

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**Degradação da Glicose pelo Bacterioplâncton: Mineralização e
Formação de Produtos Intermediários**

RAFAEL SPADACCIA PANHOTA

SÃO CARLOS - SP
2002

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

**Degradação da Glicose pelo Bacterioplâncton: Mineralização e
Formação de Produtos Intermediários**

RAFAEL SPADACCIA PANHOTA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

(Campo de pesquisa: Limnologia)

SÃO CARLOS - SP

2002

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

P191dg

Panhota, Rafael Spadaccia.

Degradação da glicose pelo bacterioplâncton:
mineralização e formação de produtos intermediários / Rafael
Spadaccia Panhota. -- São Carlos : UFSCar, 2003.

104 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São
Carlos, 2002.

1. Limnologia. 2. Bacterioplâncton. 3. Mineralização.
4. Potencial de heterotrofia. 5. Modelos cinéticos. 6.
Monossacarídeos .I. Título.

CDD: 574.52632 (20ª)

Orientador

Prof. Dr. Irineu Bianchini Jr.

Dedico aos meus pais

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Jr. (orientador) pela oportunidade, incentivo, amizade e orientação em tempo integral.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN) pela oportunidade de realização deste trabalho.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida e à FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; processos. N° 99/07766-0 e 00/09297-6) pelo financiamento parcial deste estudo.

Ao Prof. Dr. Armando A. H. Vieira e ao pessoal do laboratório de Ficologia (Departamento de Botânica – UFSCar), em especial ao Danilo Giroldo, pelas análises de HPLC, críticas e sugestões.

Aos técnicos e professores do Departamento de Hidrobiologia da UFSCar.

À Marcela Bianchessi da Cunha-Santino e Rogério Marchetto Antonio pelo convívio e amizade e, principalmente, pela atenção e auxílio em todos os momentos.

Aos colegas do laboratório Lucilia, Bitar, André, Chico, Paula e Ângelo pelos momentos agradáveis no laboratório.

Aos professores membros da banca examinadora do exame de qualificação (Armando A. H. Vieira, Gilberto Moraes e Mirna J. L. Godinho) pelas críticas e sugestões.

À Regina pelo companheirismo, paciência, compreensão e ajuda em todos os momentos.

Aos meus pais Emidio Panhota e Elenice Spadaccia Panhota, por tudo! E também à minha irmã Lígia.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho pudesse ser realizado, o meu sincero agradecimento.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo comparar o potencial heterotrófico do bacterioplâncton e as rotas de mineralização da glicose e também determinar alguns monossacarídeos que entram na composição de polímeros produzidos pelo bacterioplâncton. Amostras de água coletadas no reservatório de Barra Bonita-SP (22°32'34,5'' S e 48°29'26,4'' W) em dois períodos distintos (fevereiro e julho de 2001) foram filtradas e enriquecidas com glicose. Em seguida foram incubadas a 20°C, durante sessenta dias, em condições aeróbias e anaeróbias. Durante esse período, alíquotas foram retiradas dos frascos de mineralização para determinação das concentrações de carbono orgânico (dissolvido e particulado). Através de ajustes cinéticos foram estimados os coeficientes globais de decaimento e os coeficientes de mineralização das três rotas admitidas. Em fevereiro (período de maior precipitação) os coeficientes de mineralização foram superiores (≈ 10 vezes) aos obtidos em julho (período de menor precipitação). Com relação ao metabolismo, nas duas oportunidades, o anaeróbio apresentou coeficientes de mineralização superiores (1,4 vezes em fevereiro e 1,1 vezes em julho). Em contrapartida, a manutenção do carbono orgânico em biomassa de bactérias (formação de COP) foi maior no processo aeróbio, nos dois períodos. Para o experimento de determinação de monossacarídeos poliméricos totais e dissolvidos liberados pelo bacterioplâncton durante o processo de mineralização da glicose, amostras de água foram coletadas no mesmo ponto de amostragem do reservatório, em março de 2002. Estas amostras foram filtradas e enriquecidas com glicose, incubadas a 20°C, durante trinta dias, em condições aeróbias. Durante esse período, alíquotas foram retiradas dos frascos de mineralização para determinação das concentrações de monossacarídeos. Constatou-se a presença de arabinose, fucose, galactose e ramnose, sendo a ramnose, o monossacarídeo que apresentou as maiores concentrações em relação aos outros monossacarídeos.

ABSTRACT

This study aimed compare the bacterioplankton heterotrophic potential and the routes of glucose mineralization, and also determined some polymeric monosaccharides produced by bacterioplankton. Water samples were collected in the Barra Bonita reservoir – SP (22°32'34.5'' S and 48°29'26.4'' W) in two periods (February/01 e July/01), filtered and enriched with glucose. The samples were incubated at 20°C during 60 days, under aerobic and anaerobic conditions. During the experimental period, aliquots were collected from the mineralization flasks to determine the organic carbon concentration (dissolved and particulate). The global decay coefficient and the coefficients of the three routes admitted by the glucose mineralization model were determined through kinetics fitting. In February (rainy season), the mineralization coefficients were higher (≈ 10 times) than the mineralization coefficients of July (drought season). In both periods, the anaerobic metabolism showed greater mineralization coefficients (1.4 times in February and 1.1 times in July), than the aerobic one. On the other hand, the carbon immobilization (COP formation) was greater in the aerobic metabolism compared with anaerobic metabolism, in the two periods. The water samples, collected in March/02 in the same place described above, were taken to determine the total and dissolved monosaccharides from polymeric polysaccharide released by bacterioplankton during glucose mineralization. These samples were filtered, enriched with glucose and incubated at 20°C during 30 days, under aerobic conditions. During that period, aliquots were collected from the mineralization flasks to determine the monosaccharides concentration. The monosaccharides: arabinose, fucose, galactose and rhamnose were found. Rhamnose showed the greater amount in comparison with other monosaccharides.

LISTA DE FIGURAS

1	- Representação esquemática da via Embden-Meyerhof-Parnas (Glicólise) (LEHNINGER, 1977)	9
2	- Representação esquemática da via Pentose-Fosfato (CONN & STUMPF 1975).....	10
3	- Representação esquemática da via Fosfocetolase em <i>Leuconostoc</i> (ROSE, 1976)	11
4	- Representação esquemática da via Entner-Doudoroff (ROSE,1976)	12
5	- Representação esquemática da respiração aeróbia, ciclo do Ácido tricarbóxico (LEHNINGER, 1977)	15
6	- Produtos da fermentação bacteriana do piruvato. O piruvato formado pelo catabolismo da glicose é metabolizado pelas vias que são características de organismos particulares. A, <i>Streptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp.; B, <i>Clostridium propionicum</i> ; C, fungos, <i>Acetobacter</i> spp., <i>Zymomonas</i> spp., <i>Sarcina ventriculi</i> , <i>Erwinia amylovora</i> ; D, Enterobacteriaceae; E, <i>Clostridium</i> spp.; F. <i>Klebsiella</i> spp.; G, fungos; H, <i>Clostridium</i> spp (butíricos, butílicos); I, bactérias do ácido propiônico. (Adaptado de MANDELSTAM et al., 1982)	17
7	- Reservatório de Barra Bonita. (A) Localização no Estado de São Paulo; (B) foto de satélite do reservatório de Barra Bonita (EMBRAPA, 2002); (C) foto do ponto de coleta	23
8	- Diagrama esquemático dos experimentos realizados	26
9	- Procedimentos adotados nas coletas.....	28
10	- Esquema da montagem dos frascos dos experimentos de mineralização aeróbia, anaeróbia e consumo de oxigênio	30
11	- Análises do COD e COP dos frascos de mineralização aeróbia e anaeróbia. Frascos sombreados: solução de glicose; frascos brancos: controle (somente amostra de água do reservatório).....	33
12	- Análises de consumo de oxigênio. Frascos sombreados: solução de glicose; frascos brancos: controle (somente amostra de água do reservatório).....	34

13	- Modelo cinético das rotas de decomposição da glicose (ANTONIO & BIANCHINI JR., 2002).....	35
14	- Resumo dos procedimentos realizados na análise de monossacarídeos	44
15	- Variações das concentrações de OD, temperatura, pH, condutividade, potencial redox e turbidez nas diferentes profundidades da coluna d'água. Fevereiro (-●-) e Julho (-o-).....	46
16	- Ajustes cinéticos da decomposição do COD e da formação e mineralização de COP. Experimentos realizados com amostra de água coletada no verão (fevereiro/01). Aeróbio (A e B) e anaeróbio (C e D).....	50
17	- Ajustes cinéticos da decomposição do COD e da formação e mineralização de COP. Experimentos realizados com amostra de água coletada no inverno (julho/01). Aeróbios (A e B) e anaeróbios (C e D).....	51
18	- Valores percentuais do rendimento das rotas de mineralização obtidos através do ajuste cinético: (A) mineralização aeróbia/verão; (B) mineralização aeróbia/inverno; (C) mineralização anaeróbia/verão e (D) mineralização anaeróbia/inverno	54
19	- Ajuste cinético para a estimativa do carbono orgânico mineralizado dos experimentos de mineralização aeróbia (A e C) e anaeróbia (B e D). A/B (fevereiro) e C/D (julho)	55
20	- Coeficientes de correlação entre COM teórico, calculado através da somatória das equações (5 e 6), e o COM experimental, calculado de acordo com a equação 9. (A) aeróbio e (B) anaeróbio em fevereiro. (C) aeróbio e (D) anaeróbio em julho	56
21	- Ajustes cinéticos das curvas do OC: (A) Fevereiro/01 e (B) Julho/01	58
22	- Ajuste da equação linear da relação OC/COM para obtenção da estequiometria global dos processos aeróbios. (A) Fevereiro/01 e (B) Julho/01	58
23	- Variação temporal dos valores médios de monossacarídeos poliméricos totais (Particulado + Dissolvido), dos frascos enriquecidos com glicose	63
24	- Variação temporal dos valores médios de monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 µm), dos frascos enriquecidos com glicose	63
25	- Variação temporal da concentração de glicose livre (amostra não hidrolizada)	65

LISTA DE TABELAS

1	- Valores médios das variáveis físicas e químicas inventariadas no reservatório de Barra Bonita em Fevereiro e Julho de 2001	47
2	- Parâmetros do modelo adotado, determinados através ajustes cinéticos das curvas do COD e COP	52
3	- Monossacarídeos poliméricos totais (particulado + dissolvido) obtidos nos frascos controles. Amostras não filtradas e hidrolisadas.....	61
4	- Monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 µm) obtidos nos frascos controles. Amostras filtradas e hidrolisadas.....	61
5	- Monossacarídeos livres liberados pelo bacterioplâncton durante o processo de degradação da glicose (frascos enriquecidos). Valores descontados dos frascos controles. Amostras não filtradas e não hidrolisadas.....	62
6	- Valores percentuais dos monossacarídeos poliméricos totais obtidos durante o processo de mineralização da glicose.....	64
7	- Valores percentuais dos monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 µm), obtidos durante o processo de mineralização da glicose.....	65

LISTA DE SIGLAS

CT = carbono total

COT = carbono orgânico total

COD = carbono orgânico dissolvido

COD₀ = carbono orgânico dissolvido inicial

COD_r = carbono orgânico dissolvido refratário

COP = carbono orgânico particulado

COM = carbono orgânico mineralizado

COM_{Max} = quantidade máxima de carbono orgânico mineralizado

C_{in} = carbono inorgânico

OC = oxigênio consumido

OC_{Max} = quantidade máxima de oxigênio consumido

k_T = coeficiente global de mineralização da glicose

k₁ = coeficiente de oxidação (química e/ou biológica)

k₂ = coeficiente de formação de COP

k₃ = coeficiente de formação de COD_r

k₄ = coeficiente de mineralização do COP

k_M = coeficiente de mineralização do carbono orgânico

k_D = coeficiente de desoxigenação

e = base logaritmo natural

t_{1/2} = tempo de meia-vida

t = tempo

SUMÁRIO

1. Introdução	1
1.1. Ecossistemas aquáticos e o papel das bactérias heterotróficas.....	1
1.2. Carboidratos	5
1.3. Modelagem Ecológica	18
2. Objetivos	21
3. Materiais e Métodos	22
3.1. Caracterização da área de estudo	22
3.2. Experimentos	25
3.2.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão e de seca/inverno	27
3.2.2. Determinações dos monossacarídeos liberados pelo bacterioplâncton	40
4. Resultados	45
4.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão seca/inverno	45
4.1.1. Variáveis Físicas e Químicas.....	45
4.1.2. Mineralização Aeróbia e Anaeróbia da Glicose	48
4.1.3. Consumo de Oxigênio	57
4.2. Monossacarídeos Poliméricos produzidos pelo Bacterioplâncton	59
4.2.1. Fator de Correção para amostras hidrolisadas	59
4.2.2. Análise de Monossacarídeos	59
5. Discussão	66
5.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão e de seca/inverno.....	66
5.1.1. Variáveis Físicas e Químicas	66
5.1.2. Potenciais de Heterotrofia e rotas de mineralização	71
5.2. Produção de polímeros (polissacarídeos) pelo bacterioplâncton	77
6. Conclusões	81
7. Perspectivas	82
8. Referências Bibliográficas	83
9. Anexos	91

1. INTRODUÇÃO

1.1. Ecossistemas aquáticos e o papel das bactérias heterotróficas

Nos ecossistemas aquáticos verifica-se que a maior parte do carbono se encontra na forma inorgânica e somente uma pequena parcela ocorre na forma orgânica. Desta parcela orgânica uma pequena fração ocorre como constituinte da biota (WETZEL, 1983).

As principais fontes de matéria orgânica presentes nos ecossistemas aquáticos podem ser representadas pela biomassa viva e pelos detritos. O detrito pode ser definido como a perda não predatória de carbono orgânico, proveniente de qualquer nível trófico ou como sendo a entrada de carbono orgânico a partir de fontes externas ao ecossistema (WETZEL, 1983). Estes resíduos podem ser encontrados em duas formas distintas: MOD (matéria orgânica dissolvida) e MOP (matéria orgânica particulada). Na comparação entre as frações orgânicas dos ecossistemas aquáticos naturais, têm sido constatadas relações entre MOD e MOP da ordem de 6 a 10:1 (WETZEL, 1990).

Com relação à procedência do carbono nos ambientes aquáticos, segundo BIANCHINI Jr. (1999) cinco fontes principais têm sido observadas: 1) compostos orgânicos de origem alóctone; 2) material orgânico originado da decomposição dos organismos aquáticos; 3) metabólitos extracelulares ou fotossintetizados excretados pelo fitoplâncton; 4) metabólitos extracelulares ou fotossintetizados excretados pelas macrófitas aquáticas da zona litoral e 5) excreção da fauna. Os compostos orgânicos de origem alóctone são constituídos, principalmente, por material dissolvido e podem representar a maior fonte de MOD para alguns ecossistemas aquáticos continentais. Os compostos orgânicos de origem autóctone, por sua vez, são produzidos basicamente pelas algas e macrófitas aquáticas.

A decomposição dos detritos resulta na mudança de estado de um dado recurso, sob influência de fatores bióticos e abióticos inerentes ao meio, sendo os microorganismos heterotróficos os principais utilizadores e modificadores dos detritos (MÜNSTER, 1991). A expressão mais simples de mudança de estado de um recurso é verificada a partir de sua perda de massa (SWIFT et al., 1979; BIANCHINI Jr., 1999). Assim, a decomposição é constituída basicamente por três processos: 1) a lixiviação, que consiste na solubilização de constituintes dos detritos, disponibilizando parte do recurso sob a forma de MOD; 2) a cominuição, que consiste na fragmentação física do recurso e as modificações químicas inerentes aos processos de digestão; 3) o catabolismo, que consiste na quebra progressiva de um composto orgânico complexo em moléculas mais simples.

Dependendo das condições ambientais e dos tipos de organismos presentes, os produtos formados no catabolismo podem ser orgânicos ou inorgânicos, isto é, parte desses recursos pode ser completamente degradada em moléculas inorgânicas, como CO_2 , NH_4^+ , H_2S e PO_4^{-3} , completando o processo de mineralização; podem também ser ressintezados e incorporados às estruturas celulares dos decompositores e/ou convertidos em compostos orgânicos não celulares, tais como produtos de excreção e as substâncias húmicas (WETZEL, 1983), processo esse denominado imobilização.

Entende-se como a imobilização de um determinado recurso sua incorporação ou manutenção na forma orgânica. O ácido pirúvico, um dos principais produtos do catabolismo de açúcares, através de diferentes reações químicas na célula pode ser transformado em diferentes precursores para reações de biossíntese, como a acetil-CoA, que pode ser utilizada em muitas reações de biossíntese e o ácido aspártico e o ácido glutâmico, podem ser precursores de alguns nucleotídeos e aminoácidos. Um

outro exemplo de imobilização são alguns monossacarídeos ativos (fosforilados) que podem sofrer reações de polimerização e dar origem a polissacarídeos e carboidratos complexos (STANIER et al., 1976). Portanto, de acordo com as diferentes necessidades metabólicas dos organismos, em resposta às condições ambientais, os produtos de ressíntese podem ser incorporados às estruturas celulares, como lipoproteínas da membrana plasmática, as peptoglicanas da parede celular, os peptídeos das enzimas intracelulares e outros componentes celulares; ou serem liberados pela célula como produtos de excreção, como o glicocálix (homo e heteropolissacarídeos), glicoproteínas e proteínas (CHARACKLIS & MARSHALL, 1990).

Ainda com relação ao processo de imobilização, as frações refratárias, ou seja, as não consumidas prontamente, podem sofrer condensações químicas e resultarem na formação de substâncias húmicas (BIANCHINI Jr., 1985). Os compostos húmicos são considerados como sendo produtos poliméricos da degradação de carboidratos, ligninas, proteínas e lipídeos em diferentes estágios de decomposição. Moléculas complexas de substâncias húmicas ocorrem a partir de condensações e/ou polimerizações (enzimáticas e/ou químicas) de produtos relativamente simples da decomposição (GOLTERMAN, 1975; SWIFT et al., 1979).

As velocidades com que os nutrientes e o carbono são ciclados e acumulados dependem, basicamente, dos balanços entre os processos de imobilização e mineralização. Esses processos são afetados direta ou indiretamente pelas variações espaciais e temporais de fatores como: pH e salinidade (KOK & VAN der VELDE, 1991), conteúdos de matéria orgânica e de nutrientes dos detritos e do meio (BITAR & BIANCHINI Jr, 1994), concentração de oxigênio dissolvido (GALE et al., 1992; MOORE Jr. et al., 1992), temperatura (USEPA, 1985), teores de compostos refratários (WETZEL, 1990) e o tamanho de partícula (SWIFT et al., 1979). Estes fatores

determinam qualitativa e quantitativamente os microrganismos que compõem a microflora da coluna d'água e do sedimento e conseqüentemente, as taxas de decomposição da matéria orgânica, resultantes do sinergismo dessas funções de força (fatores bióticos e abióticos) (ANTONIO & BIANCHINI Jr., 2002).

Além de agentes importantes da decomposição da matéria orgânica, as bactérias heterotróficas também desempenham um papel importante na ligação trófica entre os detritos e a cadeia alimentar clássica. O conceito de elo microbiano foi proposto inicialmente por POMEROY (1974) e AZAM et al. (1983) e é baseado no mecanismo de consumo da MOD pelos microrganismos, que transformam parte dessa fração dissolvida de carbono em MOP. Assim, o carbono que se encontrava inacessível aos organismos é reintroduzido nas teias alimentares.

O papel do elo microbiano está associado a dois processos, a regeneração de nutrientes e a transferência de carbono para outros níveis tróficos. No primeiro caso, as predações dos protozoários sobre as bactérias e o fitoplâncton constituem-se no mecanismo mais importante associado à regeneração de nitrogênio e fósforo (POMEROY et al., 1988). A regeneração ocorre basicamente por ejeção do material assimilado pelos protozoários e pela excreção direta de nutrientes inorgânicos por esses microrganismos (FENCHEL, 1987). Em parte, a importante contribuição dos protozoários está associada ao seu reduzido tamanho, que proporciona elevadas taxas metabólicas por unidade de biomassa, acelerando, assim, a regeneração de nutrientes (LAYBOURN-PARRY, 1992). No segundo caso, a transferência de carbono para níveis tróficos superiores, torna-se mais eficiente na presença de mecanismos que reduzem o número de elos da cadeia alimentar, visto que, quanto maior o número de elos, menor a viabilidade energética da cadeia. A presença de organismos maiores mais próximos da base é um bom exemplo, esse fato tem sido constatado em ecossistemas de água doce,

nos quais predominam os cladóceros (macrozooplâncton). Tem sido demonstrado que, quando *Daphnia* domina o plâncton, os protozoários assumem papel insignificante na predação de bactérias, que passam a ser consumidas diretamente pelos cladóceros (JÜRGENS, 1994). Outro mecanismo eficiente que reduz o número de elos nas teias é o consumo direto de bactérias aderidas a partículas suspensas na coluna de água, esse fato tem sido verificado na dieta dos cladóceros (JÜRGENS, 1994). As bactérias aderidas a partículas suspensas podem também representar uma importante fonte de carbono para invertebrados filtradores (EDWARDS, 1987).

1.2. Carboidratos

Carboidratos constituem o conjunto de compostos mais abundantes produzidos na biosfera (THURMAN, 1985). Os carboidratos compreendem frações importantes do carbono orgânico dissolvido (COD), e ocorrem em diferentes formas: monossacarídeos, que são monômeros de açúcares; oligossacarídeos, que consistem de duas a dez unidades de monossacarídeos; polissacarídeos, que consistem de cadeias lineares ou ramificadas de várias unidades de monossacarídeos; e sacarídeos ligados às substâncias húmicas (THURMAN, 1985). Carboidratos podem também ser modificados por outros grupos funcionais e desempenharem importantes funções na biossíntese de diferentes compostos, por exemplo, aminoaçúcares, açúcares ácidos, desoxiaçúcares, ésteres do ácido fosfórico, importantes intermediários de reações biossintéticas. Nas células, os polissacarídeos têm duas importantes funções, atuam como reservatórios de energia química e como componentes estruturais (LEHNINGER, 1977).

Os polissacarídeos estruturais de bactérias foram detalhadamente estudados por STACEY & BARKER (1960) apud VILLELA (1972). De acordo com

estes autores, as *Pseudomonas* contêm polissacarídeos formados por levana (polifru-
furanose), *Acetobacter* produz grande quantidade de celulose, *Azotobacter* contêm
glicose e galactose e os *Rhizobium*, glicose, galactose, ramnose e manose. Vários tipos
de bacilos produzem polissacarídeos constituídos por levana e outros açúcares, por
exemplo: *Bacillus cereus* (D-frutose), *B. subtilis* (D-frutose), *B. megaterium* (D-frutose,
D-glicose, ácido urônico), *B. polymixa* (glicose, manose, ácido urônico), *B. brevis*
(glicose, ácido urônico).

Os monossacarídeos obtidos da hidrólise da parede celular de várias
bactérias mostraram diferenças que permitiram separá-los em vários grupos. Conforme
as determinações de CUMMINGS & HARRIS (1956) apud VILLELA (1972), os
principais monossacarídeos encontrados na parede celular de alguns grupos de bactérias
são:

- *Actinomyces, Arthrobacteriae, Bacilli, Micrococci*: glicose,
manose e galactose
- *Clostridia, lactobacilli, propionibacteriae, Streptococci*: ramnose,
glicose, galactose e manose
- *Corynbacteriae, Mycobacteriae, Nocardia*: arabinose, glicose,
galactose e manose

Muitas bactérias segregam polímeros extracelulares, compostos quase
que exclusivamente por polissacarídeos. Esses polímeros podem ocorrer como cápsula
aderida à célula ou como material solúvel (CHARACKLIS & MARSHALL, 1990).
Açúcares comuns tais como glicose, galactose, ramnose, manose, N-acetilglicosamina,
ácido glicurônico e ácido galacturônico são típicos constituintes desses polissacarídeos.
Uma mesma população bacteriana pode produzir diferentes polissacarídeos em resposta
às condições de crescimento. CHRISTENSEN et al. (1985) apud CHARACKLIS &

MARSHALL, (1990) reportaram que *Pseudomonas* sp produz mais de um tipo de polissacarídeo, sendo os diferentes polissacarídeos gerados em diferentes estágios do ciclo de crescimento.

As concentrações de carboidratos em lagos variam de 100 a 3000 $\mu\text{g l}^{-1}$, contribuindo de 8-12% no total de COD. A maior fração consiste principalmente de polissacarídeos (75%) e aproximadamente 25% são monossacarídeos livres (THURMAN, 1985). Os monossacarídeos mais importantes encontrados nessas frações incluem: glicose, galactose, frutose, arabinose, fucose, manose, ramnose, ribose e xilose (THURMAN, 1985). Excretados do fitoplâncton e a decomposição microbiana de restos celulares do plâncton, são as principais fontes autóctones de carboidratos nesses ambientes.

1.2.1. Decomposição dos Carboidratos

Os microrganismos podem utilizar os mais variados substratos como fontes de energia. Em geral, a transferência de elétrons de um substrato oxidável a um acceptor é a base das oxidações biológicas que levam à síntese da adenosina trifosfato (ATP). Os processos catabólicos dos detritos têm início no ambiente externo à célula, pois a maior fração dos detritos constitui-se de compostos de alto peso molecular, os quais devem ser hidrolisados por ação de exoenzimas produzidas pelas bactérias (CHRÓST, 1991). No caso dos polissacarídeos, esses compostos sofrem a ação de polissacarases que quebram as ligações glicosídicas, gerando dissacarídeos e/ou monossacarídeos que podem ser absorvidos pelas células bacterianas, onde se completa o processo catabólico (LYNCH & HOBBIE, 1988).

Com base no aceptor de elétrons, são reconhecidos três tipos de metabolismos que produzem energia: a fermentação, na qual os compostos orgânicos agem como aceptores de elétrons; a respiração aeróbia, em que o oxigênio atua como receptor de elétrons e a respiração anaeróbia, na qual compostos inorgânicos, diferentes do oxigênio, agem como aceptores finais de elétrons (LYNCH & HOBBIE, 1988).

Quatro vias principais de degradação de carboidratos realizadas por microrganismos são conhecidas: a glicólise, a pentose fosfato, a fosfocetolase e a KDGP.

1) Via Embden-Meyerhof-Parnas (Glicólise)

A glicólise é a principal via anaeróbia de degradação da glicose utilizada pelos organismos, também chamada de fermentação. Mesmo nos organismos aeróbios, essa via é a primeira etapa obrigatória antes fase aeróbia da respiração que se segue.

A glicólise é catalisada por onze enzimas atuando em seqüência. Ela ocorre em duas etapas. Na primeira, a D-glicose é fosforilada e clivada em duas moléculas de D-gliceraldeído 3-fosfato. Na segunda etapa, através da série enzimática de reações, o gliceraldeído 3-fosfato é convertido a piruvato com produção de ATP. O rendimento líquido dessa via é de 2 ATP por molécula de glicose (Figura 1). O piruvato formado pode seguir diferentes caminhos. Se as condições forem anaeróbias, o piruvato pode dar origem a diversos produtos da fermentação; caso o oxigênio esteja disponível sua oxidação a CO₂ pode ser completa; ou ainda, o piruvato pode ser utilizado em vias anabólicas.

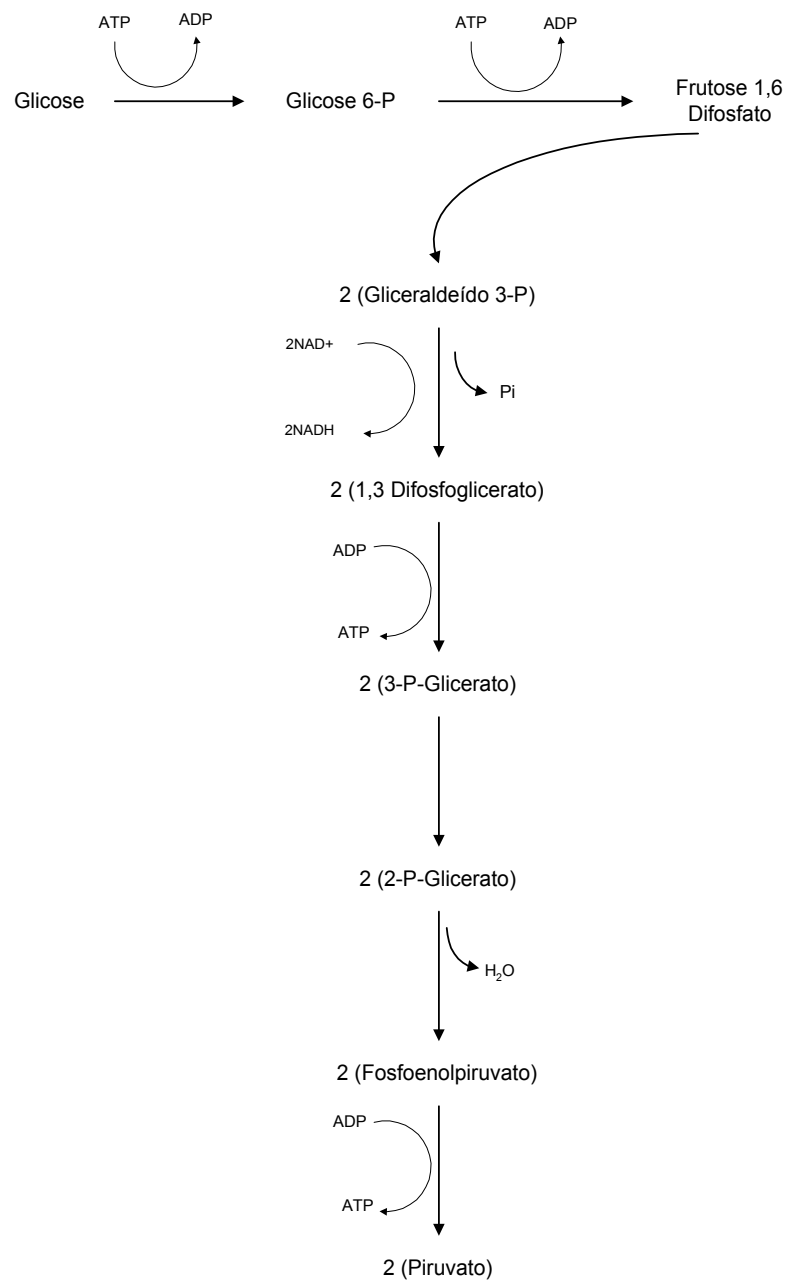


Figura 1 - Representação esquemática da via Embden-Meyerhof-Parnas (Glicólise) (LEHNINGER, 1977).

2) Via Pentose Fosfato (ou Hexose Monofosfato)

Um dos principais propósitos da via Pentose Fosfato não é gerar energia para os microrganismos, visto que o seu rendimento energético é metade da via EMP. No entanto, é utilizada principalmente para fornecer pentoses fosfatadas para a síntese de ribonucleotídeos e desoxiribonucleotídeos e também, como fonte de NADPH_2 , que é utilizado como redutor em reações de biossíntese (ROSE, 1976) (Figura 2). Em algumas circunstâncias essa via pode também dar origem a compostos intermediários da via glicolítica, e até mesmo realizar a oxidação completa da glicose 6-fosfato a CO_2 por uma seqüência complexa de reações em que seis moléculas de glicose 6-fosfato são oxidadas a seis moléculas de ribulose 5-fosfato e seis de CO_2 ; sendo regeneradas cinco moléculas de glicose 6-fosfato (LEHNINGER, 1977). A equação geral é:

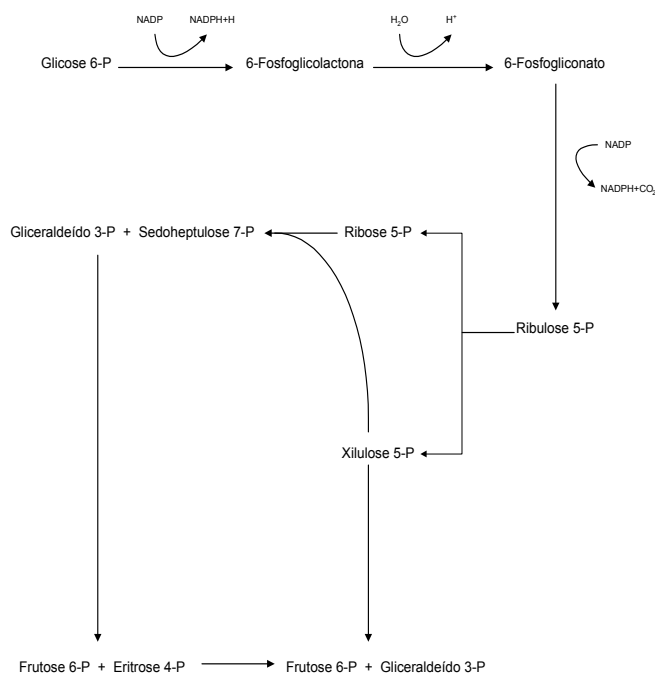
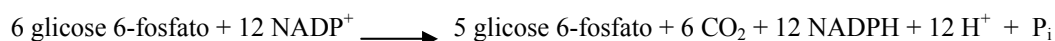


Figura 2 - Representação esquemática da via Pentose-Fosfato (CONN & STUMPF, 1975).

3) Via Fosfoacetolase

Algumas bactérias catabolizam glicose usando uma via que envolve a ação da fosfoacetolase, uma enzima que gera acetil fosfatase de compostos fosforilados com 5 ou 6 carbonos (Figura 3). Essa via, a Fosfoacetolase, é também menos eficiente que a EMP na geração de energia, pois o catabolismo de uma molécula de glicose gera uma molécula de ATP (ROSE, 1976).

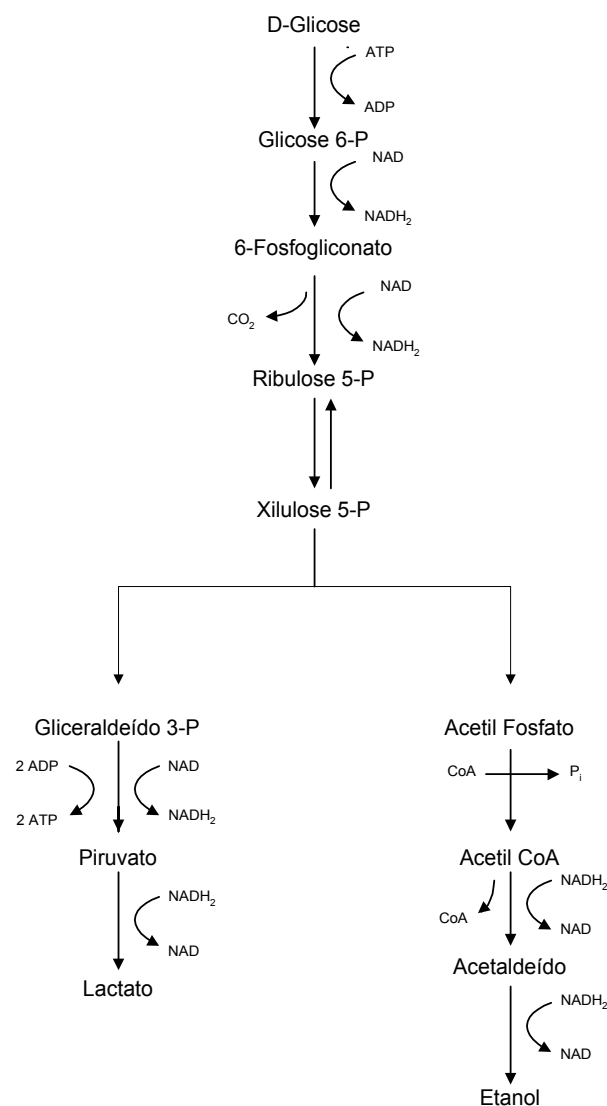


Figura 3 - Representação esquemática da via Fosfoacetolase em *Leuconostoc* (ROSE, 1976).

4) Via Entner-Doudoroff

Algumas bactérias (por exemplo, *Pseudomonas*, *Azotobacter*) não possuem fosfofrutoquinase e como consequência não podem degradar a glicose pela via glicolítica; desse modo esses organismos iniciam o catabolismo da glicose produzindo ácido-6-fosfoglicônico, este sofre uma desidratação e um rearranjo para formar o açúcar 2-cetodesoxifosfato; que por sua vez, é clivado por uma enzima do tipo aldolase a piruvato e gliceraldeído-3-fosfato (CONN & STUMPF, 1975). Essa via também produz somente uma molécula de ATP para cada molécula de glicose (Figura 4).

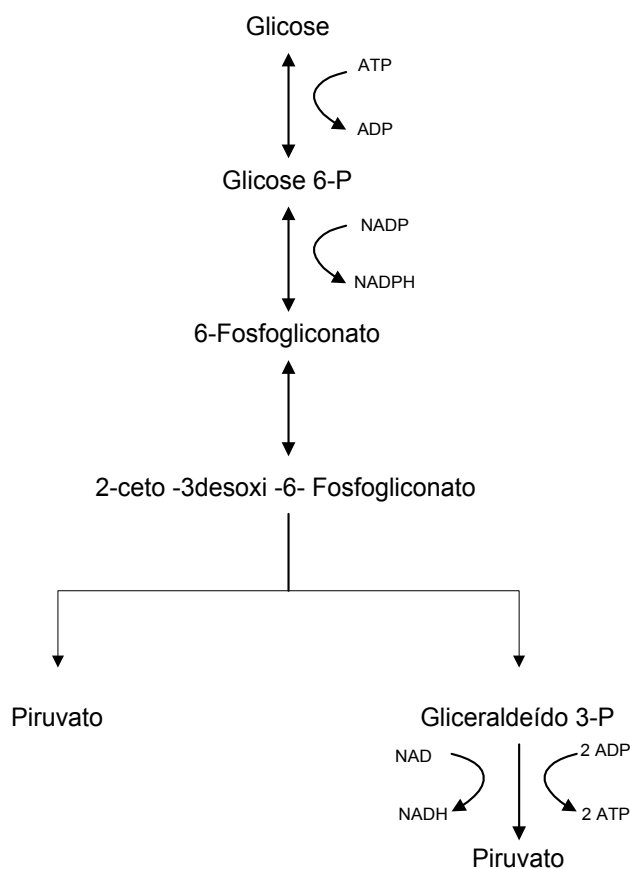


Figura 4 - Representação esquemática da via Entner-Doudoroff (ROSE,1976).

Outros monossacarídeos diferentes da glicose podem sofrer transformações que possibilitam sua entrada na seqüência glicolítica e, assim, liberar energia por degradação. Por exemplo, a D-frutose pode ser fosforilada pela hexoquinase, resultando em D-frutose 6-fosfato, um intermediário da via glicolítica. A D-manose também pode ser fosforilada pela hexoquinase, resultando em D-manose 6-fosfato que é isomerizada pela ação da fosfomanose-isomerase em D-frutose 6-fosfato.

Essas vias diferem quanto aos mecanismos envolvidos na quebra da glicose, porém convergem em um ponto comum que é a geração do ácido pirúvico. O ácido pirúvico ocupa um papel central no metabolismo do carbono, podendo ser convertido via processo anaeróbio (fermentação e respiração anaeróbia), ou pode ser completamente oxidado a dióxido de carbono e água, através da respiração aeróbia. Portanto, com base no acceptor de elétrons, a decomposição pode ser dividida em aeróbia, na qual o oxigênio atua como acceptor final de elétrons; e anaeróbia, na qual compostos orgânicos (fermentação) ou inorgânicos (respiração anaeróbia), diferentes do oxigênio, agem como aceptores finais de elétrons (LYNCH & HOBBIE, 1988).

1.2.1.1. Decomposição Aeróbia

Para os organismos aeróbios, a via glicolítica serve como uma etapa preliminar que gera o piruvato, que deve ser oxidado a acetil-CoA antes de entrar no ciclo do ácido tricarboxílico. Num passo seguinte, a acetil-CoA se condensa com o ácido oxaloacético para formar o ácido cítrico; este é então degradado através de uma seqüência de reações, perdendo 2 moléculas de CO₂, regenerando a molécula de ácido oxaloacético que pode se combinar com outra molécula de acetil-CoA reiniciando o ciclo.

Durante a evolução do ciclo, o CO_2 liberado é proveniente da acetil-CoA e os átomos de hidrogênio são retirados pelas desidrogenases (três pelo NAD ou NADP e um pela flavoproteína FAD), transportando-os até a cadeia respiratória. Para que os elétrons passem através da cadeia, os transportadores têm potenciais de oxi-redução decrescente, indo de $E_0 = -0,32 \text{ V}$ para o NAD, FAD que tem potencial de $-0,06 \text{ V}$ e daí para o citocromo b ($+0,002 \text{ V}$), citocromo c ($+0,26 \text{ V}$), citocromo a ($+ 0,29 \text{ V}$) e oxigênio ($+ 0,82 \text{ V}$) (VILLELA, 1972). Os átomos de hidrogênio, ao final da cadeia transportadora de elétrons, são combinados com o oxigênio para formar água. A estequiometria teórica da combustão completa da glicose é de 2,67 átomos de oxigênio necessários para cada átomo de carbono oxidado (CUNHA-SANTINO & BIANCHINI Jr., no prelo). Acoplado à cadeia transportadora de elétrons está a fosforilação do ADP a ATP, com um rendimento líquido final de 38 ATP para cada molécula de glicose. Nas bactérias, as desidrogenases localizam-se no citossol, mas os transportadores de elétrons estão localizados na membrana plasmática, nas quais também estão os mecanismos de acoplamento pelos quais o ATP é gerado (LEHNINGER, 1977).

A Figura 5 mostra de forma esquemática os diferentes passos da respiração aeróbia.

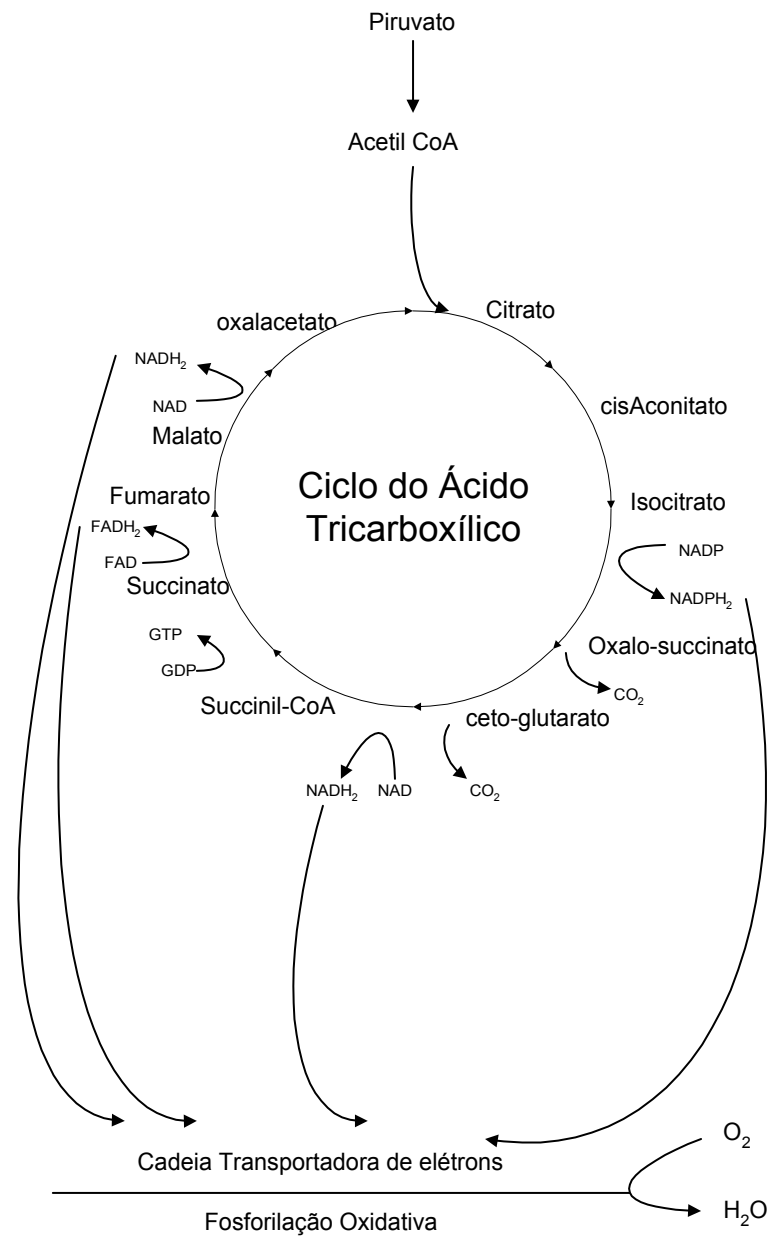


Figura 5 - Representação esquemática da respiração aeróbia, ciclo do Ácido tricarboxílico (LEHNINGER, 1977).

1.2.1.2. Decomposição Anaeróbia

Na ausência de oxigênio, diferentes compostos podem ser utilizados como aceptores de elétrons, tais como NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 e compostos orgânicos. A decomposição anaeróbia é caracterizada por uma série de reações na qual o produto de um organismo pode servir como substrato para outro (sintrofismo). Dentre esses compostos intermediários encontram-se diferentes produtos da fermentação como os ácidos orgânicos, por exemplo, os ácidos: acético, propiônico e butírico. Álcoois, cetonas, e aldeídos também podem ser produzidos. Os produtos finais da mineralização anaeróbia são usualmente metano, dióxido de carbono, amônia, nitrogênio molecular e ácido sulfídrico.

Na fermentação, o NADH_2 formado durante a glicólise é regenerado através de reações de oxi-redução, nas quais o piruvato ou compostos derivados são reduzidos. Os produtos finais das fermentações são determinados pelos tipos de microrganismos que as realizam, pela natureza do substrato e, em alguns casos, por fatores ambientais como temperatura e pH. Por meio da Figura 6, apresentam-se os diferentes produtos formados na fermentação e alguns organismos envolvidos nessas rotas.

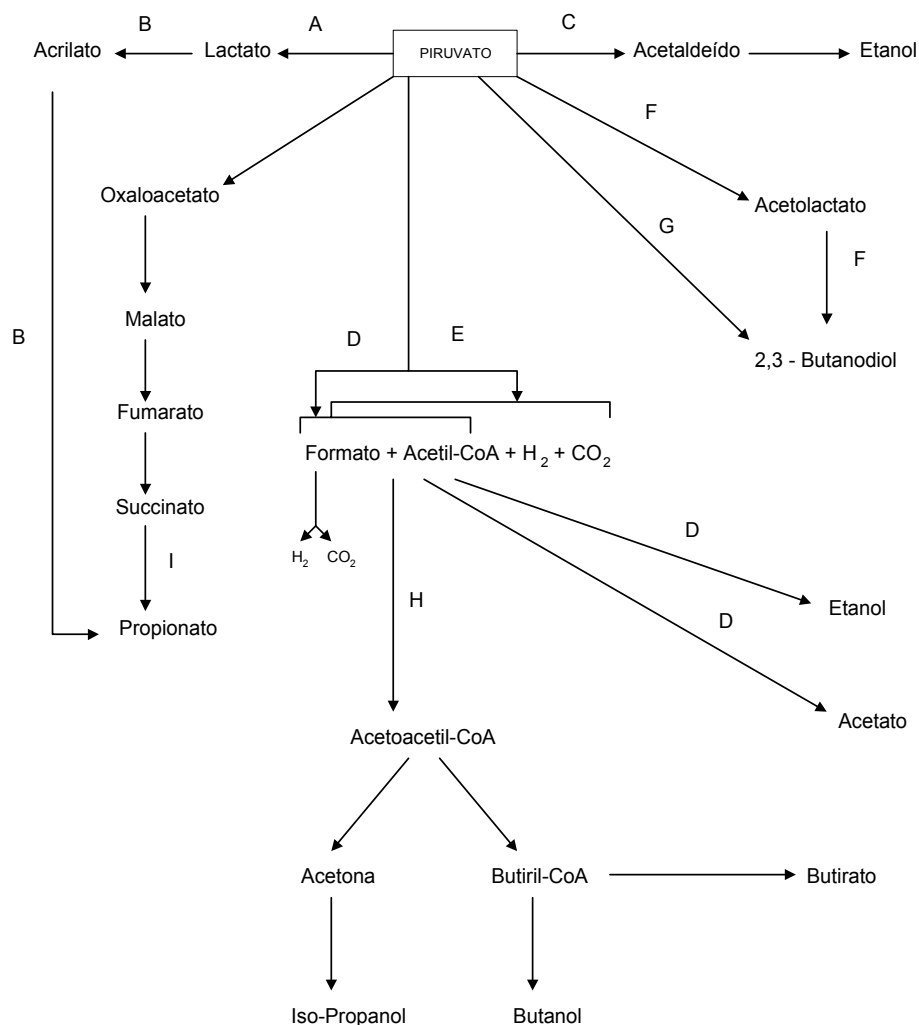


Figura 6 - Produtos da fermentação bacteriana do piruvato. O piruvato formado pelo catabolismo da glicose é metabolizado pelas vias que são características de organismos particulares. **A**, *Streptococcus* spp., *Lactobacillus* spp.; **B**, *Clostridium propionicum*; **C**, fungos, *Acetobacter* spp., *Zymomonas* spp., *Sarcina ventriculi*, *Erwinia amylovora*; **D**, Enterobacteriaceae; **E**, *Clostridium* spp.; **F**, *Klebsiella* spp.; **G**, fungos; **H**, *Clostridium* spp (butíricos, butílicos); **I**, bactérias do ácido propiônico. (Adaptado de MANDELSTAM et al., 1982).

Microrganismos que crescem sob condições aeróbias podem, freqüentemente, também crescer em condições anaeróbias. Para tanto, utilizam compostos inorgânicos como aceptores finais de elétrons, no lugar do oxigênio. Nestes casos, muitas bactérias aeróbias podem crescer em meio sem oxigênio usando nitrato como acceptor final de elétrons; processo esse conhecido como respiração do nitrato e que gera compostos nitrogenados reduzidos como NH_3 e N_2 . O sulfato, assim como o tiosulfato e sulfito podem ser utilizados por bactérias do gênero *Desulfovibrio*, produzindo como produto final o H_2S . Por meio do metabolismo de *Clostridium acetivum*, o hidrogênio é oxidado com dióxido de carbono que atua como acceptor de elétrons (ROSE, 1976).

1.3. Modelagem Ecológica

Modelo matemático é um tipo de representação de um sistema ou processo que tem como função organizar a compreensão dos eventos, avaliar os dados observados, fornecer entendimentos das relações entre os componentes dos sistemas e fazer previsões (THOMAZ, 1999).

Nas últimas décadas os estudos de modelagem têm evoluído e suas aplicações têm revelado as vantagens dos modelos matemáticos como uma ferramenta nos estudos ecológicos (JØRGENSEN, 1986). Os modelos são úteis para observação de sistemas complexos, para revelar suas propriedades e as variações de comportamento ao longo do tempo, que inclui as mudanças sazonais e a ação antrópica (KOCH et al., 1998).

Os modelos são, portanto, ferramentas importantes no manejo e recuperação de ecossistemas, suprindo informações sobre os efeitos sinérgicos dos

processos biológicos, físicos e químicos nos ambientes. Os modelos podem, também, revelar as inter-relações entre os ecossistemas e ainda, evidenciar como um processo metabólico específico (tal como a decomposição) pode ser afetado pelas variações ambientais (ANTONIO & BIANCHINI Jr., 2002). Em particular, os modelos utilizados para descrever o processo de decomposição têm como base as equações exponenciais (WIEDER & LANG, 1982), a partir das quais são determinados os coeficientes de perda de massa.

Considerando que as reações de decomposição sejam regidas por processos cinéticos de primeira ordem (BIANCHINI Jr., 1999), o processo de decomposição da glicose pode ser representado pelas seguintes equações de velocidade:



$$r_{glicose} = \frac{dC_{glicose}}{dt} = -k_1 C_{glicose} \dots\dots\dots Eq.1$$

$$r_{interm} = \frac{dC_{interm}}{dt} = k_1 C_{glicose} - k_2 C_{interm} \dots\dots\dots Eq.2$$

$$r_{prod. finais} = \frac{dC_{prod. finais}}{dt} = -k_2 C_{interm} \dots\dots\dots Eq.3$$

onde : k_1 e k_2 referem-se aos coeficientes de decaimento da glicose e dos produtos intermediários, respectivamente.

Equações como estas são freqüentemente utilizadas para descrever e simular os processos de decomposição de diferentes recursos, nos ecossistemas terrestres e aquáticos (GODSHALK & WETZEL, 1977; 1978; BIANCHINI Jr., 1982; 1985; BIANCHINI Jr. & TOLEDO, 1996). Entretanto, devido à heterogeneidade estrutural dos detritos (MINDERMAN, 1968) essas equações nem sempre podem ser aplicadas para o detrito como um todo; desse modo, o processo global da decomposição de detritos deve ser representado pelo somatório de diversas funções exponenciais (JENKINSON, 1977). Ainda, o conhecimento das relações de causa e efeito de cada função de força (fatores bióticos e/ou abióticos) sobre as taxas de decomposição devem ser considerados na simulação da capacidade heterotrófica de um dado sistema aquático (ANTONIO, 1996).

De acordo com os fundamentos mencionados, esse trabalho teve como propósito descrever alguns aspectos relacionados à capacidade heterotrófica do bacterioplâncton do reservatório de Barra Bonita em dois períodos distintos do ano, através de um modelo cinético de decomposição da glicose; e sua relação com algumas variáveis limnológicas inventariadas nas épocas de coletas. Visou ainda, diagnosticar a produção de polissacarídeos pelo bacterioplâncton, pois como usualmente demonstrado (BROPHY & CARLSON, 1989; e STODEREGGER & HERNDL, 1998) o bacterioplâncton pode liberar grandes quantidades de material nos ambientes aquáticos, sendo estes constituídos principalmente por polissacarídeos (HEISSENBERGER et al., 1996).

2. OBJETIVOS

Este estudo integra-se no projeto “Produção e destino dos Polissacarídeos extracelulares de origem algal em um reservatório eutrofizado do rio Tietê”, e possui os seguintes objetivos:

- 1- Comparar o potencial heterotrófico do bacterioplâncton do reservatório, sob condições aeróbias e anaeróbias e, em dois períodos distintos (verão e inverno), utilizando-se glicose como substrato.
- 2- Descrever em dois períodos distintos (verão e inverno), através de um modelo cinético, os destinos do COD (C-glicose) submetido a mineralização aeróbia e anaeróbia.
- 3- Determinar as relações estequiométricas globais de consumo de oxigênio por carbono orgânico mineralizado, nas duas épocas (verão e inverno).
- 4- Determinar qualitativa e quantitativamente a conversão da glicose em alguns monossacarídeos poliméricos excretados pelo bacterioplâncton do reservatório, sob condições aeróbias.
- 5- Fornecer subsídios para o gerenciamento ambiental adequado do reservatório.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Caracterização da área de estudo

O Reservatório de Barra Bonita, construído em 1963 com a principal finalidade de geração de energia elétrica está inserido na Bacia do Médio Tietê Superior, entre os municípios de Barra Bonita e Iguaçu (22°29' a 22°44' Latitude Sul e 48°10' Longitude Oeste), a uma altitude de 430m, sendo o primeiro reservatório do complexo de barragens situadas no Rio Tietê (Figura 7).

Além da geração de energia elétrica, a Represa de Barra Bonita é destinada a múltiplos fins, sendo utilizada para irrigação, recreação, abastecimento, piscicultura, navegação e controle de enchentes.

A imensa rede hidrográfica da Bacia do Médio Tietê Superior pode ser dividida em dez sub-bacias, designadas pelos nomes dos rios mais importantes: Atibaia, Camanducaia, Capivari, Corumbataí, Jaguari, Jundiaí, Médio Tietê Superior Alto, Médio Tietê Superior Baixo, Piracicaba e Sorocaba. Estas sub-bacias podem ser agrupadas em torno dos dois rios Piracicaba e Tietê, que se unem através do reservatório de Barra Bonita, constituindo quase que duas bacias independentes, dentro da Bacia do Médio Tietê Superior (JUREIDINI, 1987).

O Reservatório de Barra Bonita está localizado em uma região de transição entre os climas tropical e subtropical, onde as estações anuais não são bem definidas. As mudanças sazonais são pouco pronunciadas, sendo as diferenças mais nítidas entre o verão (época de maior precipitação) e inverno (período seco, com chuvas escassas).

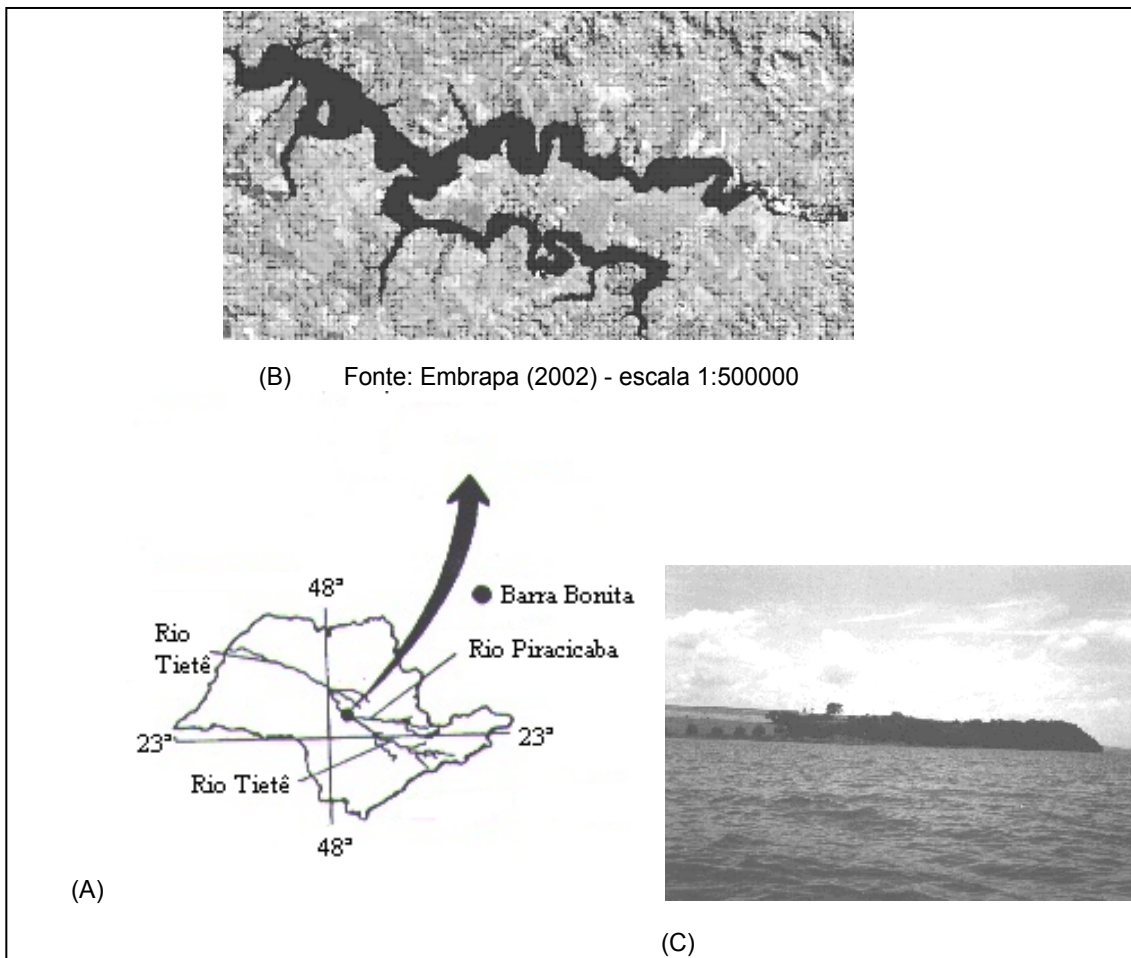


Figura 7 - Reservatório de Barra Bonita. (A) Localização no Estado de São Paulo; (B) foto de satélite do reservatório de Barra Bonita (EMBRAPA, 2002); (C) foto do ponto de coleta.

A vegetação predominante no entorno do reservatório é constituída por monocultura intensiva de cana-de-açúcar, e conseqüentemente a região abriga uma das maiores representantes do setor sucro-alcooleiro do mundo, a Usina da Barra (VALÊNCIO, 1996).

De acordo com DOS SANTOS (1996), as características morfométricas da represa de Barra Bonita, são as seguintes:

Superfície da Bacia	32.330 km ²
Profundidade média	10,20 m
Área inundada	324,84 km ²
Perímetro	525 km
Volume total do reservatório	3,16 x 10 ⁶ m ³
Volume útil do reservatório	2,6 x 10 ⁶ m ³
Descarga total do vertedouro	4.200 m ³ s ⁻¹

O Reservatório de Barra Bonita é um ecossistema polimítico, eutrófico, no qual o ciclo sazonal de eventos limnológicos parece ser dominado por precipitação, vento, vazão e tempo de residência da água, que pode variar de 1 a 6 meses (CALIJURI & TUNDISI, 1990). O regime térmico anual está relacionado principalmente com efeitos do vento, apresentando períodos de isotermia e estratificação no ciclo diurno. Durante o ano o reservatório é permanentemente misturado devido à ação do vento, e com elevadas taxas de oxigênio dissolvido em toda a coluna d'água.

Experimentos realizados por HENRY et al. (1985) permitiram concluir que nitrogênio não é fator limitante nesse reservatório e que a resposta do fitoplâncton ao enriquecimento com fósforo é freqüentemente mais rápida. A adição de fósforo é a principal causa da eutrofização do reservatório, a alta contribuição de nutrientes durante a estação chuvosa é devido à adução de nutrientes provenientes das terras agrícolas. O efeito limitante da penetração de luz na atividade fotossintética é muito maior do que o

de nutrientes (HENRY et al., 1985). O ciclo sazonal do fitoplâncton e produção primária estão relacionados com o tempo de residência da água, o ciclo de nutrientes e os parâmetros climatológicos (CALIJURI, 1988).

Num estudo sobre a comunidade zooplanctônica realizado por TUNDISI & MATSUMURA-TUNDISI (1990), Cyclopoida dominou sobre Calanoida em todas as estações, refletindo as condições eutróficas do reservatório.

3.2. Experimentos

De acordo com os objetivos propostos, para a comparação dos processos cinéticos aeróbios e anaeróbios entre as duas estações do ano (cheia/verão e seca/inverno), foram realizados três experimentos (mineralização aeróbia, mineralização anaeróbia e consumo de oxigênio) em cada época. Para as determinações de monossacarídeos (livres ou poliméricos) liberados pelo bacterioplâncton, foi realizado um experimento de mineralização aeróbia à parte, com material coletado em um período diferente dos outros. Em todos os experimentos utilizou-se glicose como substrato para o bacterioplâncton. A Figura 8 mostra resumidamente os experimentos realizados.

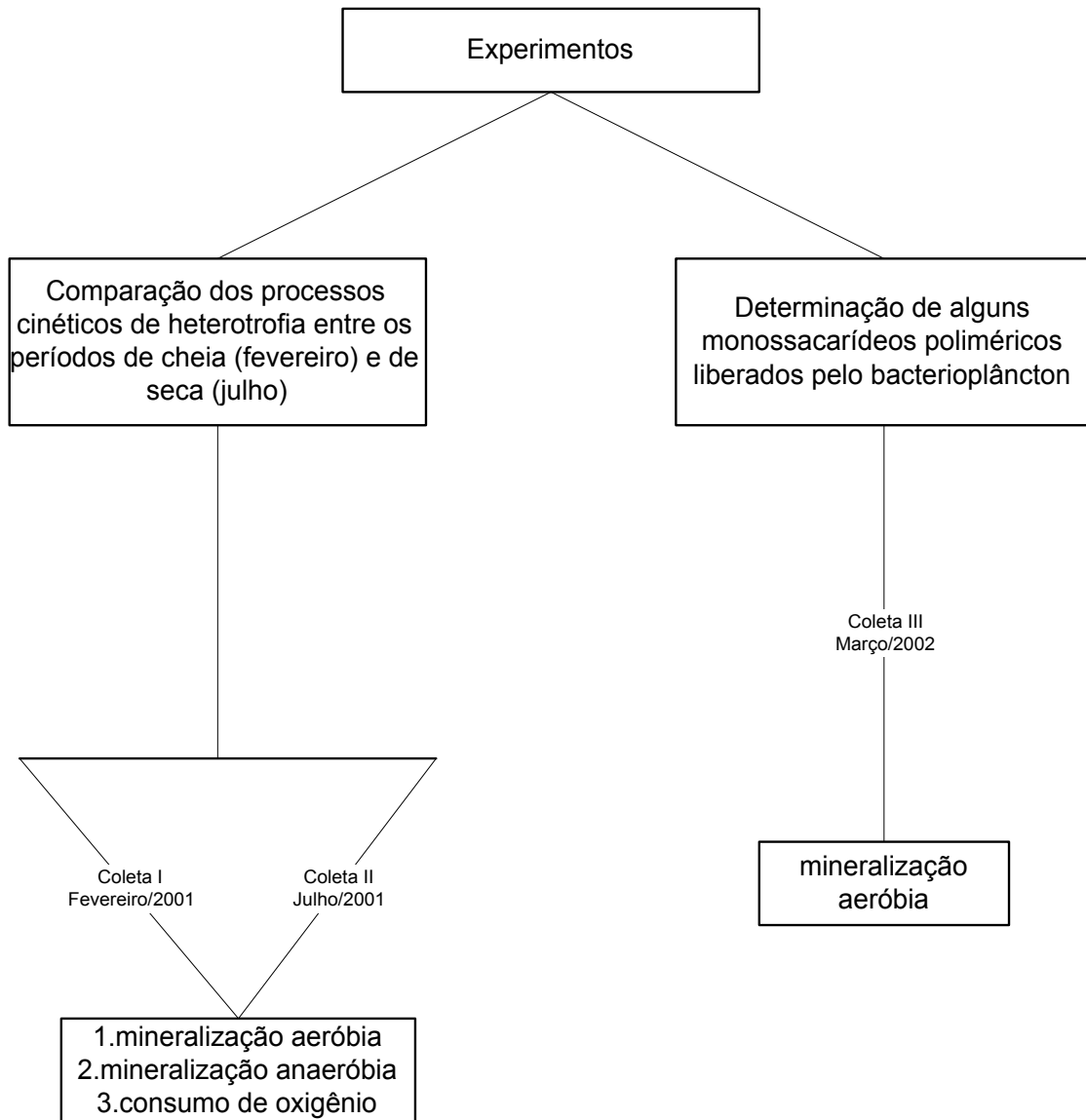


Figura 8 - Diagrama esquemático dos experimentos realizados.

3.2.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão e de seca/inverno

3.2.1.1. Período da Amostragem

As amostras de água foram coletadas em um ponto a 3,0 km a montante da barragem (22°32'34,5'' longitude Sul e 48°29'26,4'' latitude Oeste) em dois períodos:

- Coleta I: período de cheia/verão (14 de fevereiro de 2001).
- Coleta II: período de seca/inverno (09 de julho de 2001).

Os procedimentos de campo e de laboratório descritos a seguir foram iguais para as duas coletas realizadas.

3.2.1.2. Procedimento de Campo

Algumas variáveis físicas e químicas (pH, temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez, condutividade elétrica, potencial redox) foram determinadas com sonda (Horiba U-23) a cada 2 metros de profundidade até o fundo (≈ 20 m). A profundidade do ponto de coleta foi determinada com uma poita presa a uma corda graduada; a profundidade da zona eufótica (Z_{eu}) foi estimada a partir da profundidade de desaparecimento do disco de Secchi (Z_{DS}), multiplicando-se o valor de Z_{DS} por 2,7 (MARGALEF, 1983).

As amostras de água foram coletadas em três profundidades (superfície, meio e fundo) com auxílio da garrafa de *Van Dorn*. Esse procedimento visou fornecer uma maior representatividade das comunidades bacterianas, uma vez que ocorrem

diferenças químicas, físicas e biológicas ao longo da coluna d'água, o que interfere na distribuição vertical e composição do bacterioplâncton.

As amostras de água foram filtradas em lã de vidro para retenção de partículas grosseiras, em seguida, foram integradas (misturadas) em recipiente de polietileno com volume de 20 litros. A Figura 9 descreve resumidamente os procedimentos adotados.

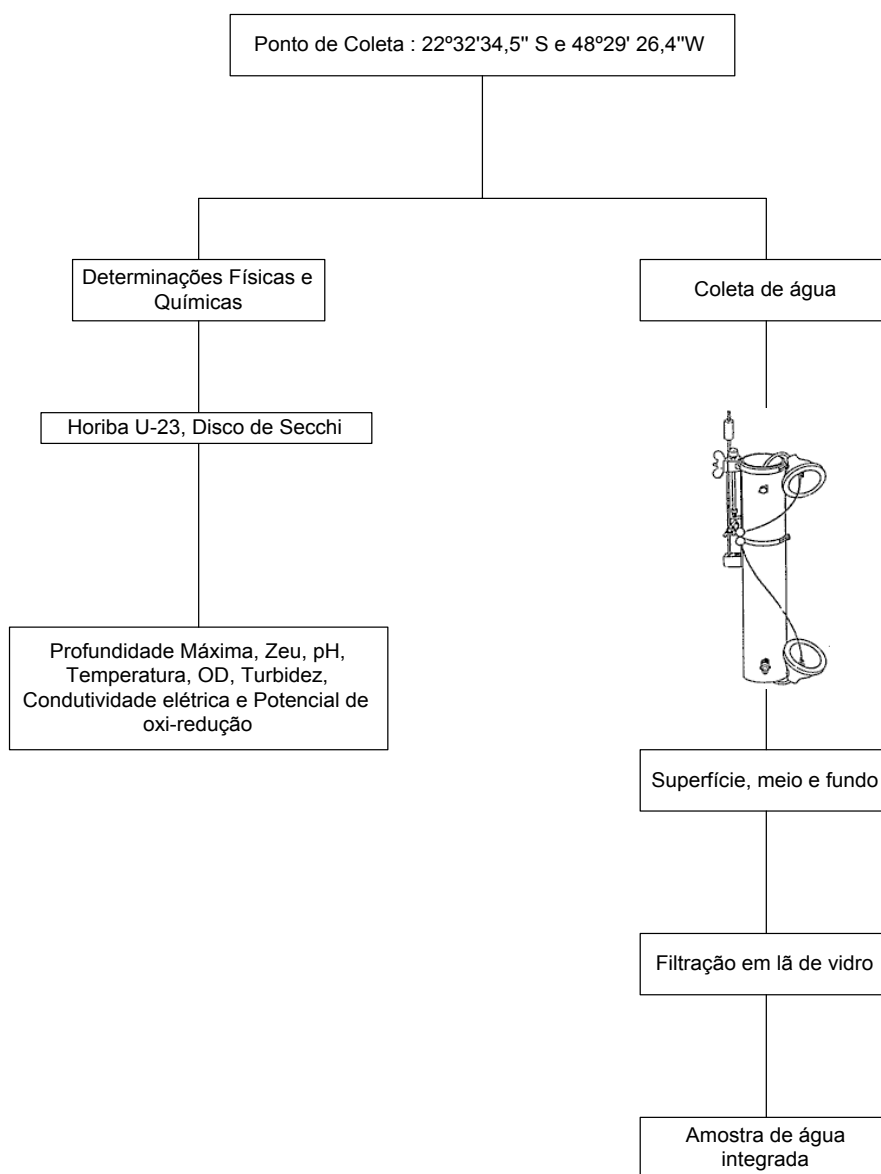


Figura 9 - Procedimentos adotados nas coletas.

3.2.1.3. Procedimentos em Laboratório

3.2.1.3.1. Análise de nutrientes

Em laboratório, foram determinadas (n=2) as concentrações totais de fósforo, nitrogênio orgânico, amônio, nitrato e nitrito, das amostras integradas de água, utilizadas nos experimentos de mineralização e consumo de oxigênio. Tais análises químicas foram realizadas através dos métodos descritos em APHA, AWWA & WPCF (1985), GOLTERMAN et al. (1978), KOROLEFF (1976), MACKERETH & TALLING (1978) e GOLTERMAN et al. (1978), respectivamente.

3.2.1.3.2. Preparação da Água para os Experimentos de Mineralização Aeróbia, Anaeróbia e Consumo de Oxigênio

A partir da amostra de água coletada no reservatório, filtraram-se 15 l com membrana com trama de aproximadamente 1,2 μm (GF/C-Whatman). Desses 15 l, em 9 foram adicionados 450 mg de D-Glicose anidra - PA (Quimis) sob agitação, até sua completa dissolução. Ao adotar esse procedimento, a amostra de água foi enriquecida com glicose em uma concentração de 50 mg l^{-1} , ou o equivalente a 20 mg l^{-1} de carbono orgânico. Os 6 l restantes foram utilizados nos frascos controles. A Figura 10 mostra os procedimentos adotados na preparação dos frascos utilizados nos experimentos de mineralização aeróbia e anaeróbia e de consumo de oxigênio.

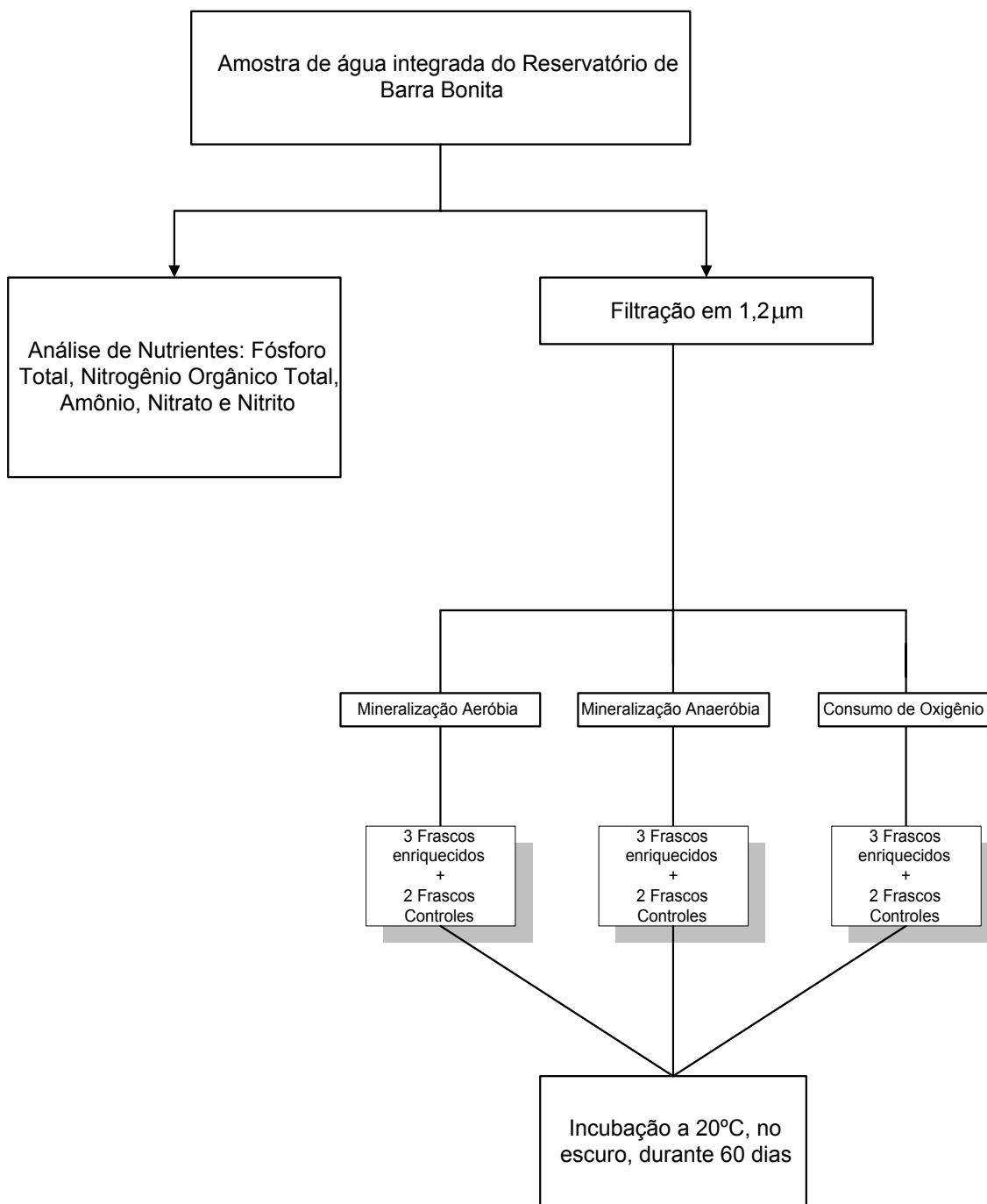


Figura 10 - Esquema da montagem dos frascos dos experimentos de mineralização aeróbia, anaeróbia e consumo de oxigênio.

3.2.1.3.3. Experimento I: Mineralização Aeróbia da Glicose

Para os ensaios de mineralização aeróbia foram preparados cinco frascos de mineralização (volume: 1 l), três contendo solução de glicose em água do reservatório, e dois frascos controles, contendo somente amostra de água filtrada em 1,2 μm , sem glicose. As garrafas foram aeradas (borbulhadas com ar) durante vinte minutos; em seguida, incubadas a 20°C no escuro, para que não houvesse o desenvolvimento de organismos fotossintetizantes e o conseqüente enriquecimento com oxigênio proveniente de atividade fotossintética. O tempo de incubação adotado foi de 60 dias. Durante esse período as soluções foram aeradas regularmente para manutenção das condições aeróbias; isto é, a concentração de oxigênio dissolvido foi mantida sempre superior a 2 mg l⁻¹.

3.2.1.3.4. Experimento II: Mineralização Anaeróbia da Glicose

Para os ensaios de mineralização anaeróbia também foram preparados cinco frascos de mineralização. Da mesma forma que descrito no item anterior, utilizaram-se três frascos com solução de glicose e dois controles. As garrafas foram borbulhadas com nitrogênio durante vinte minutos para estabelecimento das condições anaeróbias. Os frascos foram incubados a 20°C no escuro, por um período de 60 dias. Durante esse período os frascos foram regularmente submetidos ao borbulhamento com nitrogênio, para manutenção das condições anaeróbias. Nestas soluções as concentrações de oxigênio dissolvido foram em média, 0,4 mg l⁻¹ (dp = 0,3; n = 8).

Análise das Concentrações de Carbono

No decorrer dos experimentos de mineralização (aeróbia e anaeróbia), alíquotas de aproximadamente 10 ml foram recolhidas de cada frasco nos seguintes períodos: 0; 4; 8; 12; 24; 36; 48; 60 horas; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 15; 20; 30; 40; 50 e 60 dias. Em seguida, foram submetidas à análise das concentrações de carbono através do analisador SHIMADZU (TOC-5000A). O método empregado por este analisador consiste primeiramente na calcinação da amostra (aproximadamente 670°C). O CO₂ gerado é quantificado por um detector infravermelho, estimando a concentração de carbono total (CT). A partir de outra alíquota, a amostra é acidificada para remoção de carbonatos. Essa oxidação ocorre por via úmida com peroxodissulfato de potássio. O CO₂ gerado que se refere à concentração de carbono inorgânico (CI) da amostra é quantificado. A concentração de carbono orgânico é então obtida a partir da diferença entre carbono total (CT) e carbono inorgânico (CI) (CUNHA, 1999).

Depois de terem suas concentrações de carbono determinadas, as amostras foram filtradas (a vácuo) em membrana de éster/acetato de celulose com diâmetro de poro de 0,22 µm (Millipore), para as separações das frações particuladas e dissolvidas (WELLS et al., 2000). Após, foram novamente submetidas ao analisador de carbono para as determinações das concentrações de carbono orgânico e inorgânico dissolvidos. A estimativa da biomassa de microrganismos (em equivalentes de carbono - COP) foi efetuada a partir da diferença entre os teores de carbono orgânico total (COT) e carbono orgânico dissolvido (COD). Neste estudo admitiu-se que as concentrações de COP (> 0,22 µm) sejam equivalentes à biomassa de microrganismos.

Antes das filtrações das amostras, as membranas foram lavadas com água destilada (300 ml) para o carreamento de possíveis contaminantes orgânicos presentes

nas membranas. A Figura 11 mostra resumidamente os procedimentos experimentais empregados nos experimentos de mineralização aeróbia e anaeróbia.

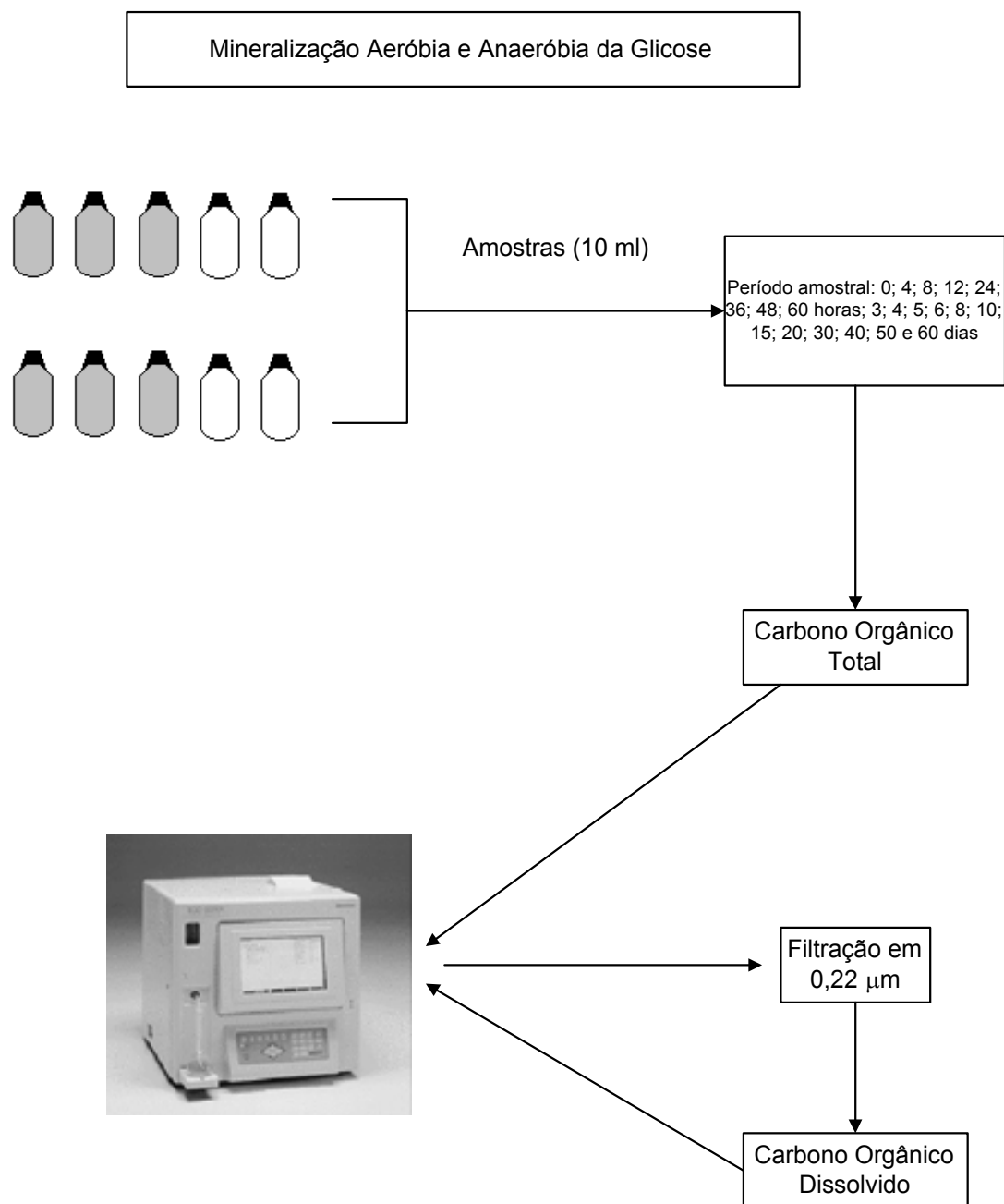


Figura 11 - Análises do COD e COP dos frascos de mineralização aeróbia e anaeróbia. Frascos sombreados: solução de glicose; frascos brancos: controle (somente amostra de água do reservatório).

3.2.1.3.5. Experimento III: Consumo de Oxigênio

Este experimento visou descrever os decréscimos das concentrações de oxigênio dissolvido, decorrentes dos processos de mineralização aeróbia da glicose. Teve também por objetivo as quantificações das relações estequiométricas globais entre as quantidades de carbono oxidado e de oxigênio consumido. Os procedimentos adotados para a preparação e manutenção dos experimentos de consumo de oxigênio foram iguais aos relacionados no item 3.2.1.3.3 (mineralização aeróbia). As concentrações de oxigênio dissolvido e temperatura das soluções foram determinadas diariamente com oxímetro (YSI - modelo 58) que possui termômetro acoplado.

A Figura 12 mostra resumidamente os procedimentos experimentais empregados no experimento de consumo de oxigênio.

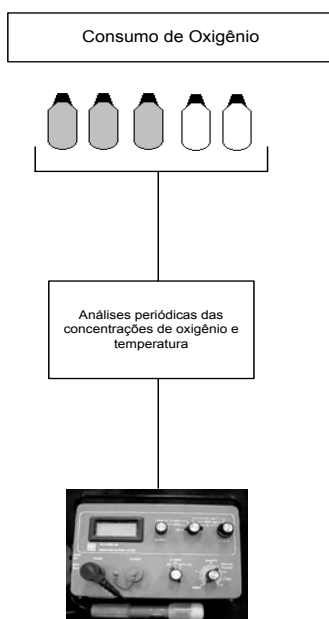


Figura 12: Análises de consumo de oxigênio e temperatura. Frascos sombreados: solução de glicose; frascos brancos: controle (somente amostra de água do reservatório).

3.2.1.4. Equações Propostas

3.2.1.4.1. Mineralização Aeróbia e Anaeróbia da Glicose

Segundo ANTONIO & BIANCHINI Jr. (2002) o processo de decomposição da glicose pode ser descrito através de três rotas (Figura 13). Na primeira há a formação de carbono inorgânico (C_{in1}) a partir de processos rápidos (oxidações químicas e respiração microbiana). Na segunda, ocorre a formação de COP (\equiv microrganismos) e consecutivamente, admite-se que haja a mineralização do COP e formação do carbono inorgânico (C_{in2}). A terceira rota, refere-se à formação de compostos orgânicos refratários (por exemplo: compostos húmicos).

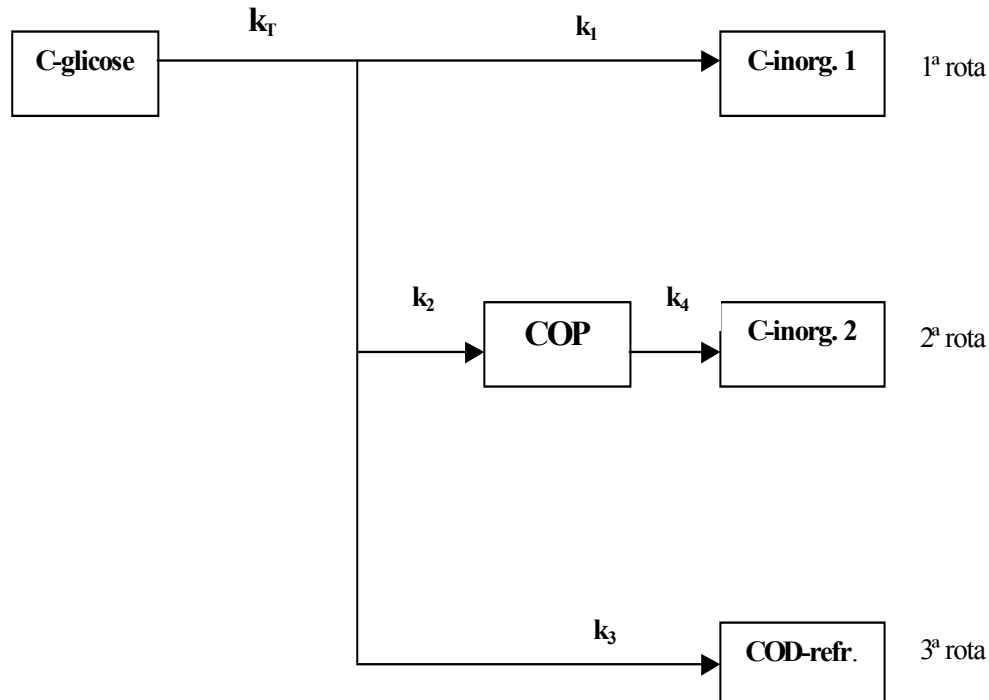


Figura 13 - Modelo cinético das rotas de decomposição da glicose (ANTONIO & BIANCHINI Jr., 2002).

As taxas de decomposição são, usualmente, avaliadas indiretamente através da estimativa do consumo de oxigênio ou da evolução do CO₂. Também podem ser estimadas através da perda de massa ou pelo decréscimo na concentração de um substrato específico no tempo, por exemplo, o decaimento do carbono orgânico (SAUNDERS, 1980).

Para as determinações dos coeficientes de decomposição do COD (C-glicose) e dos rendimentos das rotas de mineralização, as variações das concentrações do COD e do COP foram ajustadas a um modelo cinético de primeira ordem (BIANCHINI Jr., 1999), que inclui reações irreversíveis paralelas e em série, representadas pelas Equações 4, 5, 6 e 7 (LEVENSPIEL, 1986). Os ajustes cinéticos de COD e COP foram realizados através de método não linear (algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt), (PRESS et al., 1993).

Decaimento Global do COD (C-glicose)

$$COD = COD_0 \times e^{-k_T t} \dots\dots\dots Eq.4$$

Onde:

COD₀ = conc. inicial de carbono orgânico dissolvido (carbono da glicose) (mg l⁻¹);

COD = concentração de carbono orgânico dissolvido remanescente (mg l⁻¹);

k_T = (k₁ + k₂ + k₃) coeficiente global de conversão da glicose (dia⁻¹);

k₁ = coeficiente de oxidação (química e/ou biológica) (dia⁻¹);

k₂ = coeficiente de formação de COP (dia⁻¹);

k₃ = coeficiente de formação de COD refratário (dia⁻¹);

e = base logaritmo natural;

t = tempo.

1ª rota: Formação de Carbono Inorgânico (C_{in1}) a partir dos processos rápidos (oxidações químicas e biológicas)

$$C_{in1} = COD_0 \times \frac{k_1}{k_T} \left[1 - e^{-k_T t} \right] \dots \dots \dots Eq. 5$$

Onde:

C_{in1} = formação do carbono inorgânico através da 1ª rota ($mg\ l^{-1}$).

2ª rota: Formação de Carbono Inorgânico (C_{in2}) a partir do Carbono Orgânico Particulado

$$C_{in2} = COD_0 \times \frac{k_2}{k_T} \left[1 + \left(\frac{k_4}{k_T - k_4} \times e^{-k_T t} \right) + \left(\frac{k_T}{k_4 - k_T} \times e^{-k_4 t} \right) \right] \dots \dots \dots Eq. 6$$

Onde:

C_{in2} = formação de carbono inorgânico a partir da 2ª rota ($mg\ l^{-1}$);

k_4 = coeficiente de mineralização do COP (dia^{-1})

3ª rota: Formação do Carbono Orgânico Dissolvido Refratário

$$COD_r = COD_0 \times \frac{k_3}{k_T} \left[1 - e^{-k_T t} \right] \dots \dots \dots Eq. 7$$

Onde:

COD_r = formação dos compostos orgânicos dissolvidos refratários ($mg\ l^{-1}$)

As conversões dos valores de COD, C_{in1} , COP e COD_r em valores percentuais foram realizadas considerando-se 100% os valores experimentais de COD inicial, que corresponde à quantidade de carbono orgânico adicionado em

função do enriquecimento com glicose (experimento de verão $COD_0 = 18,733 \text{ mg l}^{-1}$; experimento de inverno $COD_0 = 19,736 \text{ mg l}^{-1}$).

Tempo de meia-vida do COD (C – Glicose)

Os tempos de meia-vida dos processos de decomposição (aeróbia e anaeróbia) da glicose foram calculados através da Equação 8.

$$t_{1/2} = \frac{\ln 0,5}{-k_T} \dots \dots \dots \text{Eq.8}$$

Estimativa do Carbono Orgânico Mineralizado

A estimativa do carbono orgânico mineralizado - COM (consumido) foi efetuada experimentalmente através da Equação 9. A partir dos ajustes cinéticos das curvas de COD e COP, o COM foi calculado teoricamente através das Equações 5 e 6, que correspondem à formação de C-inorgânico via processos rápidos (oxidações químicas e biológicas) e via COP, respectivamente. Através desse procedimento pôde-se verificar a sensibilidade do modelo de mineralização adotado (soma das Equações 5 e 6), que foi aferida através da correlação entre o COM (teórico) e o COM (experimental). As correlações foram determinadas através de regressões lineares.

$$COM = COT_0 - (COD + COP) \dots \dots \dots \text{Eq.9}$$

Onde:

COM = carbono orgânico mineralizado (mg l^{-1});

COT₀ = carbono orgânico total inicial (mg l^{-1});

COD = carbono orgânico dissolvido (mg l^{-1});

COP = carbono orgânico particulado (mg l^{-1}).

Para comparar os processos de mineralização e de consumo de oxigênio, os valores de COM foram ajustados de acordo com um modelo cinético de 1ª ordem (Equação 10), tendo em vista a estimativa dos valores de COM_{Max} e k_M dos experimentos de mineralização aeróbia e anaeróbia. Os ajustes foram efetuados por meio de regressões não lineares (algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt), segundo PRESS et al. (1993).

$$COM = COM_{MAX} \times (1 - e^{-k_M t}) \dots \dots \dots Eq.10$$

Onde:

COM = concentração de carbono orgânico mineralizado acumulado (mg l^{-1});

COM_{max} = quantidade máxima de carbono orgânico mineralizado (mg l^{-1});

k_M = coeficiente de mineralização do carbono orgânico (dia^{-1});

3.2.1.4.2. Consumo de Oxigênio Dissolvido

Considerando que os mecanismos de consumo de oxigênio estejam relacionados às oxidações dos detritos e admitindo-se que tais processos possam ser representados por reações cinéticas de primeira ordem (JØRGENSEN, 1986; ANTONIO, 1992), para as determinações dos coeficientes globais de oxigênio

consumido (OC) dos experimentos de mineralização aeróbia, as variações das concentrações do OC (acumulados), foram ajustadas a um modelo cinético de primeira ordem (BIANCHINI Jr., 1999), representado pela Equação 11 (LEVENSPIEL, 1986). Os ajustes cinéticos de OC foram realizados através de método não linear (algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt), (PRESS et al., 1993).

Variação temporal do consumo de Oxigênio Dissolvido

$$OC = OC_{Max} (1 - e^{-k_D t}) \dots \dots \dots Eq.11$$

Onde:

OC = concentração de oxigênio dissolvido consumido acumulado (mg l⁻¹);

OC_{max} = quantidade máxima de oxigênio consumido (mg l⁻¹);

k_D = coeficiente de desoxigenação (dia⁻¹);

t = tempo (dia)

As estequiometrias globais entre carbono orgânico mineralizado e o oxigênio consumido foram determinadas através dos coeficientes angulares das regressões lineares que consideraram os valores acumulados de COM (x) e de OC (y).

3.2.2. Determinações dos monossacarídeos liberados pelo bacterioplâncton

3.2.2.1. Época da Coleta

Para esse experimento, as amostras de água foram coletadas no mesmo local descrito anteriormente (item 3.2.1.1), em março de 2002. As amostras de água foram coletadas em três profundidades (superfície, meio e fundo) com auxílio da garrafa de *Van Dorn* e filtradas em lã de vidro para retenção de grandes partículas. Após, as amostras foram integradas (misturadas) em um recipiente de polietileno de 20 litros.

3.2.2.2. Preparação do Experimento

Dos 20 litros coletados, retirou-se uma alíquota de 4 l e filtrou-se em membrana de fibra de vidro com poro aproximadamente de 1,2 μm (GF/C-Whatman). Desses 4 l, em 2 foram adicionados 100 mg de glicose, gerando uma solução de glicose de 50 mg l^{-1} (\equiv 20 mg l^{-1} de COD). Os 2 l restantes foram utilizados nos frascos de referência.

3.2.2.3. Experimento IV: Análise de monossacarídeos

Para esse experimento foram preparados quatro frascos (volume: 1 litro), dois contendo água enriquecida com glicose, e dois controles (contendo somente amostra de água sem glicose). Os frascos foram incubados a 20°C durante 30 dias, no escuro. Durante este período as soluções foram regularmente borbulhadas com ar comprimido para manutenção das condições aeróbias. Quatro alíquotas de aproximadamente 10 ml foram retiradas de cada frasco nos seguintes dias: 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 5; 9; 15; 20 e 30. Dessas quatro amostras, duas foram filtradas em membranas de acetato/éster de celulose com diâmetro de poro de 0,45 μm (Millipore) para obtenção

dos monossacarídeos poliméricos dissolvidos, sendo uma delas hidrolisada e a outra não. Das duas amostras que não foram filtradas, uma delas também foi hidrolisada e a outra não, as amostras não hidrolisadas correspondem aos monossacarídeos livres, e as amostras hidrolisadas correspondem aos monossacarídeos totais (poliméricos + livres).

Das amostras coletadas para serem hidrolisadas, retirou-se volumetricamente 5,0 ml de cada alíquota, nas quais adicionaram-se 175 µl de HCl 8M, com aquecimento a 100 °C por 12 horas. Em seguida, neutralizaram-se as amostras com 175 µl de NaOH 8M (GREMN & KAPLAN, 1997). Os monossacarídeos livres foram dessalinizados em colunas de troca iônica AG50W e AG2X8 Bio-Rad® (GIROLDO, 1998). Durante esse processo, as amostras foram diluídas em 20 ml de água destilada devido à lavagem das resinas das colunas de dessalinização. Por este motivo, as amostras foram concentradas até seu volume inicial (5,0 ml) com evaporador rotatório ($\approx 40^{\circ}\text{C}$).

As amostras não filtradas e filtradas (hidrolisadas ou não) foram analisadas por cromatografia líquida de alta performance em cromatógrafo com detector de carboidratos por pulsos amperométricos (HPLC-PAD), de acordo como os procedimentos descritos por JøRGENSEN & JENSEN (1994) e GREMN & KAPLAN (1997). Os monossacarídeos foram identificados através da comparação com os tempos de retenção dos monossacarídeos utilizados como padrões (arabinose, fucose, frutose, galactose, glicose, manose/xilose, ramnose e ribose) e quantificados através das áreas dos picos obtidos.

A partir dos resultados obtidos na análise cromatográfica calcularam-se as médias e os desvios padrão das concentrações de monossacarídeos presentes nas soluções enriquecidas com glicose. Destes resultados subtraíram-se as concentrações de monossacarídeos presentes nas soluções dos frascos controles, para eliminar

quantitativamente os monossacarídeos livres e poliméricos contidos na água do reservatório.

Para obtenção dos valores das concentrações de monossacarídeos poliméricos totais (particulado + dissolvido) e dissolvidos ($< 0,45 \mu\text{m}$) formados no processo de conversão da glicose, os valores das concentrações de monossacarídeos das amostras hidrolisadas foram subtraídos dos valores das amostras não hidrolisadas para identificar e quantificar somente os monossacarídeos poliméricos, tanto para as amostras não filtradas (que correspondem aos monossacarídeos poliméricos totais) como para as amostras filtradas em membrana com diâmetro de poro $0,45 \mu\text{m}$ (que correspondem aos monossacarídeos poliméricos dissolvidos).

A Figura 14 mostra um resumo apresentado de forma esquemática dos procedimentos experimentais adotados para a análise dos monossacarídeos.

Cálculo do Fator de Correção para amostras Hidrolisadas

Devido ao tratamento dado as amostras que foram hidrolisadas, calculou-se o rendimento do processo, uma vez que as perdas são inevitáveis pelo excesso de manipulação. Para tanto, preparou-se uma solução de glicose em água destilada com concentração de 50 mg l^{-1} . Amostras não hidrolisadas ($n=2$) e hidrolisadas ($n=2$) foram analisadas no HPLC-PAD. Com base neste procedimento pode-se comparar a quantidade inicial de glicose (amostras não hidrolisadas) com a quantidade recuperada depois da hidrólise. Deste modo, pôde-se calcular o rendimento, isto é, a percentagem de glicose recuperada após a hidrólise das amostras, obtendo dessa forma um fator de correção para as amostras hidrolisadas.

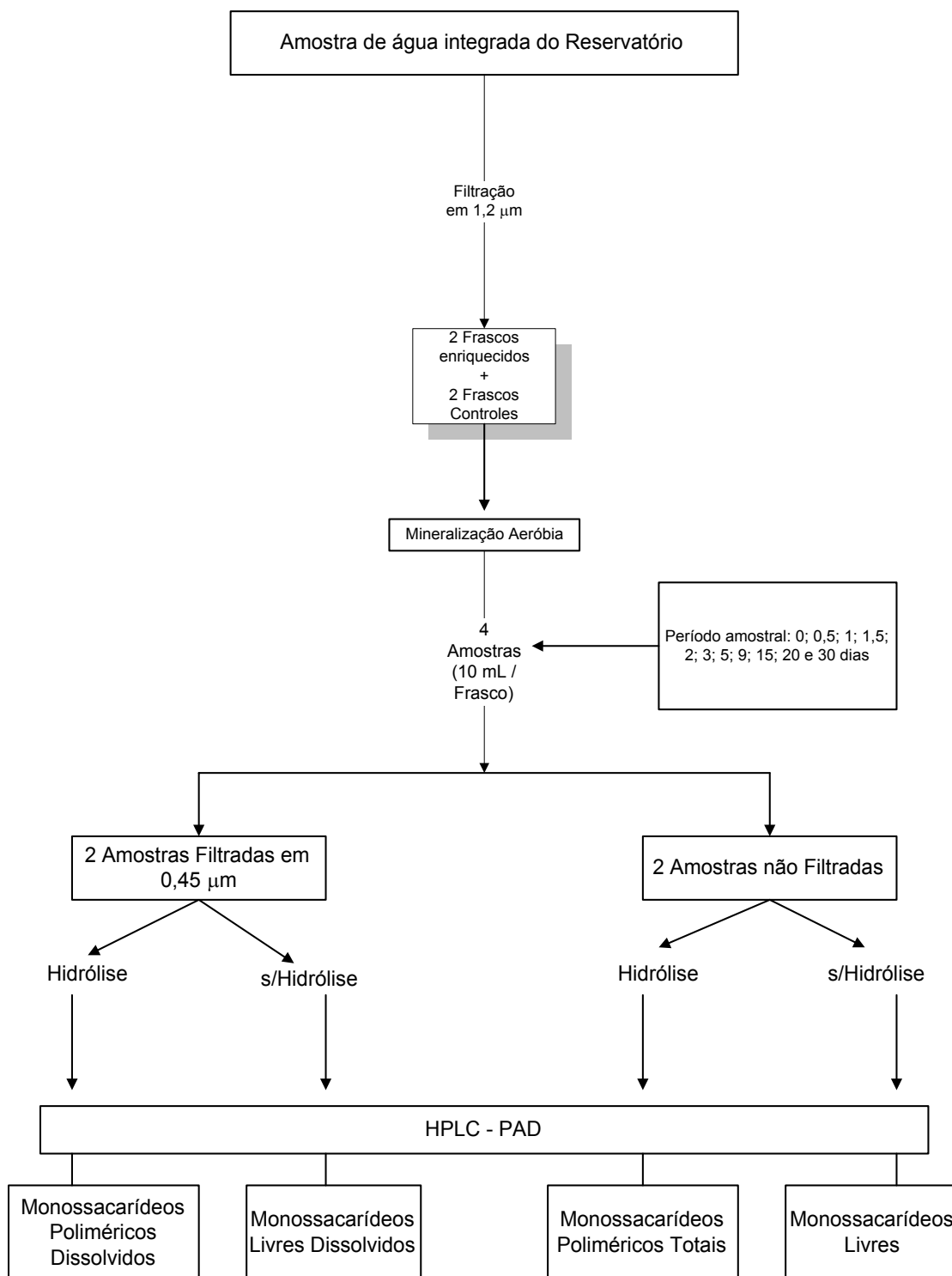


Figura 14 - Resumo dos procedimentos realizados na análise de monossacarídeos.

4. RESULTADOS

4.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão e de seca/inverno

4.1.1. Variáveis Físicas e Químicas

As alterações verticais das variáveis físicas e químicas, determinadas *in situ* (meses de fevereiro e julho), são apresentadas através da Figura 15.

Os valores de profundidade (máxima e da zona eufótica) e os médios das variáveis físicas e químicas (oxigênio dissolvido, temperatura, pH, condutividade elétrica, turbidez e potencial de oxi-redução) determinados *in situ* nos meses de fevereiro e julho estão apresentados na Tabela 1, juntamente com as concentrações totais de fósforo, nitrogênio orgânico, amônia, nitrato, nitrito e carbono orgânico dissolvido das amostras de água utilizadas para os ensaios de mineralização.

A análise das variáveis selecionadas mostrou a ocorrência de algumas diferenças em função das épocas de coleta. A concentração de OD na época de maior precipitação (fevereiro) foi, em média, $1,16 \text{ mg l}^{-1}$ ($\pm 1,11$). No período de menor precipitação (julho) a concentração média de OD foi de $7,96 \text{ mg l}^{-1}$ ($\pm 0,84$). As variações verticais das concentrações de OD foram relativamente pequenas, sendo de $2,8 \text{ mg l}^{-1}$ em fevereiro e $3,2 \text{ mg l}^{-1}$ em julho.

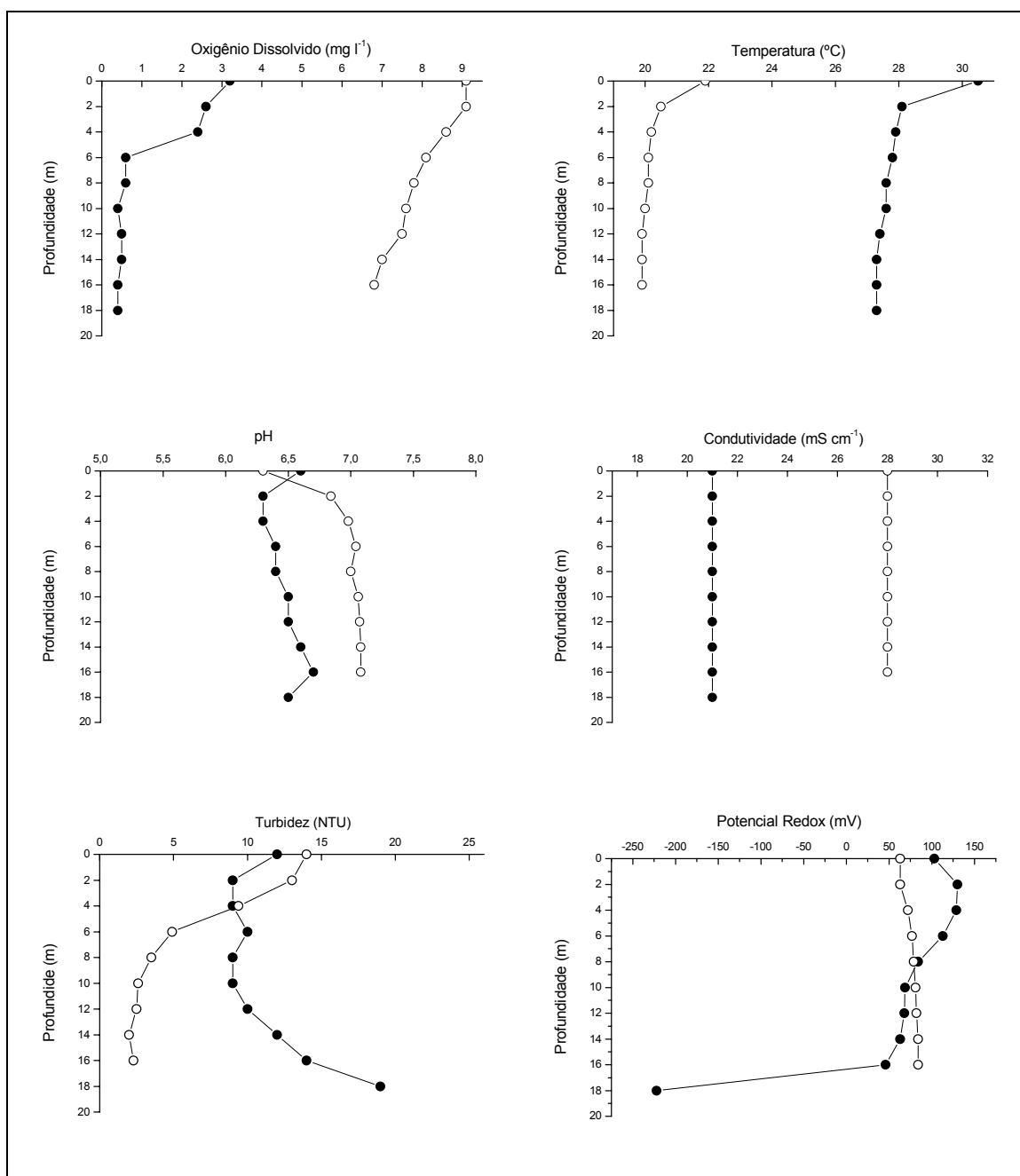


Figura 15 - Variações das concentrações de OD, temperatura, pH, condutividade elétrica, potencial redox e turbidez nas diferentes profundidades da coluna d'água. Fevereiro (-●-) e Julho (-○-).

Tabela 1 –Valores médios das variáveis físicas e químicas inventariadas no reservatório de Barra Bonita em fevereiro e julho de 2001.

Variáveis	Fevereiro (cheia/verão)				Julho (seca/inverno)			
	max	min	média	DP	max	min	média	DP
Profundidade (m)	-	-	19	-	-	-	16	-
Profundidade fótica (m)	-	-	3,85	-	-	-	5,62	-
O. D. (mg.l ⁻¹)*	3,2	0,4	1,16	1,11	9,1	6,8	7,96	0,84
Temperatura (°C)*	30,5	27,3	27,8	0,96	21,9	19,9	20,3	0,64
Condutividade (µS.cm ⁻¹)*	210	210	210	0	280	280	280	0
pH*	6,7	6,3	6,48	0,13	7,1	6,3	6,94	0,25
turbidez (NTU)*	19	9	11,3	3,2	14	2	6,02	4,82
Potencial Redox (mV)*	103	-222	58,3	102,6	84	63	76,11	8,31
Carbono Orgânico (mg.l ⁻¹)**	-	-	8,15	1,32	-	-	6,71	1,25
Fósforo Total (µg.l ⁻¹)**	-	-	214,95	2,76	-	-	121,05	4,74
Nitrogênio Org. Total (µg.l ⁻¹)**	-	-	405,50	20,51	-	-	276,55	24,53
NH ₄ ⁺ (µg.l ⁻¹)**	-	-	198,60	12,59	-	-	123,50	2,55
NO ₃ ⁻ (µg.l ⁻¹)**	-	-	3236,30	36,20	-	-	5395,25	454,60
NO ₂ ⁻ (µg.l ⁻¹)**	-	-	490,80	6,93	-	-	55,20	0,00

(*) valores medidos a cada 2m de profundidade; (**) amostra integrada (n=2); DP = desvio padrão.

A temperatura média da água na coleta realizada em fevereiro foi de 27,8°C, com uma variação vertical de 3,2 °C; em julho a temperatura média foi de 20,3 °C com uma variação vertical de 2 °C. Em média, a turbidez foi mais acentuada no período chuvoso (11,3 NTU \pm 3,2) em relação ao período de seca (6,02 NTU \pm 4,82), com a profundidade da zona eufótica de 3,85 m em fevereiro e 5,62 m em julho.

Os valores de condutividade elétrica foram relativamente elevados nas duas amostragens, sendo 210 $\mu\text{S cm}^{-1}$ em fevereiro e 280 $\mu\text{S cm}^{-1}$ em julho, e sem variações verticais, isto é, os valores permaneceram inalterados por todo o perfil da coluna d'água. As variações de pH (tanto as médias como as verticais) nas duas coletas foram relativamente pequenas.

Os valores de potenciais de oxi-redução apresentaram grandes variações verticais em fevereiro, com grande queda dos valores na região próxima ao sedimento, indicando assim as condições redutoras do hipólímnio. Em julho não houve variações acentuadas nos valores de potenciais de oxi-redução.

Quanto aos nutrientes (N e P), as concentrações mais elevadas foram encontradas no período de chuvas, exceto os valores das concentrações de nitrato, que foram maiores na época de menor precipitação. DOS SANTOS (1996) também encontrou nesse reservatório as maiores concentrações das formas nitrogenadas no verão, com exceção do nitrato.

4.1.2. Mineralização Aeróbia e Anaeróbia da Glicose

Os ajustes cinéticos das curvas de decaimento do COD (C-glicose) e da formação e mineralização de COP (sob condições aeróbias e anaeróbias), nos dois períodos (verão e inverno), estão apresentados nas Figuras 16 e 17, respectivamente;

juntamente com os respectivos $t_{1/2}$ dos processos e os coeficientes de correlação (r^2) dos ajustes. Os valores de COD e COP utilizados para o ajuste cinético, são os valores descontados dos frascos controles. Os valores de COD e COP total (enriquecido + controle) e os respectivos valores dos frascos controles são apresentados nos Anexos 1 (verão) e 2 (inverno).

De modo geral, pôde-se verificar diferenças significativas nas incubações realizadas nos dois períodos. No verão observou-se que o decaimento do COD e a concomitante formação e mineralização do COP ocorreram com velocidades superiores em relação ao inverno, tanto para os processos aeróbios (verão: $t_{1/2} = 1,77$ dias; inverno: $t_{1/2} = 14,3$ dias) quanto para os anaeróbios (verão: $t_{1/2} = 1,25$ dias; inverno: $t_{1/2} = 12,65$ dias).

Na Tabela 2 apresentam-se os valores obtidos das parametrizações das equações 1, 2, 3 e 4; em percentagem de COD inicial, COP, CODr, carbono inorgânico proveniente dos processos rápidos (oxidações químicas e respiração) (C_{in1}) e; os coeficientes de decaimento global do COD (C-glicose) (k_t), de formação do carbono inorgânico devido à processos rápidos (k_1), de formação (k_2) e mineralização (k_4) do COP, e de formação do CODr (k_3).

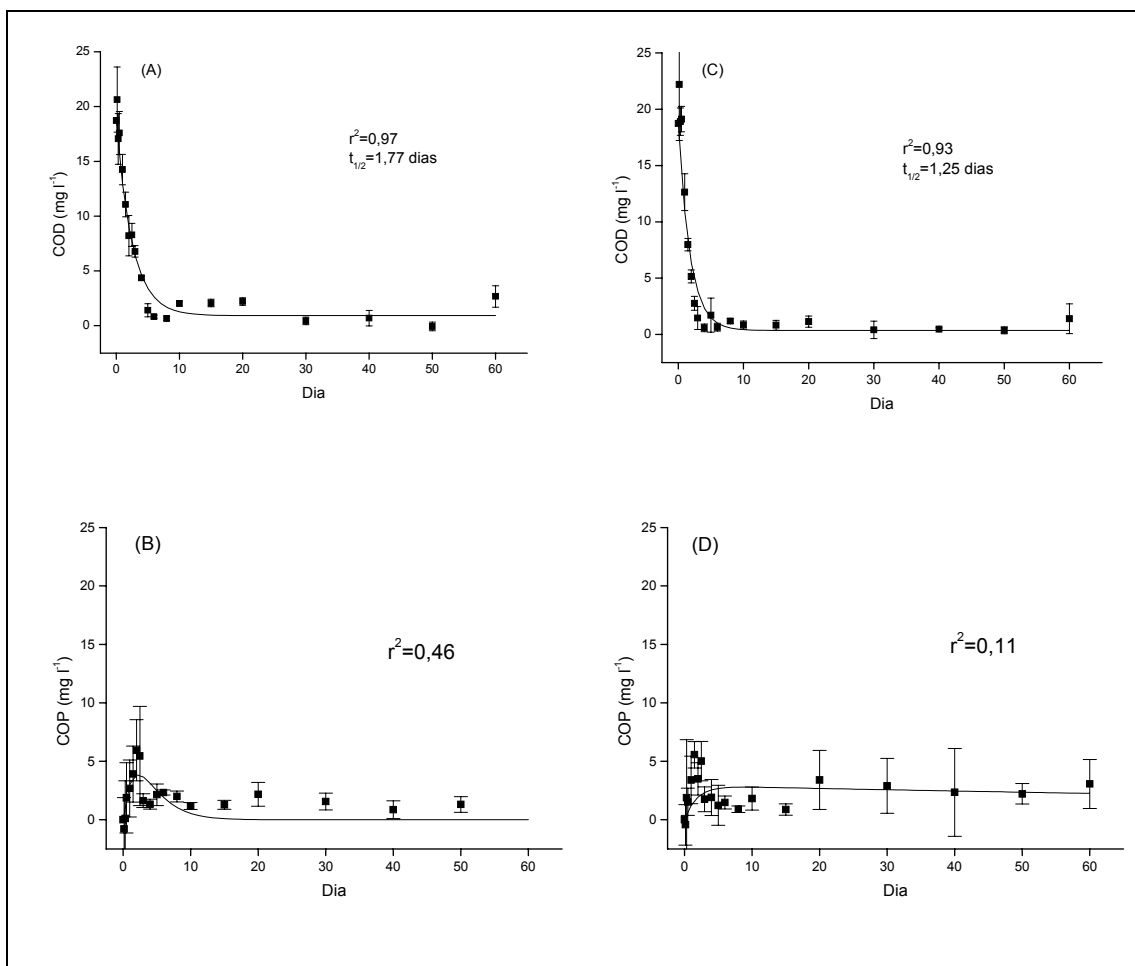


Figura 16 – Ajustes cinéticos da decomposição do COD (A e C) e da formação e mineralização de COP (B e D). Experimentos realizados com amostra de água coletada na cheia/verão (fevereiro/01). Aeróbio (A e B) e anaeróbio (C e D).

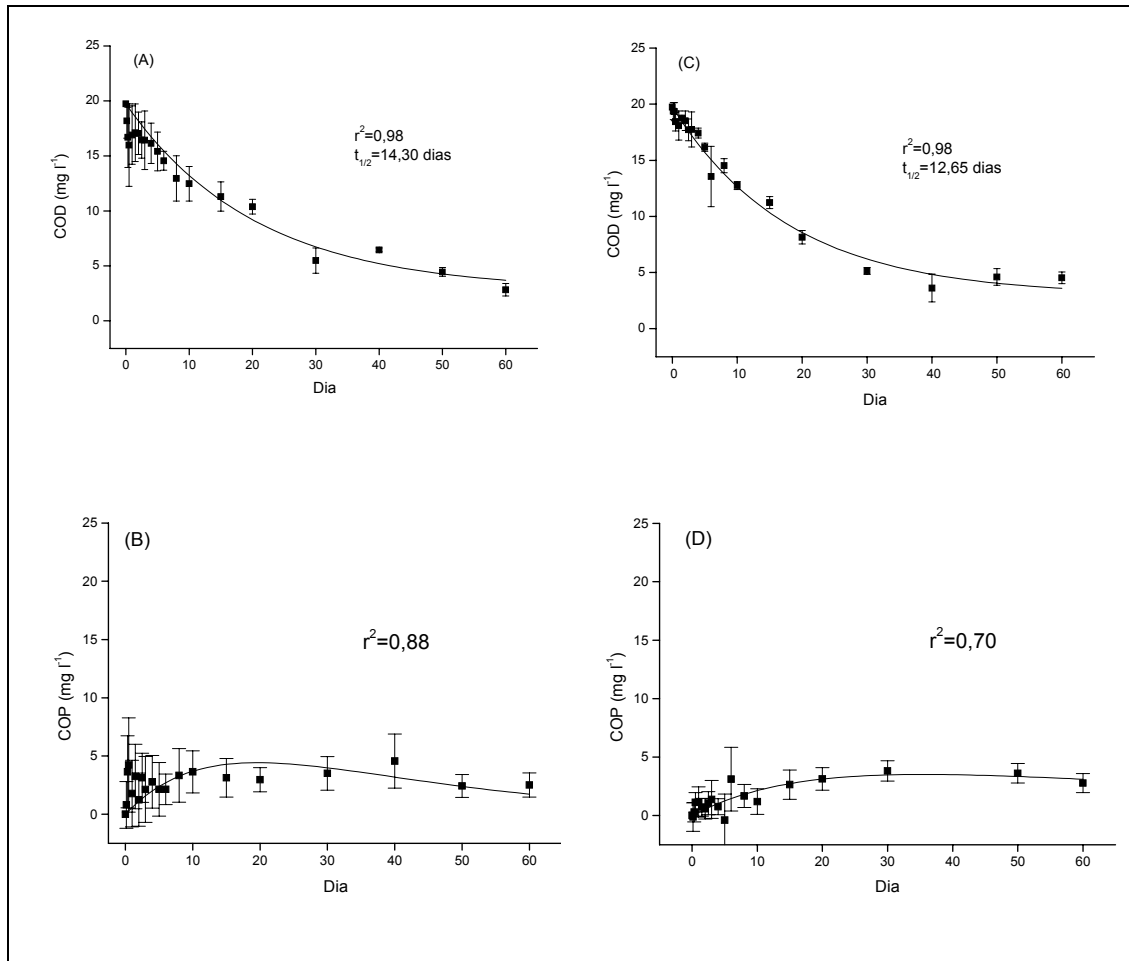


Figura 17 - Ajustes cinéticos da decomposição do COD (A e C) e da formação e mineralização de COP (B e D). Experimentos realizados com amostra de água coletada na seca/inverno (julho/01). Aeróbio (A e B) e anaeróbio (C e D).

Tabela 2 - Parâmetros do modelo adotado, determinados através dos ajustes cinéticos das curvas de COD e COP.

	Verão (fevereiro/01)				Inverno (julho/01)			
	Aeróbio		Anaeróbio		Aeróbio		Anaeróbio	
	parâmetro	erro	parâmetro	erro	parâmetro	erro	parâmetro	erro
COD₀ (%)	100*	--	100*	--	100**	--	100**	--
COP (%)	64,41	20,42	15,46	3,49	64,25	15,91	27,27	4,25
COD_r (%)	3,67	2,13	1,92	3,81	14,04	1,14	15,04	3,42
Cin₁ (%)	31,92	20,58	82,62	5,17	21,71	15,95	57,69	5,46
k_r (dia⁻¹)	0,395	0,040	0,555	0,088	0,048	0,002	0,055	0,005
k₁ (dia⁻¹)	0,125	--	0,458	--	0,011	--	0,032	--
k₂ (dia⁻¹)	0,253	--	0,086	--	0,031	--	0,015	--
k₃ (dia⁻¹)	0,014	--	0,011	--	0,007	--	0,008	--
k₄ (dia⁻¹)	0,515	0,229	0,004	0,096	0,054	0,021	0,012	0,007

* COD₀ = 18,733 mg l⁻¹; ** COD₀ = 19,736 mg l⁻¹; COP ≡ Cin₂

Com base nos coeficientes globais de decaimento do COD, numa comparação dos processos aeróbio e anaeróbio no mesmo período, observou-se que os coeficientes dos processos anaeróbios foram mais elevados (Tabela 2), indicando que nos experimentos realizados, as bactérias anaeróbias (e/ou anaeróbias facultativas) utilizaram a glicose com velocidades um pouco mais elevadas do que as bactérias aeróbias.

Na Figura 18 apresentam-se os rendimentos (em percentagem) das rotas aeróbias e anaeróbias de degradação da glicose, obtidos dos experimentos de mineralização realizados no verão e inverno. Observou-se que as comunidades aeróbias tiveram como principal rota de mineralização a via do COP, os quais mostraram os maiores coeficientes de formação (k_2) e mineralização (k_4), o que significa que a biomassa produzida pelas comunidades aeróbias foi maior em relação à das comunidades anaeróbias, nos dois períodos. Entretanto, as condições anaeróbias favoreceram a via dos processos rápidos de mineralização do COD, os quais mostraram os maiores coeficientes de mineralização via processos rápidos (k_1).

Com relação ao COD refratário, é possível notar que nos experimentos realizados no mês de julho/01, as produções destes compostos foram maiores, para ambos os processos (aeróbio e anaeróbio).

Os ajustes cinéticos (Equação 10) das quantidades de carbono orgânico mineralizado durante os experimentos desenvolvidos em fevereiro e julho (2001) estão representados na Figura 19; os valores experimentais de COM utilizados para os ajustes cinéticos, foram previamente descontados dos valores de COM dos frascos controles. A Figura 20 mostra os coeficientes de correlação entre COM calculado através do somatório das Equações 5 e 6 e o calculado experimentalmente (Equação 9). A tabela que apresenta os valores teóricos e experimentais de COM está apresentada no anexo 3

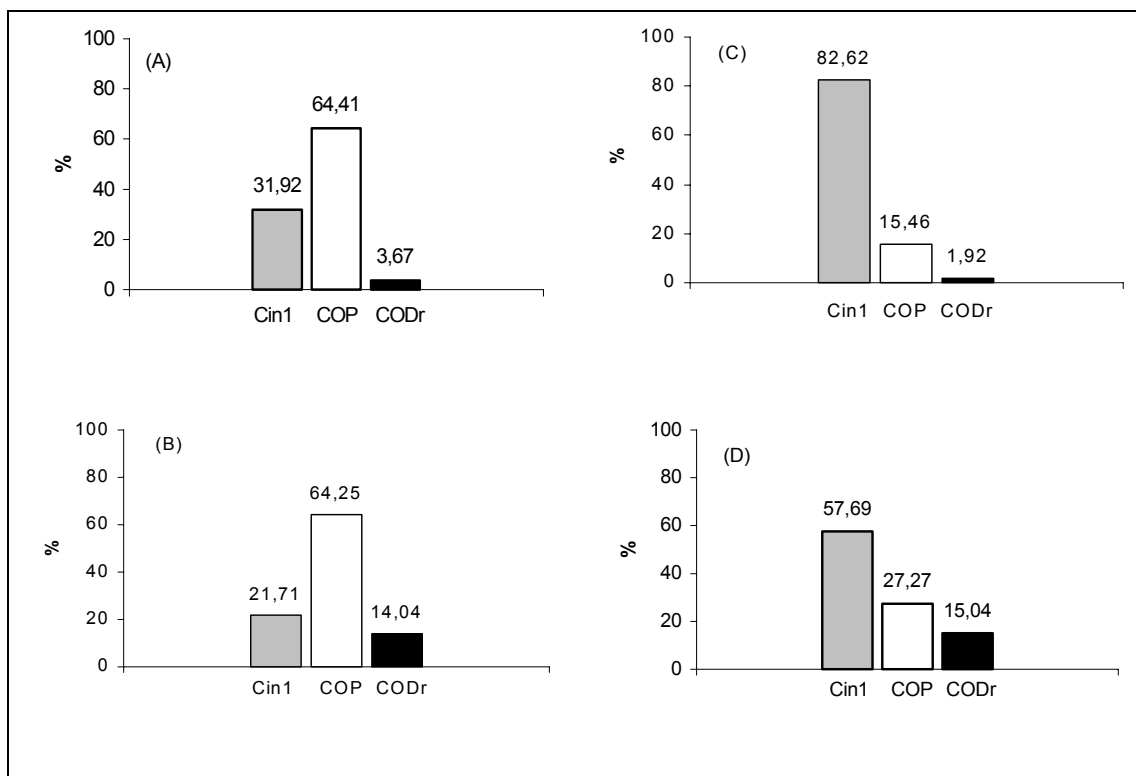


Figura 18 - Valores percentuais do rendimento das rotas de mineralização obtidos através do ajuste cinético: (A) mineralização aeróbia/verão; (B) mineralização aeróbia/inverno; (C) mineralização anaeróbia/verão e (D) mineralização anaeróbia/inverno.

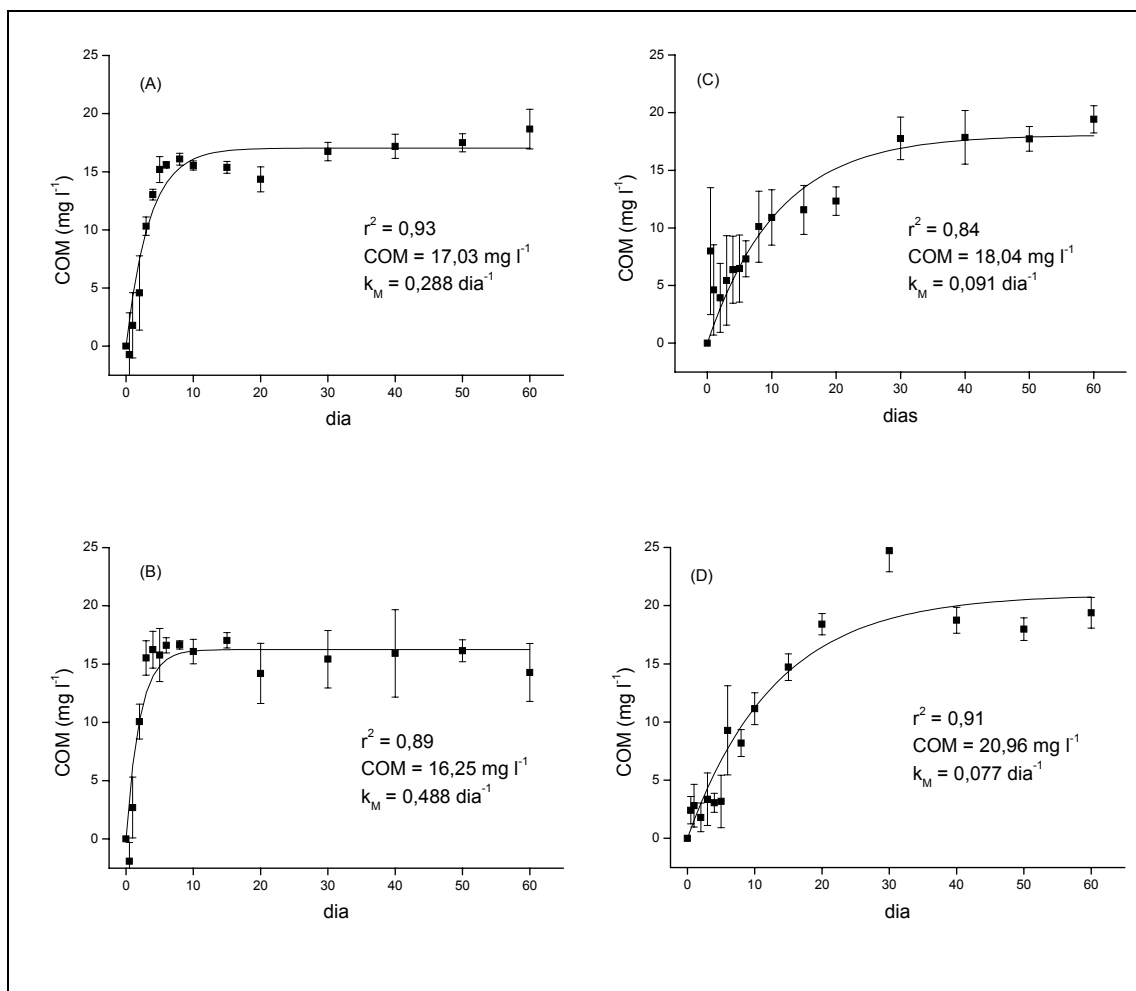


Figura 19 - Ajuste cinético para a estimativa do carbono orgânico mineralizado dos experimentos de mineralização aeróbia (A e C) e anaeróbia (B e D). A/B (cheia/verão) e C/D (seca/inverno).

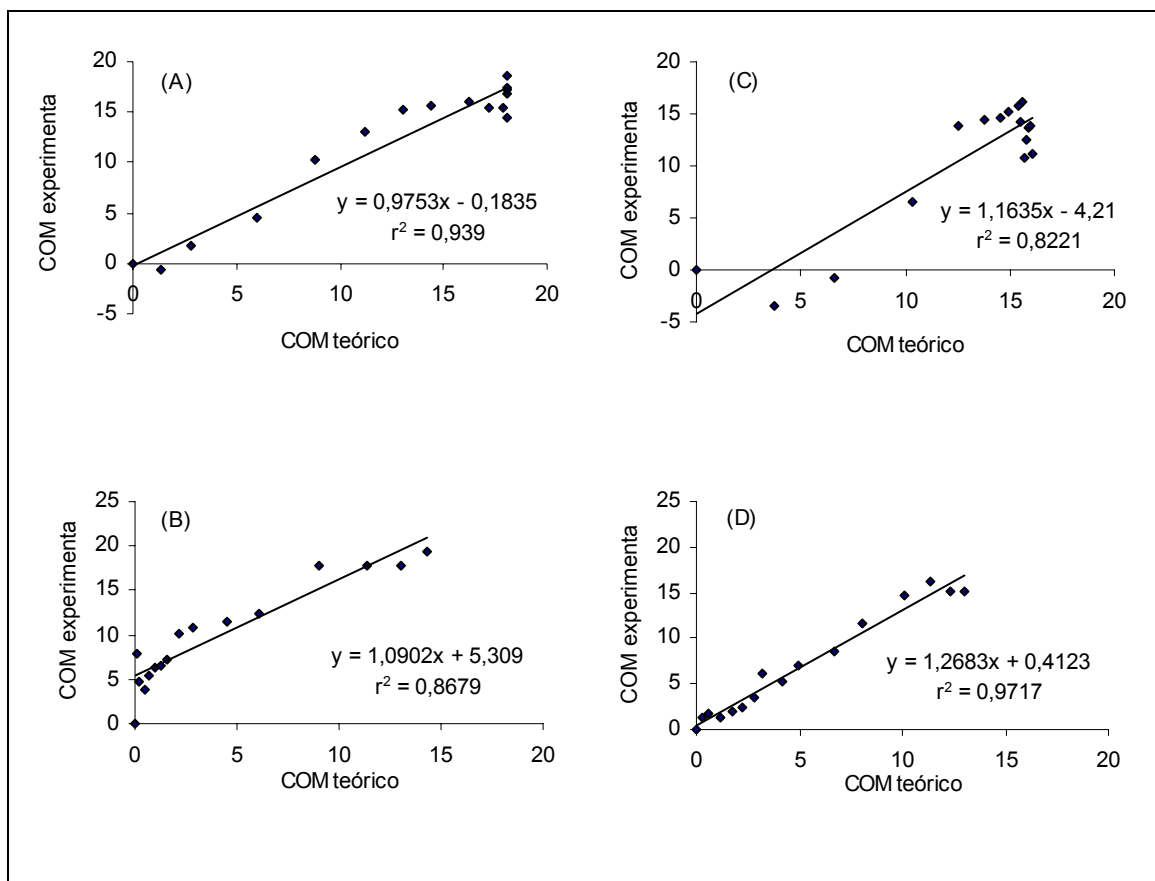


Figura 20 - Coeficientes de correlação entre COM teórico, calculado através da somatória das Equações (5 e 6), e o COM experimental, calculado de acordo com a Equação 9. (A) aeróbio e (B) anaeróbio na cheia/verão. (C) aeróbio e (D) anaeróbio na seca/inverno.

4.1.3. Consumo de Oxigênio

Os ajustes cinéticos dos consumos de oxigênio nos dois períodos estão apresentados na Figura 21. Os valores experimentais de OC utilizados para os ajustes cinéticos, foram previamente descontados dos valores dos frascos controles. Os valores de OC total (enriquecido + controle) e os respectivos valores dos frascos controles são apresentados no Anexo 4.

Na Figura 21 apresentam-se também os coeficientes de desoxigenação (k_D) determinados através da parametrização do modelo (Equação 11). Verifica-se que o coeficiente de desoxigenação obtido no experimento realizado no verão ($k_D = 0,1575 \text{ dia}^{-1}$) foi aproximadamente dez vezes maior do que o determinado com amostras de água coletadas no inverno ($k_D = 0,0148 \text{ dia}^{-1}$), corroborando com os resultados obtidos nos ajustes cinéticos de COD e COP, os quais também demonstraram (na mesma proporção) maiores velocidades dos processos de degradação nas incubações realizadas no verão.

Na Figura 22 são apresentadas as regressões utilizadas para as determinações das relações estequiométricas globais dos processos aeróbios nos dois períodos. Apesar da grande diferença de velocidade dos processos entre os dois períodos, as relações entre OC e COM mostram-se próximas, sendo que no inverno a relação OC/COM foi um pouco mais elevada (1,24).

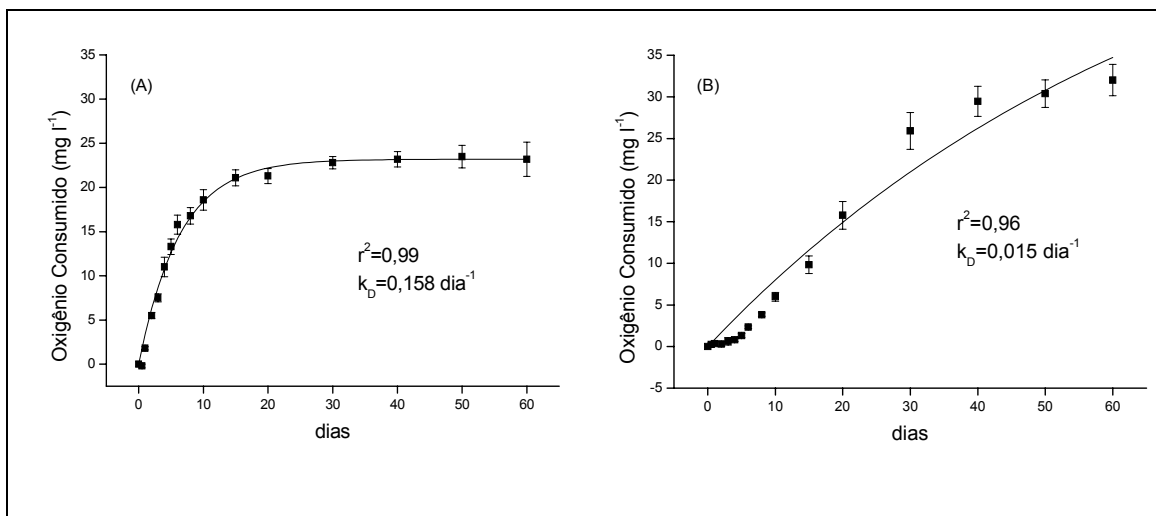


Figura 21 - Ajustes cinéticos dos consumos de oxigênio: (A) fevereiro/01 e (B) julho/01.

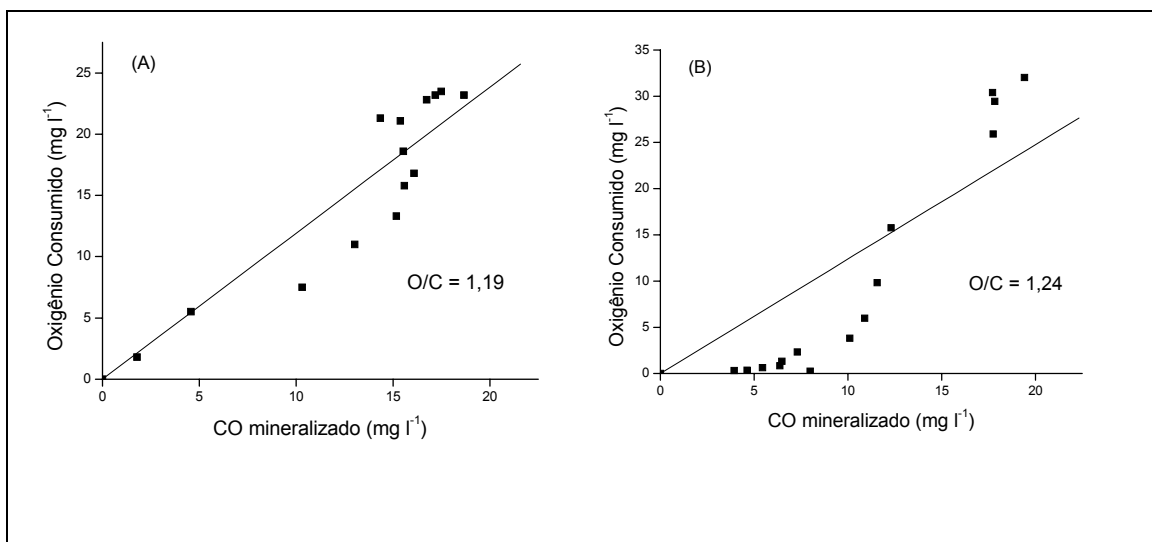


Figura 22 - Ajuste da equação linear da relação OC/COM para obtenção da estequiometria global dos processos aeróbios. (A) cheia/verão (fevereiro/01) e (B) seca/inverno (julho/01).

4.2. Monossacarídeos Poliméricos produzidos pelo Bacterioplâncton

4.2.1. Fator de Correção para amostras hidrolisadas

Na análise da solução padrão de glicose (50 mg l^{-1}) foi obtido um valor médio ($n=2$) de $47,078 \text{ mg l}^{-1}$ de glicose da solução não hidrolisada. Após a hidrólise obteve-se um valor médio ($n=2$) de $30,201 \text{ mg l}^{-1}$ de glicose, portanto, a perda do processo de hidrólise foi de 35,85%. A partir desses dados calculou-se um fator de correção que foi aplicado aos valores obtidos na análise das amostras hidrolisadas, para corrigir as perdas devido ao processo analítico adotado. O fator de correção calculado foi:

$$[\text{glicose antes da hidrólise}] / [\text{glicose depois da hidrólise}] = 1,56.$$

Portanto, os valores dos monossacarídeos obtidos com as amostras hidrolisadas foram multiplicados por 1,56 para correção das perdas causadas devido a manipulação das amostras.

4.2.2. Análise de Monossacarídeos

Nas análises dos monossacarídeos livres presentes na água do reservatório (frascos controles) não se registrou a ocorrência destes compostos. O Anexo 5 mostra os cromatogramas iniciais dos frascos controles, onde observa-se a ausência de monossacarídeos livres contidos na água do reservatório.

Na Tabela 3 são relacionados os valores médios ($n=2$) dos monossacarídeos poliméricos totais (particulados + dissolvidos) dos frascos controles, isto é, as amostras não filtradas em $0,45 \mu\text{m}$ e hidrolisadas. A Tabela 4 apresenta os

valores médios dos monossacarídeos poliméricos dissolvidos dos frascos controles, que correspondem as amostras filtradas em 0,45 μm e hidrolisadas. No anexo 6 apresentam-se os cromatogramas iniciais obtidos de amostras hidrolisadas (filtrada e não filtrada) dos frascos controles.

A partir das determinações dos monossacarídeos para as soluções dos frascos controles, os valores das concentrações de cada açúcar foram subtraídos das concentrações correspondentes dos frascos com soluções enriquecidas, com isso obtiveram-se os monossacarídeos poliméricos totais (Figura 23) e dissolvidos (Figura 24) referentes a conversão da glicose em monossacarídeos poliméricos dos frascos enriquecidos. Também foram descontados os valores médios dos monossacarídeos livres liberados pelo bacterioplâncton dos frascos enriquecidos durante o processo de mineralização (Tabela 5).

Os Anexos 7 e 8 referem-se aos cromatogramas iniciais e finais de amostras hidrolisadas (filtradas e não filtradas) dos frascos enriquecidos, o que corresponde aos monossacarídeos poliméricos totais e dissolvidos produzidos durante o processo de mineralização da glicose (incluindo os frascos controles).

Tabela 3 - Monossacarídeos poliméricos totais (particulado + dissolvido) obtidos nos frascos controles. Amostras não filtradas e hidrolisadas.

dias	Monossacarídeos (mg l ⁻¹)					
	Arabinose	Fucose	Galactose	Glicose	Ramnose	Ribose
0	0,076	0,016	0,128	0,424	0,054	0,000
0,5	0,052	0,015	0,007	0,038	0,041	0,000
1	0,000	0,005	0,002	0,040	0,000	0,000
1,5	0,000	0,014	0,000	0,107	0,037	0,000
2	0,000	0,011	0,000	0,090	0,000	0,000
3	0,000	0,070	0,000	0,086	0,035	0,000
5	0,000	0,015	0,000	0,069	0,043	0,000
9	0,000	0,005	0,000	0,038	0,057	0,000
15	0,000	0,009	0,000	0,016	0,012	0,000
20	0,000	0,009	0,000	0,008	0,016	0,000
30	0,000	0,009	0,000	0,075	0,000	0,000

Tabela 4 – Monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 µm) obtidos nos frascos controles. Amostras filtradas e hidrolisadas.

dias	Monossacarídeos (mg l ⁻¹)					
	Arabinose	Fucose	Galactose	Glicose	Ramnose	Ribose
0	0,112	0,104	0,040	0,098	0,115	0,000
0,5	0,035	0,009	0,033	0,105	0,034	0,000
1	0,010	0,011	0,007	0,140	0,037	0,000
1,5	0,000	0,011	0,000	0,093	0,024	0,000
2	0,000	0,005	0,000	0,006	0,014	0,000
3	0,000	0,009	0,000	0,212	0,024	0,000
5	0,000	0,011	0,000	0,092	0,051	0,000
9	0,000	0,006	0,000	0,178	0,048	0,000
15	0,000	0,012	0,000	0,101	0,041	0,000
20	0,000	0,021	0,004	0,031	0,026	0,000
30	0,000	0,023	0,000	0,032	0,057	0,000

Tabela 5 – Monossacarídeos livres liberados pelo bacterioplâncton durante o processo de degradação da glicose (frascos enriquecidos). Valores descontados dos frascos controles. Amostras não filtradas e não hidrolisadas.

dias	Monossacarídeos (mg l ⁻¹)				
	Arabinose	Fucose	Galactose	Ramnose	Ribose
0	0,052	0,006	0,000	0,000	0,000
0,5	0,040	0,000	0,000	0,000	0,000
1	0,055	0,036	0,000	0,029	0,000
1,5	0,027	0,000	0,000	0,000	0,000
2	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
5	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
9	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
15	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
20	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
30	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000

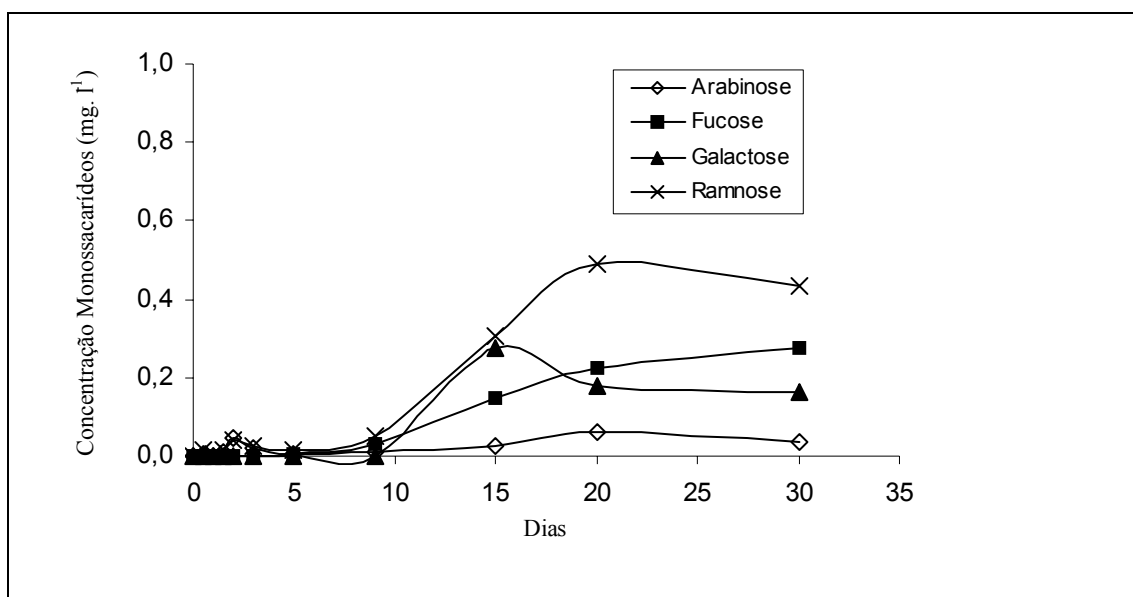


Figura 23 – Variação temporal dos valores médios de monossacarídeos poliméricos totais (Particulado + Dissolvido), dos frascos enriquecidos com glicose.

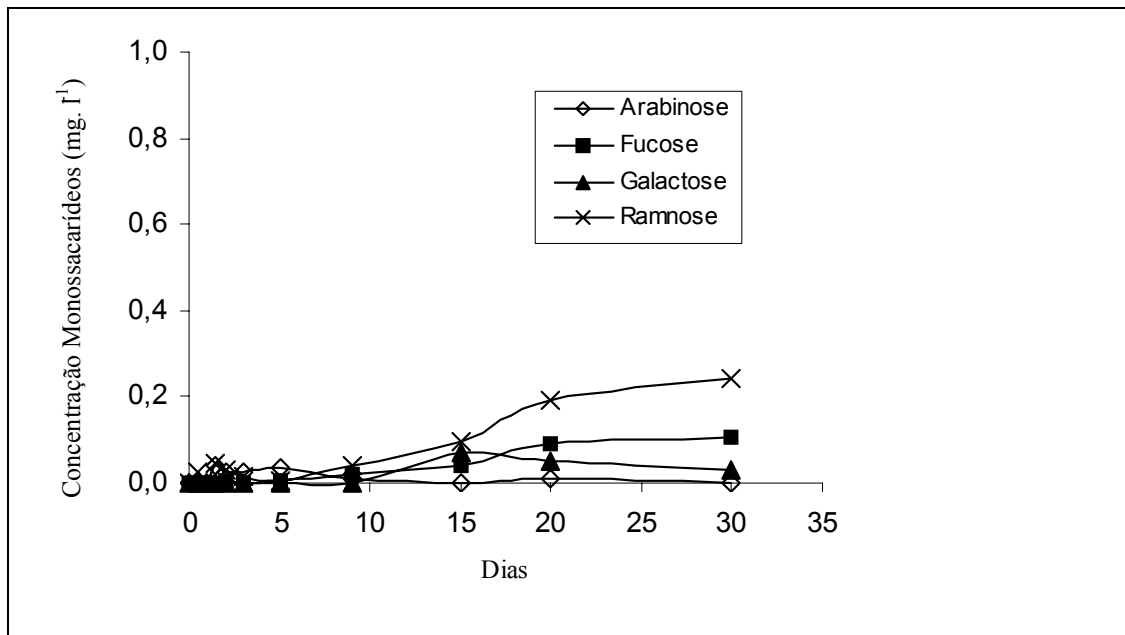


Figura 24 – Variação temporal dos valores médios de monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 μm), dos frascos enriquecidos com glicose.

As Tabelas 6 e 7 mostram os valores percentuais dos monossacarídeos poliméricos totais e dissolvidos produzidos durante o processo de mineralização da glicose, respectivamente. A conversão em valores percentuais foi realizada considerando-se 100% o valor inicial da concentração de glicose determinada cromatograficamente (Anexo 9), e que corresponde a 44,39 mg l⁻¹.

Na Figura 25 apresenta-se o decréscimo das concentrações da glicose durante o experimento, estes resultados são referentes às amostras não hidrolisadas dos frascos enriquecidos, correspondentes aos monossacarídeos livres contidos no meio. O Anexo 9 apresenta os cromatogramas referentes aos picos iniciais e finais da concentração de glicose dos frascos enriquecidos (amostras não hidrolisadas), correspondentes aos monossacarídeos livres no meio.

Tabela 6 – Valores percentuais dos monossacarídeos poliméricos totais obtidos durante o processo de mineralização da glicose.

dias	Monossacarídeos (%)				
	Arabinose	Fucose	Galactose	Ramnose	Ribose
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,07	0,00	0,00	0,05	0,00
1	0,00	0,00	0,00	0,06	0,00
1,5	0,08	0,00	0,00	0,06	0,00
2	0,17	0,00	0,00	0,14	0,00
3	0,07	0,00	0,00	0,10	0,00
5	0,02	0,01	0,00	0,06	0,00
9	0,04	0,11	0,00	0,18	0,00
15	0,08	0,52	0,96	1,07	0,00
20	0,21	0,79	0,63	1,71	0,00
30	0,12	0,97	0,57	1,53	0,00

Tabela 7 – Valores percentuais dos monossacarídeos poliméricos dissolvidos (< 0,45 μm), obtidos durante o processo de mineralização da glicose.

dias	Monossacarídeos (%)				
	Arabinose	Fucose	Galactose	Ramnose	Ribose
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,04	0,00	0,00	0,09	0,00
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,5	0,15	0,01	0,00	0,16	0,00
2	0,10	0,02	0,00	0,10	0,00
3	0,10	0,00	0,00	0,06	0,00
5	0,12	0,02	0,00	0,02	0,00
9	0,04	0,07	0,00	0,15	0,00
15	0,00	0,13	0,25	0,33	0,00
20	0,04	0,31	0,19	0,67	0,00
30	0,00	0,38	0,11	0,86	0,00

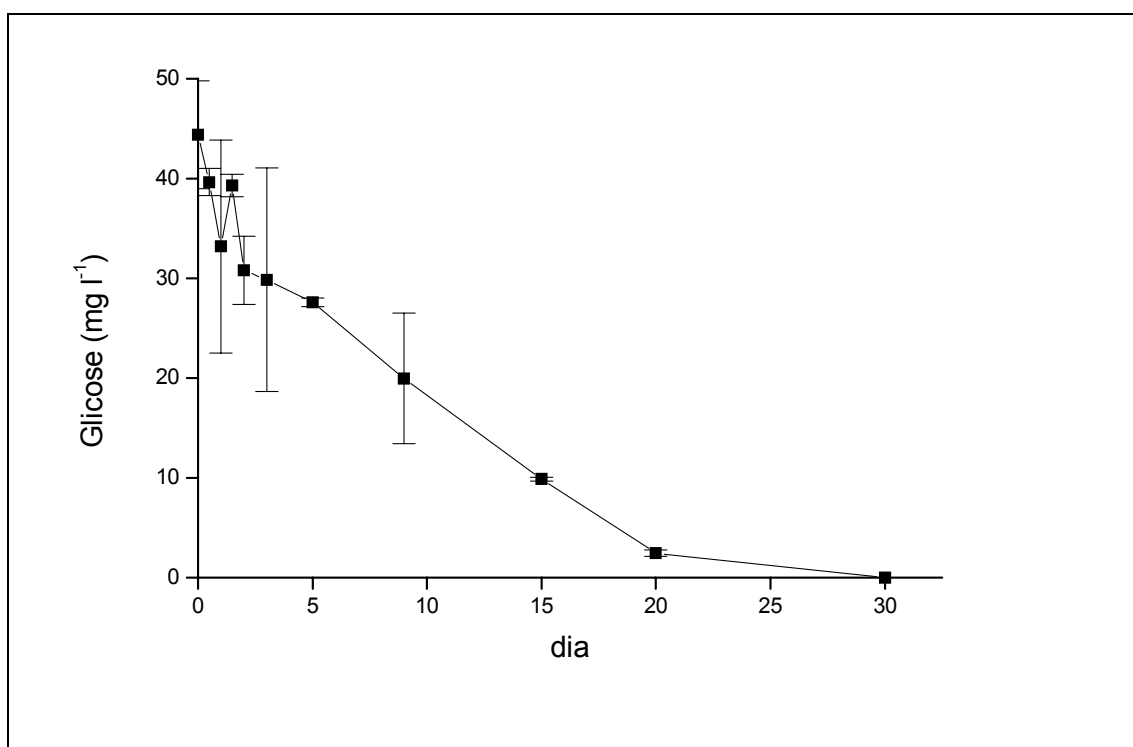


Figura 25 – Variação temporal da concentração de glicose (amostra não hidrolisada).

*valores descontados do branco

5. DISCUSSÃO

5.1. Comparação dos processos cinéticos entre os períodos de cheia/verão e de seca/inverno

5.1.1. Variáveis Físicas e Químicas

O desenvolvimento de programas de manejo eficientes que visam a manutenção da qualidade de água de reservatórios, requer um amplo conhecimento do metabolismo do sistema, através dos estudos dos processos predominantes e da transferência de energia dos diferentes níveis tróficos. O conhecimento da entrada de energia no sistema decorre do detalhamento da produção primária, que é controlada pela entrada de energia luminosa, nutrientes (BRYLINSKY, 1980) e o balanço entre ganhos e perdas que governam os sistemas planctônicos (THORNTON et al., 1990).

A produtividade nos reservatórios depende de vários fatores (físicos, químicos e biológicos) interrelacionados, que são também funções do regime climático e hidráulico, da morfologia da bacia de drenagem, da natureza do(s) rio(s) que abastece(m) o reservatório, da estrutura da rede alimentar (THORNTON et al., 1990), do tempo de retenção da água, da turbidez e das perdas de material biológico devido ao fluxo externo (CALIJURI & DOS SANTOS, 2001).

Devido a ação do vento e da radiação solar, o reservatório de Barra Bonita apresenta um padrão polimítico de circulação (CALIJURI & TUNDISI, 1990, DE FILIPPO, 1987). De acordo com LEWIS (1983) lagos polimíticos são caracterizados por circulação irregular, dependendo da morfometria e das variações climáticas. Os movimentos da água podem ser regulados pelo vento, pelas chuvas, pela variação de temperatura e pelo funcionamento da barragem (vazão vertida e turbinada). As variações temporais nos reservatórios tropicais normalmente são associadas à precipitação e ao vento (WISNIEWSKI, 1998).

O reservatório de Barra Bonita durante o período de maior precipitação (verão) é caracterizado pela baixa transparência da água (zona eufótica reduzida), aumento do material em suspensão, alta condutividade (valores menores quando comparados com o período seco), concentrações elevadas de nutrientes (N e P) e maior produção primária, provavelmente como consequência do aumento da concentração de fósforo na água (CALIJURI & TUNDISI, 1990). Segundo CALIJURI & TUNDISI (1990) e WISNIEWSKI (1998), nesse período ocorre menor intensidade do vento e a luz é o principal fator limitante da produção primária (HENRY, 1986). Ocorre maior vazão e menor tempo de residência da água (≈ 40 dias) (CALIJURI & TUNDISI, 1990).

No período de menor precipitação (inverno), o reservatório caracteriza-se pela transparência da água elevada (aumento da zona eufótica), alta condutividade elétrica, menores concentrações de nutrientes, menor produção primária do fitoplâncton, menor vazão e maior tempo de residência da água (≈ 6 meses) (CALIJURI & TUNDISI, 1990). Nesse período ocorre maior intensidade do vento (CALIJURI & TUNDISI, 1990; WISNIEWSKI, 1998) e conseqüentemente, maior turbulência, o que promove a homogeneização da coluna da água.

Essas características gerais entre os diferentes períodos sazonais são sujeitas a grandes flutuações, pois em se tratando de um sistema amplo e dinâmico como o reservatório de Barra Bonita, as condições físicas, químicas e biológicas podem variar em resposta as diferentes funções de força que atuam no reservatório, além de oscilarem em função dos regimes de operação que são adotados na produção de energia elétrica.

O ciclo sazonal do fitoplâncton e da produção primária no reservatório de Barra Bonita, como demonstrados em trabalhos anteriores (CALIJURI & DOS SANTOS, 2001; DOS SANTOS & CALIJURI, 1998; DOS SANTOS & CALIJURI,

1997; CALIJURI & DOS SANTOS, 1996; CALIJURI & TUNDISI, 1990), está fortemente relacionado ao tempo de retenção, ao ciclo de nutrientes e aos fatores climatológicos. No verão, devido à maior estabilidade da coluna da água, temperaturas elevadas, aumentos das concentrações de nutrientes, condições de anoxia no hipolímnio (o que contribui para a liberação de fósforo do sedimento) foram provavelmente fatores importantes no florescimento de algas. Em particular, na época da 1ª coleta observou-se um florescimento pronunciado de algas. Nesse contexto, em estudo sobre a comunidade fitoplanctônica deste ambiente, CALIJURI & DOS SANTOS (1996) relataram a ocorrência freqüente de florescimentos de *Microcystis aeruginosa* no verão. Existem várias hipóteses que explicam a superioridade numérica de cianobactérias em ecossistemas lênticos, tais como: competição por nutrientes (VICENT, 1989), melhor absorção de carbono (SHAPIRO, 1990), produção de substâncias tóxicas (REYNOLDS et al., 1981), redução da vulnerabilidade a predadores (HANEY, 1987), capacidade de permanecer na superfície durante períodos de estabilidade física (HUMPHRIES & LYNE, 1988). CALIJURI & DOS SANTOS (1996) observaram um aumento significativo da população de *Microcystis aeruginosa* imediatamente após o período de anoxia na região profunda, e ainda, verificaram que durante o verão a anoxia na região próxima ao sedimento foi quase contínua, favorecendo a liberação permanente de fósforo, que deve ter favorecido a manutenção da população.

As baixas concentrações de oxigênio dissolvido observado no verão (em média 1,16 mg l⁻¹) indicam a aceleração dos processos de decomposição, que foram favorecidos pelas altas temperaturas (CUNHA, 1999; ANTONIO, 1996), pelo aumento da carga de matéria orgânica devido ao carreamento de detritos das áreas adjacentes ao reservatório pelas chuvas e pelo aumento do fluxo dos rios que abastecem o reservatório, os quais recebem grande quantidade de esgotos domésticos, industriais e

agrícolas de áreas densamente povoadas. O florescimento das algas também pode ser considerado um dos fatores que contribuíram para a baixa concentração de oxigênio dissolvido, devido ao incremento de carbono orgânico pela excreção e lise celular da população.

No inverno observaram-se concentrações de oxigênio dissolvido mais elevadas (em média $7,96 \text{ mg l}^{-1}$); isso se deve às temperaturas menores (aumento da solubilidade de oxigênio na água) e provavelmente, à ação dos ventos que aumentaram a turbulência promovendo a homogeneização da coluna d'água, uma vez que o reservatório pode ser considerado raso. Também deve ser considerado que nesse período a entrada de material alóctone é menor em relação ao período de chuvas.

No presente estudo verificou-se uma diferença acentuada de temperatura nos dois períodos, sendo de $27,8^{\circ}\text{C}$ no verão e $20,3^{\circ}\text{C}$ no inverno (valores médios). Esta diferença provavelmente interferiu em atividades metabólicas do ecossistema como um todo, como por exemplo, nas taxas de decomposição (CUNHA, 1999). A maior variação da temperatura na coluna da água foi registrada no verão ($3,2^{\circ}\text{C}$). No reservatório de Barra Bonita, a tomada de água é realizada em profundidades maiores, ocorrendo a eliminação da água mais fria do hipolímnio o que provoca o aumento da temperatura média do reservatório (WISNIEWSKI, 1998; FONSECA, 1990).

No período de chuvas (verão) pode-se observar o aumento da turbidez da água e conseqüentemente a redução da zona eufótica, diminuindo a penetração de luz na coluna da água, provavelmente em decorrência da maior adução de material em suspensão carregado pelas enxurradas (escoamento superficial) e pelos rios da bacia hidrográfica. CALIJURI (1988) também observou o aumento do material em suspensão nesse período e HENRY & TUNDISI (1985) durante experimentos de enriquecimento

artificial, verificou que no período de chuvas no reservatório de Barra Bonita, a penetração de luz foi o principal fator limitante da produção primária.

Os valores de condutividade elétrica foram relativamente elevados nas duas amostragens, estes valores altos estão relacionados com o estado trófico da água, sendo o rio Tietê o principal contribuinte (WISNIEWSKI, 1998). Esses valores encontrados estão na mesma faixa já registradas por outros autores, por exemplo, DOS SANTOS (1996) encontrou valores de condutividade variando entre 240 a 260 $\mu\text{S cm}^{-1}$. Os menores valores encontrados na estação chuvosa em relação a estação de seca foi, provavelmente, devido ao fator diluição.

A variação de pH nas duas determinações foi relativamente pequena, podendo se tratar de um sistema bem tamponado.

Quanto aos nutrientes (N e P), as concentrações mais elevadas foram encontradas no período de chuvas (verão), exceto os valores da concentração de nitrato, que foram maiores no período de seca. DOS SANTOS (1996) também encontrou nesse reservatório as maiores concentrações das formas nitrogenadas no verão, com exceção do nitrato. WISNIEWSKI (1998) constatou menores concentrações das formas nitrogenadas no verão. Essas diferenças devem-se ao dinamismo desses ciclos, que são controlados pelos processos microbiológicos como a nitrificação, desnitrificação, amonificação e fixação do nitrogênio molecular, sendo a concentração de oxigênio dissolvido um dos principais fatores controladores.

Em estudo anterior, CALIJURI & DOS SANTOS (2001) relataram que as concentrações de fósforo total no verão foram o dobro em relação aos obtidos no inverno, o que também foi verificado nesse estudo. Esse aumento na concentração de fósforo foi provavelmente devido à decomposição do material orgânico em suspensão, a desorção de fosfato do material inorgânico em suspensão (CALIJURI & DOS

SANTOS, 2001; CALIJURI & TUNDISI, 1990), os quais aumentam devido às contribuições do solo da bacia hidrográfica, e as condições de anóxia do hipolímnio, o que favorece a liberação de fósforo do sedimento. No inverno, com as maiores concentrações de oxigênio dissolvido na coluna da água, a precipitação do fósforo para o sedimento foi favorecida (TUNDISI et al., 1988), e também a menor entrada de material alóctone, provavelmente favoreceram as menores concentrações de fósforo dissolvido nesse período.

As formas nitrogenadas (nitrogênio orgânico total, amônia, nitrito) foram encontradas em concentrações mais elevadas no verão, provavelmente devido à entrada de nutrientes provenientes das atividades agrícolas, excreção de compostos nitrogenados pelas cianofíceas (MCCARTHY, 1980) e, também, devido à intensificação dos processos de decomposição. As maiores concentrações de amônia e nitrito decorreram, provavelmente, da intensificação do processo de amonificação e da baixa eficiência do processo de nitrificação, devido às baixas concentrações de oxigênio dissolvido na coluna da água nesse período.

5.1.2. Potenciais de Heterotrofia e rotas de mineralização

Com base nos resultados obtidos nota-se que, o bacterioplâncton contido nas amostras de água do reservatório coletadas nas duas épocas apresentaram diferenças quanto a capacidade heterotrófica e também, quanto aos rendimentos das rotas metabólicas da mineralização da glicose.

Os coeficientes globais (k_T) de decomposição da glicose obtidos no verão, mostraram-se 8,1 vezes superiores para os processos aeróbios e 10,1 vezes superiores para os anaeróbios, em comparação aos coeficientes obtidos na amostragem

de inverno. Isso pode ser melhor visualizado pelos tempos meia-vida dos processos, que em fevereiro foi de 1,77 dias para o processo aeróbio e 1,25 dias para o processo anaeróbio. Em julho, o tempo de meia-vida da decomposição da glicose para o processo aeróbio foi 14,30 dias e para o anaeróbio foi 12,65 dias. Considerando que se trata de um ambiente cujo clima não se altera sazonalmente como nas regiões temperadas, tais diferenças evidenciam o importante papel das pequenas variações de temperatura para os processos de ciclagem deste reservatório. Nesse contexto, os coeficientes de heterotrofia foram de 8 a 10 vezes mais elevados no verão.

Essas diferenças acentuadas nas velocidades dos processos de decomposição se devem, provavelmente, ao estado fisiológico, à composição e ao “standing-stock” (quantidade de organismos do bacterioplâncton presente num dado momento, por unidade de volume ou área; GODINHO,1976) do bacterioplâncton nos dois períodos, e ainda, a utilização de um único substrato (glicose) que pode ter atuado na seleção de bactérias.

Na amostragem realizada no verão observaram-se algumas condições que podem estar relacionadas com o aumento numérico da comunidade bacteriana e/ou a maior atividade heterotrófica, como o aumento da quantidade de nutrientes (C, N e P) e temperaturas elevadas. O aumento na quantidade de COD (Tabela 1) pode ser relacionado a maior entrada de fontes alóctones de matéria orgânica, ao florescimento das algas, e maior produção de substâncias excretadas pelo fitoplâncton (HANSEN et al., 1986) e zooplâncton (JUMARS et al., 1989) que estimularam o aumento da população bacteriana (NALEWAJKO et al., 1980) e da atividade heterotrófica. Esses eventos teriam levado a uma intensificação dos processos de decomposição, que pôde ser confirmado pelas baixas concentrações de OD na coluna d’água nessa amostragem (em média 1,16 mg l⁻¹) e elevada concentração de amônia, um dos principais produtos

finais da decomposição da matéria orgânica pelas bactérias heterotróficas (WETZEL, 1993). WRIGHT & HOBBIE (1966) relacionaram o potencial de heterotrofia com o estado trófico do sistema aquático, e observaram que a velocidade de decaimento de alguns substratos orgânicos foi de 30-100 vezes superiores em lagos poluídos por esgotos orgânicos quando comparados a lagos não poluídos.

A maior concentração de fósforo, a elevada temperatura e menor turbulência da água no verão, podem ter sido as principais causas do grande florescimento de algas registrado no período, e conseqüentemente, a maior atividade heterotrófica do bacterioplâncton, pois como foi relatado por KATO & SAKAMOTO (1981), a inter-relação entre bactérias e fitoplâncton é o elo mais importante no sistema de regulação dos ecossistemas aquáticos. De modo geral, estes resultados permitem supor que no reservatório de Barra Bonita os processos de produção primária e de heterotrofia estejam interligados. Nesse caso, os florescimentos algais poderiam dar suporte ao incremento dos processos de ciclagem, ou serem decorrentes das taxas mais elevadas de mineralização que ocorreriam normalmente no verão. Nesse contexto, estudos desenvolvidos por ANTONIO (comunicação pessoal) têm também sugerido a possibilidade desta conexão entre os processos de produção primária e de heterotrofia.

Nos dois períodos, os coeficientes globais de decomposição da glicose sob condições anaeróbias foram mais elevados (1,4 vez em fevereiro e 1,1 vez em julho) em relação aos coeficientes determinados sob condições aeróbias. Apesar de admitir-se, com freqüência, que os processos aeróbios sejam mais rápidos (WETZEL, 1983; ANTONIO, 1992), alguns estudos tais como os realizados por ANTONIO (1996) e BIANCHINI Jr. et al. (1997) observaram o padrão oposto, ou seja, que os processos anaeróbios de decomposição foram mais rápidos. Nesse estudo, embora os processos anaeróbios tenham sido mais rápidos, os coeficientes globais de decaimento da glicose

dos processos aeróbios e anaeróbios foram próximos, quando comparados no mesmo período. Esses resultados sugerem que neste reservatório, a comunidade de bactérias (anaeróbias e/ou anaeróbias facultativas) seja bem adaptada, visto que este tipo de bactérias depende muito mais de relações simbióticas do que as populações de bactéria aeróbias, pois os microrganismos anaeróbios dependem de uma grande cooperação dos diversos tipos de metabólicos de bactérias na cadeia alimentar (BALOWS et al., 1992). É possível, ainda, que a similaridade verificada para os coeficientes globais dos processos aeróbios e anaeróbios indique a predominância das bactérias anaeróbias facultativas, que seriam capazes de ciclar a matéria orgânica praticamente de modo independente da disponibilidade de oxigênio.

Com relação às rotas de mineralização da glicose, as bactérias aeróbias mostraram, nos dois períodos, uma eficiência maior (64,4% no verão e 64,3% no inverno) na conversão da glicose via COP (imobilização), em relação às anaeróbias/anaeróbias facultativas (15,5% no verão e 27,3% no inverno). Apesar da maior imobilização em COP pelas comunidades aeróbias, os coeficientes de decaimento (k_4) dos microrganismos foram elevados (Tabela 2), o que significa que o COP formado foi rapidamente consumido (mineralizado). Essa superioridade das bactérias aeróbias na imobilização do carbono pode estar relacionada ao maior rendimento energético da via aeróbia da quebra da glicose, disponibilizando uma quantidade de energia maior para os processos anabólicos.

Quando comparados os processos anaeróbios entre os dois períodos, o maior rendimento na formação do COP observado no inverno pode estar relacionado com a alta concentração de nitrato, pois na respiração do nitrato (desnitrificação) a quantidade de energia gerada é da mesma ordem de grandeza que a gerada no processo de oxidação aeróbia, como conseqüência, a imobilização é relativamente alta

(BIANCHINI Jr., 1999). No entanto, não tão privilegiada quanto na decomposição aeróbia, como observado nesse estudo e por outros autores (SCHLEGEL, 1975; DAVIS & CORNWELL, 1991).

A formação de COD refratário, levando-se em consideração o tempo dos experimentos (60 dias), para ambos os processos (aeróbio e anaeróbio) foi maior em julho (Figura 18), sendo 3,8 vezes superior para os processos aeróbios e 7,8 vezes maior para os processos anaeróbios. Essas diferenças talvez possam decorrer das alterações sazonais na composição e/ou na atividade das populações microbianas. CARLSON et al. (1985) e BROPHY & CARLSON (1989) demonstraram a transformação de COD monoméricos em compostos de alto peso molecular, isto é, a transformação de uma forma biologicamente disponível a uma forma menos disponível. BROPHY & CARLSON (1989) sugerem que a transformação biológica de compostos lábeis em refratários possa ser uma das maiores fontes de materiais refratários. Os compostos refratários podem ser formados, por exemplo, a partir de compostos (detritais e produtos de ressíntese) que sofrem condensações químicas e resultam na formação de substâncias húmicas (BIANCHINI Jr., 1985). Parte do C-glicose incorporado em componentes celulares nas frações particuladas (COP) pode ter sido excretado ou liberado de alguma outra forma como material de alto peso molecular dissolvido (BROPHY & CARLSON, 1989).

ANTONIO (1992) ao descrever a decomposição da glicose pelo bacterioplâncton de uma lagoa marginal do Rio Mogi-Guaçu, verificou que a mineralização via processos rápidos (oxidações químicas e biológicas), respondeu por cerca de 20% do consumo de carbono orgânico. Neste mesmo estudo estimou-se que a formação de COP (biomassa microbiana) foi 60% e que o processo de formação de compostos refratários tenha sido responsável pelos 20% restantes.

Em relação ao consumo de oxigênio dos processos aeróbios (Figura 21), suas cinéticas foram compatíveis com as de decaimento do COD. No verão observou-se que os consumos de oxigênio foram mais intensos nos primeiros dias; da mesma forma, a cinética de decaimento do COD (glicose) evidenciou consumos maiores de COD nos primeiros dias. No inverno observou-se que os consumos de oxigênio foram mais lentos nos primeiros dias, seguindo o mesmo padrão de consumo de COD. As estequiometrias globais dos processos aeróbios (Figura 22) mostraram-se próximas, indicando que as quantidades de oxigênio consumido por carbono oxidado foram próximas nos dois períodos estudados, apesar das diferenças nas velocidades de mineralização (k_T).

Os coeficientes de correlação entre o COM teórico e COM observado experimentalmente (Figura 20), permitiram verificar a sensibilidade do modelo empregado nesse estudo. De modo geral, observou-se que coeficientes foram relativamente altos, indicando que o modelo proposto foi sensível para descrever os processos de mineralização da glicose. As melhores correlações foram observadas nos processos aeróbios de verão ($r^2 = 0,94$) e nos processos anaeróbios de inverno ($r^2 = 0,97$). De acordo com os resultados teóricos e experimentais do processo anaeróbio de fevereiro ($r^2 = 0,868$), o modelo não foi sensível para descrever a formação do COM quando estes estavam abaixo de $4,20 \text{ mg l}^{-1}$. Para os processos aeróbios de julho ($r^2 = 0,822$), o modelo se mostrou sensível para as concentrações acima de $5,3 \text{ mg l}^{-1}$.

Para CALIJURI & TUNDISI (1990) o metabolismo do reservatório de Barra Bonita depende do ciclo hidrológico, da turbulência e dos fatores externos associados tais como o pulso de material em suspensão. Além destes fatores, deve-se considerar que o sistema aquático expressa a tensão recebida pelos ecossistemas terrestres da bacia de drenagem, modificando seu funcionamento tendendo a minimizar as conseqüências de tal tensão. Nesse estudo pôde-se registrar que uma das respostas

frente à maior entrada de nutrientes e de materiais (principalmente COD) no período de cheia/verão foi a aceleração dos processos de decomposição. Portanto, o modelo cinético empregado na determinação do potencial de heterotrofia respondeu de forma satisfatória, mostrando algumas diferenças entre os potenciais de heterotrofia e das rotas de mineralização da glicose dos processos aeróbios e anaeróbios, nos dois períodos estudados.

5.2. Produção de polímeros (polissacarídeos) pelo bacterioplâncton

Tem sido demonstrado recentemente que o bacterioplâncton libera quantidades consideráveis de material capsular (COD semi-lábeis a refratários) no ambiente aquático (BROPHY & CARLSON, 1989, STODEREGGER & HERNDL, 1998), porém esse COD derivado do bacterioplâncton permanece amplamente desconhecido. No geral, estes compostos liberados pelo bacterioplâncton consistem-se primariamente de materiais de alto peso molecular, compostos de polissacarídeos altamente hidratados (HEISSENBERGER et al., 1996). Devido a ubiquidade das bactérias nos ambientes aquáticos, o COD liberado pelo bacterioplâncton pode também contribuir significativamente para as quantidades de COD e no caso de ocorrer coagulação, também para os estoques de COP detrital dos ambientes aquáticos.

O bacterioplâncton libera grandes quantidades de substâncias poliméricas durante os estágios de seu ciclo de vida: quando eles estão metabolicamente ativos, liberam fibrilas de polissacarídeos pela renovação permanente da cápsula da parede celular (STODEREGGER & HERNDL, 1998) e durante o decaimento da população, liberam principalmente materiais intracelulares (SHIBATA et al. 1997).

Portanto, esse experimento teve como objetivo identificar e quantificar alguns monossacarídeos oriundos de polímeros (principalmente polissacarídeos) liberados pelo bacterioplâncton durante o processo de mineralização aeróbia da glicose.

Dois problemas metodológicos na hidrólise das amostras devem ser ressaltados. O primeiro é a identificação e a quantificação da glicose, frutose e manose/xilose das amostras submetidas à hidrólise. Nesse método, conforme descrito, as amostras depois de submetidas à hidrólise ácida foram neutralizadas com uma base forte, entretanto, observou-se que não ocorreu a neutralização e sim um aumento de pH, tornando as amostras alcalinas. Essa elevação do pH no meio teve como consequência uma transformação química da glicose, a epimerização, que corresponde a transformação de parte da glicose em frutose e manose (ALLINGER et al., 1976; SOLOMONS, 1992). O Anexo 10 mostra essa reação. Com isso ficou difícil estimar a quantificação desses três monossacarídeos nas amostras hidrolisadas, portanto novas alternativas devem ser testadas para eliminação do problema. GIROLDO (comunicação pessoal) recentemente testou a neutralização de amostras com bicarbonato de sódio e verificou melhores resultados, indicando uma nova possibilidade de adequação da metodologia.

O segundo problema foi a perda de material devido as técnicas empregadas no tratamento das amostras hidrolisadas, principalmente no processo de dessalinização das amostras, parte das quais podem ter ficado aderidas as resinas das colunas. E também no processo de concentração das amostras, partes das quais podem ter sido arrastadas pelo vapor d'água. Para compensar essa perda de material, o fator de correção foi aplicado aos valores obtidos das amostras hidrolisadas.

Na Tabela 5 verifica-se que quantidades reduzidas de arabinose, fucose e ramnose livres foram liberadas pelo bacterioplâncton, nas 36h iniciais do experimento. Depois de 36h, não se observou a liberação de monossacarídeos livres.

Com relação aos monossacarídeos poliméricos produzidos pelo bacterioplâncton, foram identificados os seguintes monossacarídeos constituintes de polímeros: ramnose, fucose, galactose e arabinose, em ambas as frações, de monossacarídeos poliméricos totais e monossacarídeos poliméricos dissolvidos (Figuras 21 e 22). A ramnose foi o monossacarídeo que apresentou as maiores quantidades em relação aos outros monossacarídeos identificados, seguido pela fucose e galactose, e pela arabinose que apresentou as menores quantidades produzidas (Figuras 21 e 22). Em experimentos de degradação de polissacarídeos de origem algal pelo bacterioplâncton do reservatório de Barra Bonita, Antonio (comunicação pessoal) verificou que a ramnose foi o principal monossacarídeo na composição de polímeros liberados pelo bacterioplâncton.

Comparando-se a evolução das concentrações dos monossacarídeos poliméricos totais (particulado + dissolvido) e dissolvidos, nota-se que em ambos os casos as maiores variações nas concentrações dos monossacarídeos ocorreram a partir do 10º dia de experimento. Para os monossacarídeos poliméricos totais, as concentrações de ramnose começam a crescer a partir do 5º dia, atingindo o máximo no 20º dia e decaindo até o 30º dia; as concentrações de fucose também começam crescer a partir do 5º dia até o final do experimento (30º dia); as concentrações de galactose incrementaram-se a partir do 10º dia até o 15º dia e depois decresceram até o fim do experimento; as concentrações de arabinose tiveram iniciados seus crescimentos a partir do 10º dia até o 20º e decresceram até o final, a arabinose foi o monossacarídeo que apresentou a menor variação das concentrações.

Para os monossacarídeos poliméricos dissolvidos, as concentrações de ramnose cresceram a partir do 5º dia até o 30º dia; as concentrações de fucose cresceram a partir do 5º dia até o final do experimento (30º dia); as concentrações de galactose iniciaram seu crescimento a partir do 10º dia até o 15º dia e depois decresceram até o fim do experimento; as concentrações de arabinose iniciaram seu crescimento a partir do início do experimento até o 5º dia, depois decresceram até o 15º dia, voltando a crescer até o 20º dia e decresceram até o fim do experimento. A arabinose também nesse caso foi o monossacarídeo que apresentou a menor variação das concentrações ao longo do experimento.

As variações nas concentrações de monossacarídeos ao longo do experimento, podem estar relacionadas às mudanças de populações bacterianas, isto é, a sucessão das populações, e/ou às mudanças no metabolismo de uma mesma população, que no diferentes estágios do desenvolvimento podem alterar o metabolismo frente às mudanças das condições ambientais. É possível, ainda, que elas resultem do consumo e rearranjos químicos dos monossacarídeos, em função dos processos de formação de compostos húmicos e da sucessão dos microrganismos.

6. CONCLUSÕES

De acordo com as informações obtidas neste trabalho foi possível chegar às seguintes conclusões:

- 1 - O potencial de ciclagem da glicose na estação chuvosa (verão) foi aproximadamente 10 vezes superior em relação a estação seca (inverno).
- 2 - Os organismos aeróbios mostraram maior eficiência na imobilização do carbono orgânico em COP (biomassa de microrganismos). No entanto, os organismos anaeróbios geraram taxas de decomposição da glicose (via processos rápidos) mais elevadas.
- 3 - A produção de COD refratário foi maior na estação seca (inverno), tanto para os processos aeróbios como para os anaeróbios.
- 4 - As relações estequiométricas entre oxigênio consumido/carbono orgânico mineralizado dos processos aeróbios nas duas épocas foram próximas (1,19 em fevereiro e 1,24 em julho).
- 5 - O modelo mostrou-se adequado, evidenciando as diferenças dos potenciais de heterotrofia e das rotas de mineralização da glicose, dos processos aeróbios e anaeróbios, nos dois períodos estudados.
- 6 - O processo de decomposição de um açúcar simples (glicose) gerou alguns monossacarídeos. Dentre os monossacarídeos gerados, os provenientes de polissacarídeos predominaram. Posteriormente, estes compostos também foram utilizados ou sofreram arranjos de natureza química.

7. PERSPECTIVAS

Com base nas conclusões deste estudo, sugere-se que devam ser elaborados:

- Estudos que forneçam mais dados sobre os produtos intermediários da mineralização da matéria orgânica e que enfoquem a importância de processos físicos, químicos e biológicos na formação de compostos refratários (substâncias húmicas).
- Pesquisas que descrevam os efeitos dos principais fatores limnológicos sobre os potenciais de heterotrofia do reservatório de Barra Bonita.
- Estudos que descrevam as contribuições das diferentes populações (fitoplâncton, zooplâncton e bacterioplâncton) para a ciclagem da matéria orgânica e formação de compostos intermediários.
- Trabalhos que forneçam mais dados sobre os produtos de ressíntese liberados pelo bacterioplâncton e sua importância na participação do *pool* de carbono do reservatório de Barra Bonita.

8. Referências Bibliográficas

ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Organic Chemistry**. 2ed. Worth Publishers, New York – NY. 961p. 1976.

ANTONIO, R. M. **Estimativa da capacidade heterotrófica de ecossistemas aquáticos**. São Carlos: UFSCar, 53p. 1992. (Monografia - Graduação).

ANTONIO, R. M.. **Estimativa da capacidade heterotrófica do Lago Infernã (Estação Ecológica de Jataí – Luiz Antônio, SP)**. São Carlos: UFSCar, 82p. 1996. (Dissertação de Mestrado).

ANTONIO, R. M.; BIANCHINI JR., I. Methodological tests of a heterotrophy index for aquatic ecosystems. **Rev. Brasil. Biol.** 63 (4), 2002.

APHA/AWWA/WPCF. **Standart Methods for the examination of water and wastewater**. 11 ed. Washington: APHA, 1268p. 1985.

AZAM, F. T.; FENCHEL, J.G.; FIELD, J.S.; GRAY, L. A.; MEYER-REIL, G; THINGSTAD, F. The ecological role of water column microbes in the sea. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 10: 257-263p. 1983.

BALOWS, A; TRUPER, H. G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K. **The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria : ecophysiology, isolation, identification, applications**. vol.1, 2ed. Springer-Verlag, New York, 1027p. 1992.

BIANCHINI JR, I. **Contribuição ao Estudo da Decomposição de Plantas Aquáticas**. São Carlos: UFSCar, 178 p. 1982. (Dissertação de Mestrado).

BIANCHINI JR, I. **Estudos dos processos de humificação de *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze**. São Carlos: UFSCar, 285 p. 1985. (Tese de doutorado).

BIANCHINI JR., I.; TOLEDO, A. P. P. **Estudo da mineralização de *Eleocharis mutata***. Anais VII Sem. Reg. Ecol. São Carlos: UFSCar, 57-72p. 1996.

BIANCHINI JR., I.; ANTONIO, R. M.; DE MOURA L. F. On the manometric method for estimating the anaerobic mineralization in aquatic ecosystems: kinetic and methodological aspects. **Rev. Microbiol.** 28:83-90p. 1997.

BIANCHINI JR., I. Aspectos do processo de decomposição nos ecossistemas aquáticos continentais. In: POMPEO, M. L. M. (ed.) **Perspectivas da limnologia no Brasil**. São Luís: Gráfica e Editora União. 21-43p. 1999.

BITAR, A. L.; BIANCHINI JR, I. Efeito do teor de matéria orgânica dissolvida sobre as taxas de seu processo de mineralização. In: **Anais do I Seminário Qualidade de Águas Continentais do MERCOSUL**. Porto Alegre, R.S: UFRS, 311-329p. 1994.

BROPHY, J. E.; CARLSON, D. J. Production of biologically refractory dissolved organic carbon by natural seawater microbial populations. **Deep-Sea Research**. 36(4): 497-507p. 1989.

BRYLINSKY, M. Estimating the productivity of lakes and reservoirs. In LeCREN, E. D.; LOWE-MCCONNELL, R. H. (eds), **The Functioning of Freshwater Ecosystems**. Cambridge University Press. London: 411-453p. 1980.

CALIJURI, M. C. **Respostas fisioecológicas da comunidade fitoplanctônica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização**. São Carlos: EESC-USP, 293p. 1988. (Tese de Doutorado).

CALIJURI, M. C.; TUNDISI, J. G. Limnologia comparada das represas do Lobo (Broa) e Barra Bonita – Estado de São Paulo: mecanismos de funcionamento e bases para o gerenciamento. **Rev. Brasil. Biol.** 50(4): 893-913p. 1990.

CALIJURI, M. C.; DOS SANTOS, A. C. A. Short-term changes in the Barra Bonita reservoir (São Paulo, Brazil): emphasis on the phytoplankton communities. **Hydrobiologia**. 330: 163-175p. 1996.

CALIJURI, M. C. **A comunidade Fitoplanctônica em um Reservatório Tropical (Barra Bonita, S.P.)**. Tese (Livre-Docência). Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos: 211p. 1999.

CALIJURI, M. C.; DOS SANTOS, A. C. A. Temporal variations in phytoplankton primary production in a tropical reservoir (Barra Bonita, S.P. – Brazil). **Hydrobiologia**, 445: 11-26p. 2001.

CARLSON, D. J.; MAYER, L. M.; BRANN, M. L.; MAGUE, T. H. Binding of monomeric organic compounds to macromolecular dissolved organic matter in seawater. **Marine Chemistry**. 16: 141-153p. 1985.

CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. **Biofilms**. New York: John Wiley & Sons. 796p. 1990.

CHRÓST, R. J. (ed.) **Microbial Enzymes in Aquatic Environments**. New York: Springer-Verlag. 317p. 1991.

CONN, E. E.; STUMPF, P. K. **Introdução à Bioquímica**. 4ed., Editora Edgard Blucher – EDUSP, São Paulo. 525p. 1975.

CUNHA, M. B. da. **Estudo da dinâmica de detritos da lagoa do Infernã: mineralização de compostos húmicos**. São Carlos: UFSCar, 141 p. 1999. (Dissertação de Mestrado).

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR., I. Oxygen Uptake during Mineralization of Organic Compounds in Water Samples from Monjolinho Reservoir (São Carlos – SP, Brazil). **Brazil. Arch. Biol. Tech.** (no prelo).

DAVIS, M. L.; CORNWELL, D. A. **Introduction to Environmental Engineering**. New York: McGraw-Hill, 822p. 1991.

DE FILIPPO, R. **Ciclo sazonal do fitoplâncton, fatores climáticos e hidrológicos na Represa de Barra Bonita, São Paulo**. São Carlos: UFSCar, 90p. 1987. (Dissertação de Mestrado).

DOS SANTOS, A. C. A. **Biomassa e estrutura da comunidade fitoplanctônica em curtos períodos de tempo no reservatório de Barra Bonita, São Paulo**. São Carlos: EESC – USP, 169p. 1996. (Dissertação de Mestrado).

DOS SANTOS, A. C. A.; CALIJURI, M. C. Phytoplankton communities over a short period of time, in the Barra Bonita Reservoir (State of São Paulo): microcosm experiments. **Verh. Internat. Verein. Limnol.** 26: 468-471p. 1997.

DOS SANTOS, A. C. A.; CALIJURI, M. C. Survival strategies of some species of the phytoplankton, community in the Barra Bonita Reservoir (São Paulo, Brazil). **Hydrobiologia**. 367: 139-152. 1998.

EDWARDS, R. T. Sestonic bacteria as a food source for filtering invertebrates in two southeastern rivers. **Limnol. Oceanogr.** 32 (1): 221-234p. 1987.

EMBRAPA. **Brasil Visto do Espaço**. Disponível em: <http://www.cdbrasil.cnpem.embrapa.br>. Acesso em: 14/09/2002.

FENCHEL, T. **Ecology of protozoa**. The biology of free-living phagotrophic protists. Madison: Science Tech Publishers, 197p. 1987.

FONSECA, C. P. **Estudo de flutuações de curta duração na comunidade zooplânctônica, Barra Bonita, Médio Tietê, SP**. São Carlos: EESC – USP, 176p. 1990. (Dissertação de Mestrado).

GALE, P. M.; REDDY, K. R.; GRAETZ, D. A. Mineralization of sediment organic matter under anoxic conditions. **J. Environ. Qual.** 21: 394-400p. 1992.

GIROLDO, D. **O efeito da irradiância e da disponibilidade de nitrato na excreção de carboidratos por *Cryptomonas obovata* (CRYPTOPHYCEAE)**. São Carlos: UFSCar, 82p. 1998. (Dissertação de Mestrado).

GODINHO, M. J. L. **Ciclo sazonal, “Standing - Stock” e distribuição do bacterioplâncton em ecossistema lacustre artificial (Represa do Lobo, São Carlos)**. São Paulo: Instituto de Biociências – USP, 209p. 1976. (Dissertação de Mestrado).

GODSHALK, G. L.; WETZEL, R.G. **Decomposition of macrophytes and the metabolism of organic matter in sediments: Interactions between sediments and freshwater**. (Golterman, H. L. ed). Netherlands: Junk Po. 258-264p. 1977.

GOLTERMAN, H. L. **Physiological Limnology**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 489p. 1975.

GOLTERMAN, H. L.; CLYMO, R. S.; OHNSTAD, R. **Methods for physical and chemical analysis of freshwater**. 2ed. Oxford: Blackwell Science Publishers, 213p. 1978.

GREMM, T. J.; KAPLAN, L. A. Dissolved carbohydrates in stream water determined by HPLC and pulse amperometric detection. **Limnol. Oceanogr.**, 42: 385 – 393 p., 1997.

HANEY, J. F. Field studies on zooplankton-cyanobacteria interactions. **N. Z. J. Mar. Freshwat.** 21: 467-475p. 1987.

HANSEN, L.; KROGH, G. F.; SOUNDERGAARD, M. Decomposition of lake phytoplankton. 1. Dynamics of short-term decomposition. **Oikos** 46: 37-44p. 1986.

HEISSENBERGER, A.; LEPPARD, G. G.; HERNDL, G. J. Relationship between the intracellular integrity and the morphology of the capsular envelope in attached and free-living marine bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.** 62: 4521-4528p. 1996.

HENRY, R.; TUNDISI, J. G. Responses of the phytoplankton community of a tropical reservoir (São Paulo, Brazil) to the enrichment with nitrate, phosphate and EDTA. **Int. Revue Ges. Hydrobiol.** 68: 853-862p. 1983.

HENRY, R.; HINO, M.; GENTIL, J.G.; TUNDISI, J.G. Primary production and effects on enrichment with nitrate and phosphate on phytoplankton in the Barra Bonita Reservoir (State of São Paulo, Brazil). **Int. Revue ges. Hydrobiol.** 70: 561-573p. 1985.

HENRY, R. O crescimento potencial do fitoplâncton da Represa de Barra Bonita (Rio Tietê, SP): uma comparação sazonal dos efeitos de enriquecimento artificial em amostras de seus tributários. **Cienc. Cult.** 38: 1553-1564p. 1986.

HUMPHRIES, S. E.; LYNE, V. D. Cyanophyte blooms: The role of cell buoyancy. **Limnol. Oceanogr.** 33: 79-91p. 1988.

JENKINSON, D. S. Studies on the decomposition of plant material in soil. The effects of plant cover and soil type on the loss of carbon from ¹⁴C-labelled ryegrass. **J. Soil Sci.** 19: 25-39p. 1977.

JØRGENSEN, S. E. **Fundamentals of Ecological Modeling**. Developments in Environmental Modelling, 9. Amsterdam: Elsevier. 389p. 1986.

JØRGENSEN, N. O. G.; JENSEN, E. R. Microbial fluxes of free monosaccharides in freshwater determined by PAD – HPLC. **Microb. Ecol.** 14: 79 – 93 p. 1994.

JUREIDINI, P. **A ecologia e a poluição na represa de Barra Bonita no estado de São Paulo**. Botucatu: Instituto Básico de Biologia Médica e Agrícola (IBBMA), UNESP. 192p. 1987. (Dissertação de Mestrado).

JÜRGENS, K. Impact of *Daphnia* on planktonic microbial food webs – a review. **Mar. Microbial Food Webs**, 8(1-2): 295-324p. 1994.

JUMARS, P. A.; PENRY, D. L.; BAROSS, J. A.; PERRY, M. J.; FROST, B. W. Closing the microbial loop: dissolved carbon pathway to heterotrophic bacteria from incomplete ingestion, digestion and absorption in animals. **Deep-Sea Res.** 36: 483-495p. 1989.

KATO, K.; SAKAMOTO, M. Diurnal change of ^{14}C -Glucose uptake by Epilimnetic microbes in lake Kizaki. **Jap. J. Limnol.** 42 (4): 250-253p. 1981.

KOCH, L. A.; ROBINSON, J. A.; MILLIKEN, G. A. **Mathematical modeling in microbial ecology.** New York: Chapman & Hall, 273p. 1998.

KOK, C. J.; VAN DER VELDE, G. The influence of water quality parameters on the decay rate and exoenzymatic activity of detritus of *Nymphaea alba* L. floating leaf blades in laboratory experiments. **Oecologia**, 88: 311-316p. 1991.

KOROLEFF, F. **Determination of nutrients. Methods of seawater analysis.** Verlag Chemie Weinheim, 117-181p. 1976.

LAYBOURN-PARRY, J. **Protozoan plankton ecology.** London: Chapman & Hall. 231p. 1992.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de Bioquímica.** São Paulo: Sarvier, 725p. 1977.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas** . v.1 - Cinética Química Aplicada. São Paulo : Edgard Blücher. 211p. 1986.

LEWIS, W. M. A revised classification of lakes based on mixing. **Can. J. Fish. Aquat. Sci.**, 40: 1779-1787p, 1983.

LYNCH, J. M.; HOBBIE, J. E. **Micro-organisms in action: concepts and applications in microbial ecology.** 2ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications. 363p. 1988.

MACKERETH, F. J. H.; TALLING, J. F. **Water analysis: some revised methods for limnologists.** Freshwater Biol. Assoc., Sci. Po., n. 36. Titus. Wilson an sons LTDA. Kendall. 117p. 1978.

MANDELSTAM, J.; MCQUILLEN, K.; DAWES, I. (eds.). **Biochemistry of Bacterial Growth**, 3ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 1982.

MARGALEF, R. **Limnologia.** Barcelona: Omega S.A., 1010p. 1983.

MCCARTHY, J. J. Nitrogen. In: Morris, I. (ed). **The Physiological and Ecology of phytoplankton.** Boston: Blackwell. 191-234p. 1980.

MINDERMANN, G. Addition, decomposition and accumulation of organic matter in forests. **J. Ecol.**, 56: 355-562p. 1968.

MOORE JR., H.; REDDY, K. R.; GRAETZ, D. A. Nutrient transformation in sediments influenced by oxygen supply. **J. Environ. Qual.**, 21: 387-393p.1992.

MÜNSTER, U. Extracellular enzyme activity in eutrophic and polyhumic lakes. In: CHRÓST, R. T. (ed.). **Microbial Enzymes in Aquatic Environments**. New York: Spring Verlag. 96-122p. 1991.

NALEWAJKO, C.; LEE, K.; FAY, P. Significance of algal extracellular products to bacteria in lakes and in cultures. **Microb. Ecol.** 6: 199-207p. 1980.

POMEROY, L. R. The ocean's food web, a changing paradigm. **Bioscience**, 24:499-504p. 1974.

POMEROY, L. R.; HARGROVE, E. C.; ALBERTS, J. J. The ecosystem perspective. In: POMEROY, L. R.; ALBERTS, J. J. (eds.). **Concepts of ecosystem ecology. Ecological Studies** Springer-Verlag. 1-17p. 1988.

PRESS, W. H.; TEUKOLSKY, S. A.; VETTERLING, W. T.; FLANNERY, B. P. **Numerical recipes in C: The art of scientific computing**. N. Y. Cambridge University Press. 994p. 1993.

REYNOLDS, C. S.; JAWORSKI, G. H. M.; CMIECH, H. A.; LEEDALE, G. F. On the annual cycle of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* Kütz. **Emed. Elenkin. Phil. Trans. R. soc. Lond.** Serie B. 293: 419-478p. 1981.

ROSE, A. H. **Chemical Microbiology. An Introduction to Microbial Physiology**. London: Butterworths. 469p. 1976.

SAUNDERS, G. W. Organic matter and decomposers. In: Le CREN, E. D.; LOWE-McCONNELL, R. H. (eds.). **The Functioning of Freshwater Ecosystems**. Cambridge: Univ. Press, Cambridge. 341-392p. 1980.

SCHLEGEL, H. G. **Microbiología General**. Barcelona: Omega. 448p. 1975.

SHAPIRO, J. Current beliefs regarding dominance by blue-greens. The case for the importance of CO₂ and pH. **Verh. Int. Ver. Limnol.** 24:38-54p. 1990.

SHIBATA, A.; KOGURE, K.; KOIKE, I.; OHWADA, K. Formation of submicron colloidal particles from marine bacteria by viral infection. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 155: 303-307p. 1997.

SOLOMONS, T. W. G. **Organic Chemistry**. 5ed. John Wiley & Sons, Inc. New York. 1198p. 1992.

STANIER, R. Y.; ADELBERG, E. A.; DOUDOROFF, M. **O Mundo dos Micróbios**, 2ed. Editora Edgard Blücher Ltda, 741p. 1976.

STODEREGGER, K. E.; HERNDL, G. J. Production and release of bacterial capsular material and its subsequent utilization by marine bacterioplankton. **Limnol. Oceanogr.** 43: 877-884p. 1998.

SWIFT, M. J.; HEAL, D. W.; ANDERSON, J. M. **Studies in Ecology - Decomposition in Terrestrial Ecosystems**. Oxford: Blackwell. 371p. 1979.

THOMAZ, S. M. O papel ecológico das bactérias e teias alimentares microbianas em ecossistemas aquáticos. In: Pompêo, M. L. M. (ed.) **Perspectivas da limnologia no Brasil**. São Luís: Gráfica e Editora União. 147-167p. 1999.

THORNTHON, K. W.; KIMMEL, B. L.; PAYNE, F. E. **Reservoir Limnology: ecological perspectives**. Wiley-interscience Publ. New York. 246p. 1990.

THURMAN, E. M. **Organic Geochemistry of Natural Waters**. Dordrecht: Dr. W. Junk Publishers. 497p. 1985.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; HENRY, R.; ROCHA, O.; HINO, K. Comparações do Estado Trófico de 23 reservatórios do Estado de São Paulo: eutrofização e manejo. In: Tundisi, J. G. (ed.) **Limnologia e Manejo de Represas** (Série: Monografias em Limnologia, Vol. I): 165-204p. 1988.

TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Limnology and eutrophication of Barra Bonita Reservoir, São Paulo state, Southern Brazil. **Arch. Hidrobiol. Beih.** 33: 661-667p. 1990.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Rates, Constantes and Kinetics Formulation in Surface Water Quality Modeling**. Athens: U. S. Government Printing Office. 1985.

VALÊNCIO, N. F. L. S. Banco de dados sócio-ambientais das bacias do Médio Tietê Superior e do Alto Paranapanema. Universidade Federal de São Carlos. Depto de Ciências Sociais. Núcleo de Pesquisa e Documentação. São Carlos - SP. 1996.

VINCENT, W. F. Cyanobacterial growth and dominance in two eutrophic lakes: review and synthesis. **Arch. Hydrobiol. Beith. Ergebr. Limnol.** 32: 239-254p. 1989.

VILLELA, G. G. **Bioquímicas dos microrganismos**. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 357p. 1972.

WELLS, M. L.; SMITH, G. F.; BRULAND, K. W. The distribution of colloidal and particulate bioactive metals in Narragansett Bay, RI. **Marine Chemistry.** 71: 143-163p. 2000.

WETZEL, R. G. **Limnology**. 2ed. Philadelphia: Saunders College Publishing, 767 p. 1983.

WETZEL, R. G. Detritus, macrophytes and nutrient cycling in lakes. **Mem. Ist. Ital. Idrobiol.** 47: 233-249p. 1990.

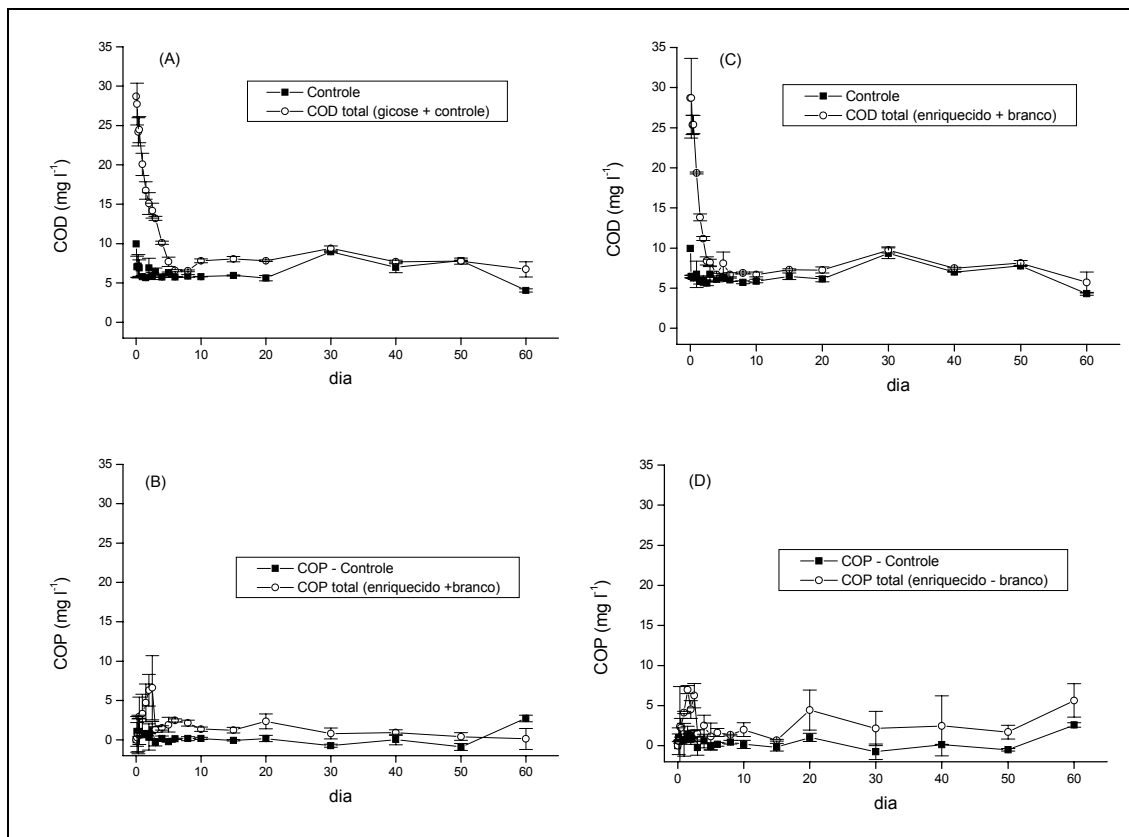
WETZEL, R. G. **Limnologia**. Fundação Calouste Gullenkian, Lisboa, 919p. 1993.

WIEDER, R. K.; LANG, G. E., A critique of the analytical methods used in examining decomposition data obtained from litter bags. **Ecology.** 63: 1636-1642p. 1982.

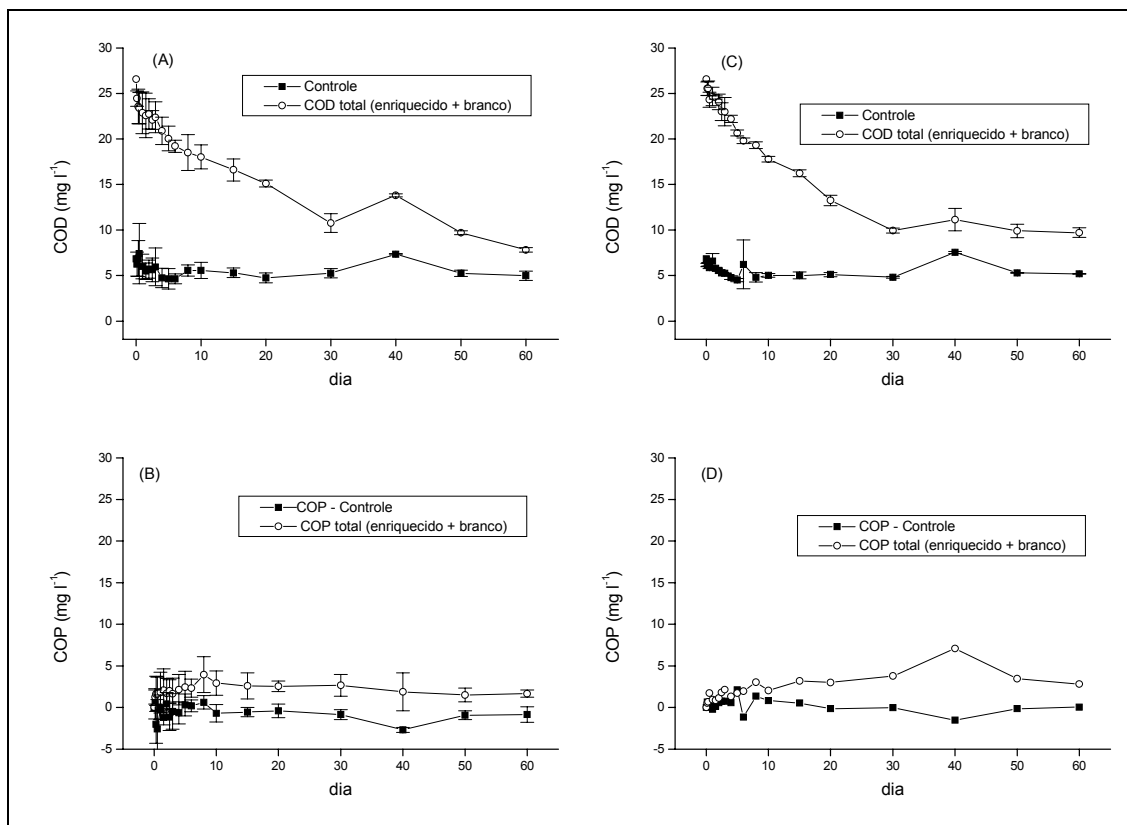
WISNIEWSKI, M. J. S. **Distribuição espacial e produção secundária da comunidade zooplanctônica do reservatório de Barra Bonita – SP.** São Carlos: UFSCar, 140p. 1998. (Tese de Doutorado).

WRIGHT, R. T.; HOBBIIE, J. Use of glucose and acetate by bacteria and algae in aquatic ecosystem. **Ecology**. 47: 447-464p. 1966.

9. ANEXOS



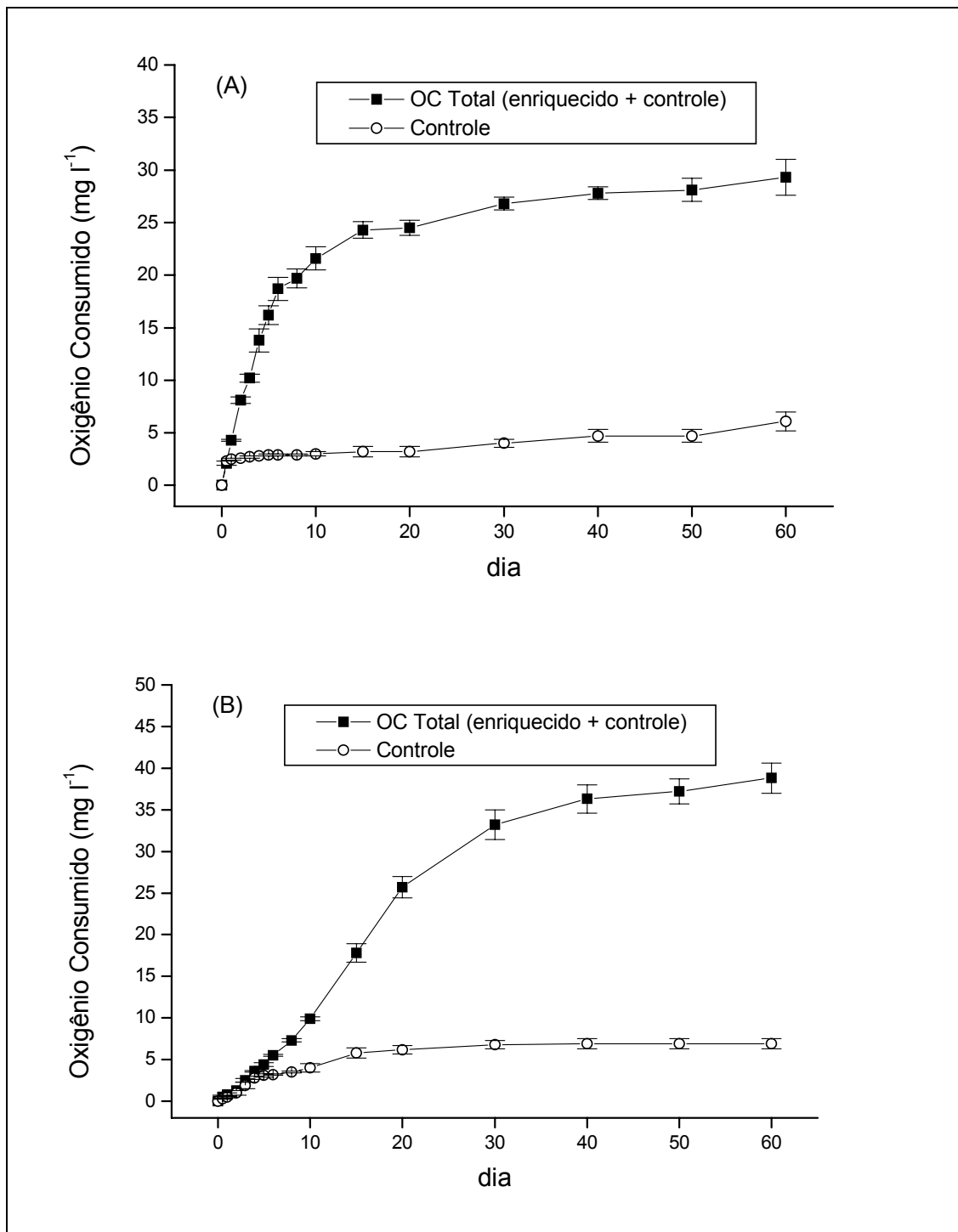
Anexo 1 - Variação temporal do COD e COP (enriquecido + controle) e seus respectivos controles (brancos) no mês de fevereiro/01 (verão). (A) COD e (B) COP dos processos aeróbios, e (C) COD e (D) COP dos processos anaeróbios.



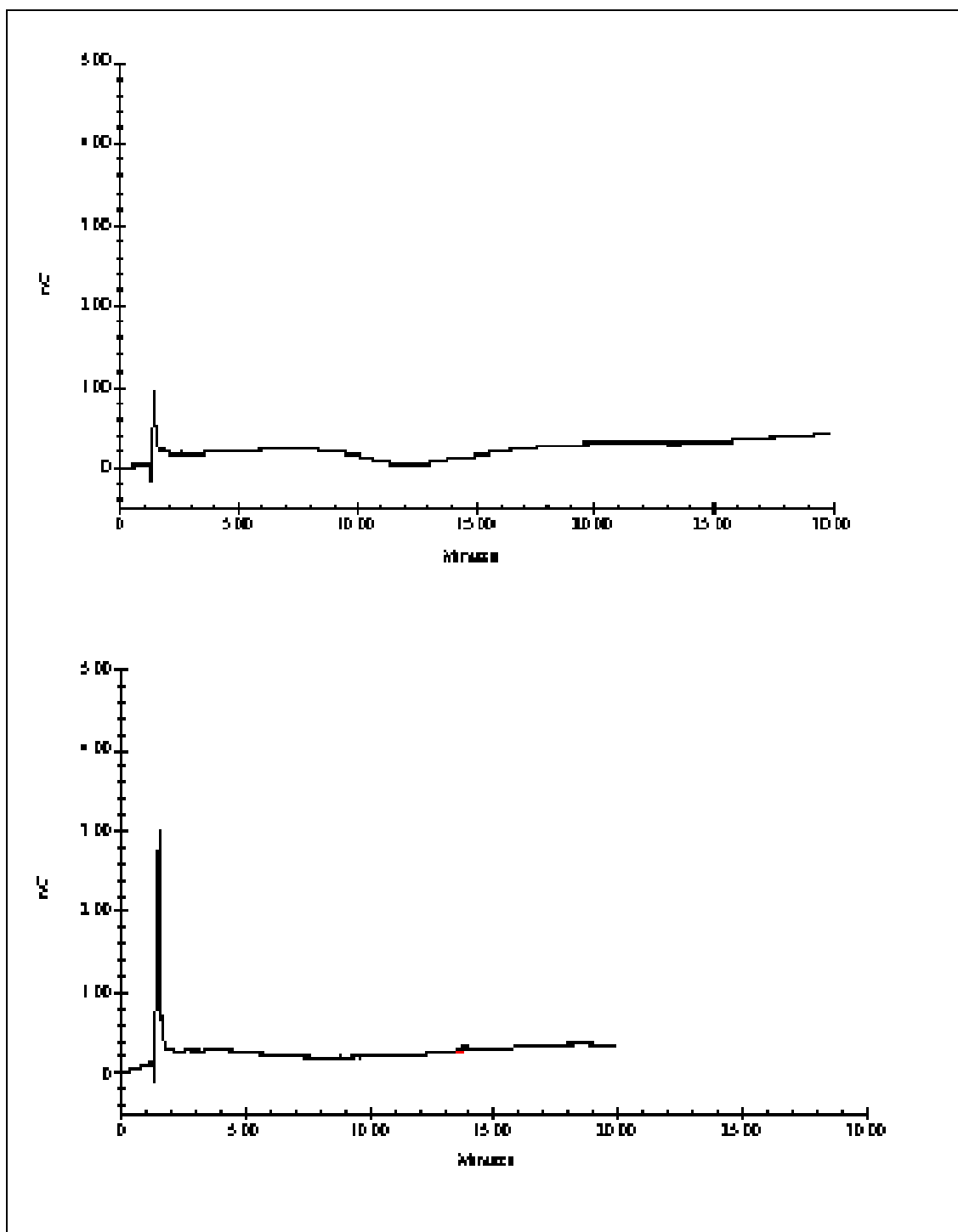
Anexo 2 - Variação temporal do COD e COP (enriquecido + controle) e seus respectivos controles (brancos) no mês de Julho/01. (A) COD e (B) COP dos processos aeróbios, e (C) COD e (D) COP dos processos anaeróbios.

Anexo 3 - Valores de COM teóricos e experimentais (mg l^{-1}) dos processos aeróbios e anaeróbios nos dois períodos.

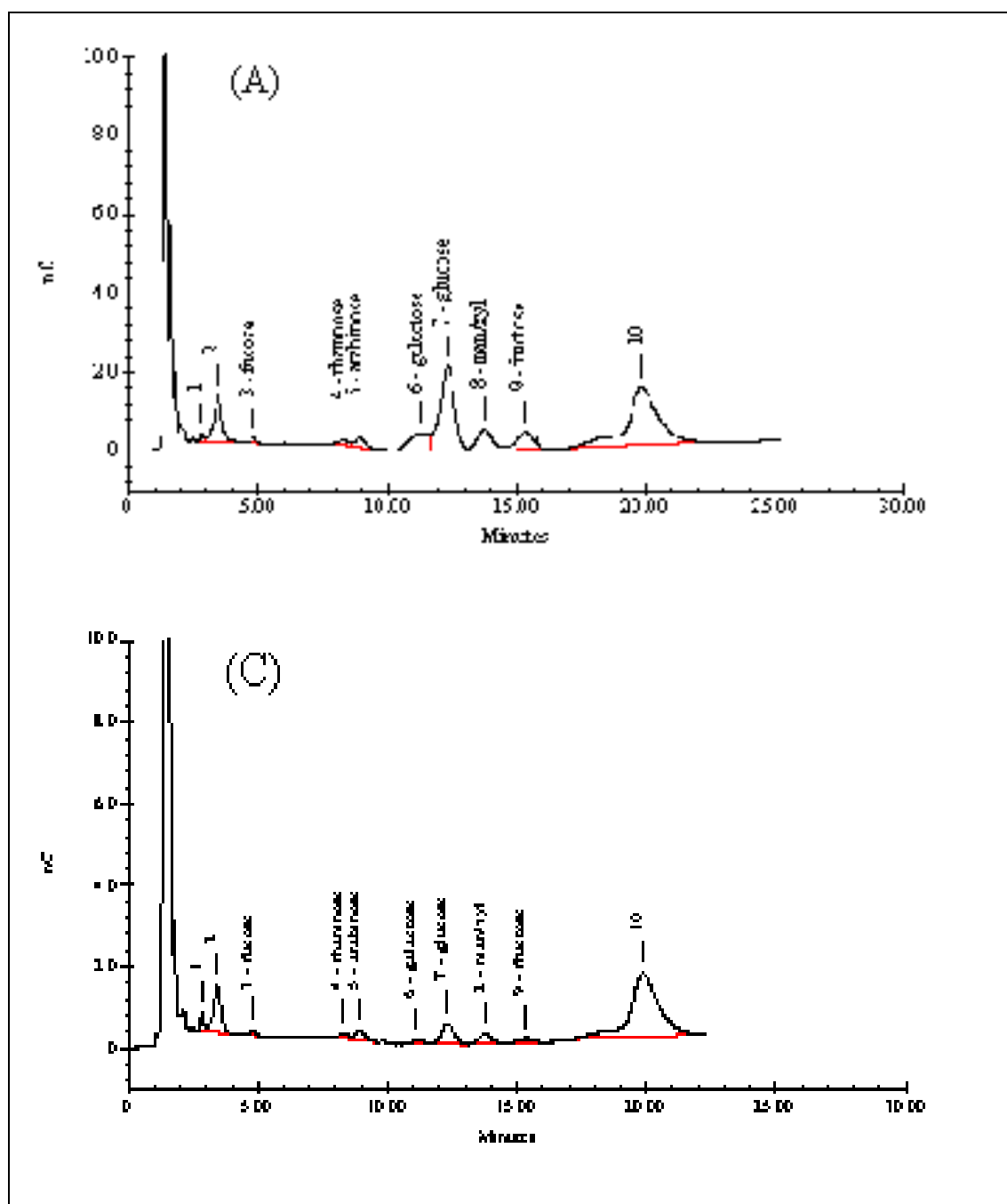
dias	Fevereiro (verão)				Julho (inverno)			
	Aeróbio		Anaeróbio		Aeróbio		Anaeróbio	
	Teórico	Exper.	Teórico	Exper.	Teórico	Exper.	Teórico	Exper.
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,5	1,328	-0,729	3,732	-3,450	0,107	7,987	0,308	1,296
1	2,848	1,791	6,578	-0,703	0,219	4,618	0,609	1,649
2	5,982	4,578	10,374	6,569	0,458	3,929	1,189	1,221
3	8,823	10,320	12,560	13,772	0,714	5,444	1,741	1,988
4	11,175	13,030	13,820	14,331	0,986	6,371	2,267	2,314
5	13,021	15,186	14,549	14,554	1,271	6,478	2,769	3,574
6	14,423	15,587	14,973	15,134	1,567	7,311	3,247	6,173
8	16,218	16,090	15,370	15,754	2,185	10,109	4,137	5,219
10	17,150	15,535	15,517	14,269	2,828	10,906	4,946	6,989
15	17,905	15,385	15,633	16,166	4,479	11,561	6,670	8,503
20	18,025	14,353	15,694	10,792	6,102	12,315	8,045	11,588
30	18,045	16,739	15,807	12,524	9,014	17,754	10,049	14,594
40	18,045	17,188	15,915	13,577	11,331	17,849	11,397	16,119
50	18,045	17,497	16,018	13,927	13,064	17,717	12,343	15,130
60	18,045	18,675	16,117	11,224	14,310	19,417	13,039	15,196



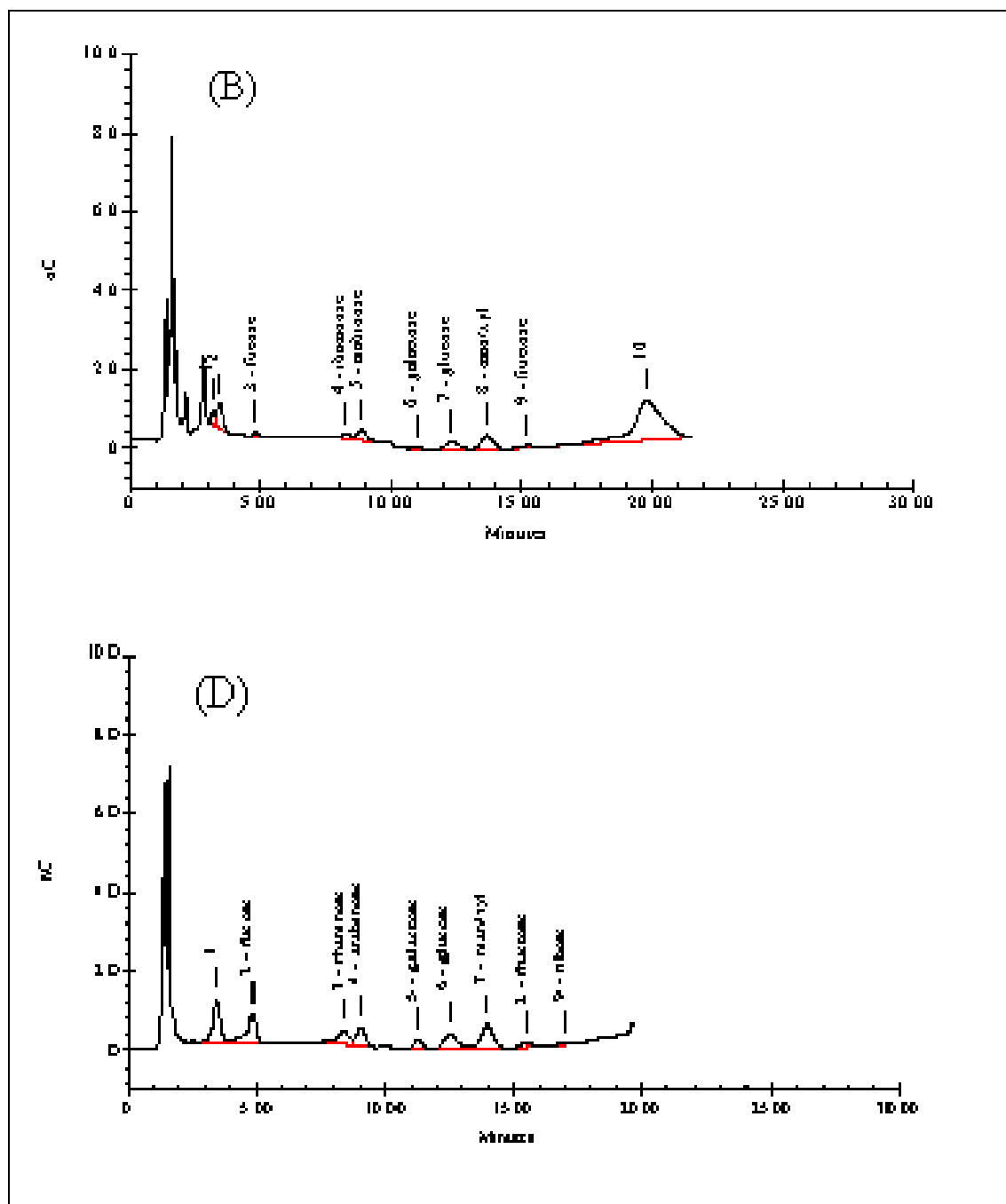
Anexo 4 - Variação temporal do Oxigênio Consumido Total (enriquecido + controle) e de seus respectivos controles. (A) Fevereiro/01 e (B) Julho/01.



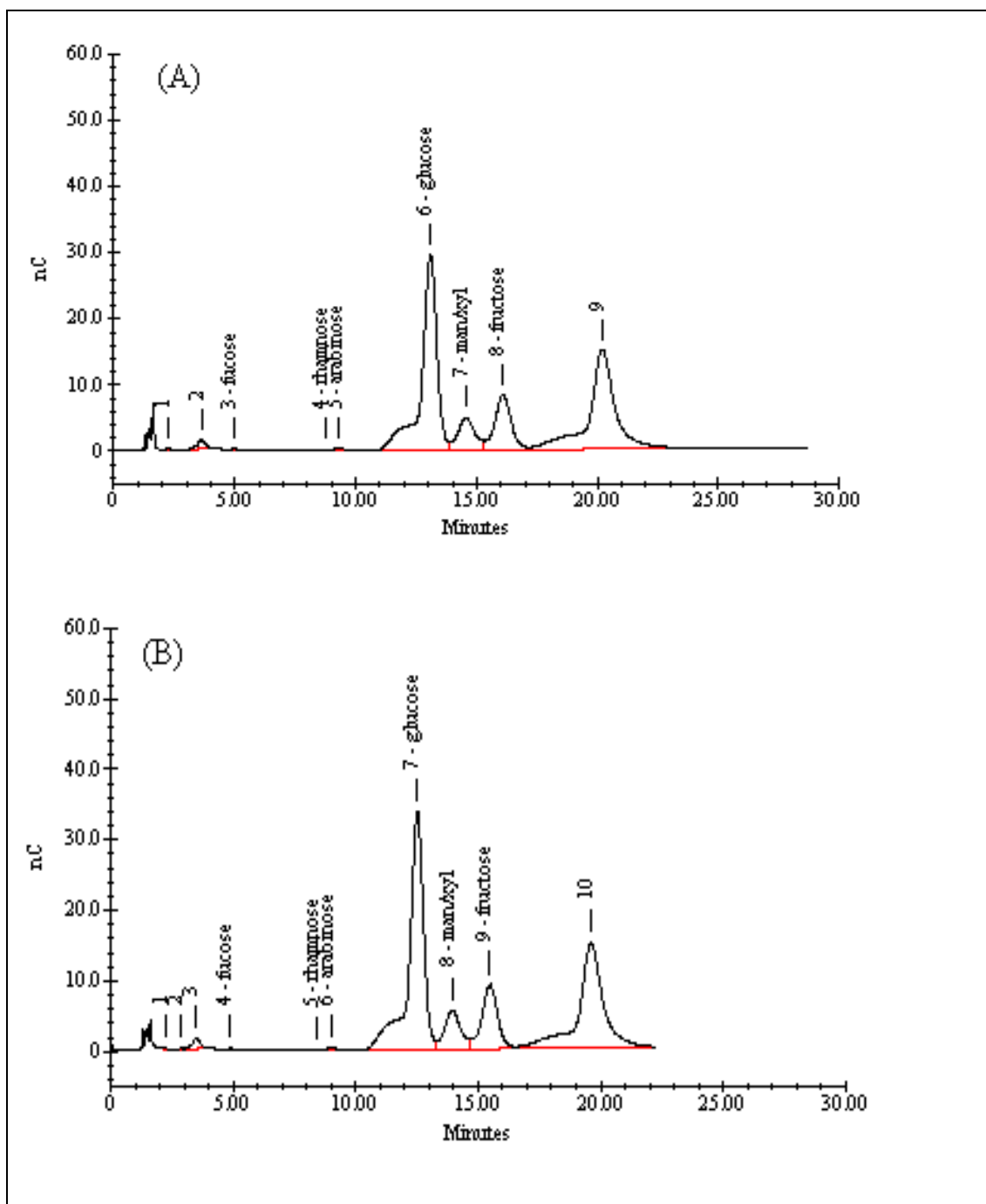
Anexo 5 - Cromatogramas obtidos na análise de monossacarídeos livres (amostras não hidrolisadas) dos frascos controles (n=2) no início do experimento.



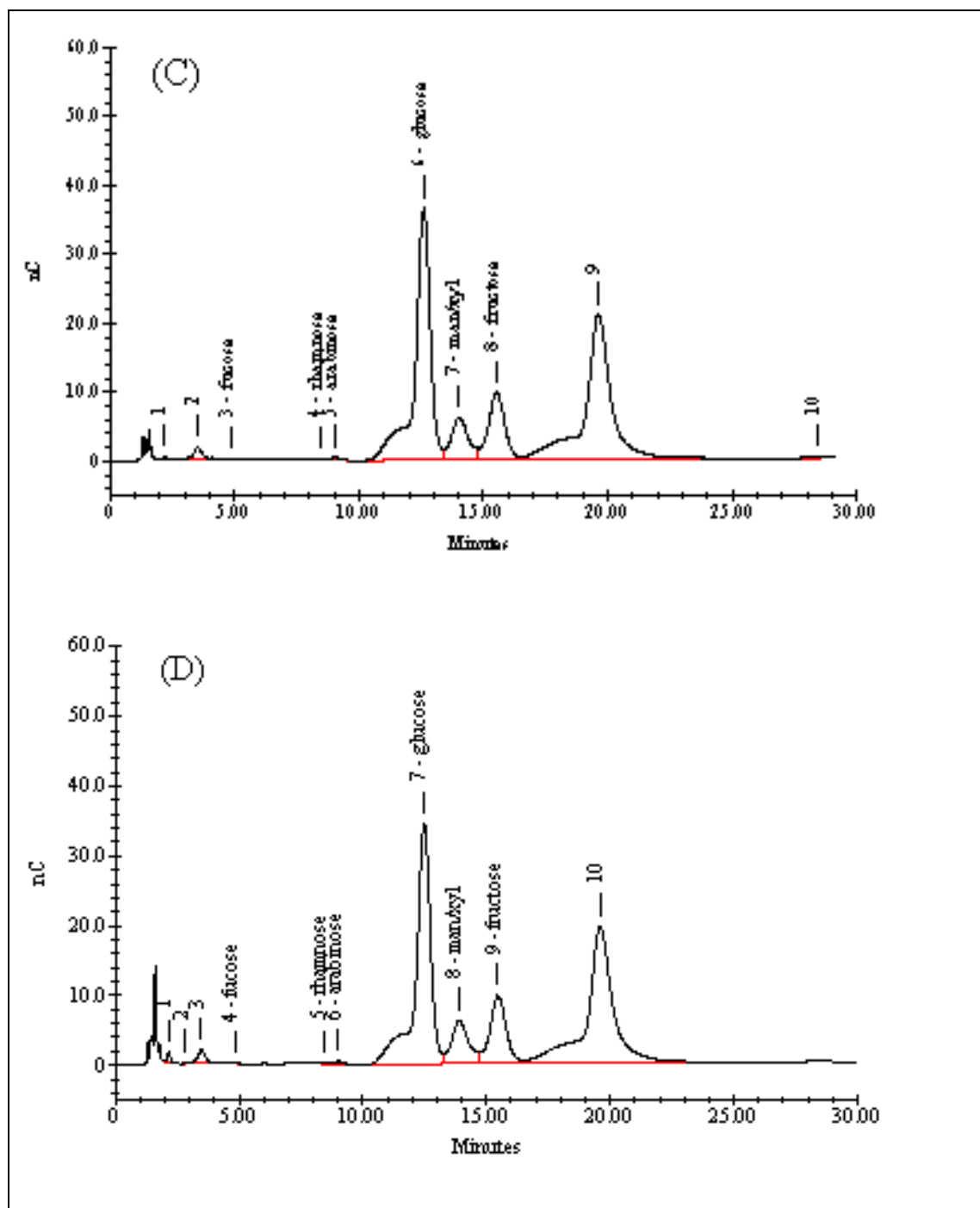
Anexo 6 - Cromatogramas obtidos na análise de monossacarídeos poliméricos (amostras hidrolisadas) Totais (A e C) e Dissolvidos (B e D) dos frascos controles no início do experimento.



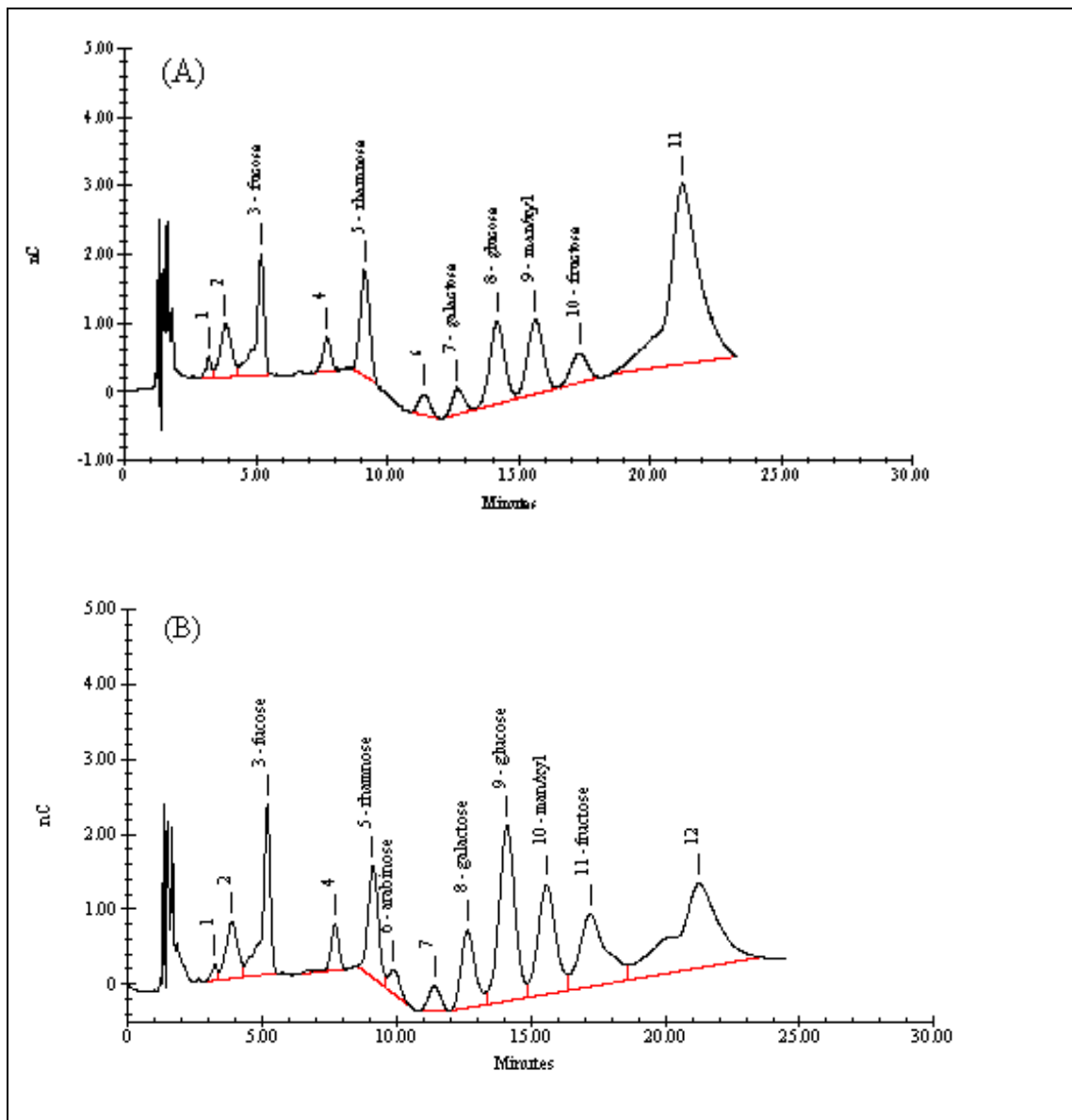
Anexo 6 - Continuação



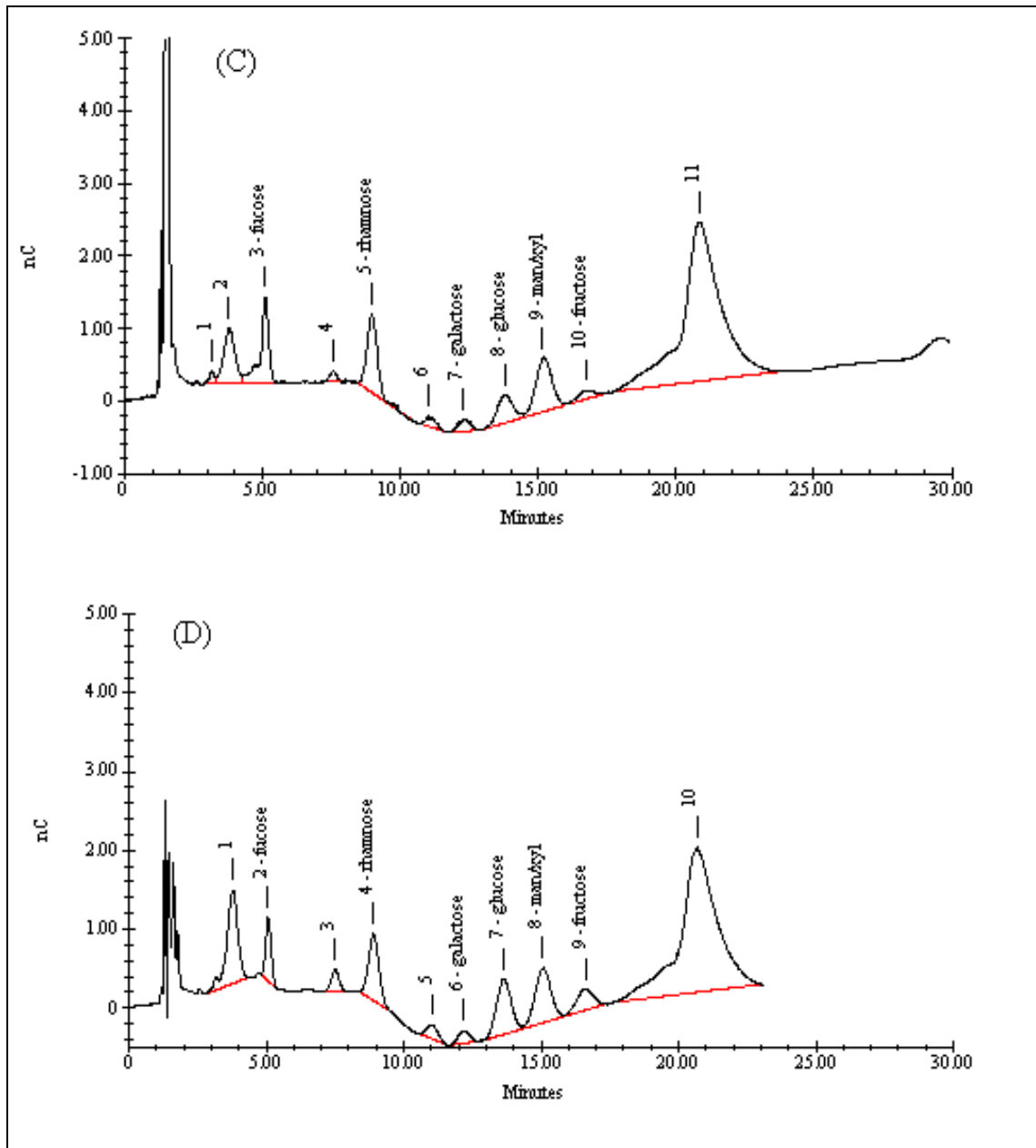
Anexo 7 - Cromatogramas iniciais de amostras hidrolisadas (filtradas e não filtradas) dos frascos enriquecidos. (A) Frasco 1 e (B) Frasco 2, amostras não filtradas (monossacarídeos poliméricos totais); (C) Frasco 1 e (D) Frasco 2, amostras filtradas (monossacarídeos poliméricos dissolvidos).



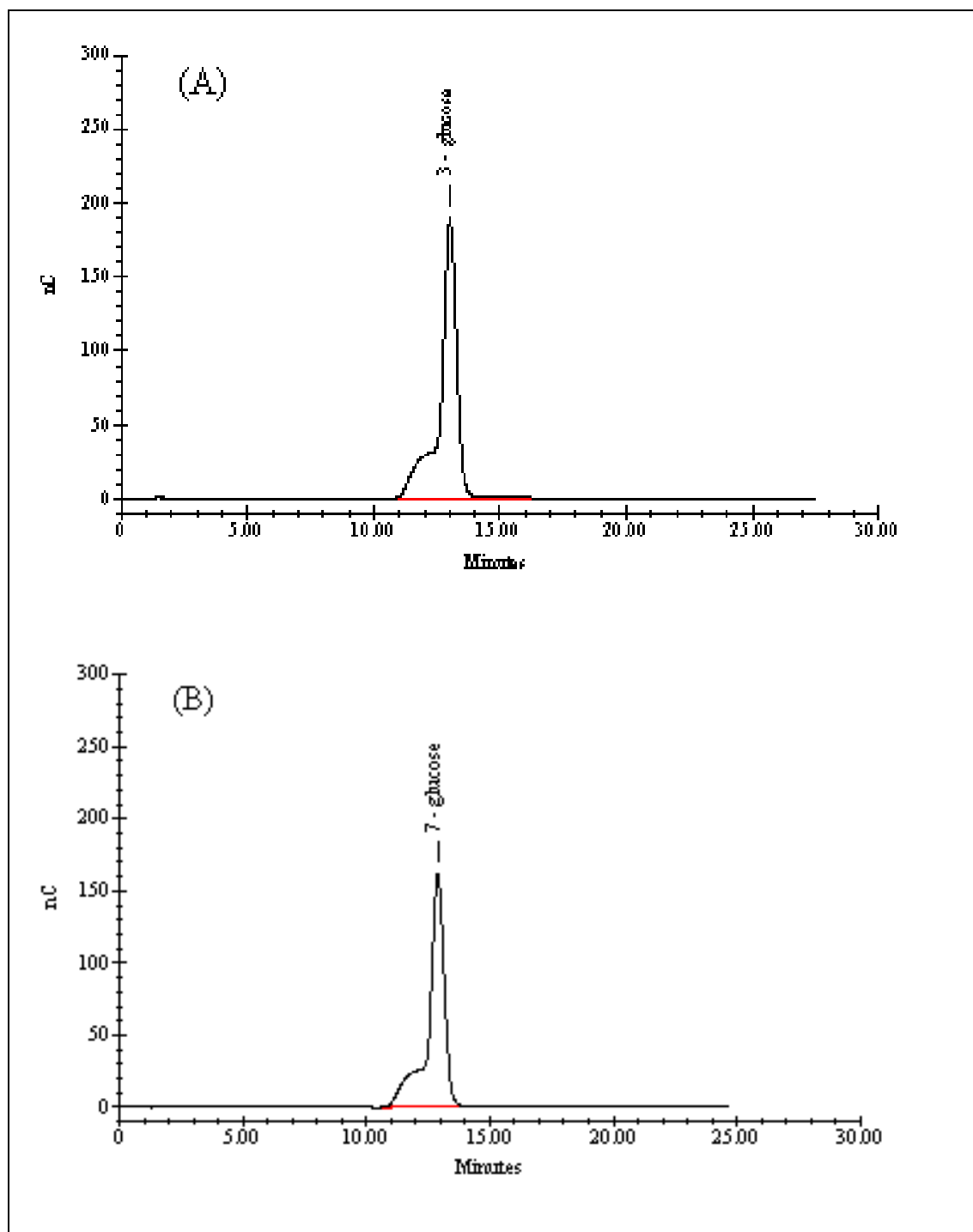
Anexo 7 - Continuação



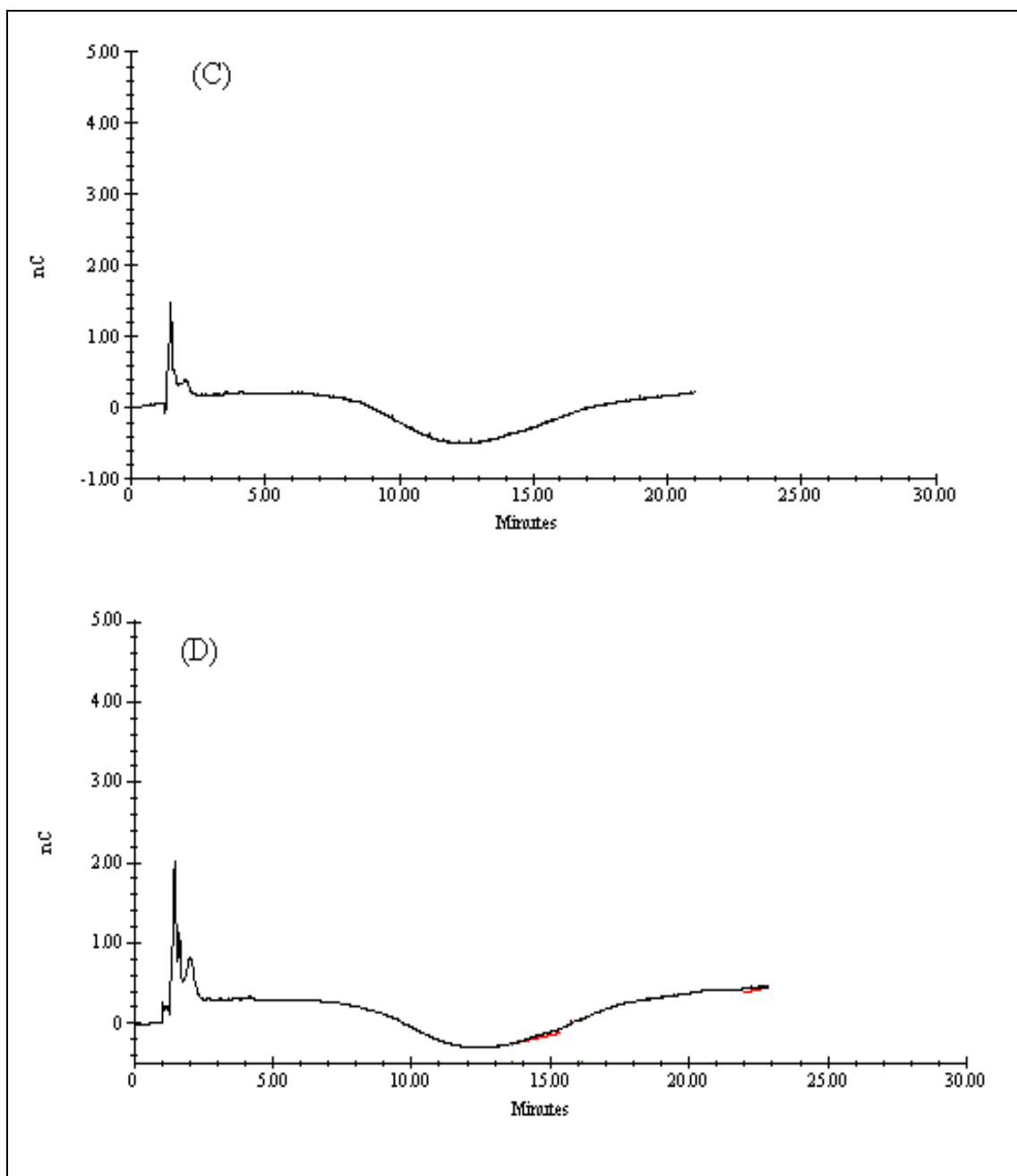
Anexo 8 - Cromatogramas finais (30º dia) de amostras hidrolisadas (filtradas e não filtradas) dos frascos enriquecidos. (A) Frasco 1 e (B) Frasco 2, amostras não filtradas (monossacarídeos poliméricos totais); (C) Frasco 1 e (D) Frasco 2, amostras filtradas (monossacarídeos poliméricos dissolvidos).



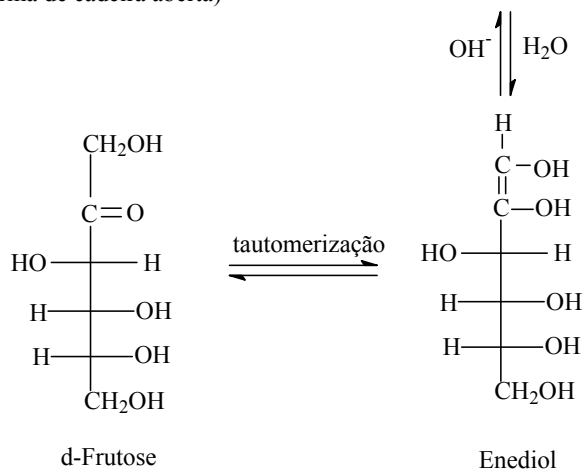
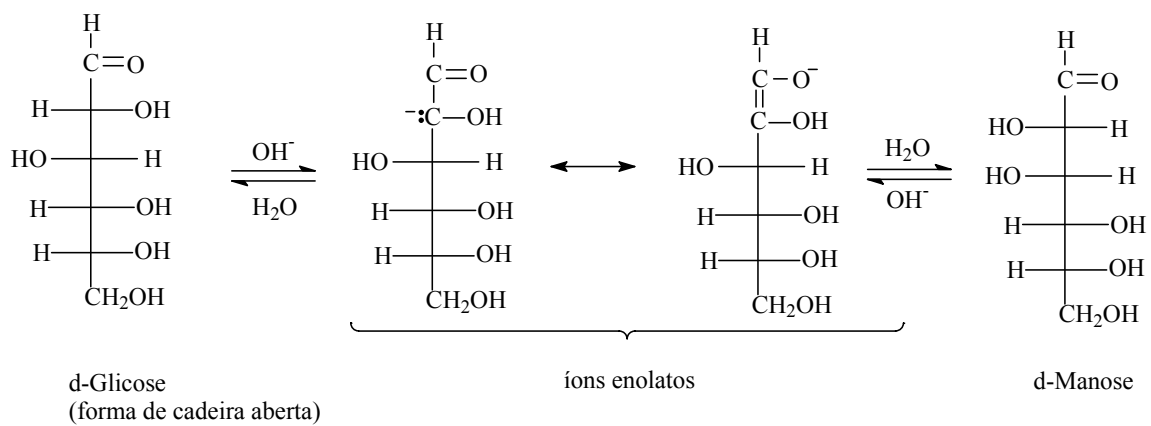
Anexo 8 - Continuação



Anexo 9 - Cromatogramas referentes a concentração de glicose dos frascos enriquecidos (amostras não hidrolisadas). (A) Frasco 1 e (B) Frasco 2, no início do experimento; (C) Frasco 1 e (D) Frasco 2, no final do experimento (30° dia).



Anexo 9 – Continuação



Anexo 10 - Reação de isomerização da D-glicose à D-manose e à D-frutose em meio aquoso alcalino (SOLOMONS, 1992).