fluidity by Molecular Thermosensors. *Journal Of Bacteriology* 186(20), 6681-6688.
- Marengo, J. A., T. Ambrizzi, R. P. Rocha, L. M. Alves, S. V. Cuadra, M. C. Valverde, R. R. Torres, D. C. Santos, & S. E. T. Ferraz. 2009. Future change of climate in South America in the late twenty-first century: intercomparison of scenarios from three regional climate models. *Climate Dynamics* 35, 1073-1097.
- Marinho, C. C., F. Meirelles-Pereira, F. A. Esteves, A. R. Gripp, C. G. Guimarães, & R. L. Bozelli. 2010. Aquatic macrophytes drive sediment stoichiometry and the suspended particulate organic carbon composition of a tropical coastal lagoon. *Acta Limnologica Brasiliensia* 22(2), 208-217.
- Middelboe, M. & M. Søndergaard. 1993. Bacterial growth yield: seasonal variations and coupling to substrate lability and  $\beta$ -glucosidase activity. *Applied and Environmental Microbiology* 59, 3916-3921.
- Millet, B. & P. Cecchi. 1992. Wind-induced hydrodynamic control of the phytoplankton biomass in a lagoon ecosystem. *Limnology and Oceanography* 37:140-146.
- Mooij, W. M., S. Hülsmann, L. N. De Senerpont Domis, B. A. Nolet, P. L. E. Bodelier, P. C. M. Boers, L. M. D. Pires, et al. 2005. The impact of climate change on lakes in the Netherlands: a review. *Aquatic Ecology* 39(4), 381-400.

- Munster, U. & R. J. Chróst. 1990. Origin, composition and microbial utilization of dissolved organic matter. p. 8-46 In: R. J. Chróst. Overbeck, approaches. Springer-Verlag.
- Nedwell, D. B. 1999. Effect of low temperature on microbial growth: lowered affinity for substrates limits growth at low temperature. *FEMS Microbiology Ecology* 30, 101–111.
- Panosso, R. F, J. L. Attayde, & D. Muehe. 1998. Morfometria das Lagoas Imboassica, Cabiúnas, Comprida e Carapebus: Implicações para seu funcionamento e manejo. p. 159-176. In: F. A. Esteves, editor. *Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Rio de Janeiro.
- Petit, M., P. Servais, & P. Lavandier. 1999. Bacterial production measured by leucine and thymidine incorporation rates in French lakes. *Freshwater Biology* 42(3), 513-524.
- Pomeroy, L. R. 1974. The Ocean's Food Web, A Changing Paradigm. *BioScience* 24(9), 499-504.
- Pomeroy, L. R., & W. J. Wiebe. 2001. Temperature and substrates as interactive limiting factors for marine heterotrophic bacteria. *Aquatic Microbial Ecology* 23, 187-204.
- Ram, A. S. P., S. Nair, & D. Chandramohan. 2003. Seasonal shift in net ecosystem production in a tropical estuary. *Limnology and Oceanography* 48 (4): 1601-1607.
- Ricklefs, R. 2003. *Economia da Natureza*. 5ª Edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Rivkin, R., M. Anderson, & C. Lajzerowicz. 1996. Microbial processes in cold oceans. I. Relationship between temperature and bacterial growth rate. *Aquatic Microbial Ecology* 10, 243-254.
- Roland, F. 1998. Produção fitoplanctônica em diferentes classes de tamanho nas lagoas Imboassica e Cabiúnas. p. 159-176 In: F. A. Esteves, editor. *Ecologia das lagoas costeiras do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba e do Município de Macaé (RJ)*. Rio de Janeiro.

- Roland, F. & J. J. Cole. 1999. Regulation of bacterial growth efficiency in a large turbid estuary. *Aquatic Microbial Ecology* 20, 31-38.
- Rose, A. H. 1967. *Thermobiology*. Academic Press, London.
- Russell, J. B. & G. M. Cook. 1995. Energetics of bacterial growth: Balance of anabolic and catabolic reactions. *Microbiological reviews* 59, 48–62.
- Sahoo, G. B., S. G. Schladow, J. E. Reuter, & R. Coats. 2010. Effects of climate change on thermal properties of lakes and reservoirs, and possible implications. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment* 25(4), 445-456.
- Scott, J. T., J. A. Back, J. M. Taylor, & R. S. King. 2008. Does nutrient enrichment decouple algal–bacterial production in periphyton? *Journal of the North American Benthological Society* 27(2), 332-344.
- Sherr, E. & B. Sherr. 1996. Temporal offset in oceanic production and respiration processes implied by seasonal changes in atmospheric oxygen: the role of heterotrophic microbes. *Aquatic Microbial Ecology* 11, 91-100.
- Shiah, F., G. Gong, & C. Chen. 2003. Seasonal and spatial variation of bacterial production in the continental shelf of the East China Sea: possible controlling mechanisms and potential roles in carbon cycling. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography* 50(6-7).
- Schindler, D. W. 1978. Factors Regulating Phytoplankton Production and Standing Crop in Worlds Freshwaters. *Limnology and Oceanography* 23 (3): 478-486.
- Sinsabaugh, R. L. & J. J. F. Shah. 2010. Integrating resource utilization and temperature in metabolic scaling of riverine bacterial production. *Ecology* 91(5), 1455-65.
- Smith, N. P. 1994. Water, salt, and heat balances of coastal lagoons. p. 69-101 In: Kjerfve, B, editor.

Coastal lagoon processes. Elsevier Oceanography Series no.60, Amsterdam.

- Smith, D.C. & F. Azam. 1992. A simple, economical method for measuring bacterial protein synthesis rates in seawater using  $^3\text{H}$ -leucine. *Marine Microbial Food Webs* 6, 107–114.
- Soffiati-Neto, A. A. 2007. Os canais de navegação do século XIX no Norte Fluminense. *Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamengo* 1(2), 13-23.
- Søndergaard, M. & M. Middelboe. 1995. A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon. *Marine Ecology Progress Series* 118, 283-294.
- Søndergaard, M. & J. Theil-Nielsen. 1997. Bacterial growth efficiency in lakewater cultures. *Aquatic Microbial Ecology* 12, 115-122.
- Stepanauskas, R., V. F. Farjalla, L. J. Tranvik, J. M. Svensson, F. A. Esteves, & W. Grane. 2000. Bioavailability and sources of DOC and DON in macrophyte stands of a tropical coastal lake. *Hydrobiologia* 436, 241-248.
- Strome, D. J. & M. C. Miller. 1978. Photolytic changes in dissolved humic substances. *Internationale Vereinigung fur Theoretische und Angewandte Limnologie*. 20, 1248–1254.
- Suhett, A. L., F. MacCord, A. M. Amado, V. F. Farjalla, & F. A. Esteves. 2004. Photodegradation of dissolved organic carbon in humic coastal lagoons (RJ, Brazil). In: Martin Neto, L., Milori, D.M.B.P. e Silva, W.T.L. (eds.) *Humic substances and soil and water environment*. Embrapa, São Carlos. 61-63.
- Suhett, A. L., A. M. Amado, A. Enrich-Prast, F. A. Esteves, & V. F. Farjalla. 2007. Seasonal changes of dissolved organic carbon photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 64(9), 1266-1272.

- Sun L., E. M. Perdue, J. L. Meyer, & J. Weis. 1997. Use of elemental composition to predict bioavailability of dissolved organic matter in a Georgia river. *Limnology and Oceanography* 42, 714–721.
- Thomas, J. D. 1997. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 38(1), 1-36.
- Toolan, T., J. D. Wehr, & S. Findlay. 1991. Inorganic phosphorus stimulation of bacterioplankton production in a meso-eutrophic lake. *Applied and environmental microbiology* 57(7), 2074-8.
- Vadstein, O., L. M. Olsen, A. Busch, T. Andersen, & H. R. Reinertsen. 2003. Is phosphorus limitation of planktonic heterotrophic bacteria and accumulation of degradable DOC a normal phenomenon in phosphorus-limited systems? A microcosm study. *FEMS Microbiology Ecology* 46(3), 307-316.
- van de Vossenberg, J. L., A. J. Driessen, M. S. da Costa, & W. N. Konings. 1999. Homeostasis of the membrane proton permeability in *Bacillus subtilis* grown at different temperatures. *Biochimica et biophysica acta* 1419(1), 97-104.
- Vrede, K. 1999. Effects of inorganic nutrients and zooplankton on the growth of heterotrophic bacterioplankton - enclosure experiments in an oligotrophic clearwater lake. *Aquatic Microbial Ecology* 18, 133-144.
- Wetzel, R. G. & G. E. Likens. 2000. *Limnological Analysis*. 3ed. Springer-Verlag. New York.
- Williamson, C. E., D. P. Morris, M. L. Pace, & O. G. Olson. 1999. Dissolved organic carbon and nutrients as regulators of lake ecosystems: Resurrection of a more integrated paradigm. *Limnology and Oceanography* 44(3, part 2), 795-803.