



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

Atividades das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição
anaeróbia de macrófitas aquáticas

Maíra de Figueiredo Nunes

São Carlos

2010

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

Atividade das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição
anaeróbia de macrófitas aquáticas

Maíra de Figueiredo Nunes

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientação: Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior

São Carlos

2010

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

N972ae

Nunes, Maíra de Figueiredo.

Atividade das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição anaeróbia de macrófitas aquáticas / Maíra de Figueiredo Nunes. -- São Carlos : UFSCar, 2010.
91 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Ecologia aquática. 2. Decomposição anaeróbia. 3. Macrófitas aquáticas. 4. Xilanase. 5. Celulase. I. Título.

CDD: 574.5263 (20^a)

Maíra de Figueiredo Nunes

**Atividades das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição anaeróbia de
macrófitas aquáticas**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de São Carlos, como parte dos
requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 12 de agosto de 2010

BANCA EXAMINADORA

Presidente



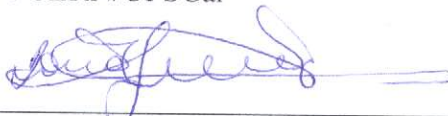
Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior
(Orientador)

1º Examinador



Profa. Dra. Mirna Helena Regali Seleghim
PPGERN/UFSCar

2º Examinador



Prof. Dr. Donato Seiji Abe
I.I.E./São Carlos-SP

Prof. Dr. Irineu Bianchini Jr.
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior por estar sempre presente, pela disponibilidade e paciência (muita!) para tirar dúvidas, pelo espaço oferecido em seu laboratório e pelas conversas e auxílios.

À Profa. Dra. Marcela Bianchessi da Cunha Santino pela convivência, orientação, por me deixar perguntar até 10 vezes a mesma coisa, por tirar dúvidas, pelo comprometimento, pelas conversas informais do dia-a-dia, pela paciência e por me incentivar sempre!

Ao programa PPG-ERN e departamento de Hidrobiologia pelas condições oferecidas para a realização desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processos: 135763/2008-8, 300959/2004-4, 561345/2008-2 e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo 2007/02683-7, pela concessão da bolsa de estudos e auxílios financeiros ao longo do projeto.

À Lu, Mari e Karen por toda a convivência, ajudas, risadas, conversas e amizade.

Ao Chico, Wagner, Mari Duó e Danilo por toda convivência tranquila, ajudas e muuuuita risada.

À Jurity pela ajuda constante, idéias sempre úteis para realização de um experimento e por ter me ajudado e ensinado a analisar minhas amostras.

Ao técnico Luisinho, que sempre permitiu nosso acesso à lagoa do Óleo e que a coleta fosse um sucesso por mais que tivesse varias árvores caídas no nosso caminho, barco furado ou dia chuvoso com muitas mutucas!

Ao Fausto por toda a convivência, risadas e ajudas durante todo o trabalho, por ser meu companheiro sempre e por me aguentar em momentos de “crise”.

À minha mãe que de longe sempre me auxiliou para que eu não desistisse e também pela amizade.

Ao meu pai por todo o apoio, paciência e amizade.

Aos meus irmãos pela amizade.

Aos meus amigos de São Carlos: Natt, Elisa, Pri, Julia, Gisele, Tati, Bruno, Érica, e às meninas do muay thai que me divertiram muito na fase final desse trabalho.

Aos amigos da “Federal”: Jussara, Toshiro, Sadao, Lia, Memê e Tati pela disposição em ajudar quando precisei, pelo convívio e amizade.

À minha avó Dina pela ótima convivência, conversas e pelo almocinho nosso de cada dia!

Aos meus amigos de graduação da UNESP que, mesmo distantes, continuam presentes.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Alguns tipos de forma de vida de macrófitas aquáticas que podem ser encontrados (PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE, 2010).2
- Figura 2:** Esquema da disposição das fibras de celulose, hemicelulose e lignina na parede celular (modificado de SMITH, 2009).....4
- Figura 3:** Ação específica das enzimas hidrolíticas: (A) Região de ação das celulases; (B) Região de ação das xilanases (Modificado de: SIGMA-ALDRICH, 2010).....5
- Figura 4:** Ação de diferentes tipos de xilanases hidrolisando tipos específicos de xilana, onde as setas indicam os locais de quebra (POLIZELI, 2005).....7
- Figura 5:** Vista aérea da lagoa do Óleo (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).....9
- Figura 6:** Localização da Estação Ecológica do Jataí (FERREIRA-PERUCHETTI & FONSECA-GESNNER, 2003).....10
- Figura 7:** Espécies submersas de macrófitas aquáticas: (A) *Cabomba furcata* (AQUABUBULLE, 2009); (B) *Egeria najas* (AQUARIUM AND POUND PLANTS OF THE WORD, 2010); (C) *Utricularia breviscapa* (modificado de IFAS, 2010) e (D) *Ludwigia inclinata* (AQUARIOONLINE, 2010).....22
- Figura 8:** Espécies flutuantes de macrófitas aquáticas: (A) *Salvinia* sp. (TAVARES, 2010) e (B) *Ricciocarpus natans* (LEPP, 2009).....23
- Figura 9:** Espécies emergentes de macrófitas aquáticas: (A) *Eichhornia azurea* (ARBO, 2010) (B) *Polygonum meissnerianum* (modificado de IFAS, 2010); (C) *Oxycaryum cubense* (modificado de IFAS, 2009) e (D) *Cyperus giganteus* (modificado de IFAS, 2010).....25
- Figura 10:** Variações temporais de COP da decomposição dos detritos de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa*, *L. inclinata*, *Salvinia* sp. e *R. natans*.....26

Figura 11: Variações temporais de COP da decomposição dos detritos de <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i>	27
Figura 12: Variações temporais das atividades das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição de <i>C. furcata</i> , <i>E. najas</i> , <i>U. breviscapa</i> , <i>L. inclinata</i> , <i>Salvinia</i> sp e <i>R. natans</i>	30
Figura 13: Variações temporais das atividades das enzimas celulase e xilanase durante a decomposição de <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i>	31
Figura 14: Variações temporais das concentrações de COP, COD e CM durante a decomposição anaeróbia de <i>C. furcata</i> , <i>E. najas</i> , <i>U. breviscapa</i> e <i>L. inclinata</i>	35
Figura 15: Variações temporais das concentrações de COP, COD e CM durante a decomposição anaeróbia de <i>Salvinia</i> sp., <i>R. natans</i> , <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i>	36
Figura 16: Variação temporal do pH durante a decomposição anaeróbia de <i>C. furcata</i> , <i>E. najas</i> , <i>U. breviscapa</i> , <i>L. inclinata</i> , <i>Salvinia</i> sp. e <i>R. natans</i>	39
Figura 17: Variação temporal do pH durante a decomposição anaeróbia de <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i>	40
Figura 18: Variação temporal do CE durante a decomposição anaeróbia de <i>C. furcata</i> , <i>E. najas</i> , <i>U. breviscapa</i> , <i>L. inclinata</i> , <i>Salvinia</i> sp e <i>R. natans</i>	41
Figura 19: Variação temporal do CE durante a decomposição anaeróbia de <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i>	42
Figura 20: Variação temporal do índice de humificação (razão E4/E6) durante a decomposição anaeróbia de <i>C. furcata</i> , <i>E. najas</i> , <i>U. breviscapa</i> , <i>L. inclinata</i> , <i>Salvinia</i> sp. e <i>R. natans</i>	43
Figura 21: Variação temporal do índice de humificação (razão E4/E6) durante a decomposição anaeróbia de <i>E. azurea</i> , <i>P. meissnerianum</i> , <i>O. cubense</i> e <i>C. giganteus</i> ..	44

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1:** Parâmetros morfométricos da lagoa do Óleo (PETRACCO, 2006).....10
- Tabela 2:** Valores de temperatura média, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido obtidos em dois estudos de caracterização da lagoa do Óleo nas estações de chuva e de seca no período de 2006 e 200711
- Tabela 3:** Parâmetros cinéticos da variação temporal de perda de massa da fração lábil solúvel; em que: COP_{LS} = fração lábil e solúvel do carbono orgânico particulado (%); k_T = coeficiente de decaimento global (= coeficiente de mineralização da fração lábil + coeficiente de lixiviação); $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida.....28
- Tabela 4:** Parâmetros cinéticos da variação temporal de perda de massa da fração refratária, onde: COP_R = fração refratária do carbono orgânico particulado; k_R = coeficiente de mineralização da fração refratária; $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida.....28
- Tabela 5:** Parâmetros da modelagem matemática das atividades enzimáticas acumuladas da celulase, onde: C_{max} = máxima produção de celulase; k_c = coeficiente de produção de celulase; $D_{1/2}$ = tempo de duplicação.32
- Tabela 6:** Parâmetros obtidos da modelagem matemática das atividades enzimáticas acumuladas da xilanase, onde: X_{max} = produção máxima de xilanase; k_x = coeficiente de produção de xilanase; $D_{1/2}$ = tempo de duplicação.....33
- Tabela 7:** Dados obtidos a partir da parametrização do modelo cinético para o balanço de carbono de *C. giganteus*, *Salvinia* sp., *U. breviscapa*, *P. meissnerianum* e *L. inclinata*; em que: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lábil e solúvel; COP_R = carbono orgânico particulado; COD_s = Carbono orgânico particulado solúvel; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de decaimento de COD_{LS} (k_1+k_2), dia^{-1} ; (k_1 = coeficiente de mineralização dos compostos lábeis, dia^{-1} ; k_2 = coeficiente de lixiviação dos componentes solúveis, dia^{-1} ; k_3 = coeficiente de mineralização do carbono dissolvido; k_4 = coeficiente de mineralização dos compostos refratários; $t_{1/2}$ = tempo de meia vida37
- Tabela 8:** Dados obtidos a partir da parametrização do modelo cinético para o balanço de carbono da decomposição de *O. cubense*, *E. najas*, *C. furcata*, *R. natans* e *E. azurea*; em que: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lábil e solúvel; COP_R = carbono orgânico particulado; COD_s = Carbono orgânico particulado solúvel; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de decaimento de COD_{LS} (k_1+k_2), dia^{-1} ; (k_1 =

coeficiente de mineralização dos compostos lábeis, dia^{-1} ; k_2 = coeficiente de lixiviação dos componentes solúveis, dia^{-1} ; k_3 = coeficiente de mineralização do carbono dissolvido; k_4 = coeficiente de mineralização dos compostos refratários; $t_{1/2}$ = tempo de meia vida.....**38**

Tabela 9: Teores iniciais de fibras das espécies selecionadas.....**45**

Tabela 10: Comparação entre valores médios de COP_{LS} (%) encontrados no presente estudo.....**54**

ANEXOS

Anexo I: Variações temporais de Carbono (COP; COD; CM).....	79
Anexo II: Variações temporais da atividade da celulase	80
Anexo III: Variações temporais da atividade da xilanase	81
Anexo IV: Variações temporais de pH	82
Anexo V: Variações temporais de CE	83
Anexo VI: Variações temporais de E4/E6	84
Anexo VII: Análise estatística (Kruskal-Wallis) das atividades de celulase.....	85
Anexo VIII: Análise estatística (Kruskal-Wallis) das atividades de xilanase.....	86
Anexo IX: Análise estatística (ANOVA) da perda de massa de COP.....	87
Anexo X: Análise estatística (Kruskal-Wallis) da formação de CM	88
Anexo XI: Fotos das coletas	89
Anexo XII: Fotos das coletas.....	90
Anexo XIII: Fotos das coletas	91

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A = área	k_R = coeficiente de mineralização da fração refratária
CE = condutividade elétrica	k_C = coeficiente de produção de celulase
CIT = carbono inorgânico total	k_P = coeficiente de produção enzimática
CM = carbono mineralizado	k_X = coeficiente de produção de xilanase
C_{max} = valor máximo de produção de celulase	k_T = coeficiente de decaimento global
COD = carbono orgânico dissolvido	l = comprimento
COP = carbono orgânico particulado	MID = matéria inorgânica dissolvida
COP_L = COP lábil	MOD = matéria orgânica dissolvida
COP_{LS} = COP lábil e solúvel	MOP = matéria orgânica particulada
COP_R = COP refratário	p = perímetro
COP_t = COP total	P. F. = peso fresco
COT_0 = CO total inicial	P. S. = peso seco
$D_{1/2}$ = tempo de duplicação da atividade enzimática	r^2 = coeficiente de determinação
D. P. = desvio padrão	T = temperatura
DL = Desenvolvimento de Margem	t = tempo
DV = Desenvolvimento de Volume	$t_{1/2}$ = tempo de meia vida
E = produção enzimática acumulada	V = volume
e = base logaritmo natural	X_{max} = valor máximo de produção de xilanase
E_{max} = valor máximo de produção de enzimas	Z = Profundidade media
k_1 = coeficiente de mineralização dos compostos lábeis	Z _m = profundidade máxima
k_2 = coeficiente de lixiviação dos componentes solúveis	Z _r = Profundidade relativa
k_3 = coeficiente de mineralização do carbono dissolvido	ϕ = diâmetro

RESUMO

As atividades enzimáticas durante a decomposição em ambientes aquáticos são extremamente importantes para hidrolizar as moléculas a serem assimiladas pelos microrganismos. Durante a decomposição das macrófitas aquáticas, as enzimas atuam principalmente na hidrólise das fibras presentes na matriz lignocelulósica (como celulose, hemicelulose e lignina), presentes na fração refratária da matéria orgânica. Considerando a importância do papel das atividades enzimáticas no processo de decomposição, esse estudo teve como objetivo quantificar e descrever as atividades das enzimas xilanase e celulase durante o processo de decomposição anaeróbia de uma comunidade de macrófitas aquáticas, bem como relacionar essas atividades às perdas de massa, baseando-se na hipótese de que as plantas com menores teores de tecidos de sustentação (celulose e hemicelulose), geralmente as de hábito submerso, apresentariam menor atividade destas enzimas em comparação às emergentes e flutuantes. A comunidade de macrófitas selecionada foi proveniente da lagoa do Óleo, situada na Estação Ecológica de Jataí, Luíz Antônio, São Paulo, Brasil.

Após um levantamento das espécies de macrófitas aquáticas, foram identificadas 10 espécies na lagoa. Exemplos de cada espécie foram coletados e lavados ao laboratório, onde foram realizados alguns bioensaios e análises. Em laboratório foram preparadas câmaras de decomposição para cada espécie (n=10) contendo fragmentos secos e amostras de água filtrada da lagoa do Óleo. As câmaras foram incubadas a 22,5° C, no escuro e sob condições anaeróbias. As atividades enzimáticas e os teores de matéria orgânica remanescente foram avaliados periodicamente durante 90 dias. Além disto, durante este período, também foram determinados: o pH, o índice de humificação e as rotas de mineralização do carbono. Os teores iniciais de celulose e hemicelulose também foram quantificados. Os resultados mostraram maior produção de xilanase que celulase em todos os casos; além de uma maior produção de enzimas no início do processo. Não foram encontradas correlações entre as maiores perdas de massa e as maiores produções enzimáticas, o que pode ter ocorrido devido às características estruturais destas fibras na matriz lignocelulósica e também por fatores físicos, químicos e biológicos (comunidade microbiana presente). O pH das incubações

apresentou-se baixo, o que condiz com a característica ácida da lagoa do Óleo e permitem inferir que a decomposição das macrófitas aquáticas interfere nas suas características físicas e químicas. O padrão de acúmulo de COD observado na decomposição de *Egeria najas* permitiu inferir sua grande influência nas características físicas e químicas da lagoa do Óleo, devido ao acúmulo de substâncias húmicas e por apresentar maior ocupação na área da lagoa. As espécies emergentes são principalmente responsáveis pelo acúmulo de MOP no sedimento, servindo como importante fonte de substrato para a microbiota anaeróbia.

Palavras-Chave: decomposição anaeróbia, macrófitas aquáticas, xilanase, celulase.

ABSTRACT

Enzymatic activity during decomposition is extremely important to hydrolyze molecules that are assimilated by microorganisms. During aquatic macrophytes decomposition, enzymes act mainly in the breakdown of lignocellulolytic matrix fibers (i.e. cellulose, hemicellulose and lignin) that encompass the refractory fraction from organic matter. Considering the importance of enzymatic activities role in decomposition processes, this study aimed to describe the temporal changes of xylanase and cellulase activities during anaerobic decomposition of the aquatic macrophytes community located at Óleo Lagoon, placed in Ecological Station of Jataí, Luiz Antonio, São Paulo, Brazil. After a survey of existing aquatic macrophytes, 10 species were indentified in the lagoon. They were collected and bioassays were accomplished in the laboratory. Decomposition chambers from each species (n = 10) were set up with dried macrophyte fragments and filtered Óleo Lagoon water. The chambers were incubated at 22.5°C, in the dark and under anaerobic conditions. Enzymatic activities and remaining organic matter were measured periodically during 90 days. Besides this analysis, pH, humification index and carbon types were evaluated. Initial cellulose and hemicellulose was measured for each species. For all the plants xylanase's activity was greater than cellulase activity. The results showed no correlation between organic matter decay and enzyme production. This could have occurred because of lignocellulolytic matrix fibers structural differences and also because of physical, chemical and biological characteristics. The incubations showed a low pH, what agrees with Óleo lagoon characteristics, supporting that aquatic macrophytes decomposition interferes in its physical and chemical characteristics. *Egeria najas* presented a dissolved organic carbon (DOC) accumulation pattern during its decomposition which differed from the other species. This pattern tends to accumulate humic substances and consequently alters some water characteristics. Besides it, *E. najas* presented the largest distribution over Óleo lagoon area. Emergent species presented the greater amount of particulate organic matter (POM) accumulated in sediment, configuring the main available substrate to anaerobic microorganisms.

Key words: anaerobic decomposition, aquatic macrophytes, xylanase, cellulase.

SUMÁRIO

1. Introdução.....	1
1.1 Macrófitas Aquáticas	1
1.2 Decomposição das macrófitas aquáticas.....	2
1.3 Estrutura e hidrólise de celulose	4
1.4 Estrutura e hidrólise de hemicelulose (xilana).....	6
2. Hipótese.....	8
3. Objetivos.....	8
4. Material e Métodos.....	9
4.1 Caracterização da área da coleta	9
4.2 Levantamento de espécies.....	11
4.3 Coleta e preparo das amostras de água e plantas	12
4.4 Procedimentos de laboratório	12
4.4.1 Incubações <i>in vitro</i>	12
4.4.2 Fracionamento da MOP e da MOD	13
4.4.3 Análise dos resíduos particulados remanescentes.....	13
4.4.4 Teor de cinzas	13
4.5 Modelagem matemática	14
4.5.1 Balanço de carbono	14
4.5.2 Rotas de mineralização	14
4.5.3 Perda de massa (em base de COP).....	15
4.5.4 Atividade enzimática.....	16
4.5.4.1 Extração do extrato enzimático.....	16
4.5.4.2 Determinação da celulase (C ₁).....	17
4.5.4.3 Determinação da β-xilanase.....	17
4.5.4.4 Modelagem matemática da produção temporal enzimática.....	18
4.6 Quantificação do teor inicial de celulose e hemicelulose	19
4.7 Determinação da variação de CE, pH e E4/E6 da MOD das incubações.....	20
4.8 Análises Estatísticas.....	20
5. Resultados.....	21
5.1 Descrição das espécies encontradas.....	21

5.1.1 <i>Cabomba furcata</i>	21
5.1.2 <i>Egeria najas</i>	21
5.1.3 <i>Utricularia breviscapa</i>	21
5.1.4 <i>Ludwigia inclinata</i>	22
5.1.5 <i>Salvinia</i> sp.	22
5.1.6 <i>Ricciocarpus natans</i>	23
5.1.7 <i>Eichhornia azurea</i>	23
5.1.8 <i>Polygonum meissnerianum</i>	23
5.1.9 <i>Oxycaryum cubense</i>	24
5.1.10 <i>Cyperus giganteus</i>	24
5.2. Decaimento de COP	25
5.3. Atividade enzimática de celulase e xilanase	29
5.4. Rotas de mineralização	34
5.5. Variações temporais do pH da MOD das câmaras de decomposição.....	39
5.6. Variações temporais da CE da MOD das câmaras de decomposição.....	41
5.7. Variações temporais da razão E4/E6 da MOD durante a decomposição.....	42
5.8. Teor inicial de hemicelulose e celulose	45
5.9 Análises estatísticas	46
5.9.1 Análise estatística do experimento de atividade enzimática	46
5.9.2 Análise estatística do experimento de perda de massa de COP	47
5.9.3 Análise estatística do experimento de variação temporal de CM	47
6. Discussão	48
7. Conclusões.....	61
8. Referências Bibliográficas.....	63
9. Anexos	78

1. INTRODUÇÃO

1.1. Macrófitas aquáticas

Dentre as principais fontes de detritos e nutrientes dos ambientes aquáticos estão as macrófitas aquáticas encontradas nas zonas litorâneas dos ambientes lênticos e em remansos de ambientes lóticos (CARPENTER, 1980; ROONEY & KALF, 2000).

As macrófitas são vegetais terrestres que retornaram ao ambiente aquático e dessa forma apresentam ainda características típicas de vegetais terrestres, além de grande capacidade se adaptarem em diferentes ambientes (ESTEVES, 1998). COOK et al. (1974) as descreve como vegetais vasculares cujas partes fotossintetizantes encontram-se, pelo menos por um período, submersas ou flutuantes em contato com a água doce ou salobra. O *International Biological Program* (IBP) as designa sob o contexto ecológico, incluindo a esse grupo os vegetais que habitam desde brejos até ambientes totalmente submersos.

Independente da definição taxonômica ou ecológica, diversos estudos demonstram que estas plantas são amplamente distribuídas no mundo apresentando uma elevada taxa de produção primária (BELOVA, 1993); além disso, possuem ampla tolerância ecológica e propágulos que podem ser dispersos facilmente. Tais características favorecem a ocorrência de taxas elevadas de crescimento, caracterizando várias espécies de macrófitas como plantas invasoras (e.g. *Eichhornia crassipes*, *Salvinia molesta* e *Hydrilla verticillata*). Em condições favoráveis, a biomassa desses vegetais pode dobrar em um intervalo de 3 a 7 dias e em alguns casos os bancos de macrófitas atingem mais de 3 metros de espessura (CHAMBERS et al., 2008).

A distribuição das macrófitas aquáticas nos corpos d'água pode variar em função do grau da adaptação da espécie. De acordo com sua adaptabilidade e local de

ocupação, são classificadas como: flutuante livre, flutuante fixa, submersa fixa, submersa livre, emergente, anfíbia e epífita (IRGANG et al., 1984; Figura 1).

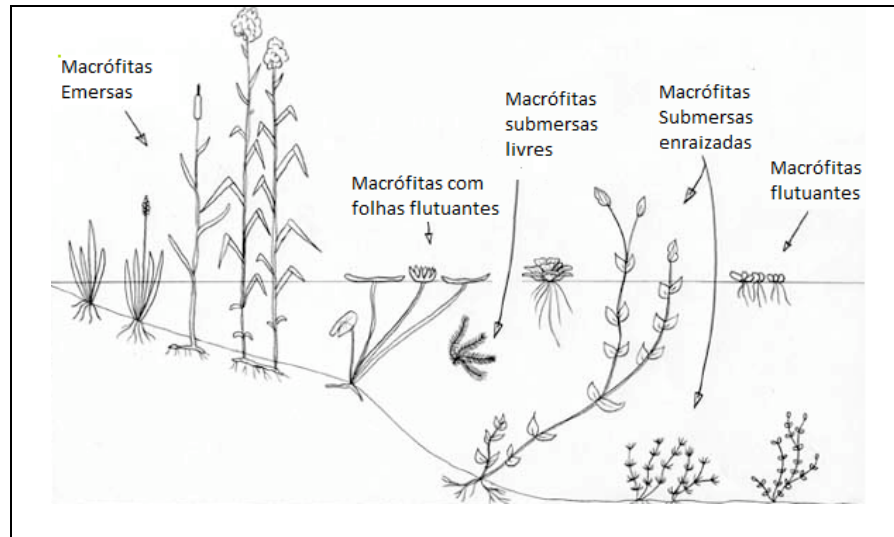


Figura 1: Alguns tipos de forma de vida de macrófitas aquáticas que podem ser encontrados (PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE, 2010).

1.2. Decomposição das macrófitas aquáticas

Devido à taxa alta de produtividade, as macrófitas aquáticas produzem grandes quantidades de matéria orgânica na forma de biomassa viva, principalmente nas zonas litorâneas dos ecossistemas aquáticos continentais. Ao se decomporem, esses organismos liberam matéria orgânica (MOD) e inorgânica dissolvidas (MID) para a coluna d'água e a matéria orgânica particulada (MOP) tende a acumular no sedimento (WETZEL, 2001).

Os detritos vegetais são formados por matéria orgânica morta (e.g. células e tecidos) e também, por produtos resultantes dos processos de secreção e excreção (MOORE et al., 2004). Os tecidos das macrófitas aquáticas são constituídos por fibras (presentes na MOP), frações citoplasmáticas (i.e. MOD) e por MID.

O processo de decomposição, mediado por microrganismos, é de extrema importância para a manutenção dos ambientes aquáticos e terrestres, pois propicia a ciclagem e o balanço energético dos nutrientes e de carbono por meio da utilização desses compostos através do metabolismo microbiano (WETZEL, 1995; MOORHEAD et al., 1996). Estes também controlam a retenção e disponibilidade de nutrientes e carbono derivados dos tecidos vegetais e os fluxos desses elementos para o ambiente (HOPKINSON, 1992). A decomposição destes detritos pode causar alterações na qualidade da água, gerando condições para o desenvolvimento de anaerobiose e de eutrofização dos ambientes aquáticos (BIANCHINI Jr., 1999).

Sob condições aeróbias, durante a decomposição, os microrganismos transformam os detritos em moléculas orgânicas menores e em seguida, estas em produtos inorgânicos como: H_2O , CO_2 e NH_4^+ . Esses processos de transformação dos compostos orgânicos em inorgânicos são denominados, de modo geral, de mineralizações. A deposição dos detritos vegetais no sedimento estabelece uma zona com baixas concentrações de O_2 , propiciando a proliferação de organismos anaeróbios (LYND et al., 2002). No sedimento os detritos são formados principalmente por uma matriz lignocelulolítica (BIANCHINI Jr. et al., 2008; Figura 2), que se constitui principalmente de celulose, lignina e hemicelulose (SWIFT et al., 1979).

A composição e percentagem destes polímeros variam de acordo com a espécie e também com o estágio de desenvolvimento da planta (JEFFRIES, 1994). Os microrganismos necessitam produzir enzimas extracelulares para hidrolizar os compostos poliméricos presentes na parede celular dos detritos e convertê-los em moléculas menores para propiciar a assimilação destas. Em ambientes anaeróbios, a ação destas enzimas quebra as fibras em açúcares redutores, que podem ser convertidos a ácidos orgânicos e estes, por sua vez, podem ser mineralizados até CH_4 e CO_2 (GALE,

1992). Bactérias e fungos de diversos gêneros agem em conjunto (i.e. consórcios) na decomposição destes compostos nos ambientes aquáticos devido a sua capacidade de produção destas enzimas (CHRÓST, 1991; ROMANI, 2006).

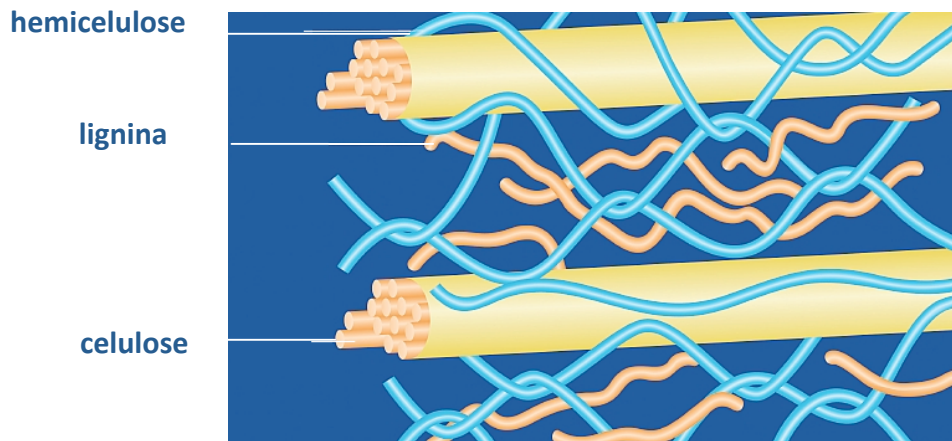


Figura 2: Esquema da disposição das fibras de celulose, hemicelulose e lignina na parede celular (modificado de SMITH, 2009).

As características físicas e químicas do sedimento e a qualidade do detrito são fatores importantes para prever a atividade heterotrófica microbiana (THOMAZ et al., 2001). Uma grande variedade de fungos e bactérias é capaz de fragmentar estas macromoléculas através da produção de diferentes enzimas extracelulares hidrolíticas e oxidativas, como a celulase e a xilanase (TANAKA, 1993; PÉREZ et al., 2002). Alguns fatores bióticos como a qualidade da biomassa detrital, a diversidade microbiana e a atividade metabólica, podem interferir nas atividades dessas enzimas (CUNHA-SANTINO & BIANCHINI Jr., 2007).

1.3. Estrutura e hidrólise de celulose

A celulose é o polímero vegetal mais abundante no planeta. Apesar das diferenças estruturais anatômicas que ocorrem entre as espécies de plantas, a quantidade

de celulose encontrada é sempre alta, correspondendo entre 35 e 50% da biomassa total dos tecidos vegetais (LYND et al., 2002).

Estruturalmente é um homopolímero formado por muitas cadeias de glicose unidas entre si por ligações β -1, 4. O grau de polimerização das fibras celulolíticas é bastante variável e pode possuir de 7.000 a 14.000 monômeros de glicose na parede celular primária e até 500 monômeros de glicose na parede celular secundária (LESCHINE, 1995). As cadeias de celulose ligam-se entre si através de pontes de hidrogênio e forças de Van der Waals, formando assim as fibras de celulose. A disposição das microfibrilas de celulose possui cristalização variável, encontrando-se desde a maneira cristalina pura até bastante irregular, chamada de amorfa (LYND et al., 2002).

A degradação anaeróbia da celulose é distinta da que ocorre na presença de oxigênio. A degradação aeróbia ocorre pelo conjunto de enzimas exocelulares (endoglucanases, exoglucanases, β -glucosidasas) que atuam sinergicamente (Figura 3A).

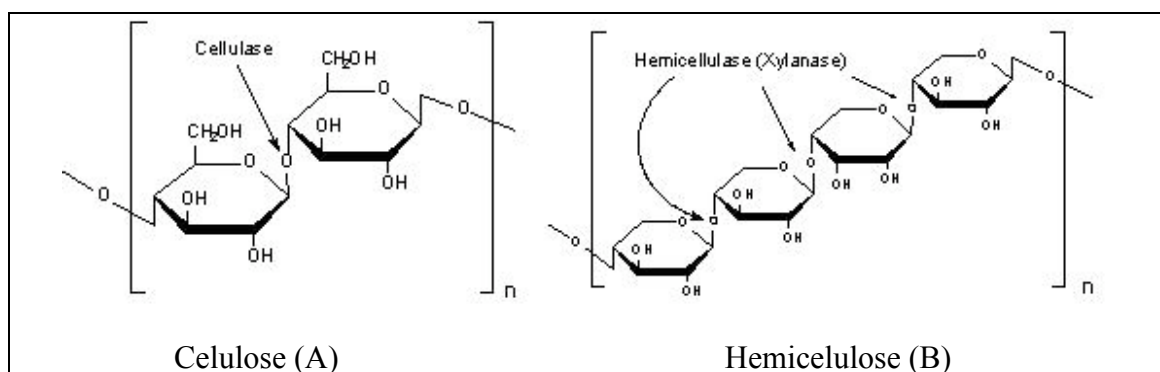


Figura 3: Ação específica das enzimas hidrolíticas: (A) Região de ação das celulasas; (B) Região de ação das xilanases (Modificado de: SIGMA-ALDRICH, 2010).

As bactérias e fungos atuantes na decomposição anaeróbia de celulose produzem uma grande molécula, conhecida como celulosoma, que funciona como um complexo multiproteico, que possui em sua superfície diversas enzimas hidrolíticas, com eficácia elevada na hidrólise dos polissacarídeos vegetais. As bactérias *Clostridium thermocellum* são as que possuem esse sistema mais conhecido (LESCHINE, 1995; XIMENES & FÉLIX, 2003).

Os produtos finais resultantes da hidrólise da celulose são açúcares de baixo peso molecular, como oligômeros e monômeros, que poderão ser metabolizados pelos microrganismos aeróbios e anaeróbios (CHROST, 1991).

1.4. Estrutura e hidrólise de hemicelulose (xilana)

As hemiceluloses são polissacarídeos compostos por cadeias de diferentes pentoses ou hexoses unidas por ligações β -(1-4) e possuem pontos de ligação a cadeias laterais de posição variável (LEONOWICZ et al., 1999; Figura 3B). São constituídas por um complexo de heteropolímeros formados por diferentes resíduos de açúcares como D-xilose, D-manose, D-arabinose, D-galactose e D-glicose, dentre outros, e por seus ácidos urônicos. Eles são nomeados de acordo com o principal resíduo de açúcar da cadeia polimérica (ARO et al., 2005).

O principal polissacarídeo componente da hemicelulose é a xilana, que está presente em todas as camadas da parede celular vegetal na interface entre a celulose e a lignina. (COLLINS et al., 2005). Devido a sua heterogeneidade e complexidade, a hidrólise completa das xilanas requer uma grande variedade de enzimas que agem em conjunto: endo- β -1,4-xylanases, β -1,4-xylosidases, exoxylanases, α -L-arabinofuranosidases e α -D-glucuronidases (Figura 4). Cada uma dessas enzimas

hidroliza um tipo de xilana correspondente (POLIZELI et al., 2005).

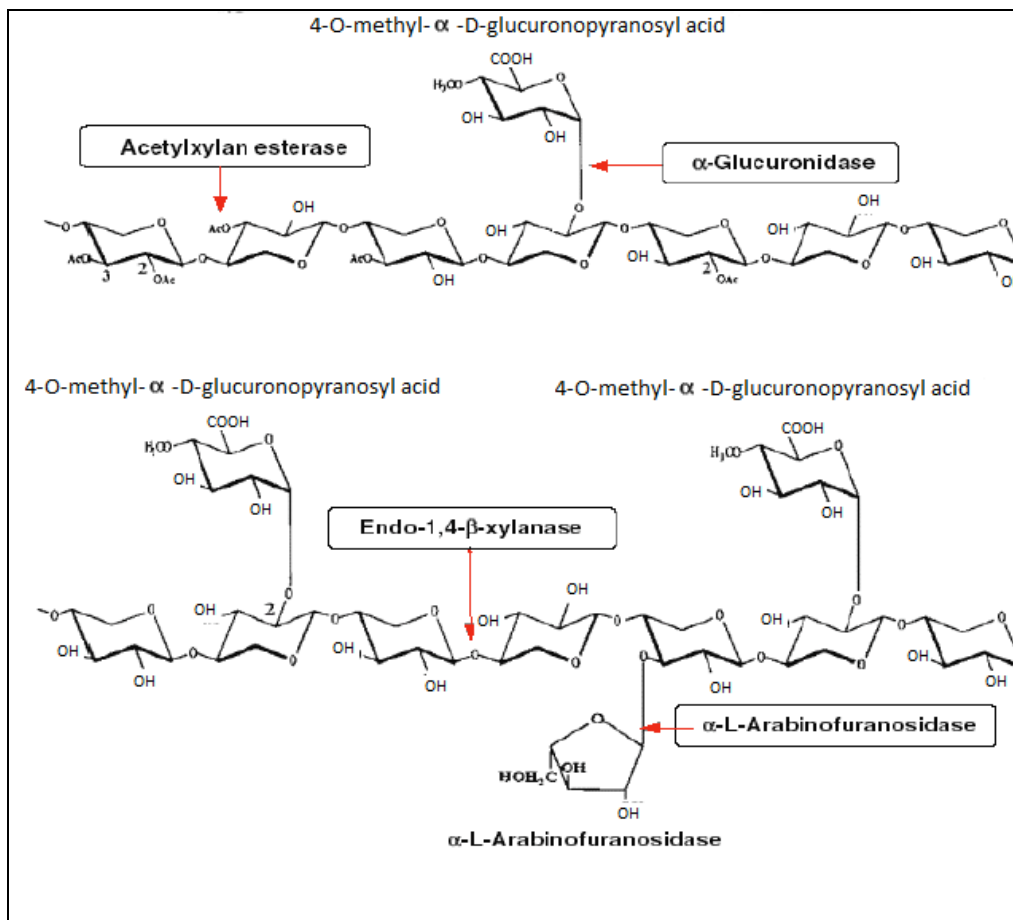


Figura 4: Ação de diferentes tipos de xilanases hidrolisando tipos específicos de xilana, onde as setas indicam os locais de quebra (POLIZELI, 2005).

Estão incluídos como microrganismos produtores destas enzimas: *Aspergilli*, *Trichoderma*, *Streptomicetos*, *Phanerochaetos*, *Quitridiomicetos*, *Ruminococcus*, *Tibrobacteras*, *Clostridium* e bacilos (COLLINS et al., 2005). Assim como ocorre para as celulases foi reportado também a presença de macromoléculas que possuem um complexo enzimático presente nas superfícies celulares, analogamente chamados de xilanossomas (POLIZELI et al., 2005).

2. HIPÓTESE

Supõe-se que as degradações das espécies de macrófitas que contenham mais estruturas de sustentação (i.e. maiores teores de celulose e hemicelulose) apresentam as maiores atividades de celulase e xilanase, assim como os menores coeficientes de perda de massa. Com base nos hábitos das plantas aquáticas, as degradações das espécies submersas, ou seja, com menores teores de tecidos de sustentação apresentam as menores atividades enzimáticas.

Diante disso a proposta deste trabalho foi de comparar as atividades enzimáticas durante a decomposição anaeróbia, bem como algumas outras variáveis de todas as espécies encontradas em um mesmo ambiente, de modo relacionar estrutura, decaimento de massa, cinética de carbono e atividade enzimática destas espécies.

3. OBJETIVOS

De acordo com as hipóteses apresentadas, o objetivo desse trabalho foi quantificar temporalmente as atividades de xilanase e celulase aliadas à perda de massa dos detritos. Visou-se também identificar as rotas do carbono durante a mineralização anaeróbia das espécies de macrófitas aquáticas encontradas na lagoa do Óleo. Esses resultados permitem a comparação das atividades enzimáticas entre as diferentes formas existentes de detritos de macrófitas aquáticas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Caracterização da área de coleta

A lagoa do Óleo ($21^{\circ} 36'S$ e $47^{\circ} 49'O$, Figura 5) localiza-se na bacia de drenagem do rio Mogi-Guaçu e recebe proteção da Estação Ecológica do Jataí, no município de Luís Antônio ($21^{\circ} 33'$ a $21^{\circ} 37'S$ e $47^{\circ} 45'$ a $47^{\circ} 51'O$, Figura 6).

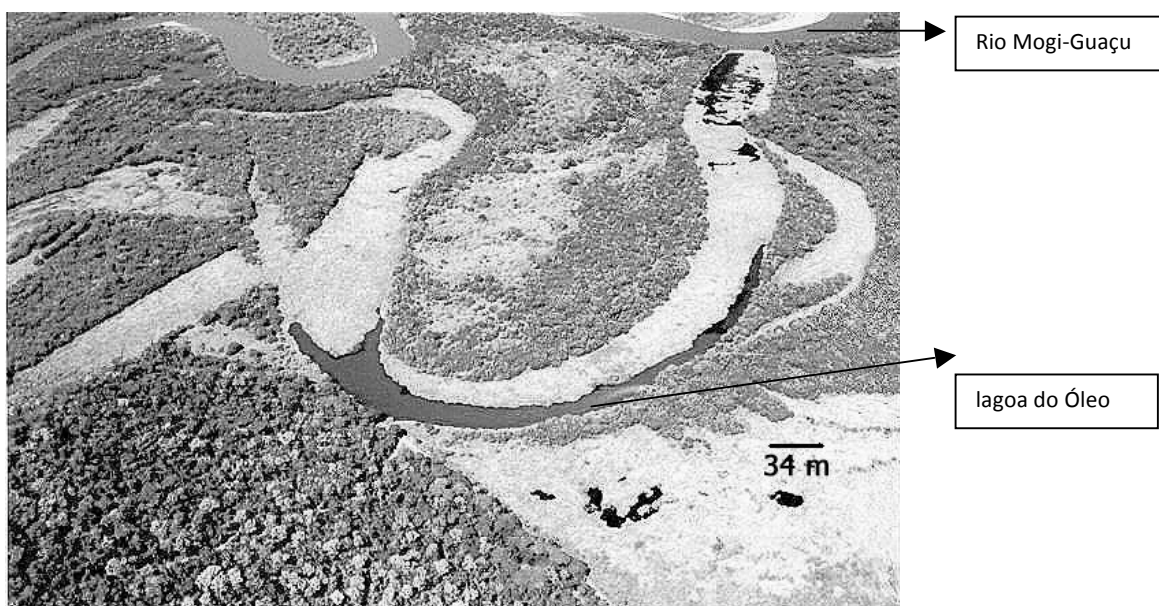


Figura 5: Vista aérea da lagoa do Óleo (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).

Esse ambiente foi formado pelo isolamento de alguns meandros do rio Mogi-Guaçu, devido aos processos de erosão e sedimentação, representando um ecossistema típico do sistema rio-planície de inundação no trecho médio do rio Mogi-Guaçu, sendo classificado como uma lagoa de infiltração subterrânea (SANTOS & MOZETO, 1992). Este sistema aquático apresenta características similares às demais lagoas dessa região, sendo raso, com pequena área (Tabela 1) e com grande incidência de macrófitas aquáticas na zona litorânea. Pelo índice de Carlson, a lagoa do Óleo é caracterizada

como oligotrófica na estação seca e como mesotrófica ou eutrófica no período chuvoso. (PETRACCO, 2006).

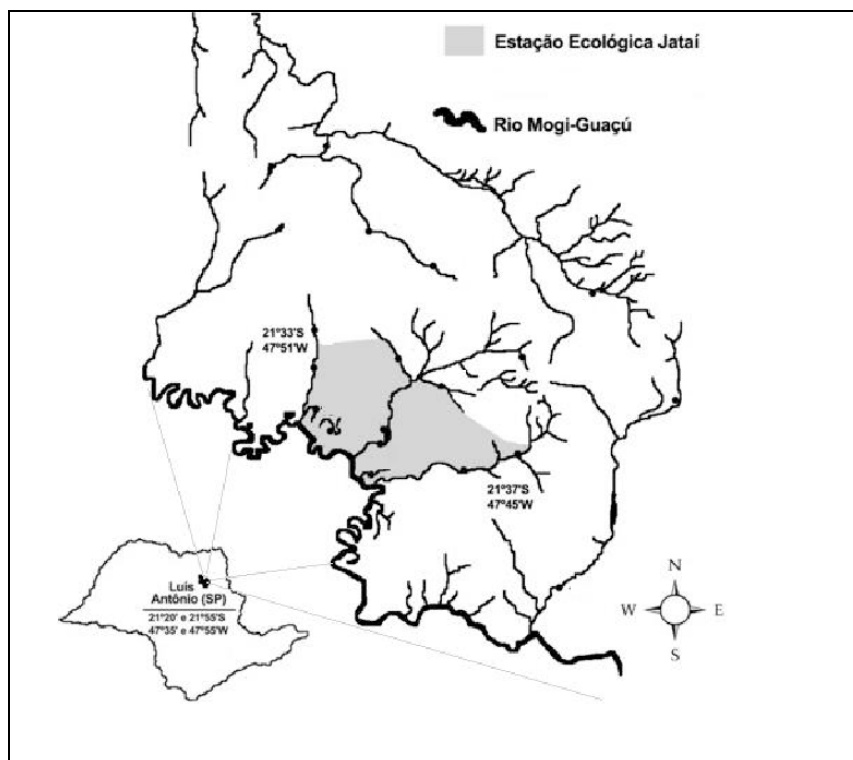


Figura 6: Localização da Estação Ecológica do Jataí (FERREIRA-PERUCHETTI & FONSECA-GESNNER, 2003).

Tabela 1: Parâmetros morfométricos da lagoa do Óleo (PETRACCO, 2006).

Parâmetros morfométricos	lagoa do Óleo
Área (A)	0,0195 km ²
Volume (V)	49.613 m ³
Perímetro (p)	1.500 m
Comprimento máximo (l)	710 m
Largura máxima (b)	60,0 m
Profundidade máxima (Z _m)	5,10 m
Profundidade média (Z̄)	2,55 m
Profundidade relativa (Z _r)	3,24 %
Desenvolvimento de Margem (D _L)	3,08
Desenvolvimento de Volume (D _v)	1,50
Inclinação média	8 %

Na Tabela 2 apresentam-se os dados de temperatura, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido obtidos em dois inventários distintos em 2006 e 2007. É possível notar que os valores de pH da água foram baixos em ambas as estações (seca e úmida) e que houve aumento nos valores de CE e diminuição de OD no período chuvoso.

Tabela 2: Valores de temperatura média, condutividade elétrica (CE), pH e oxigênio dissolvido (OD) obtidos em dois estudos de caracterização da lagoa do Óleo nas estações de chuva e de seca no período de 2006 e 2007.

Variável	PETRACO (2006)		PEZZATO (2007)	
	Período chuvoso	Período seco	Período chuvoso	Período seco
Temperatura (°C)	30	17	29	19
CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$)	5 - 66	5 - 9	8 - 57	7 - 10
pH	4,2 - 5,6	3,8 - 5,3	4 - 5,6	4,6 - 6,1
OD (mg L^{-1})	3,1 - 13	3,5 - 4,7	2,2 - 5,4	2,5 - 7,2

4.2. Levantamento de espécies

O levantamento de taxa da lagoa do Óleo foi realizado no período de 11 de abril a 18 de maio de 2009, em três coletas. As coletas foram realizadas com o auxílio de um barco que percorreu toda a área da lagoa e as plantas foram coletadas para identificação e, posteriormente, herborizadas. Durante o inventário de macrófitas utilizou-se um gancho que foi arrastado durante o percurso para auxiliar a localização de bancos não visíveis de espécies submersas, devido à turbidez elevada. As plantas aquáticas coletadas foram identificadas, ao menor nível taxonômico possível. As identificações foram realizadas com o auxílio de chaves de identificação, de acordo com bibliografia

especializada (Joly, 1977; Hoehne, 1979; Cronquist, 1981; Notare, 1992; Scremin-Dias et al., 1999; Lorenzi, 2000, Pott & Pott, 2000).

4.3. Coleta e preparo das amostras de água e plantas

Em campo, amostras integradas de água da lagoa ($Z = 0,5$ m, 2 m e 4 m) foram coletadas com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn (capacidade de 5,0 L). As amostras de água de mesmo volume foram misturadas em recipiente de polietileno visando à integração da amostra. No laboratório as amostras foram pré-filtradas em membranas de éster de celulose ($\phi = 0,45 \mu\text{m}$, marca Millipore).

Após o levantamento de espécies existentes na lagoa (Item 4.2.), os exemplares de macrófitas foram coletados manualmente na região litorânea da lagoa. Em laboratório, as plantas foram lavadas com água corrente para a remoção de perifíton e partículas de sedimento que poderiam estar aderidos às plantas (OGBURN, 1987). Após a lavagem, os exemplares de cada espécie foram separadamente secos em estufa ($50 \text{ }^\circ\text{C}$) até massa constante. Depois foram fragmentados e homogeneizados.

4.4. Procedimentos de laboratório

4.4.1. Incubações *in vitro*

Fragmentos das macrófitas aquáticas íntegras foram incubados em frascos de vidro (100 ml), na proporção de 10 g peso seco (PS) L^{-1} de água da lagoa do Óleo (BIANCHINI Jr. et al., 2002). Para cada espécie foram incubados separadamente 30 frascos no escuro, sob temperatura controlada ($22,5 \text{ }^\circ\text{C}$) e em condição anaeróbia. A temperatura selecionada para as incubações refere-se à média obtida no ambiente em

inventário realizado em 2008 (Sciessere, L; dados não publicados). Os frascos foram mantidos fechados e somente foram abertos nos respectivos dias de amostragem.

4.4.2. Fracionamento da MOP (fibras) e MOD

Em dias previamente determinados (dias: 1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90), o conteúdo total dos frascos (n=3) de cada espécie, foram fracionados em MOP e MOD por filtração em membrana de fibra de vidro AP20 ($\phi = 1,2 \mu\text{m}$; marca Millipore); foi utilizada uma membrana por frasco.

4.4.3. Análises dos resíduos particulados remanescentes

As amostras de MOP foram secas em estufa à 40 °C, até massa constante, sendo estas determinadas por gravimetria (WETZEL & LIKENS, 1991).

4.4.4. Teor de cinzas

Os teores de cinzas das amostras dos detritos particulados foram determinados por calcinação em mufla (Edgcon 3P) durante 2 horas a 550 °C (WETZEL & LIKENS, 1991). O teor foi subtraído da massa final de cada amostra para a obtenção do teor de matéria orgânica (%).

4.5. Modelagem matemática

4.5.1. Balanço de carbono

Nos dias amostrais, determinaram-se as concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD) por combustão controlada (TOC analyser: marca Shimadzu, modelo TOC-5000A). A partir da determinação das concentrações, foram efetuadas as conversões para quantificar as frações de COD nas amostras.

A partir da fração particulada (MOP), foi quantificado o conteúdo de carbono orgânico particulado (COP) na amostra. Esta determinação foi obtida pela multiplicação da massa das amostras livres de cinzas (MOP) pelo fator 0,47 (WETZEL, 2001).

Os teores de carbono mineralizado foram estimadas de acordo com a Equação 1.

$$CM_t = COT_0 - COP_t - COD_t \quad (1),$$

em que: CM_t = carbono mineralizado no tempo; COT_0 = carbono orgânico total no início do experimento; COP_t = COP remanescente no tempo e COD_t = COD remanescente no tempo.

4.5.2. Rotas de mineralização

Admitindo que as cinéticas de perda de massa das espécies estudadas são de 1ª ordem foram utilizadas as Equações de 2 a 5 para representar o processo conforme sugerido por BIANCHINI Jr. (2000). As obtenções dos parâmetros cinéticos ocorrem através de regressões não-lineares, utilizando-se o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (PRESS et al., 1993).

$$IN_1 = \frac{k_1}{k_t} COP_{LS}(1 - e^{-k_T t}) \quad (2),$$

$$IN_2 = \frac{k_2}{k_t} COP_{LS} \left(1 + \frac{k_B}{k_T - k_B} e^{-k_T t} + \frac{k_T}{k_B - k_T} e^{-k_B t} \right) \quad (3),$$

$$IN_3 = COP_R(1 - e^{-k_R t}) \quad (4),$$

$$CM = \sum_{i=1}^3 IN_i \quad (5),$$

em que: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lábil/ solúvel (%); COP_R = carbono orgânico particulado refratário (%); $COP_L = k_1/k_T COP_{LS}$; COP_L = carbono orgânico particulado dissolvido (%); $COD = k_2/k_T COP_{LS}$; CM = carbono mineralizado (%); e = base logaritmo natural; t = tempo (dia); k_T = coeficiente global de decaimento da COP_{LS} (k_1+k_2) (dia^{-1}); k_1 = coeficiente de mineralização das frações solúveis de COP_{LS} , obtido da lixiviação (dia^{-1}); k_3 = coeficiente de mineralização do COD (dia^{-1}); k_R = coeficiente de mineralização da COP_R (dia^{-1}); IN_{1-3} = compostos inorgânicos produzidos através das 3 rotas de mineralização (%).

4.5.3 Perda de massa (em base de COP)

As variações temporais do COP remanescente (livre de cinzas) foram ajustadas a um modelo de decaimento bifásico (LOUISIER & PARKINSON, 1976; JENKINSON, 1977), usando-se como método o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (PRESS et al., 1993), de acordo com a Equação 6:

$$COP = (COP_{LS} \times e^{-k_T t}) + (COP_R \times e^{-k_R t}) \quad (6),$$

em que: COP_{LS} = teor de carbono orgânico lábil e solúvel (%); COP_R = teor de carbono

orgânico refratária (%); $k_T = k_1 + k_2$; coeficiente global de perda de massa da porção lábil/solúvel (= coeficiente de mineralização lábil (k_1) + coeficiente de lixiviação solúvel (k_2) (dia^{-1}); k_R = coeficiente de perda de massa da porção refratária (k_R) (dia^{-1}).

O tempo de meia-vida de decaimento de cada fração de carbono (lábil/solúvel e refratário) ($t_{1/2}$) foi calculado de acordo com a Equação (7).

$$t_{1/2} = \ln(0.5)/-k \quad (7),$$

em que: k = coeficiente de perda de massa de cada fração da planta; para COP_{LS} , o coeficiente usado foi k_T ; e para COP_{R} , o coeficiente usado foi k_R .

4.5.4 Atividade enzimática

4.5.4.1 Extração do extrato enzimático

Nos dias pré-determinados (1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60 e 90 dias), três incubações de cada espécie foram abertas para a determinação das atividades enzimáticas na MOP e na MOD. Após a filtração de cada câmara de mineralização, foram retiradas 2 subamostras contendo 10 ml de MOD e 0,3 g de massa fresca de MOP (i.e. detrito de macrófita). Estas foram homogeneizadas em Ultra-turrax (marca IKA; Modelo T10), desagregadas em ultrasom (marca Unique; Modelo 1400A) e centrifugadas (3.000 g, 30 min, 4 °C) de modo que o extrato enzimático correspondesse à fração sobrenadante. Os ensaios enzimáticos de cada câmara foram realizados em duplicata as atividades enzimáticas foram quantificadas.

4.5.4.2. Determinação da celulase (C₁)

A atividade celulolítica foi avaliada pelo método de MANDELS et al. (1976), que consiste em determinar a formação de açúcares redutores, liberados da ação da celulase sobre um substrato cristalino. A mistura de reação constituiu-se de 50 mg de papel de filtro Whatman nº 1 (tiras de 1cm × 6 cm), 2,0 ml de tampão citrato de sódio 0,05 M (pH 4,8) e 3,5 ml do extrato enzimático. As amostras foram, então, incubadas por 60 min a 50 °C. Após este período, uma alíquota de 1,0 ml de amostra foi retirada e realizou-se a quantificação dos açúcares redutores pelo método colorimétrico de SOMOGYI (1952). As concentrações de açúcares redutores destas amostras foram determinadas em espectrofotômetro a 540 nm e comparadas à uma curva padrão previamente elaborada com glicose. Uma unidade de atividade corresponde a 1µmol de glicose liberado por minuto de reação por mililitro (JACKSON, 1995).

4.5.4.3. Determinação da xilanase (EC 3.2.1.8)

A atividade da xilanase foi determinada pelo método modificado de GHOSE & BISARIA (1987), que consiste em determinar os açúcares redutores liberados sobre um extrato de xilana. A mistura de reação constituiu-se de 1,5 ml de solução de 1% xilana preparada em 100 ml de tampão Na-Citrato 0,05 M em pH 5,2 e 3,5 ml do extrato enzimático. As amostras foram incubadas por 10 minutos a 50 °C. Após esse período, 1 ml de amostra foi retirado e a partir destes volumes foi quantificada a concentração de açúcares redutores pelo método de SOMOGYI (1952). As concentrações de açúcares redutores dessas amostras foram determinadas em espectrofotômetro a 540 nm e comparadas à uma curva padrão previamente elaborada com glicose. Uma unidade de

atividade corresponde a 1 μmol de glicose liberado por minuto de reação por mililitro (JACKSON, 1995).

4.5.4.4. Modelagem matemática da produção temporal enzimática

As variações temporais das atividades de celulase e xilanase foram ajustadas a um modelo exponencial utilizando-se regressões não lineares (algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt), como proposto por PRESS et al. (1993). Os valores dos coeficientes de atividade enzimática de celulase e xilanase (k_p) derivaram dos ajustes. Nestes procedimentos, a evolução temporal da produção enzimática foi descrita pela Equação 8:

$$E = E_{max} (1 - e^{-k_p t}) \quad (8),$$

em que: E = produção acumulada de enzimas ($\text{mol min}^{-1} \text{ml}^{-1} \text{g}^{-1}$); E_{max} = valor máximo de produção enzimática ($\text{mol min}^{-1} \text{ml}^{-1} \text{g}^{-1}$), sendo que para celulase foi denominado C_{max} e para xilanase foi denominado como X_{max} ; k_p = coeficiente de produção enzimática (dia^{-1}), sendo k_C para celulase e k_X para xilanase e t = tempo (dia).

O tempo de duplicação ($D_{1/2}$) de produção enzimática máxima foi calculado de acordo com a Equação 9.

$$D_{1/2} = \ln(2)/k \quad (9).$$

em que: k = coeficiente de produção enzimática, sendo que para celulase, o k usado é o k_C e para xilanase o k_X .

4.6. Quantificação do teor inicial de celulose e hemicelulose

As quantificações dos teores iniciais de celulose foram obtidas pela digestão de 0,5 g (PS) de cada amostra com 16,5 ml de reagente ácido (400 ml de ácido acético + 100 ml de água destilada + 12,5 ml de ácido nítrico) durante 20 minutos a 100 °C e posteriores lavagens com 20 ml de etanol, 20 ml de benzeno e 20 ml de éter. As amostras foram colocadas em estufa a 50 °C até peso constante e os teores de celulose foram então quantificados por gravimetria (CRAMPTON & MAYNARD, modificado por MATRANE, 1949).

Os teores iniciais de hemicelulose foram quantificados de acordo com HAN & ROWELL (1997) em que 1 g de amostra de planta seca foi adicionada a 32 ml de água destilada, 0,2 ml de ácido acético e 0,4 g de clorito de sódio (NaClO_2) e mantidas em 70° C (em banho-maria) durante 24 horas. Nas primeiras 6 horas de incubação, foram adicionados 0,4 g de NaClO_2 e 0,2 ml de ácido acético a cada hora. Após esta fase, a amostra foi colocada em estufa a 100 °C até atingir massa constante. Por gravimetria, obteve-se então o percentual de holocelulose, correspondente a esta primeira etapa. A amostra resultante de holocelulose foi então imersa em 10 ml de NaOH 17,5% e a cada 5 minutos foi adicionado mais 5 mL de NaOH 17,5% até os completar 15 minutos. Após esse tempo, a amostra foi mantida em contato com a solução básica por mais 30 minutos, totalizando 45 minutos. A mistura foi então filtrada em aparato alcali-resistente, lavada com NaOH 8,3% e mantida por 3 minutos imersa em ácido acético 10%. Após lavagem com água destilada por 3 vezes, a amostra foi seca em estufa a 100 °C e obteve-se por gravimetria a porcentagem de hemicelulose.

4.7. Determinação da variação de Condutividade Elétrica (CE), pH e índice de humificação (E4/E6) da MOD das incubações

A partir de alíquotas da MOD obtida nos dias amostrais foram determinados os valores de condutividade elétrica (método potenciométrico) com um condutivímetro (marca Digimed, modelo DM3), de pH (método potenciométrico) com um pH-metro (marca Qualxtron, modelo 8010) e o índice de humificação (método colorimétrico) com espectrofotômetro (marca Ultrospec, modelo 2100 PRO) a 465 nm (E4) e 665 nm (E6). Os valores do potencial de humificação foram obtidos pela razão E4/E6.

4.8. Análises estatísticas

Devido ao padrão de distribuição normal, os valores das variações temporais de perda de COP foram submetidos ao teste não paramétrico ANOVA. As atividades enzimáticas e formação de Carbono Mineralizado (CM) não apresentaram distribuição normal dos dados, então foram submetidos ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (KW). Para isso foi adotado um nível de significância alfa de 0,05.

5. RESULTADOS

5.1. Descrição das espécies encontradas

Nos inventários foram catalogados 10 taxa de macrófitas aquáticas na lagoa do Óleo, cujas descrições estão relacionadas:

5.1.1. *Cabomba furcata*: Schult. & Schult. F. (Família Cabombaceae) é uma macrófita aquática submersa fixa (Figura 7A; ANEXOS XI-c e XI-d). A porção submersa apresenta um caule delicado, com três folhas por verticilo. As folhas flutuantes são sagitadas, com 1 cm de comprimento e mantém a flor unissexuada e de tamanho reduzido (SOUZA & LORENZI, 2005).

5.1.2. *Egeria najas*: (Família Hydrocharitaceae) é uma macrófita aquática submersa fixa (Figura 7B; ANEXOS XII-a e XII-b), que apresenta grande capacidade de propagação vegetativa principalmente em ambientes de rios e reservatórios (POTT & POTT, 2000; MACHADO et al., 2008). Sua ocorrência costuma ser frequente e dominante nas áreas que ocupa (POTT & POTT, 2000).

5.1.3. *Utricularia breviscapa*: (Família Lentibulariaceae) são plantas perenes sem raízes, podendo flutuar ou estar fixas por meio de apêndices radiculares (FIGURA 7C; ANEXO XIII-d). Possuem folhas emergentes inteiras, peitadas, reniformes a lineares e talóides, em geral com armadilhas na base; apresentam folhas submersas capilares e geralmente muito ramificadas, contendo armadilhas vesiculiformes ovóides ou globulosas (NOTARE, 1992).

5.1.4. *Ludwigia inclinata*: (Família Onagraceae) É uma espécie submersa fixa que possui folhas verdes ou avermelhadas e flores emergentes (Figura 7D; ANEXO XIII-a). Cresce geralmente em ambientes aquáticos que apresentam secas sazonais e formam conjuntos puros (POTT & POTT, 2000).

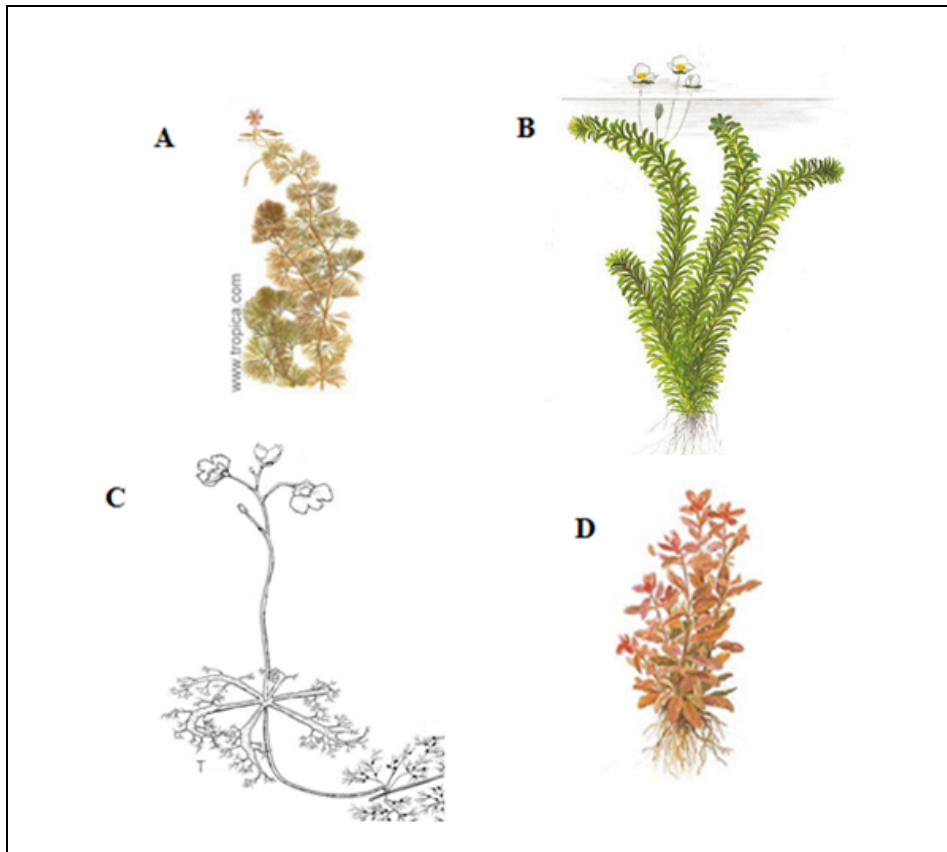


Figura 7: Espécies submersas de macrófitas aquáticas: (A) *Cabomba furcata* (AQUABUBULLE, 2009); (B) *Egeria najas* (AQUARIUM AND POUND PLANTS OF THE WORD, 2010); (C) *Utricularia breviscapa* (modificado de IFAS, 2010) e (D) *Ludwigia inclinata* (AQUARIOONLINE, 2010).

5.1.5. *Salvinia* sp: (Família Salviniaceae) é uma espécie de macrófita aquática flutuante livre, anual ou perene; a folha mede 2,5 × 2,0cm, as raízes (i.e. folhas modificadas) partem de uma estrutura em forma de âncora (FIGURA 8A; ANEXO XII-b). Essa espécie é pioneira na sucessão em locais perturbados ou em corpos d'água novos após a

seca, podendo cobrir totalmente a superfície em poucas semanas (POTT & POTT, 2000).

5.1.6. *Ricciocarpus natans*: (Família Ricciaceae) é uma erva flutuante com comprimento entre 1 a 1,5 cm (FIGURA 8B). É uma briófita de regimes anual ou perene. Ocorre em planícies de inundação de rios e pode crescer como vegetação pioneira ou entre a vegetação aquática já existente. Sua distribuição geográfica abrange quase todo o mundo. (POTT & POTT, 2000).

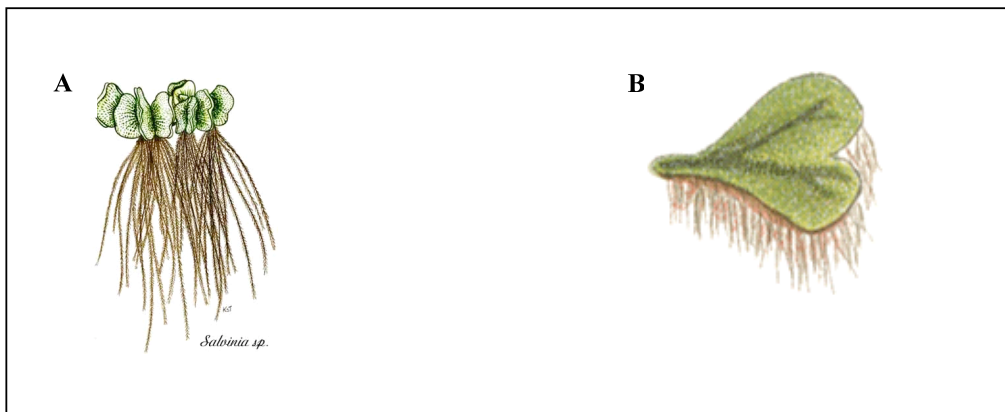


Figura 8: Espécies flutuantes de macrófitas aquáticas: (A) *Salvinia* sp. (TAVARES, 2010) e (B) *Ricciocarpus natans* (LEPP, 2009).

5.1.7. *Eichhornia azurea*: (Família Pontederiaceae) Conhecida vulgarmente por aguapé é muito comum no Brasil. Possui ramificação simpodial flutuante ou rastejante e pode alcançar grandes comprimentos (Figura 9A; ANEXOS XI-a e XI-b). Apresenta dimorfismo foliar, com folhas submersas e afiladas que quando adultas encontram-se emergentes e arredondadas. Apresenta-se fixa ao substrato (SILVA, 1992).

5.1.8. *Polygonum meissnerianum*: (Família Polygonaceae) É uma espécie emergente, com característica trepadora, que mede entre 0,2 a 1,0 metro de altura (Figura 9B;

ANEXO XIII-c). Possui pecíolos com pequenas farpas e inflorescências abertas. Sua propagação ocorre por porções do caule ou através de sementes. Esta espécie pode ser encontrada com habitat anfíbio ou aquática ocasional (POTT & POTT, 2000).

5.1.9. *Oxycaryum cubense*: (Família Cyperaceae) é uma planta emergente, porém inicialmente epífita encontrada principalmente na zona litoral de sistemas lênticos (Figura 9C; ANEXO XII-c). Possuem rizomas que se expandem, longos estolões e raízes que alcançam 1 metro (POTT & POTT, 2000).

5.1.10. *Cyperus giganteus*: (Família Cyperaceae) composta por vegetais de hábito herbáceo, que habitam áreas brejosas ou alagadiças. Apresenta colmos que podem atingir até dois metros de altura, na extremidade do qual se encontra uma umbela com inúmeras folhas linear-lanceoladas (Figura 9D), com nervação paralela e bainha bem desenvolvida (JOLY, 1977; HOENE, 1948).

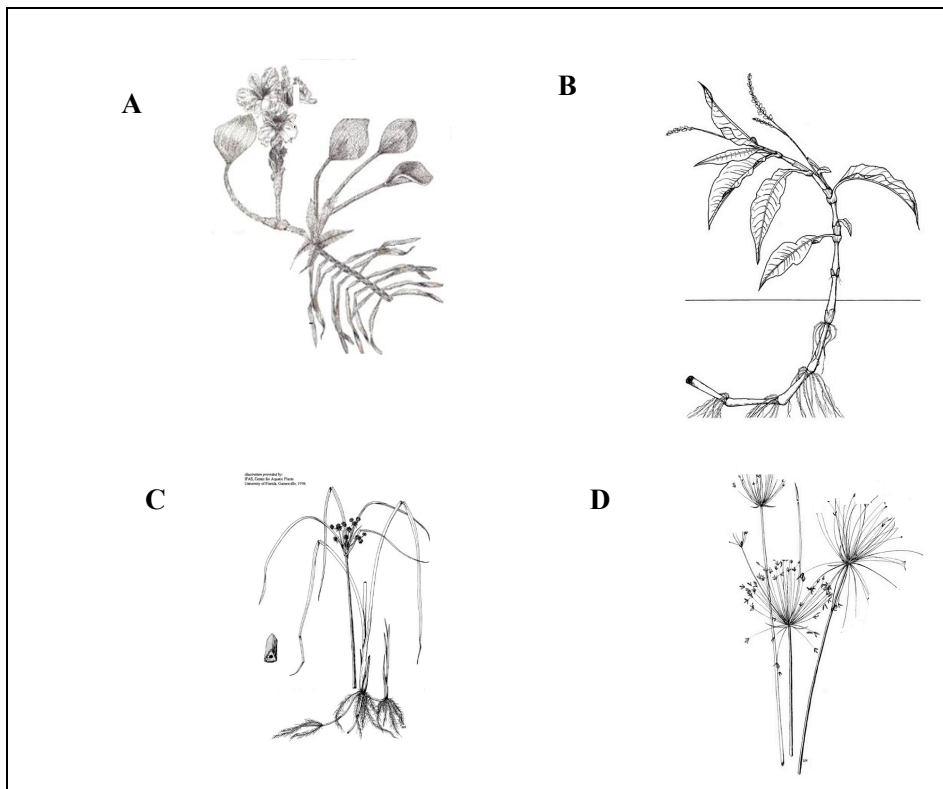


Figura 9: Espécies emergentes de macrófitas aquáticas: (A) *Eichhornia azurea* (ARBO, 2010) (B) *Polygonum meissnerianum* (modificado de IFAS, 2010); (C) *Oxycaryum cubense* (modificado de IFAS, 2009) e (D) *Cyperus giganteus* (modificado de IFAS, 2010).

5.2. Decaimento do COP

A variação temporal do COP apresentou um padrão de perda de massa bifásico na degradação de todas as espécies selecionadas (Figuras 10 e 11), sendo observadas perdas de massas mais rápidas no início do experimento.

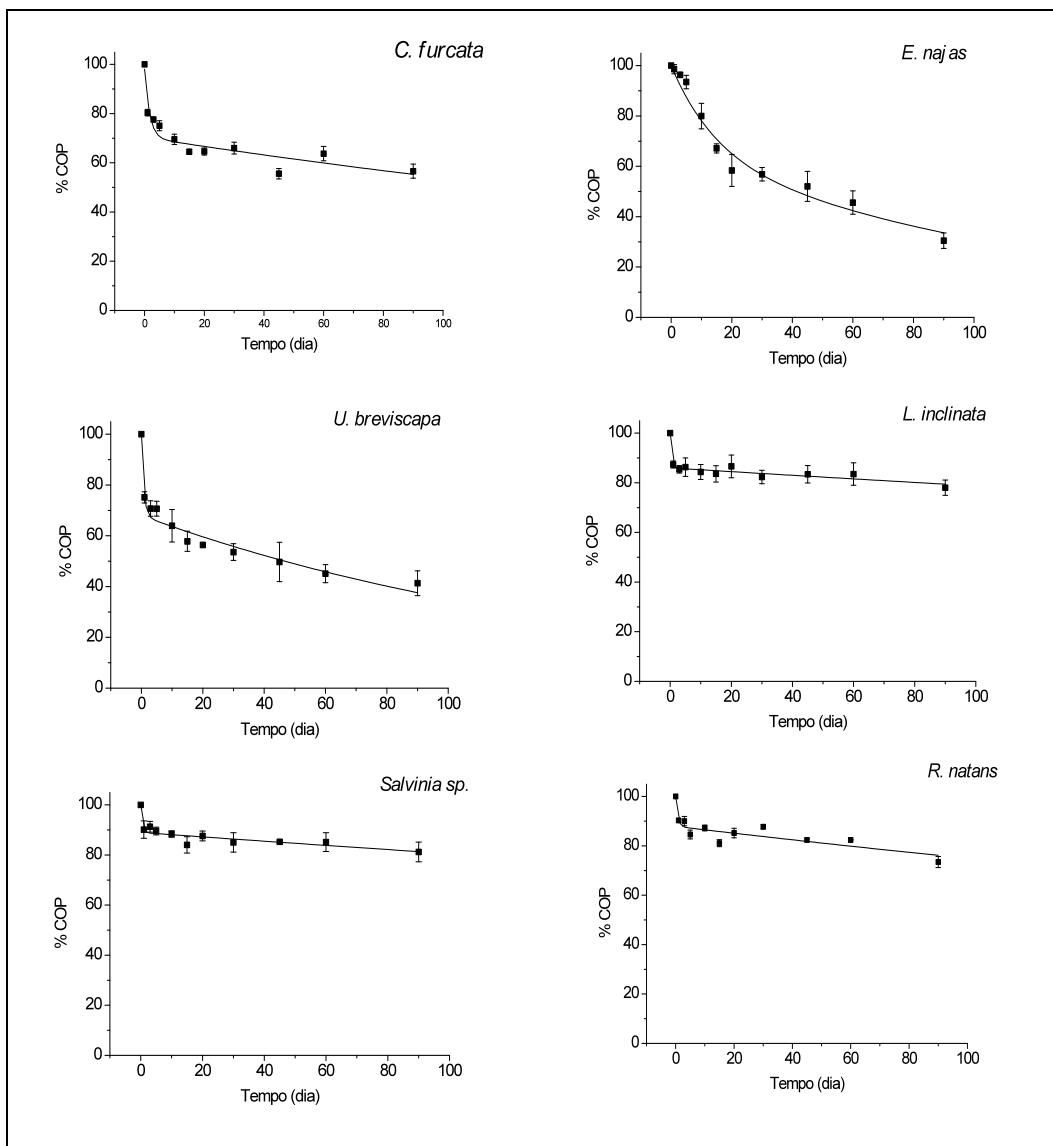


Figura 10: Variações temporais de COP da decomposição dos detritos de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa*, *L. inclinata*, *Salvinia sp.* e *R. natans*.

Na sequência, os detritos de todas as espécies apresentaram perdas de massa lentas (representado pela menor inclinação da reta).

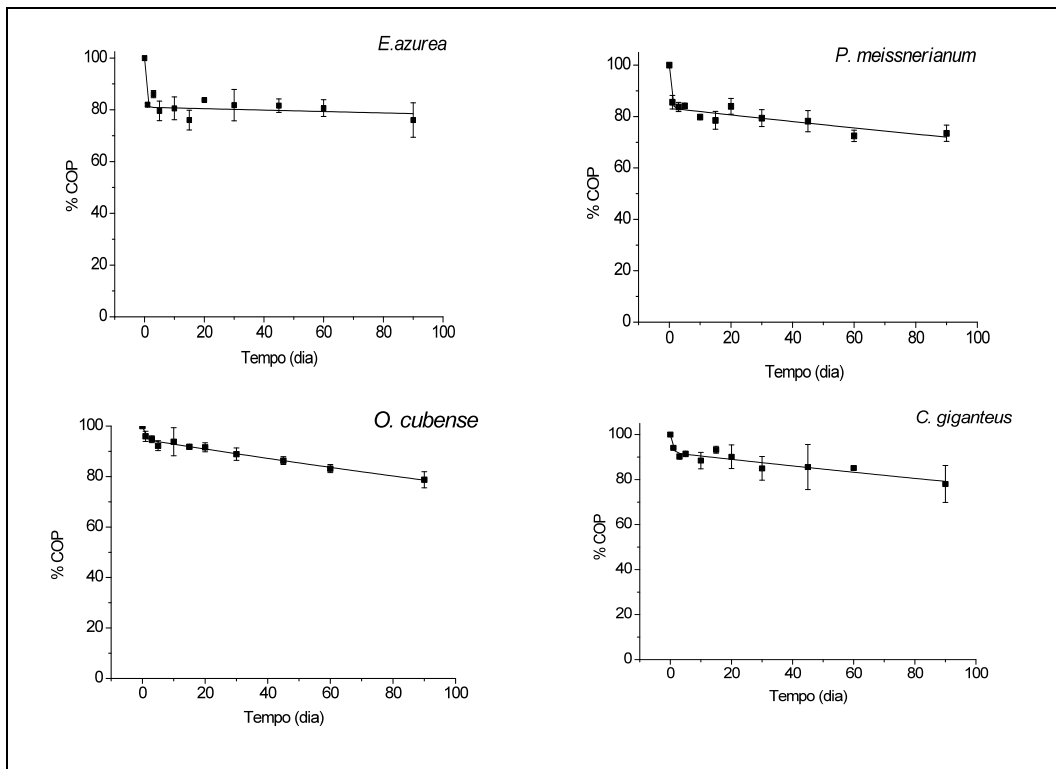


Figura 11: Variações temporais de COP da decomposição dos detritos de *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

Nas Tabelas 3 e 4 são apresentados os parâmetros obtidos dos ajustes cinéticos para as decomposições das espécies selecionadas. Os valores de COP_{LS} variaram de 5,2 (*O. cubense*) até 35% (*E. najas*) e os de COP_R variaram de 65 (*E. najas*) até 94,2% (*O. cubense*). Pelos valores apresentados, é possível observar que em todos os casos as frações refratárias destas plantas foram de 1,86 (*E. najas*) até 18,23 vezes (*O. cubense*) maiores que as frações lábeis.

Os valores de k_T variaram entre 0,07 (*E. najas*) e 2,88 dia^{-1} (*E. azurea*), apresentando $t_{1/2}$ de mineralização desta fração lábil de 10,2 e 0,3 dias, respectivamente. Os valores de k_R variaram entre 0,00035 ($t_{1/2} = 1980$ dias; *E. azurea*) e 0,0076 dia^{-1} ($t_{1/2} = 91$ dia; *E. najas*). Os valores de k_T foram, em média, 1.753 vezes maiores do que os de k_R .

Os ajustes dos resultados experimentais ao modelo matemático adotado apresentaram coeficientes de determinação (r^2) elevados, variando de 0,82 (*E. azurea*) até 0,99 (*O. cubense*) (Tabela 4).

Tabela 3: Parâmetros cinéticos da variação temporal de perda de massa da fração lábil solúvel; em que: COP_{LS} = fração lábil e solúvel do carbono orgânico particulado (%); k_T = coeficiente de decaimento global (= coeficiente de mineralização da fração lábil + coeficiente de lixiviação); $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida.

	COP_{LS} (%)	Erro	k_T (dia⁻¹)	erro	$t_{1/2}$ (dia)
<i>C. furcata</i>	28,5	-	0,61	0,28	1,14
<i>E. najas</i>	35	-	0,07	0,01	10,19
<i>U. breviscapa</i>	32	-	1,34	0,35	0,52
<i>L. inclinata</i>	14	-	2,29	0,95	0,30
<i>Salvinia</i> sp.	10,4	2,7	2,70	1,22	0,26
<i>R. natans</i>	12,1	3,4	1,41	1,16	0,49
<i>E. azurea</i>	19	-	2,88	2,71	0,24
<i>P. meissnerianum</i>	16,7	-	1,92	0,84	0,36
<i>O. cubense</i>	5,2	0,9	1,31	0,64	0,53
<i>C. giganteus</i>	8	-	1,38	0,92	0,50

Tabela 4: Parâmetros cinéticos da variação temporal de perda de massa da fração refratária, onde: COP_R = fração refratária do carbono orgânico particulado; k_R = coeficiente de mineralização da fração refratária; $t_{1/2}$ = tempo de meia-vida.

	COP_R (%)	Erro	k_R (dia⁻¹)	erro	$t_{1/2}$ (dia)	r^2
<i>C. furcata</i>	71,5	-	0,0027	0,0010	259,0	0,92
<i>E. najas</i>	65,0	-	0,0076	0,0010	91,2	0,97
<i>U. breviscapa</i>	68,0	-	0,0066	0,0005	105,0	0,97
<i>L. inclinata</i>	86,0	-	0,0009	0,0001	787,7	0,95
<i>Salvinia</i> sp.	89,6	1,06	0,0010	0,0003	693,1	0,90
<i>R. natans</i>	87,9	1,6	0,0016	0,0005	433,0	0,86
<i>E. azurea</i>	81,0	-	0,0003	0,0003	1980,4	0,82
<i>P. meissnerianum</i>	83,3	-	0,0016	0,0002	433,2	0,93
<i>O. cubense</i>	94,8	0,4	0,0021	0,0001	330,0	0,99
<i>C. giganteus</i>	92,0	-	0,0016	0,0002	417,6	0,91

5.3. Atividade enzimática da celulase e xilanase

As variações temporais das atividades de celulase e xilanase são apresentadas nas Figuras 12 e 13. Para todas as incubações, a produção de xilanase foi em média 16,63 vezes maior do que a de celulase.

A produção de celulase não apresentou grandes variações, exceto no caso das degradações dos detritos de *C. furcata*, *E. azurea* e *P. meissnerianum*, nas quais as atividades apresentaram picos de produção celulolítica no início do processo (primeiros dias).

As atividades celulolíticas apresentaram os seguintes padrões de variação (Figuras 12 e 13): (i) houve maior atividade de celulase nos primeiros dias do processo seguida de decréscimo e pequenas variações; (ii) As incubações com *O. cubense* e *C. giganteus* apresentaram atividades celulolíticas crescentes durante este período; (iii) As incubações com *Salvinia* sp. apresentaram atividade muito baixa de celulase, com pequenos picos.

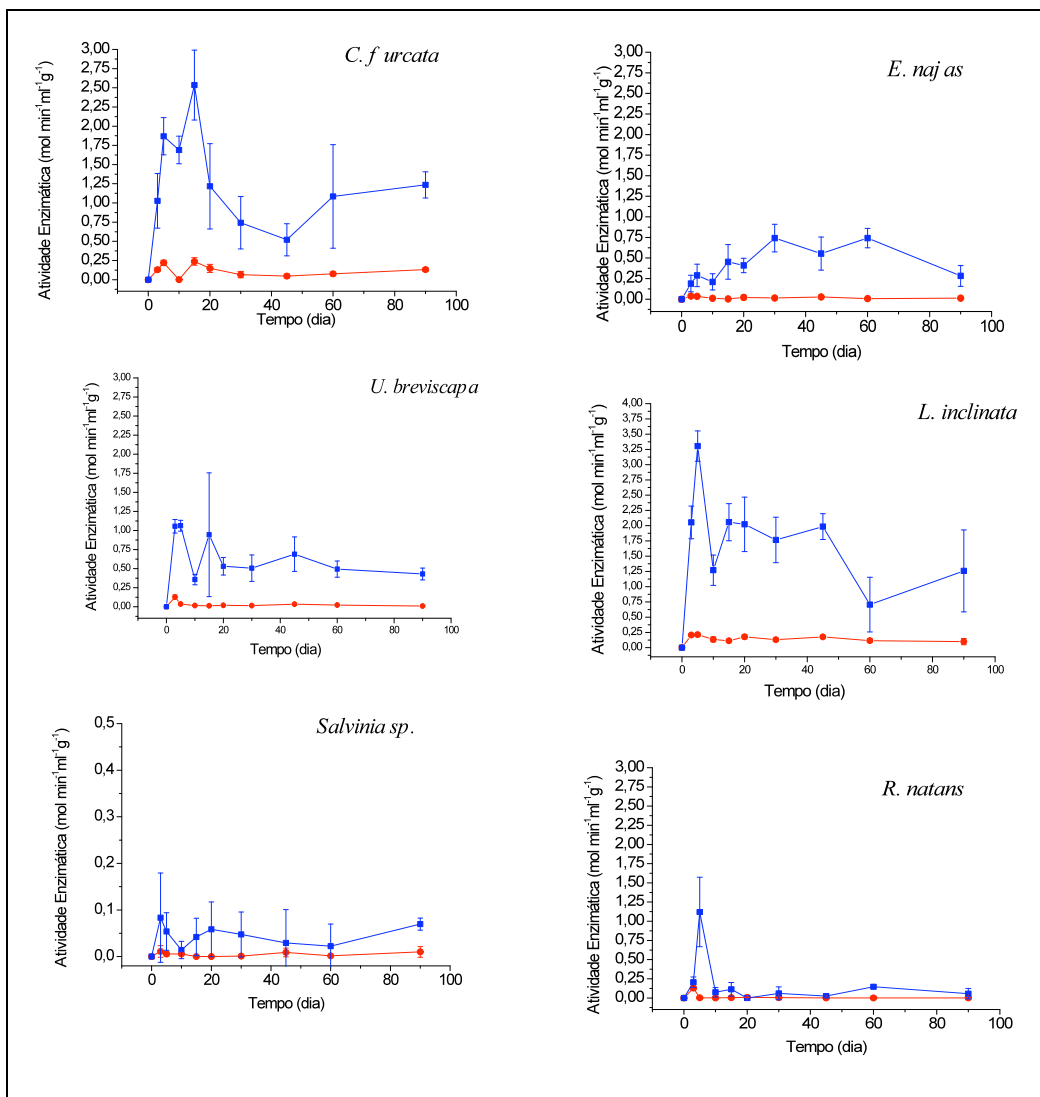


Figura 12: Variações temporais das atividades das enzimas celulase (●) e xilanase (■) durante a decomposição de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa*, *L. inclinata*, *Salvinia sp.* e *R. natans*.

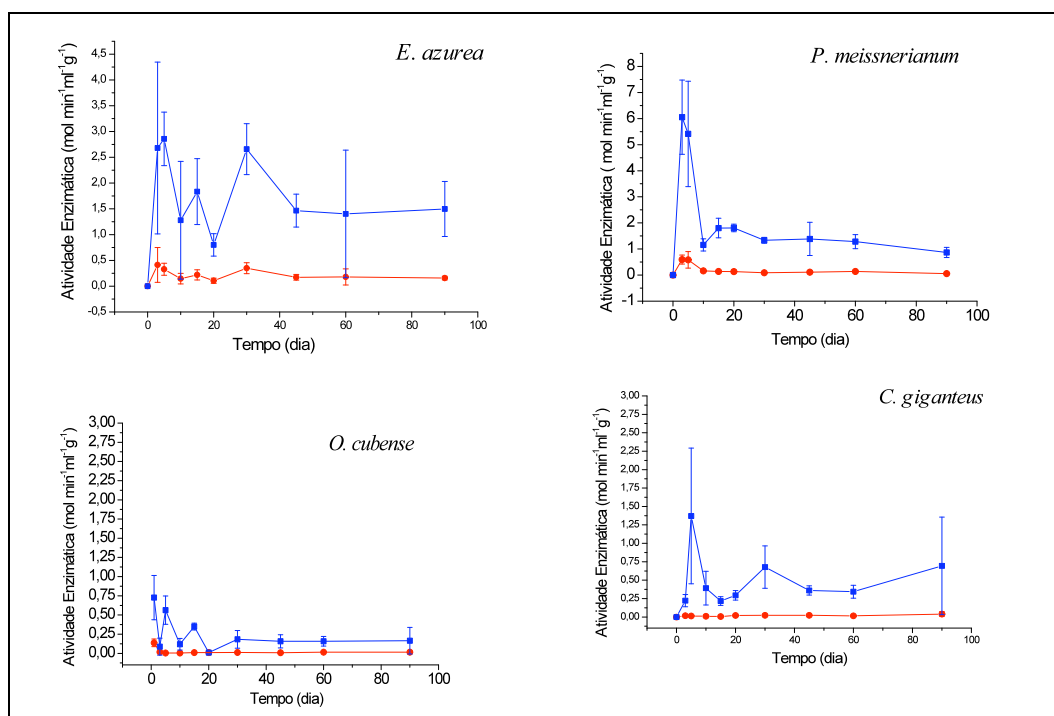


Figura 13: Variações temporais das atividades das enzimas celulase (●) e xilanase (■) durante a decomposição de *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

A atividade xilanolítica apresentou-se maior no início da degradação seguido de queda nos valores, nos casos de *C. furcata*, *O. cubense*, *R. natans* e *P. meissnerianum*. Na degradação das demais espécies, a atividade xilanolítica manteve-se estável com algumas oscilações por todo o período observado.

No caso da xilanase, os padrões temporais encontrados foram: (i) Um pico de atividade logo no início do processo, seguido de decaimento da atividade entre o 3º e o 5º dias que permanece baixa e constante (*P. meissnerianum* e *R. natans*); (ii) Maior atividade nos primeiros 15 dias, seguida de queda e permanência da baixa intensidade (*U. breviscapa* e *O. cubense*), (iii) Alta atividade nos primeiros dias seguida de diminuição entre o 20º e 40º dias, e aumento da atividade após o 45º a 60º dias (*C. furcata*, *C. giganteus*, *L. inclinata*, *E. azurea* e *Salvinia* sp.) e (iv) Aumento constante

do processo no período compreendido pelo experimento e início de queda da atividade a partir do 60º dia (*E. najas*). Embora haja vários padrões de produção de enzimas, nenhum desses padrões, quando comparados por espécies apresentou resultados corroborados pela estatística adotada.

Nas Tabelas 5 e 6 são apresentados os resultados obtidos a partir da modelagem matemática da produção de celulase e de xilanase acumulada ao longo do período do experimento. A maior diferença entre as atividades de xilanase e de celulase ocorreu na decomposição de *O. cubense*, na qual a produção de xilanase acumulada foi 43,43 vezes maior que a produção acumulada de celulase e a menor diferença, 3,32 vezes, ocorreu para *P. meissnerianum*.

Tabela 5: Parâmetros da modelagem matemática das atividades enzimáticas acumuladas da celulase, onde: C_{max} = máxima produção de celulase; k_c = coeficiente de produção de celulase; $D^{1/2}$ = tempo de duplicação.

	C_{max} ($\text{mol min}^{-1} \text{ml}^{-1} \text{g}^{-1}$)	erro	k_c (dia^{-1})	Erro	$D^{1/2}$ (dia)	r^2
<i>C. furcata</i>	10,384	1,369	0,026	0,007	26,17	0,99
<i>E. najas</i>	1,717	0,225	0,030	0,008	23,31	0,94
<i>U. breviscapa</i>	2,4	0,340	0,032	0,010	4,64	0,89
<i>L. inclinata</i>	21,364	2,892	0,010	0,002	66,39	0,99
<i>Salvinia</i> sp.*	—	—	—	—	—	—
<i>R. natans</i>	0,485	0,024	0,199	0,044	3,48	0,96
<i>E. azurea</i>	34,566	5,218	0,009	0,002	78,06	0,97
<i>P. meissnerianum</i>	13,283	1,152	0,040	0,008	17,36	0,96
<i>O. cubense</i>	2,873	1,815	0,007	0,005	105,66	0,98
<i>C. giganteus</i> *	—	—	—	—	—	—

(*) O modelo não se aplicou a esses resultados.

O C_{\max} variou de 0,485 mol min⁻¹ ml⁻¹ g⁻¹ (*R. natans*) a 34,566 mol min⁻¹ ml⁻¹ g⁻¹ (*E. azurea*) (Tabela 4). O $D_{1/2}$ para celulase variou de 3,48 dias para *R. natans* ($k_P=0,199$ dia⁻¹) até 105,66 dias para *O. cubense* ($k_P = 0,007$ dia⁻¹). Os coeficientes de determinação do modelo cinético (r^2) variaram entre 0,89 (*U. breviscapa*) e 0,99 (*C. furcata* e *L. inclinata*; Tabela 4).

O X_{\max} variou de 9,32 mol min⁻¹ ml⁻¹ g⁻¹ (*R. natans*) a 312,72 mol min⁻¹ ml⁻¹ g⁻¹ (*E. azurea*). O $D_{1/2}$ para xilanase variou de 24,48 dias para *C. furcata* ($k_P = 0,028$ dia⁻¹) e 495,11 dias para *U. breviscapa* ($k_P = 0,001$ dia⁻¹). Os coeficientes de determinação do modelo cinético (r^2) variaram entre 0,90 (*R. natans*) e 1,00 (*C. giganteus* e *U. breviscapa*; Tabela 5). Houve correlação ($r^2 = 0,72$) entre o X_{\max} e o C_{\max} das espécies, ou seja, em geral, as espécies que apresentaram maior atividade xilanolítica também apresentaram maior atividade celulotífica.

Tabela 6: Parâmetros obtidos da modelagem matemática das atividades enzimáticas acumuladas da xilanase, onde: X_{\max} = produção máxima de xilanase; k_x = coeficiente de produção de xilanase; $D_{1/2}$ = tempo de duplicação.

	X_{\max} (mol min ⁻¹ ml ⁻¹ g ⁻¹)	erro	k_x (dia ⁻¹)	Erro	$D_{1/2}$ (dia)	r^2
<i>C. furcata</i>	156,83	14,10	0,028	0,005	24,48	0,96
<i>E. najas</i>	23,94	4,06	0,012	0,003	57,91	0,98
<i>U. breviscapa</i>	31,18	28,34	0,001	0,001	495,11	1,00
<i>L. inclinata</i>	277,30	46,56	0,009	0,002	75,59	0,99
<i>Salvinia</i> sp.	138,34	54,31	0,004	0,002	164,25	0,99
<i>R. natans</i>	9,32	1,04	0,040	0,011	17,15	0,90
<i>E. azurea</i>	312,72	339,05	0,002	0,002	344,85	0,99
<i>P. meissnerianum</i>	83,97	10,58	0,011	0,002	61,67	0,99
<i>O. cubense</i>	124,77	16,66	0,020	0,005	35,35	0,96
<i>C. giganteus</i>	198,41	11,72	0,014	0,001	48,27	1,00

5.4. Rotas de mineralização do carbono

Nas Figuras 14 e 15 são apresentadas as variações temporais de carbono (COP; CM; COD). De modo geral, observou-se que o COP diminui ao longo do processo e o CM tendeu a aumentar.

Em quase todos os casos foi possível notar a presença de CM a partir do 1º dia de experimento; a quantidade inicial de COD variou nas incubações com cada espécie. Após o acréscimo de COD no 1º dia, para algumas incubações notou-se que as quantidades mantiveram-se constantes e, entre o 5º e o 15º dia tenderam ao declínio. As incubações com *E. najas* não apresentaram decréscimos de COD durante o período experimental.

Os resultados das parametrizações do modelo cinético para o balanço de carbono encontram-se nas Tabelas 6 e 7. Os dados referentes ao decaimento do carbono, i.e. a fração lábil e solúvel e refratária dos detritos das espécies selecionadas, assim como os respectivos coeficientes de mineralização e lixiviação já foram discutidos (Tabela 3 e 4; Item 5.2.).

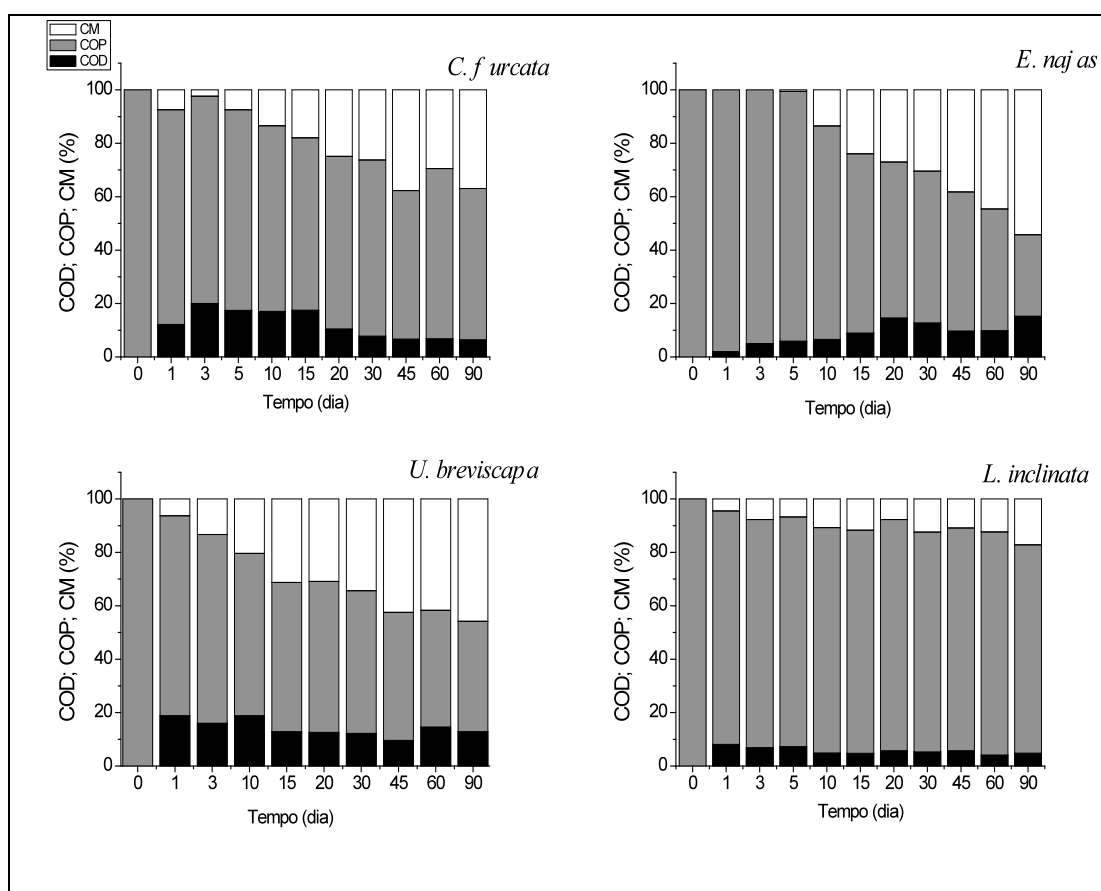


Figura 14: Variações temporais das concentrações de COP, COD e CM durante a decomposição anaeróbia de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa* e *L. inclinata*.

A partir dos ajustes cinéticos das concentrações de COD, encontrou-se que essa fração dos detritos foi baixa na decomposição de todas as espécies, em média 10,45%, variando de 1,04 (*Salvinia* sp.) a 21,92% (*C. furcata*). Os valores de k_3 variaram de 0 ($t_{1/2} \sim \infty$) (*C. giganteus*, *L. inclinata*, *C. furcata* e *E. azurea*) até 0,0435 dia^{-1} ($t_{1/2} = 15,92$ dias) (*R. natans*). Os valores de COP_L foram obtidos das subtrações dos valores de COP_{LS} e COD. Os teores de COP_L foram em média 7,65%, variaram de 1,82% (*O. cubense*) até 14,88% (*U. breviscapa*). As médias gerais obtidas através do balanço foram: 10,45% COD; 7,65% COP_L ; 81,92% COP_R . Da comparação entre os valores

experimentais e os simulados calcularam-se r^2 variando de 0,73 (*C. giganteus*) até 0,97 (*E. najas*).

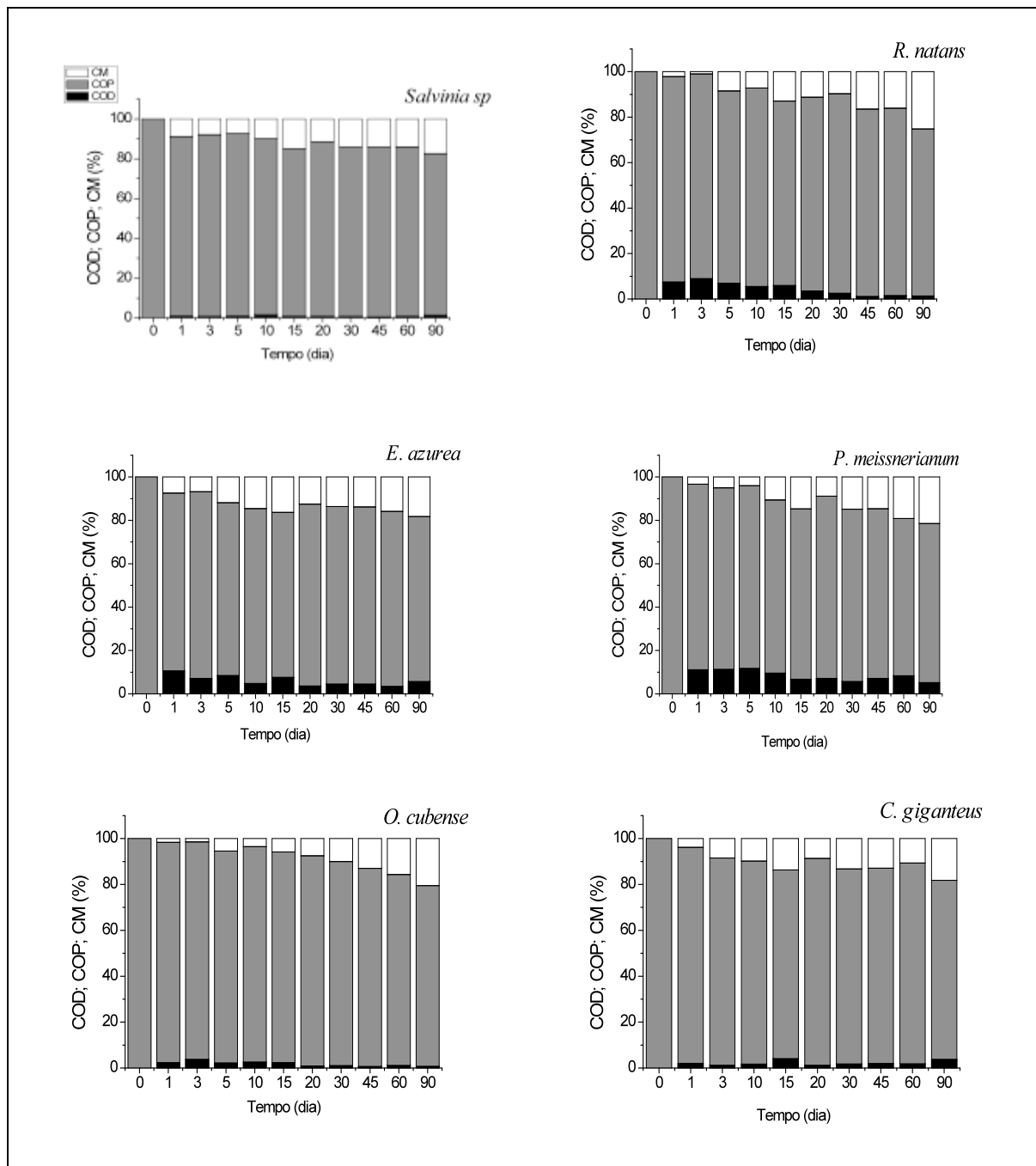


Figura 15: Variações temporais das concentrações de COP, COD e CM durante a decomposição anaeróbia de *Salvinia* sp., *R. natans*, *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

Tabela 7: Dados obtidos a partir da parametrização do modelo cinético para o balanço de carbono de *C. giganteus*, *Salvinia* sp., *U. breviscapa*, *P. meissnerianum* e *L. inclinata*; em que: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lábil e solúvel; COP_R = carbono orgânico particulado; COD_s = Carbono orgânico particulado solúvel; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de decaimento de COD_{LS}(k₁+k₂), dia⁻¹; (k₁ = coeficiente de mineralização dos compostos lábeis, dia⁻¹; k₂ = coeficiente de lixiviação dos componentes solúveis, dia⁻¹; k₃ = coeficiente de mineralização do carbono dissolvido ; k₄ = coeficiente de mineralização dos compostos refratários; t_{1/2} = tempo de meia vida.

	C. <i>giganteus</i>	Salvinia.	U. <i>breviscapa</i>	P. <i>meissnerianum</i>	L. inclinata
	erro	erro	erro	erro	erro
COP_{LS} (%)	8	10,43	32	16,7	14
COP_R (%)	92	89,57	68	83,3	86
COP_T (%)	5,75	9,39	14,88	5,97	3,67
COD (%)	2,25	1,04	17,12	10,73	10,33
k_T (dia⁻¹)	1,38	2,705	1,34	1,92	2,29
t ½ vida	0,5	0,26	0,52	0,36	0,3
K₃ (dia⁻¹)	0	0,001	0,00575	0,00954	0
t ½ vida	-	693,15	120,55	72,66	-
K_R(dia⁻¹)	0,00166	0,001	0,0066	0,0016	0,0009
t ½ vida	417,56	693,15	105,02	433,22	770,16
R²	0,73	0,86	0,9	0,82	0,83

Tabela 8: Dados obtidos a partir da parametrização do modelo cinético para o balanço de carbono da decomposição de *O. cubense*, *E. najas*, *C. furcata*, *R. natans* e *E. azurea*; em que: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lábil e solúvel; COP_R = carbono orgânico particulado; COD_s = Carbono orgânico particulado solúvel; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de decaimento de COD_{LS} (k_1+k_2), dia^{-1} ; (k_1 = coeficiente de mineralização dos compostos lábeis, dia^{-1} ; k_2 = coeficiente de lixiviação dos componentes solúveis, dia^{-1} ; k_3 = coeficiente de mineralização do carbono dissolvido ; k_4 = coeficiente de mineralização dos compostos refratários; $t_{1/2}$ = tempo de meia vida.

	<i>E. najas</i>	<i>O. cubense</i>	<i>C. furcata</i>	<i>R. natans</i>	<i>E. azurea</i>
	erro	Erro	erro	erro	erro
COP_{LS} (%)	35	5,2	28,5	12,1	19
COP_R (%)	65	94,8	71,5	87,9	81
COP_L (%)	20	1,82	6,58	2,63	5,79
COD (%)	15,05	3,38	21,92	9,47	13,21
k_T (dia^{-1})	0,068	1,31	0,61	1,41	2,88
$t_{1/2}$ vida	10,19	0,53	1,14	0,49	0,24
k_3 (dia^{-1})	0,00278	0,03397	0,00929	0,04353	0,00605
$t_{1/2}$ vida	249,33	20,40	-	15,92	-
k_R (dia^{-1})	0,0076	0,0021	0,0027	0,0016	0,0035
$t_{1/2}$ vida	91,2	330,07	256,72	433,22	1980,42
R^2	0,97	0,89	0,83	0,89	0,78

5.5. Variações temporais do pH da MOD das câmaras de decomposição

As variações temporais do pH das incubações durante a mineralização anaeróbia encontram-se nas Figuras 16 e 17. Observou-se que em todos os casos houve uma tendência ao aumento inicial do pH em relação ao valor inicial (dia 0).

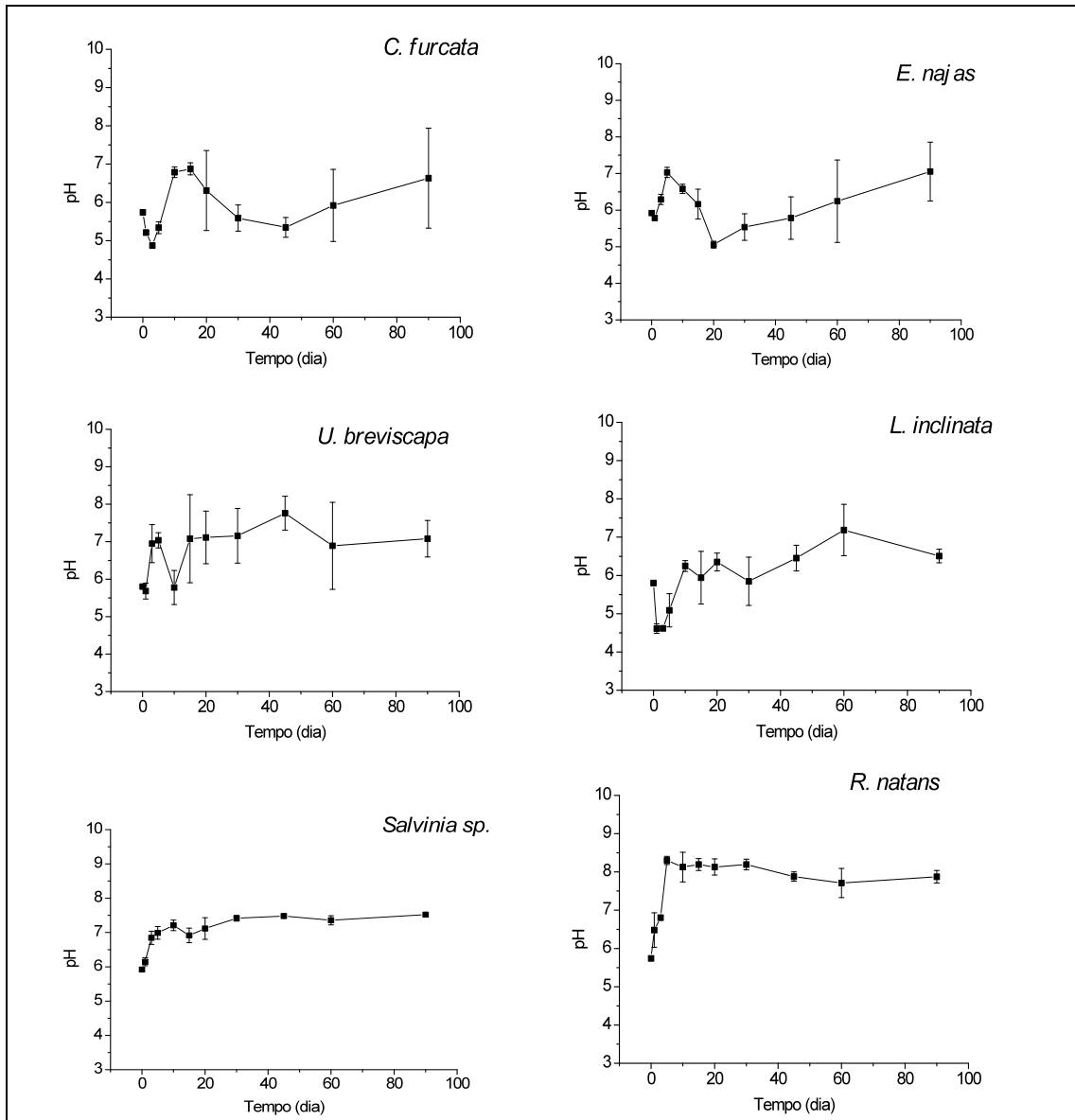


Figura 16: Variação temporal do pH durante a decomposição anaeróbia de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa*, *L. inclinata*, *R. natans* e *Salvinia sp.*

As incubações com *C. furcata*, *L. inclinata*, *E. azurea* e *P. meissnerianum* apresentaram declínio no pH seguido de acréscimo e estabilização do valor ou com pequenas variações. Desse grupo, a maior variação ocorreu na degradação de *P. meissnerianum*, cujo pH variou entre 3,82 (dia 1) e 7,15 (dia 90) e a menor ocorreu na degradação de *C. furcata*, que variou entre 4,87 (dia 3) e 6,88 (dia 15).

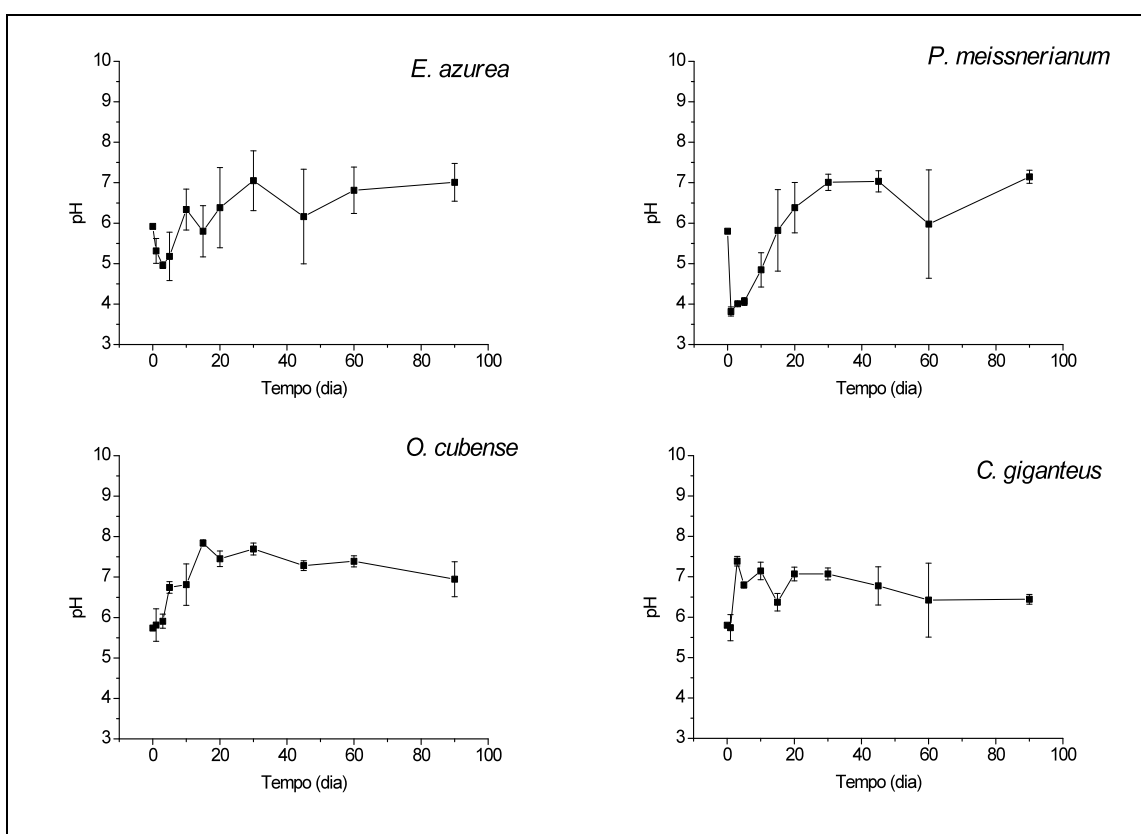


Figura 17: Variação temporal do pH durante a decomposição anaeróbia de *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

No caso da degradação de *O. cubense*, *E. najas*, *C. giganteus*, *R. natans*, *Salvinia* sp. e *U. breviscapa*, observaram-se acréscimos do pH no início. Após, tais valores mantiveram-se estáveis ao longo do experimento ou sofreram pequenas variações. A degradação de *R. natans* apresentou a maior variação de pH entre as incubações desse grupo. Essa variação foi de 5,74 (dia 0) a 8,30 (dia 5). Na degradação

de *E. najas* o pH variou entre 5,54 (dia 30) e 7,05 (dia 90), sendo a menor variação entre as espécies deste grupo.

5.6. Variações temporais de CE da MOD durante a decomposição

As variações temporais de CE durante a decomposição das espécies estão apresentadas nas Figuras 18 e 19.

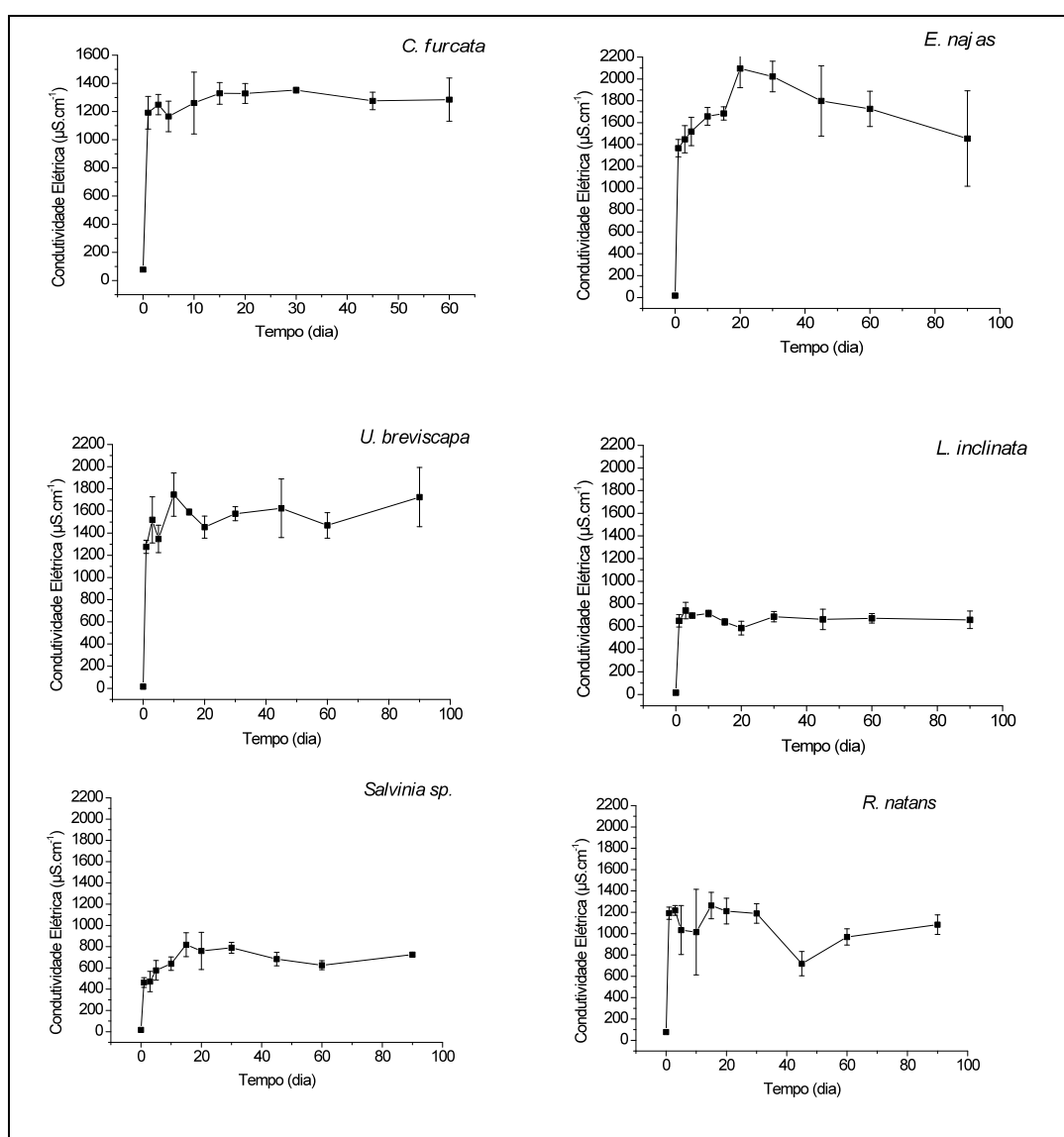


Figura 18: Variação temporal de CE durante a decomposição anaeróbia de *C. furcata*, *E. najas*, *L. inclinata*, *U. breviscapa*, *Salvinia sp* e *R. natans*.

Para todas as incubações, foram observados grandes acréscimos da CE no 1º dia. Após, os valores tenderam a estabilidade ou em alguns casos apresentaram pequenos decréscimos, como no caso das incubações com *R. natans*, *E. najas*, *Savinia* sp. e *C. giganteus*.

A partir da média dos valores de CE obtidos nos dias amostrais entre as espécies selecionadas, foi possível observar que na decomposição de *E. najas* ocorreu o maior acréscimo, com média de $1677,3 \mu\text{S cm}^{-1}$. Já a decomposição de *P. meissnerianum* apresentou o menor acréscimo médio ($547,1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

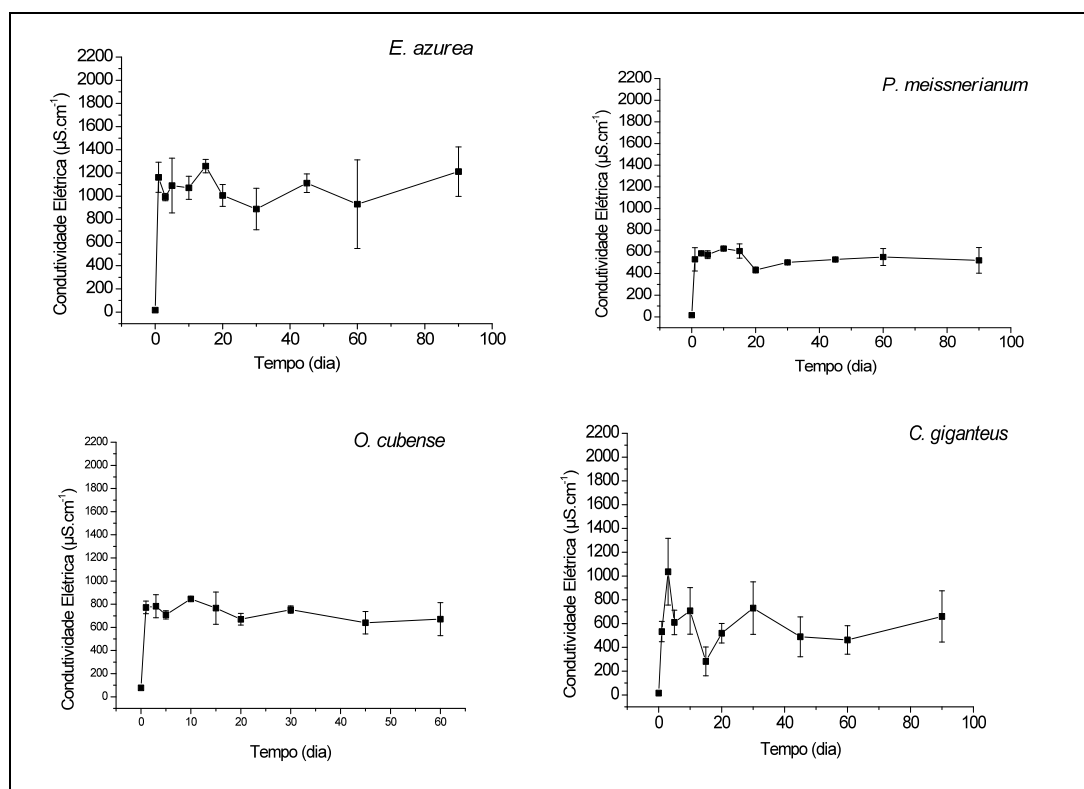


Figura 19: Variação temporal de CE durante a decomposição anaeróbia de *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

5.7. Variações temporais da razão E4/E6 da MOD durante a decomposição

As variações temporais da razão E4/E6 estão apresentadas nas Figuras 20 e 21. As diferentes incubações apresentaram padrões distintos de variação. Em alguns casos a

razão E4/E6 esteve próxima a 2 e manteve-se estável com poucas oscilações (*P. meissnerianum*, *L. inclinata* e *C. furcata*). As incubações com *E. najas* também oscilaram próximas a esse valor, porém apresentaram aumento (valor próximo a 5) no 10^o dia e retornaram a essa faixa após o 20^o dia. As incubações com *E. azurea* apresentaram aumentos na razão E4/E6 no 30^o e 90^o dia.

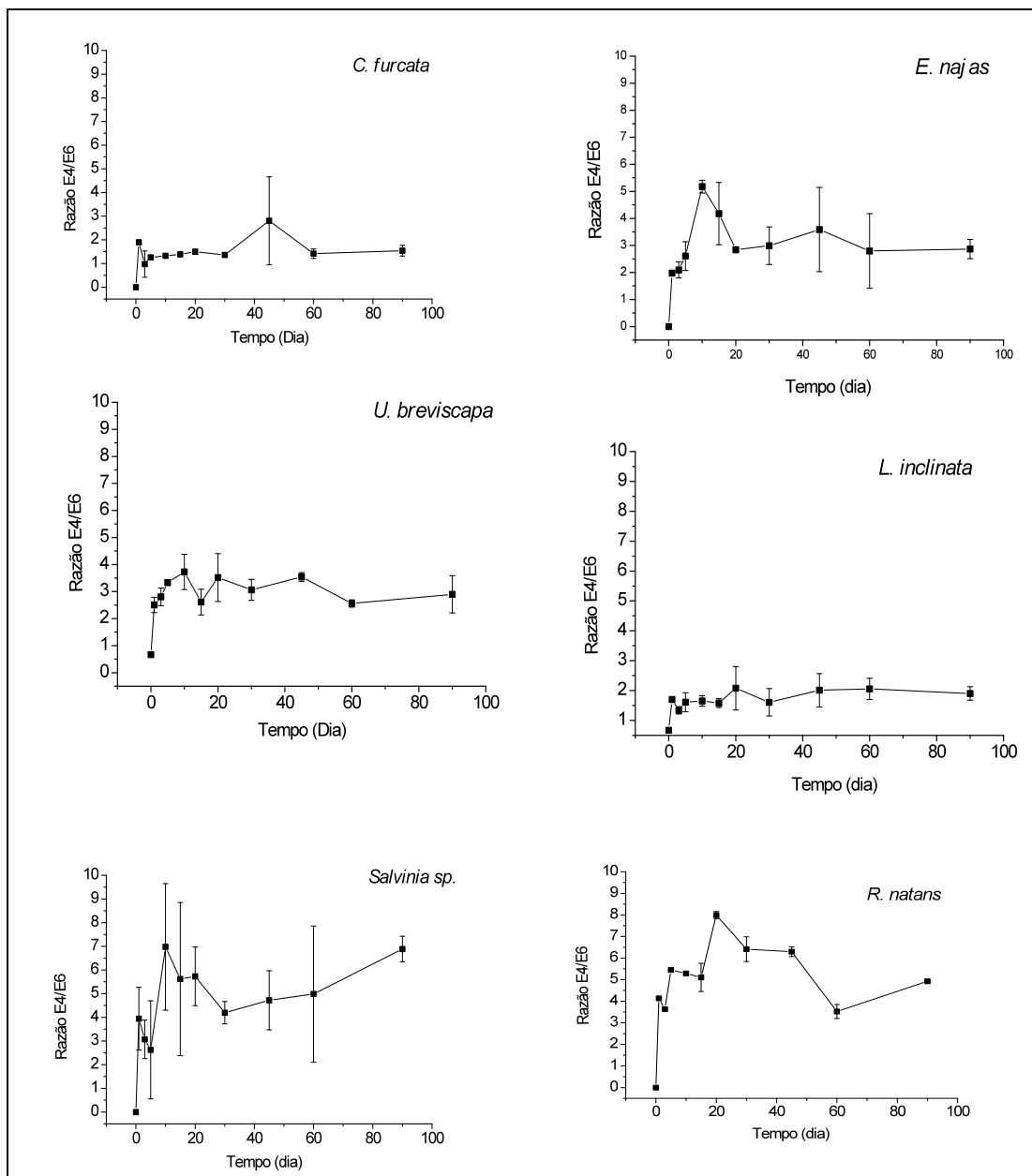


Figura 20: Variação temporal do índice de humificação (razão E4/E6) durante a decomposição anaeróbica de *C. furcata*, *E. najas*, *U. breviscapa*, *L. inclinata*, *Salvinia sp* e *R. natans*.

As incubações com *Salvinia* sp. e *R. natans* apresentaram oscilações na relação E4/E6 durante todo o processo; porém, foram os meios que apresentaram os maiores valores, entre 4 e 8. As incubações com *O. cubense* também apresentaram valores altos na relação E4/E6, após o 20º dia os valores estabilizaram-se em torno de 6. As incubações com *C. giganteus* e *U. breviscapa* apresentaram oscilações de E4/E6 entre 2 e 4.

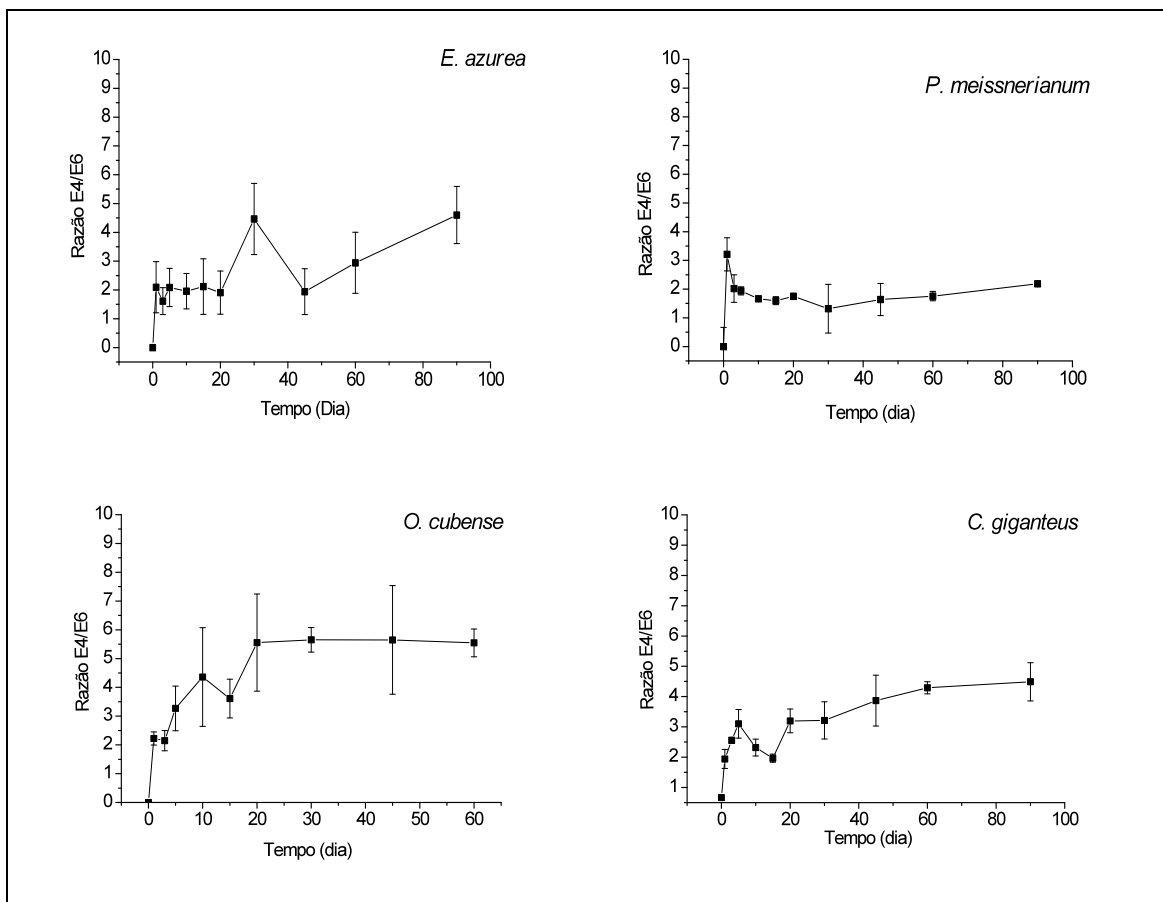


Figura 21: Variação temporal do índice de humificação (razão E4/E6) durante a decomposição anaeróbia de *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *O. cubense* e *C. giganteus*.

5.8. Teor inicial de hemicelulose e celulose

Os teores de hemicelulose e celulose das espécies selecionadas encontram-se na Tabela 8. Os teores de celulose variaram de 29,59 (*R. natans*) a 52,76% (*E. najas*). Os teores de hemicelulose variaram de 19,64 (*L. inclinata*) até 43,09% (*Salvinia* sp.). Para as 10 espécies, a celulose representou em média 42,84% da COP e a hemicelulose cerca de 33,47%.

Em geral as espécies que apresentaram maiores teores de celulose, apresentaram os maiores valores de kc. A correlação entre estes dois parâmetros apresentou $r^2 = 0,49$.

Tabela 9: Teores iniciais de fibras das espécies selecionadas.

	Celulose (%)	DP	Hemicelulose (%)	DP
<i>C. furcata</i>	44,00	1,26	25,43	1,42
<i>E. najas</i>	52,76	7,19	38,02	0,24
<i>U. breviscapa</i>	44,58	0,75	34,88	0,79
<i>L. inclinata</i>	37,48	1,61	19,64	0,95
<i>Salvinia</i> sp.	40,67	1,09	43,09	0,70
<i>R.natans</i>	29,59	2,03	41,28	4,31
<i>E. azurea</i>	41,02	3,40	31,33	0,11
<i>P. meissnerianum</i>	41,95	1,16	23,94	0,31
<i>O. cubense</i>	45,76	0,83	36,42	1,45
<i>C. giganteus</i>	50,59	0,33	40,67	1,33
Média total	42,84	6,54	33,47	8,08
Média flutuantes	35,13	7,84	42,19	1,28
Media emergentes	44,83	4,35	33,09	7,20
Media submersas	44,70	6,26	29,49	8,47

DP: desvio padrão.

5.9 Análises estatísticas

Após análise da distribuição dos dados feita pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, os dados com distribuição normal foram analisados com o teste ANOVA, e os dados que não apresentaram distribuição normal foram analisados com o teste Kruskal-Wallis. Apenas os dados de perda de COP apresentaram distribuição normal. Os resultados estatísticos encontram-se a seguir:

5.9.1. Análise estatística do experimento de atividade enzimática

No caso da atividade da celulase (Anexo VII), encontrou-se semelhança estatisticamente significativa entre:

- (i) *C. furcata*, *E. azurea*, *L. inclinata*, *P. meissnerianum* e *O. cubense*.
- (ii) *R. natans* e *Salvinia* sp.
- (iii) *E. najas*, *U. breviscapa*, *C. giganteus* e *O. cubense*

Nota-se que *O. cubense* é a única espécie que possui a atividade de celulase semelhante a um maior número de espécies, estando compreendida em dois grupos.

Para a atividade de xilanase, (Anexo VIII) encontraram-se as seguintes semelhanças estatisticamente significativas:

- (i) *C. furcata*, *E. azurea*, *L. inclinata* e *P. meissnerianum*
- (ii) *R. natans*, *Salvinia* sp. e *O. cubense*.
- (iii) *E. najas*, *U. breviscapa* e *C. giganteus*.

5.9.2. Análise estatística do experimento de perda de massa de COP

Para as variações temporais de perda de COP foram encontradas as seguintes semelhanças estatisticamente significativas (Anexo IX):

- (i) *R. natans*, *O. cubense*, *Salvinia sp.*, *C. giganteus* e *L. inclinata*.
- (ii) *C. furcata*, *E. najas* e *U. breviscapa*,
- (iii) *P. meissnerianum* e *E. azurea* apenas não apresentaram semelhança significativa com *U. breviscapa*.

5.9.3. Análise estatística do experimento de variação temporal de CM

A variação temporal de CM apresentou semelhança entre as seguintes espécies (Anexo X). A mineralização anaeróbia de *R. natans* apresentou semelhanças com todas as espécies selecionadas; *Salvinia sp.* foi apenas semelhante com *R. natans*.

A macrófita *C. furcata* apresentou semelhança com *U. breviscapa* e *R. natans*; *O. cubense* e *C. giganteus* não foram estatisticamente semelhantes com *Salvinia sp.* e *C. furcata*; *E. najas* não foi similar a *Salvinia sp.* As variações temporais de carbono mineralizado da decomposição anaeróbia de *E. azurea* e *L. inclinata* não foram similares a *C. furcata* e *Salvinia sp.* *P. meissnerianum* não é semelhante à *Salvinia sp.* e o rendimento de carbono mineralizado de *U. breviscapa* foi diferente de *P. meissnerianum* e *Salvinia sp.*

6. DISCUSSÃO

O COP apresenta composição heterogênea, diferenciando-se nas frações lábil e refratária (SWIFT et al., 1979; ASAEDA et al., 2000; CUNHA-SANTINO et al., 2000). As frações lábeis e solúveis são constituídas por compostos de baixo peso molecular, como aminoácidos, polifenóis e carboidratos, enquanto que as frações refratárias constituem-se de fibras, como lignina, celulose e hemicelulose (KIM & REJMANKOVA, 2004).

O padrão de decaimento destas duas frações costuma apresentar características diferentes. Através da variação temporal de perda de massa (Figuras 10 e 11) podem-se detectar as fases rápidas de decaimento (indicando a perda das frações lábeis e solúveis) e as fases lentas de decaimento (que indicam a perda das frações refratárias da matéria orgânica).

As maiores perdas de massa observadas no início do processo foram decorrentes do processo de lixiviação, quando ocorreram decréscimos rápidos nas massas dos detritos; esse processo é caracterizado como abiótico e pela perda de componentes hidrossolúveis (POLUNIN, 1984). A fração lábil é caracterizada por decaimento mais rápido, enquanto que a porção refratária pode apresentar decréscimos de 10 a 20 vezes mais lentos (GUILLON et al., 1994).

De acordo com estudo realizado por BELOVA (1993), a fase de decaimento rápido ocorre com o aumento de diferentes populações de microrganismos envolvidos e atividade metabólica máxima (incluindo utilização das frações lábeis pelas bactérias decompositoras e microrganismos utilizando a fração refratária do material). Na fase de decaimento lento, há diminuição da microbiota que utiliza as frações lábeis e as populações que utilizam a fração refratária prevalecem numerosas.

De modo geral não foi observada uma correlação entre os valores de produção enzimática (Tabela 5 e 6) e o decaimento de massa (Tabela 3 e 4). Ou seja, as espécies que apresentaram maior perda de massa durante o período do experimento não foram as maiores indutoras das produções das enzimas analisadas. As presenças de materiais solúveis que são liberados no processo de lixiviação e não-passíveis de atividade enzimática das celulases e xilanases também pode ser um fator que justifica a falta de relação direta entre esses fatores (SCHOFIELD, 1998).

As espécies submersas, exceto *L. inclinata*, foram as que apresentaram as maiores taxas de perda de massa, porém nas suas incubações ocorreram baixas produções enzimáticas. A degradação de *L. inclinata* pode ter apresentado padrão distinto em relação às demais espécies submersas, por possuir algumas estruturas com características de plantas emersas como epiderme, unisseriada de células com parede periclinal externa mais espessa que células anticlinais e áreas internervuras com células epidérmicas retangulares, mais largas que altas (RODRIGUES, 2007).

As espécies emergentes e as flutuantes apresentaram menores decaimentos de massa em relação às espécies submersas, porém em geral, as produções enzimáticas nas degradações das espécies flutuantes foram menores entre os três grupos e as produções enzimáticas durante a degradação das espécies emergentes foram as mais elevadas. Estas espécies apresentaram maior quantidade de COP_R e produção enzimática (exceto *C. giganteus*).

Essa falta de correlação entre os parâmetros de perda de massa e produção enzimática também foi encontrada em estudo realizado por ALLISON & VITOUSEK (2004) que concluíram que a falta de conexão entre esses processos pode ter ocorrido devido a diferentes concentrações de nutrientes do meio e diferenças nas características dos substratos utilizados.

Para as duas enzimas selecionadas, foram observadas atividades altas nos primeiros dias, fato que coincidiu com o período do processo de lixiviação ocorrido nas incubações. Como através da lixiviação, os compostos solúveis são liberados, as bactérias e fungos obtêm acesso a um grande aporte inicial de COD neste período do experimento, além da fração lábil do COP, o que favoreceu o crescimento inicial destas populações (MANN & WETZEL, 1996), inferido pela maior atividade enzimática nesse período inicial.

Após as altas atividades iniciais, ocorreram distinções dos padrões de variação das atividades de ambas as enzimas; supõe-se que estas diferenças decorreram das diferentes características da disposição das fibras na parede celular e também das características (qualidade) do carbono que foi liberado durante a degradação de cada espécie, sendo que as frações de COD são importantes para o crescimento dos microrganismos presentes (MANN & WETZEL, 1996).

Ao se tomar como exemplo o balanço de carbono de *E. najas* (Figura 15), observou-se claramente que durante todo o processo de sua decomposição as concentrações de COD não declinaram, pelo contrário, cresceram. Esse padrão foi distinto das demais espécies, nas quais as concentrações de COD tenderam ao decréscimo, devido à sua assimilação pela microbiota ou mineralização em compostos inorgânicos.

O incremento na concentração de COD para as incubações com *E. najas* pode ser explicado pelas modelagens matemáticas realizadas para o balanço de carbono. Através das Tabelas 7 e 8 observa-se que o k_T para esta espécie foi o menor, e o único que possui uma ordem de grandeza diferente dos demais, o que condiz com um $t_{1/2}$ de lixiviação e mineralização dos compostos lábeis muito maior do que para as outras espécies (diferença que variou de 8,93 a 42,46 vezes), provavelmente no período de

experimento esta fração de CO não tenha sido totalmente consumida ou mineralizada. As frações de COP_L e COD para essa espécie também apresentaram participações altas, o que explica a concentração crescente de COD durante o período compreendido pelo experimento, já que grande quantidade de COP_{LS} deveria ser lixiviada e solubilizada em um período mais longo. Ao comparar o comportamento da mineralização de *E. najas* com as das demais espécies que apresentaram altas concentrações de COP_{LS} e COD (i.e. *U. breviscapa* e *C. furcata*) notou-se que para as outras espécies que os k_T foram mais elevados, mesmo com grande quantidade de carbono solúvel e lábil, o consumo do COD liberado durante a decomposição destas ocorre mais rapidamente. *E. najas* foi ao mesmo tempo a espécie que teve a maior perda de COP no período estudado e a que demorou mais tempo para ter o COD assimilado e mineralizado.

Os valores de X_{max} e C_{max} obtidos da parametrização podem ser explicados pela qualidade e tipo de recurso encontrado na parede celular destas plantas, ou seja, se o substrato está presente em sua constituição, provavelmente haverá uma produção de determinada enzima para a hidrólise deste substrato. Assim, quando os recursos assimiláveis estão disponíveis, os microrganismos podem diminuir a produção de enzimas que degradam os substratos complexos, nutrientes lábeis em abundância inibem a decomposição dos compostos mais recalcitrantes (MOORHEAD & LIKENS, 1997; ALISSON & VITOUSEK, 2005).

Algumas espécies, como *E. azurea*, *P. meissnerianum*, *L. inclinata*, *C. giganteus* apresentaram perdas de massa que as caracterizam como mais refratárias que as outras, como grandes frações de COP_R, pequena fração de COD, atrelados a valores baixos de k_R , que levou a alto $t_{1/2}$ para a mineralização das frações refratárias para estas espécies variando de 330 até 1980 dias. As produções de xilanase e celulase para este grupo, com exceção de *C. giganteus* apresentaram os maiores valores de C_{max} e X_{max} .

As duas espécies flutuantes (*Salvinia* sp. e *R. natans*) e *O. cubense* apresentaram comportamentos distintos das demais. Os parâmetros obtidos para estas espécies as configuram com grande fração de COP_R e baixo k_R, porém os valores de E_{max} obtidos foram muito baixos. Isso pode ter ocorrido pela disposição das fibras na parede celular, pela presença de alguma substância que iniba a produção destas enzimas durante a decomposição ou ainda pela presença de compostos que sejam hidrolizados por outras enzimas não quantificadas neste estudo. A presença de compostos fenólicos resultantes da degradação da lignina inibe o metabolismo dos microrganismos (VARGA et al., 2004).

Através de suposições de que os eventos da sedimentação e da colmatação do COP_R da decomposição de macrófitas aquáticas promovam a metanogênese (ca. Z = 30 mm) na lagoa do Óleo; há evidências que a degradação da fração de COP_R pelas enzimas relacionadas com a hidrólise da fração de parede celular seja a precursora dos processos anaeróbios de ciclagem do carbono (CUNHA-SANTINO, 2003).

BITAR (2003) encontrou maior humificação das frações de COP nos detritos de *E. najas* do que para os de *E. azurea* apesar de a taxa de mineralização de *E. najas* ter sido mais elevada que para *E. azurea*. Neste mesmo estudo foi observada formação elevada de gases (i.e. CH₄) para ambas as espécies nos primeiros dias de experimento; porém, essa produção foi maior para *E. najas*. Contudo, apesar da produção de gases ter sido maior para *E. najas*, notou-se que a assimilação dos gases formados por esta espécie foi menor do que a assimilação dos gases formados por *E. azurea*. Isso pode ser mais um indício da dificuldade de assimilação dos compostos liberados pela *E. najas*.

A produção de xilanase foi maior em todos os casos do que a de celulase provavelmente porque as estruturas das hemicelulose são mais facilmente hidrolisáveis que da celulose (PÉREZ et al., 2002). Segundo GILBERT & HAZELWOOD (1993),

apesar da maior complexidade que a xilana apresenta e a necessidade da presença de mais tipos de enzimas para sua hidrólise em relação a celulose, esse polímero não tende a formar estruturas entrelaçadas, o que resulta no acesso facilitado às enzimas hidrolíticas. A relação entre teor inicial de fibras e atividade enzimática não foi encontrada neste experimento, talvez pela característica das disposições das fibras ou pelos métodos experimentais adotados.

As plantas submersas e as flutuantes são as que usualmente apresentam perdas de massa mais rápidas, pois apresentam menor quantidade de material estrutural de suporte em sua parede celular e geralmente uma grande concentração de elementos como nitrogênio e fósforo (BARBIERI, 1984; ALLAN & CASTILLO, 2007). Esse padrão de maior decaimento das frações lábeis das plantas submersas foi destacado pela análise estatística de variação da perda de massa de COP (Anexo VIII), que agrupou como semelhantes às espécies submersas com menor teor de estruturas rígidas aparentes (*U. breviscapa*, *C. furcata* e *E. najas*) possivelmente ao padrão de maior perda de massa comparativamente às outras. Já as espécies flutuantes selecionadas não apresentaram esse decréscimo rápido.

Os detritos de plantas vasculares constituem-se em importantes componentes nos funcionamentos de ecossistemas aquáticos. No entanto, sua contribuição específica para a estrutura trófica e dinâmica de nutrientes reflete o metabolismo da comunidade decompositora associada (SU, 2007).

As frações encontradas para os diferentes tipos de plantas (emergentes, submersas e flutuantes) no presente estudo apresentaram grande diferença da média obtida em uma compilação realizada por BIANCHINI Jr. (2003). Em ambos os casos a COP_{LS} foi obtida a partir da parametrização do modelo de duplo decaimento (exponencial) e através da comparação entre as médias obtidas, nota-se que há grande

distinção entre as constituições celulares mesmo entre plantas de hábitos semelhantes (i.e. emergentes, submersas e flutuantes).

Tabela 10: Comparação entre valores médios de COP_{LS} (%) encontrados no presente estudo.

Hábito	COP _{LS} (este estudo)	COP _{LS} (BIANCHINI Jr., 2003)
Emergentes	12,23%	31,6%
Submersas	27,38%	34,1%
Flutuantes	11,27%	-
Folhas Flutuantes	-	54,4%

Os teores das fibras de celulose e hemicelulose (Tabela 9) não foram proporcionais às atividades enzimáticas. Esse fato provavelmente ocorreu, conforme já discutido anteriormente, pela variedade de características químicas e físicas que os substratos podem possuir. Como as cadeias de celulose são firmemente “empacotadas” por fibras de lignina e de hemicelulose, para uma hidrólise eficiente da celulose, a celulase deve delaminar e romper a área de superfície para criar um acesso maior para as outras enzimas responsáveis pela hidrólise da molécula (ARANTES & SADDLER, 2010).

Entre 5 a 10 % da celulose na natureza é degradada sob condições anaeróbias. O sistema celulolítico dos microrganismos anaeróbios é distinto do sistema aeróbio de fungos e bactérias (PÉREZ et al., 2002). Como as hemiceluloses envolvem as microfibrilas de celulose, na parede celular, provavelmente a hemicelulose é degradada em primeiro lugar (pelo menos em partes). As xilanas constituem-se na principal classe de hemicelulose nas angiospermas, contribuindo com cerca de 15 a 30% do peso seco (POLIZELI et al., 2005).

CUNHA-SANTINO & BIANCHINI Jr. (2007) determinaram as atividades celulolíticas em detritos de *U. breviscapa* em diferentes temperaturas e encontraram maior atividade do detrito integral a 15°C, o que mostra os efeitos da temperatura na atividade celulolítica, fator que pode ter influenciado diretamente nos resultados obtidos por este experimento, já que as incubações encontravam-se sob temperatura constante.

A relação entre as fibras de celulose e hemicelulose na parede celular de plantas superiores pode ser extremamente próxima, isso possibilita que moléculas da ligação celulose-hemicelulose e as presentes na celulose cristalina requeiram diferentes enzimas para sua hidrólise. O que pode explicar porque os microrganismos celulolíticos secretam diferentes celulases que possuem especificidades justapostas e porque algumas xilanases possuem domínios com afinidade com a celulose (TOMME et al., 1995).

Ensaio de degradação de *O. cubense*, *C. furcata* e *L. inclinata* compararam a atividade xilanolítica em condições aeróbias e anaeróbias. Dentre os 3 recursos, os detritos de *C. furcata* foram os únicos que apresentaram maior atividade enzimática sob condições aeróbias, os das outras espécies apresentaram maior taxa de atividade enzimática sob condições anaeróbias (ROMEIRO, 2005). A ação da xilanase ajuda a facilitar o acesso às fibras de celulose, desta maneira resulta numa maior produção de açúcar redutor pela celulase.

A celulose aparece na natureza associada com outras substâncias da planta, embebida em uma matriz que contém hemiceluloses, pectina, lignina e proteínas. Essa associação pode afetar sua biodegradação. Quando a lignina substitui a água na matriz da parede celular há aumento das forças de compressão. A lignificação aumenta a ligação interna da parede, produzindo tecidos rígidos (LESCHINE, 1995; PEREZ et al., 2002). A forma mais suscetível à degradação enzimática são as cadeias não organizadas existentes na celulose amorfa (BÉGUIN & AUBERT, 1994).

A degradação celulolítica em ambientes anaeróbios é muito complexa; envolve vários tipos de interações metabólicas entre diferentes consórcios de microrganismos, cujas atividades são influenciadas por diversos fatores ambientais, como temperatura e pH (LESCHINE, 1995). Alguns microrganismos excretam celulase e xilanase simultaneamente; há casos em que a enzima excretada possui capacidade de hidrolisar esses dois polímeros (TANAKA, 1993).

No presente estudo, além da interferência causada por fatores físicos (como temperatura e ausência de oxigênio dissolvido), alguns fatores bióticos podem ter interferido nas atividades enzimáticas. Algumas interações entre comunidades de fungos e bactérias podem interferir nas suas próprias atividades, podendo influenciar no processo de decomposição ao alterar o crescimento das populações envolvidas, a produção de enzimas e a qualidade da MOD liberada e de produtos intermediários da decomposição (ROMANI, 2006).

Alguns tipos de células vegetais (como os mesófilos) possuem paredes finas e pouco lignificadas que são facilmente degradadas pelas enzimas hidrolíticas. Outros tipos, como o esclerênquima, possuem paredes espessas e a lamela média altamente lignificada separando as células entre si. Esse tipo de parede celular pode ser atacado a partir da superfície interna através da parede secundária (ao contrário de partículas de celulose pura, que são degradadas de fora para dentro). Portanto, além da estrutura celulolítica, o transporte e a difusão das enzimas hidrolíticas ao local de ataque também são fatores que limitam a degradação destas fibras (WILSON & MERTENS, 1995).

Um modelo de processos de decomposição proposto por TANAKA (1993) descreveu quatro etapas distintas do processo: (i) Esta fase é aérea e caracteriza-se por um pH ótimo baixo para o funcionamento das enzimas e há predominância de fungos; (ii) Ocorre durante o primeiro mês, quando as partes aéreas da planta já encontram-se

submersas. Há um crescimento rápido na biomassa bacteriana seguido pelo aumento das atividades da celulase e xilanase; (iii) Ocorre entre o 2^o e o 5^o mês e caracteriza-se por apresentar baixas atividades enzimáticas, baixas taxas de decaimento e manutenção da biomassa bacteriana e (iv) Entre o 6^o e o 10^o mês há aumento na biomassa de fungos e das atividades enzimáticas, além de haver aumento nas taxas de perda de massa tanto de xilana como de celulose. Ao contrário do que ocorre com os fungos, há decréscimo na biomassa bacteriana; esse fato sugere a ocorrência de alternância entre as comunidades de decompositores (entre bactérias e fungos). O presente estudo compreendeu as fases 2 e 3, devido ao tempo de duração e a ausência da fase de decomposição aérea, já que as plantas todas foram submersas em água nas incubações.

Alguns estudos mostraram que nos ambientes aquáticos o pH baixo inibiu a hidrólise celulolítica (LYND, 2002). A grande flutuação de pH encontrada durante os ensaios (Figuras 16 e 17) pode ter influenciado nas atividades das enzimas selecionadas. Porém, como a gama de enzimas hidrolíticas da xilana e da celulose é grande, há diferentes características de pH ótimo para a atividade destas.

A maior parte das xilanases conhecidas se origina de fungos e bactérias e a maioria de suas classes apresenta atividade ótima entre 40 e 60 °C e meio neutro (em especial as de origem bacteriana) ou levemente ácido (como as de origem fúngica). No entanto, já foram encontradas xilanases com atividade ótima em condições extremas de pH e temperatura (COLLINS et al., 2005).

Os sistemas celulolíticos de *Trichoderma reesei* e *Phanerochaete chrysosporium* são os mais amplamente conhecidos e as celulases excretadas por eles possuem atividade ótima em meios ácidos. Algumas endoglucanases secretadas de fungos termofílicos apresentam pH ótimo variável, entre 4.1 e 8.1 (PEREZ et al., 2002).

Numa compilação que compreendeu diversas xilanases de uso comercial, foi verificado que a maior parte apresentou atividade ótima sob pH variando de 4,0 a 5,0 (POLIZELI, 1995). Assim pode-se observar que as variações de pH para ambos os sistemas hidrolítico (xilanase e celulase) encontraram-se dentro do intervalo de atividade ótima já reportado em muitos estudos. Mesmo dentro da faixa de pH de funcionamento destes sistemas, as atividades enzimáticas descritas no estudo pode ter sido influenciada pela comunidade microbiana presente nestas incubações (CHRÓST & RAÍ, 1993).

De modo geral houve diminuição do pH no período inicial, o que ocorreu pela possível formação de íons H^+ , resultante da quebra das moléculas de H_2CO_3 , formado por sua vez pela reação do CO_2 liberado pela quebra da MO com a H_2O .

Os valores de condutividade elétrica apresentaram grandes aumentos a partir do primeiro dia devido à liberação de íons provenientes da MOD (ESTEVES, 1998). Após a lixiviação, as concentrações de íons mantiveram-se altas para algumas incubações (*C. giganteus*, *R. natans*, *O. cubense* e *E. najas*) e apresentaram um declínio para outras (*E. azurea*, *C. furcata*, *Salvinia sp.*, *U. breviscapa*, *L. Inclinata* e *P. meissnerianum*). Esse declínio pode ser decorrente da assimilação dos íons pela microbiota e reações químicas, o que diminuiria as concentrações dos íons.

A intensidade da lixiviação depende da espécie de planta (tamanho, estrutura morfológica e composição química) e dos fatores externos, como a temperatura (PARK & CHO, 2003). A CE pode ser usada como um índice de lixiviação (APHA, 1989), assim, ao se analisar os valores determinados durante o processo, as incubações com *E. najas* apresentaram a maior quantidade de MOD liberada, pois foi a que apresentou os maiores valores de CE. Porém pelo balanço de carbono para esta espécie (Figura 15), nota-se que o COD liberado não é prontamente consumido no início do processo, a

ausência no declínio de COD também foi observada nas incubações com *U. breviscapa*, *E. azurea* e *P. meissnerianum*.

As espécies cuja decomposição apresentaram baixo k_T (alto tempo de meia vida para mineralização e liberação de compostos solúveis) foram as que geraram o COD com características que a levam a difícil assimilação, o que leva essas frações de CO a acumularem-se nos ambientes (CUNHA-SANTINO & BIANCHINI Jr., 2004).

A fração de COD não assimilada prontamente pelos microrganismos é susceptível à formação das substâncias húmicas. Essas substâncias também são produtos do processo de decomposição, porém possuem outra via de formação. Parte das moléculas provenientes da matéria orgânica é oxidada e, em seguida polimerizada. Estas substâncias apresentam estrutura heterogênea de moléculas de alto peso molecular e grupos funcionais distintos, como carboxilas, hidroxilas fenólicas, antibióticos, e carbonilas (THURMAN & STEVENSON, 1982).

A deposição de nitrogênio é um dos fatores que também alteram a composição do detrito vegetal ao aumentar as reações de humificação entre os radicais livres oxidativos. Esse efeito contribui com menores taxas de perda de massa nos estágios avançados de decomposição (SINSABAUGH et al., 2002).

Devido à sua heterogeneidade de grupos funcionais, em águas superficiais, as substâncias húmicas interferem em muitos processos físicos, químicos e biológicos, além de regularem muitos processos metabólicos nestes ambientes (STEINBERG, 2003). A razão E4/E6 (Figuras 20 e 21) funciona como um índice de humificação do meio. O aumento desta razão indica diminuição do peso molecular e condensação dos compostos aromáticos (STEVENSON, 1982). As incubações apresentaram diferentes valores para este índice, o que indica a heterogeneidade da MOD provenientes da degradação de cada espécie.

Em ambientes aquáticos as substâncias húmicas possuem diversas funções: estimulam o crescimento do fitoplâncton, atuam como agentes complexantes de íons metálicos e são capazes de adsorver alguns tipos de poluentes orgânicos (ROCHA & ROSA, 2003).

A razão E4/E6 indica o grau de condensação dos compostos aromáticos que as formam. Comparativamente, pode-se assumir que as incubações com *R. natans*, *Salvinia* sp. e *O. cubense* foram as que obtiveram menor condensação dos compostos húmicos em relação às demais.

7. CONCLUSÕES

Com base nos procedimentos experimentais adotados, os resultados desse estudo permitiram concluir que:

(i) Em geral, na decomposição, as espécies submersas apresentaram maiores taxas de perda de massa por possuírem maior teor compostos solúveis e menor presença de estruturas rígidas de sustentação (e.g. celulose e lignina).

(ii) Os detritos das espécies emergentes subsidiaram a ocorrência de atividades enzimáticas mais elevadas.

(iii) A xilanase e celulase apresentaram atividades mais elevadas no início do experimento, apresentando diferentes padrões temporais (3 padrões para celulase e 4 padrões para xilanase), após os primeiros estágios da decomposição. Os compostos resultantes da hidrólise das frações de parede celular de cada uma das espécies podem ter interferido na diferenciação do comportamento das atividades, já que alguns compostos podem inibir a ação de microrganismos.

(iv) No período experimental, a atividade xilanolítica foi maior que a celulolítica, esse fato pode ser atribuído à maior acessibilidade às fibras de hemicelulose em relação às de celulose.

(v) No ambiente natural as macrófitas, ao entrarem em senescência, perdem grande quantidade de compostos hidrosolúveis que são mineralizados na coluna d'água ou

acumulam-se no sedimento (MOP). A decomposição de *E. najas* apresentou um comportamento diferenciado (i.e. acúmulo de COD) ao se comparar com a das demais espécies, permitindo inferir que a decomposição dessa espécie exerça grande influência nas características da lagoa do Óleo (e.g. acúmulo de substâncias húmicas dissolvidas, diminuição da transparência da coluna d'água). Ressalta-se que *E. najas* apresenta maior área de ocupação da lagoa do Óleo.

(vi) As espécies emergentes com maior teor de tecidos de sustentação (*C. giganteus*, *E. azurea* e *P. meissnerianum*) são as principais responsáveis nessa lagoa pelo aporte de MOP que se acumula no sedimento. Assim os detritos vegetais destas espécies, com grande fração de COP_R, servem como substrato para a microbiota anaeróbia da lagoa do Óleo.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALISSON, S. D.; VITOUSEK, P. M. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. **Soil Biol. Biochem.**, v. 37, p. 937-944, 2005.

ALISSON, S. D.; VITOUSEK, P. M. Extracellular enzyme activities and carbon chemistry as drivers of tropical plant litter decomposition. **Biotropica**, v. 36, n. 3, p. 285-296, 2004.

ALLAN, J. D.; CASTILLO, M. M. Detrital carbon sources. In: ALLAN, J. D.; CASTILLO, M. M. (Eds.). **Stream Ecology - structure and function of running waters**. Dordrecht: Springer, 2007, p. 436 p.

APHA, **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**, 17th Ed. American Public Health Association, Washington, 1989.

AQUABUBULLE. Les plants. Disponível em: <<http://www.aquabubulle.free.fr/retoucher/les%20plantes.htm>>. Acesso em: 20/11/2009.

AQUARIUM AND POND PLANTS OF THE WORLD. *Egeria* Planchon. Disponível em: <http://keys.lucidcentral.org/keys/aquariumplants2/aquarium_&_pond_plants_of_the_world/key/aquarium_&_pond_plants/media/html/Fact_sheets/egeria.html>. Acesso em: 15/05/2010.

AQUARIOONLINE. *Ludwigia inclinata*. Disponível em: <http://www.aquarionline.com.br/portal/plantas/plantas_detalhe.asp?id=30>. Acesso em: 15/05/2010.

ARANTES, V.; SADDLER, J. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnol. Biofuels**, v. 3, n. 4, 2010.

ARBO, M. M. Morfologia de plantas vasculares. Disponível em: <http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema2/2_1sucesionfoliar.htm>. Acesso em: 28/04/2010.

ARO, N.; PAKULA, T.; PENTTILÄ, N. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 29, p. 719-739, 2005.

ASAEDA, T.; TRUNG, V. K.; MANATUNGE, J. Modeling the effects of macrophyte growth decomposition on the nutrient budget in shallow lakes. **Aquat. Bot.**, v. 68, p. 217-237, 2000.

BARBIERI, R. **Estudo da composição química de algumas espécies de macrófitas aquáticas e suas implicações para o metabolismo da represa do Lobo (BROA)**. 1984. 221 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1984.

BÉGUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 13, p. 25-58, 1994.

BELOVA, M. Microbial decomposition of freshwater macrophytes in the littoral zone of lakes. **Hydrobiol.**, v. 251, p. 59-64, 1993.

BIANCHINI JR., I. Aspectos do processo de decomposição nos ecossistemas aquáticos continentais. In: POMPÊO, M. L. M. (Ed.). **Perspectivas na limnologia do Brasil**. São Luís: Gráfica e Editora União, 1999, p. 21-43.

BIANCHINI JR., I. Decomposição de macrófitas aquáticas da lagoa do Infernã: o estado de arte. In: SANTOS, J. E.; PIRES, J. S. R. (Ed). **Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí**. São Carlos: Rima, 2000. Vol. 2, p. 613-629.

BIANCHINI JR., I.; PACOBAHYBA, L. D.; CUNHA-SANTINO, M. B. Aerobic and anaerobic decomposition of *Montrichardia arborescens* (L.) Shott. **Acta Limn. Bras.**, v. 14, n. 3, p. 27-34, 2002.

BIANCHINI JR., I. Modelos de crescimento e decomposição de macrófitas aquáticas. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). **Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas**. Maringá: EDUEM, 2003, p. 85-126.

BIANCHINI JR., I.; CUNHA-SANTINO, M. B.; PERET, A. M. Oxygen demand during mineralization of aquatic macrophytes from an oxbow lake. **Braz. J. Biol.**, v. 68, p. 61-67, 2008.

BITAR, A. L. **Mineralização e formação de gases da degradação de *Eichhornia azurea* Kunth. e *Egeria najas* Planch.** 2003. 119 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

CARPENTER, S. R. Enrichment of Lake Wingra, Wisconsin, by submersed macrophyte decay. **Ecology**, v. 61, p. 1.145-1.155, 1980.

CHAMBERS, P. A. et al. Global diversity of aquatic macrophytes in freshwater. **Hydrobiol.**, v. 595, n. 1, p. 9-26, 2008.

CHRÓST, R. J. Environmental Control of the synthesis and activity of aquatic microbial ectoenzymes. In: CHRÓST, R. J. (Ed.). **Microbial Enzymes in Aquatic Environments**. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 29-60.

CHRÓST, R. J.; RAI, H. Ectoenzyme activity and bacterial secondary products in nutrition impoverished and enriched freshwater microcosms. **Microb. Ecol.**, v. 25, p. 131-150, 1993.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 29, p. 3-23, 2005.

COOK, C. D. K. et al. Water plants of the world: a manual for the identification of the genera of freshwater macrophytes. The Hague: W. Junk, 1974. 561p.

CRAMPTON, E. W.; MAYNARD, L. A. The relation of cellulose and lignin content and nutritive value of animals feeds. **J. Nutrition**, v. 15, p. 383-395, 1938.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. Boston: Houghton Mifflin, 1968. 396 p.

CUNHA-SANTINO, M. B. **Atividade enzimática, cinética e modelagem matemática da decomposição de *Utricularia breviscapa* da lagoa do Óleo (Estação Ecológica do Jataí, Luiz Antônio-SP)**. 2003. 140 p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, JR., I. Consumo de oxigênio durante a mineralização aeróbia e anaeróbia de *Salvinia auriculata* da lagoa do Infernã. In: SANTOS, J. E; PIRES, J. S. R. (Eds.). **Estudos Integrados em Ecossistemas- Estação Ecológica do Jataí, vol. 2**. São Carlos: Rima, 2000. p. 631-643.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI, JR., I. Oxygen uptake during mineralization of humic substances from Infernã lagoon (São Paulo, Brazil). **Braz. J. Biol.**, v. 64, n. 3(B), p. 583-590, 2004.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JR., I. Cellulase activities during decomposition of a submerged aquatic macrophyte (*Utricularia breviscapa*): a microcosm assay. **Braz. J. Microbiol.**, v. 38, p. 230-236, 2007.

ESTEVEZ, F. A. **Fundamentos de limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 575p.

FERREIRA-PERUCHETTI, P.; FONSECA-GESSNER, A. Comunidade de Odonata (Insecta) em áreas naturais de Cerrado e monocultura no nordeste do Estado de São Paulo, Brasil: relação entre o uso do solo e a riqueza faunística. **Rev. Bras. Zool.**, v. 20, n. 2, p. 219- 224, 2003.

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

GHOSE, T. K.; BISARIA, V. S. Measurement of hemicellulase activities part 1: xylanases. **Pure Appl. Chem.**, v. 59, n. 12, p. 1739-1752, 1987.

GILBERT, H.J.; HAZELWOOD, G. P. Bacterial cellulases and xylanases, **J. Gen. Microbiol.**, v. 139, p. 187-194, 1993.

GUILLON, D.; JOFFRE R.; IBRAHIMA, A. Initial dynamics properties and decay rate: a microcosm experiment in Mediterranean species. **Can. J. Bot.**, v. 72, p. 946-954, 1994.

HAN, J. S.; ROWELL, J. S. Chemical composition of fibers. In: ROWELL, R. M.; YOUNG, R. A.; ROWELL, J. K. (Eds.). **Paper and composites from agro-based resources**. Florida: CRC Press, 1997. p. 83-134.

HOEHNE, F. C. **Plantas Aquáticas**. São Paulo: Instituto de Botânica, 1979. 168p.

HOPKINSON, C. S. A comparison of ecosystem dynamics in freshwater wetlands. **Estuaries**, v. 15, p. 549-562, 1992.

IFAS. CENTER OF AQUATIC AND INVASIVE PLANTS. Disponível em: <<http://plants.ifas.ufl.edu/images/linedrawings/scicub.jpg>>. Acesso em 20/11/2009.

IFAS. CENTER OF AQUATIC AND INVASIVE PLANTS. Disponível em: <http://plants.ifas.ufl.edu/images/line_drawings/cypro2.jpg>. Acesso em 10/05/2010.

IFAS. CENTER OF AQUATIC AND INVASIVE PLANTS. Disponível em: <http://plants.ifas.ufl.edu/images/line_drawings/cypro2.jpg>. Acesso em 10/05/2010.

IRGANG, B. E.; GASTAL JR., C. V. S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. Porto Alegre: CPG-Botânica/UFRGS, 1996. 290 p.

JACKSON, C. R.; FOREMAN, C. M.; SINSABAUGH, R. L. Microbial enzyme activities as indicators of organic matter processing rates in a Lake Erie coastal wetland. **Freshw. Biol.**, v. 34, p. 329-342, 1995.

JEFFRIES, T. W. Biodegradation of lignin and hemicelluloses. In: RATLEDGE C. (Ed.). **Biochemistry of microbial degradation**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994. p. 233-277.

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

JOLY, A. B. **Botânica: introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977. 777p.

KIM, J. G.; REJMANKOVA, E. Decomposition of macrophytes and dynamics of enzyme activities in subalpine marshes in Lake Tahoe basin, USA. **Plant and Soil**, v. 266, p. 303-313, 2004.

LEONOWICZ, A. et al. Biodegradation of lignin by white rot fungi. **Fungal Genet. Biol.**, v. 27, p. 175-185, 1999.

LEPP, H. Australian national botanic gardens. Disponível em: <<http://www.anbg.gov.au/index.html>>. Acesso em: 20/11/2009.

LESCHINE, S. B. Cellulose degradation in anaerobic environments. **Annu. Rev. Microbiol.**, v. 49, p. 399-426, 1995.

LOUSIER, J. D.; PARKINSON, D. Litter decomposition in a cool temperate deciduous forest. **Can. J. Bot.**, v. 54, p. 419-436, 1976.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras**, vol. 2. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2000. 368 p.

LYND, L. R. et al. Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 66, n. 3, p. 506-577, 2002.

MACHADO, T., BOTOLINI, J. C., BUENO, N. C. *Egeria najas* Planch (Hydrocharitaceae) no Reservatório de Itaipu, Santa Helena, Paraná, Brasil. **R. Bras. Bioci.**, v. 6, p. 11-13, 2008.

MANDELS, M.; ANDREOTTI, R.; ROCHE, C. Measurement of saccharifying cellulose. **Biotechnol. Bioeng. Symp.**, v. 6, p. 21-33, 1975.

MANN, C. J.; WETZEL, R. G. Loading and utilization of dissolved organic carbon from emergent macrophytes. **Aquat. Bot.**, v. 53, p. 61-72, 1996.

MOORE, J. C. et al. Detritus, trophic dynamics and biodiversity. **Ecol. Lett.**, v. 7, p. 584-600, 2004.

MOORHEAD, D. L.; LIKENS, A. D. Elevated CO₂ alters belowground exoenzymes activities in tussock tundra. **Plant and Soil**, v. 189, p. 321-329, 1997.

MOORHEAD, D. L. et al. Decomposition processes: modelling approaches and applications. **Sci. Total Environ.**, v. 183, p. 137-149, 1996.

NOTARE, M. **Plantas Hidrófilas e seu cultivo em aquário**. Rio de Janeiro: Sulamérica, 1992. 238p.

OGBURN III, R. W.; BREZONICK, P. L.; DELFINO, J. J. Effect of pH on phosphorous release during macrophyte (*Eleocharis* sp) decomposition. **Water Resour. Bul.**, v. 23, p. 829-831, 1987.

PARK, S; CHO, K. H. Nutrient Leaching from Leaf Litter of Emergent Macrophyte (*Zizania latifolia*) and the Effects of Water Temperature on the Leaching Process **Korean J Biol Sci** v.7, p.289-294, 2003.

PÉREZ, J. et al. Biodegradation and biological treatments of cellulose, hemicelulose and lignin: an overview. **Int. Microbiol.**, v. 5, p. 53-63, 2002.

PETRACCO, P. **Efeito das variáveis abióticas na produção primária de *Egeria najas* e *Utricularia breviscapa* da lagoa do Óleo (Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio, SP).** 2006. 110p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2006.

PEZZATO, M. M. **Macrófitas aquáticas submersas: Fotossíntese, crescimento e variáveis abióticas da água.** 2007. 136p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2007.

POLIZELI, M. L. T. M. et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 67, p. 577-591, 2005.

POTT, V. J.; POTT, A. **Plantas aquáticas do Pantanal**. Brasília: Embrapa, 2000. 404 p.

POLUNIN, N. V. C. The decomposition of emergent macrophytes in fresh water. **Adv. Ecol. Res.**, v. 14, p. 115-166, 1984.

PRESS, W. H. et al. **Numerical Recipes in C: the art of scientific computing**. New York: Cambridge University Press, 1993, 994 p.

PROGRAMA DE BIODIVERSIDADE - PROBIO. Disponível em <http://www.ufscar.br/~probio/perfil_m.jpg>. Acesso em: junho de 2010.

ROCHA J. C.; ROSA, A. H. **Substâncias Húmicas Aquáticas: Interações com Espécies Metálicas**. Editora da UNESP: São Paulo, 2003, 120 p.

RODRIGUES, S. et al. Alterações estruturais do caule e da folha de *Ludwigia inclinata* (L.f.) M. Gómez, desenvolvidos emersos e submersos. **Rev. Bras. Biociências**, v. 5 (1), p. 174-176, 2007.

ROMANÍ, A. M. Interactions of bacteria and fungi on decomposing litter: differential extracellular enzyme activities. **Ecology**, v. 87, p. 2559-2569, 2006.

ROMEIRO, F. **Bioensaios de decomposição anaeróbia macrófitas aquáticas da lagoa do Óleo (Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antonio SP)**. 2005. 90 p.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2005.

ROONEY, N.; KALF, J. Inter-annual variation in submerged macrophyte community biomass and distribution: the influence of temperature and lake morphometry. **Aquat. Bot.**, v. 68, p. 321-335, 2000.

SANTOS, J. E.; MOZETO, A. A. **Programa de análise de ecossistemas e monitoramento ambiental:** Estação Ecológica do Jataí (Luiz Antônio, SP). Ecologia de áreas alagáveis da planície do rio Mogi-Guaçu. Projeto Jataí. São Carlos. PPG-ERN/UFSCar. 1992.

SCHOFIELD, J. A., HAGERMAN, E. A.; HAROLD. Loss of tannins and other phenolics from willow leaf litter. **J. Chem. Ecol.**, v. 24, p. 1409-1421, 1998.

SCREMIN-DIAS, E. et al. **Nos jardins submersos da Bodoquena:** Guia para identificação de plantas aquáticas de Bonito e região. Campo Grande: UFMS, 1999. 160 p.

SIGMA - ALDRICH. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com>>. Acesso em 01/12/2009

SINSABAUGH, R. L.; CARREIRO, M. M.; REPERT, D. A. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. **Biogeochemistry**, v. 60, p. 1-24, 2002.

SMITH, J. C. Supercomputers tackle biofuel production problems. Disponível em: <<http://www.scidacreview.org/0905/html/biofuel.html>>. Acesso em: 30/06/2010.

SOUZA, V. C; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG ii. Instituto Plantarum de Estudos da Flora. Nova Odessa, Brasil, 2005.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. **J. Biol. Chem.**, v. 195, p.19-23, 1952.

STEINBERG, C. E. W. **Ecology of humic substances in freshwaters: determinants from geochemistry to ecological niches**, Springer-Verlag NY, 2003. 432 p.

STEVENSON, F. J. **Humus chemistry**. Wiley - Interscience publication, 1982. 443p.

SU, R. (2007) Microbial dynamics associated with decomposing *Typha angustifolia* litter in two contrasting Lake Erie coastal wetlands. *Aquat. Microb Ecol.* Vol. 46:295-307.

SWIFT, M. J.; HEAL, D. W.; ANDERSON, J. M. **Studies in ecology. Decomposition in terrestrial ecosystems**. Oxford: Blackwell, 1979. 371 p.

TANAKA, Y. Activities and properties of cellulase and xylanase associated with *Phragmites* leaf litter in a seawater lake. **Hydrobiol.**, v. 262, p. 65-75, 1993.

TAVARES, K. S. Macrófitas aquáticas. Disponível em: <http://www.ufscar.br/~probio/m_salvinia.jpg>. Acesso em: 20/05/2010.

THOMAZ, S. M.; PEREIRA, G.; PAGIORO, T. A. Microbial respiration and chemical composition of different sediment fractions in waterbodies of the upper Paraná River floodplain, Brazil. **Rev. Brasil. Biol.**, v. 61, n. 2, p. 277-286, 2001.

THURMAN, E.M. **Organic Geochemistry of natural waters**. Nijhoff/Junk Po., Netherlands. 497p., 1985.

TOMME, P.; WARREN, R. A. J.; GILKES, N. R. Cellulose hydrolysis by bacteria and fungi. **Adv. in Microbial Physiol.**, v. 37, p. 1-81, 1995.

VARGA, E.; RÉCZEY, K.; AZACCHI G., Optimization of steam pretreatment of corn stover to enhance enzymatic digestibility. **Appl. Biochem. Biotechnol.**, v. 114, p. 509-523, 2004.

WETZEL, R.G. Death, detritus and energy flow in aquatic ecosystems. **Freshwater Biol.**, v. 33, p. 83-89, 1995.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. E. **Limnological analyses**. New York: Springer-Verlag, 1991. 391 p.

WETZEL, R. G. **Limnology: lake and river ecosystems**. San Diego: Academic Press, 2001. 1006 p.

WILSON, J. R., MERTENS, D. R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Sci.**, v. 35, p. 251-259, 1995.

XIMENES, E. A.; FÉLIX, C. R. O sistema celulolítico de microrganismos anaeróbios: uma mini-revisão sobre o celulosoma. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 1, n. 2, p. 335-341, 2003.

9. ANEXOS

Anexo I: Variações temporais de Carbono.

a) COD (%)

	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>P. meissnerianum</i>	<i>C. giganteus</i>	<i>E. najas</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>E. azurea</i>
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	7,55	12,19	2,41	1,12	11,12	2,05	1,40	8,14	18,86	10,59
3	9,02	14,70	3,78	0,86	11,30	1,22	3,66	6,89	16,01	7,13
5	6,95	17,45	2,28	1,09	11,79	1,34	6,33	7,29	17,32	8,52
10	5,56	20,05	2,66	1,54	9,60	1,75	6,55	4,91	18,86	4,84
15	6,01	19,21	2,38	0,94	6,78	4,11	8,91	4,73	12,89	7,63
20	3,53	18,74	0,88	0,87	7,17	1,19	14,61	5,71	12,63	3,69
30	2,60	17,44	1,10	0,75	5,74	1,78	12,73	5,28	12,22	4,59
45	1,17	17,49	0,70	0,57	7,12	1,98	9,73	5,76	9,56	4,56
60	1,51	16,73	1,15	0,94	8,38	1,89	9,82	4,12	14,64	3,46
90	1,33	17,04	0,75	1,41	5,22	3,80	15,26	4,82	12,84	5,72

b) COP (%)

	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>P. meissnerianum</i>	<i>C. giganteus</i>	<i>E. najas</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>E. azurea</i>
0	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
1	90,31	80,39	95,94	90,14	85,59	94,11	98,59	87,35	74,84	81,99
3	90,00	79,11	94,80	91,29	83,74	90,28	96,34	85,42	70,66	86,08
5	84,60	78,54	92,25	91,39	84,15	91,41	93,49	85,96	69,77	79,60
10	87,26	77,58	93,81	88,38	79,79	88,46	79,96	84,38	60,77	80,56
15	81,11	77,18	91,82	84,07	78,54	82,22	67,15	83,59	55,86	76,03
20	85,21	75,42	91,60	87,61	83,99	90,15	58,38	86,60	56,51	83,77
30	87,73	75,08	88,88	85,05	79,41	84,99	56,85	82,32	53,46	81,81
45	82,38	72,01	86,32	85,25	78,23	85,12	52,04	83,41	47,96	81,60
60	82,42	71,62	83,17	85,13	72,49	87,43	45,62	83,52	43,67	80,69
90	73,47	69,55	78,74	81,25	73,29	78,04	30,48	78,02	41,33	76,04

c) CM (%)

	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>P. meissnerianum</i>	<i>C. giganteus</i>	<i>E. najas</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>E. azurea</i>
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1	2,14	7,42	1,65	8,74	3,29	3,29	0,00	4,51	6,30	7,42
3	0,98	6,19	1,43	7,86	4,97	4,97	0,00	7,69	13,33	6,79
5	8,45	4,01	5,47	7,53	4,06	7,26	0,57	6,75	12,91	11,88
10	7,17	2,38	3,53	10,08	10,61	10,61	13,49	10,71	20,36	14,60
15	12,88	3,62	5,80	15,00	14,69	14,69	23,94	11,67	31,26	16,34
20	11,26	5,84	7,53	11,52	8,84	8,84	27,02	7,69	30,86	12,54
30	9,67	7,47	10,02	14,20	14,85	14,85	30,41	12,40	34,32	13,61
45	16,45	10,50	12,98	14,18	14,65	14,65	38,23	10,83	42,48	13,84
60	16,07	11,64	15,68	13,93	19,13	19,13	44,56	12,36	41,68	15,85
90	25,21	13,41	20,51	17,34	21,49	21,49	54,26	17,16	45,83	18,24

Anexo II: Variações Temporais da atividade da celulase ($\text{mol min}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$).

Dia Amostrado	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Sabvinia</i> sp.	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meisserianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0,05695	1,2130	0,1369	0,2417	0,7457	0,0097	0,6694	1,2649	0,3150	0,1015
3	0,13018	0,1305	0,0177	0,0389	0,4126	0,0110	0,2069	0,5964	0,1269	0,0178
5	0,00350	0,2214	0,0057	0,0341	0,3283	0,0055	0,2125	0,5834	0,0359	0,0135
10	0,00154	0,0015	0,0057	0,0109	0,1459	0,0054	0,1343	0,1614	0,0164	0,0107
15	0,00454	0,2379	0,0104	0,0026	0,2193	0,0000	0,1122	0,1382	0,0131	0,0064
20	0,00888	0,1481	0,0106	0,0211	0,1057	0,0000	0,1782	0,1338	0,0188	0,0209
30	0,00415	0,0661	0,0131	0,0147	0,3488	0,0011	0,1310	0,0923	0,0152	0,0239
45	0,00100	0,0479	0,0090	0,0266	0,1727	0,0088	0,1766	0,1124	0,0340	0,0240
60	0,00059	0,0761	0,0166	0,0059	0,1802	0,0016	0,1150	0,1391	0,0226	0,0165
90	0,00127	0,1314	0,0161	0,0125	0,1575	0,0101	0,0984	0,0567	0,0089	0,0402

Anexo III: Variações Temporais da xilanase ($\text{mol min}^{-1}\text{ml}^{-1}\text{g}^{-1}$).

Dia Amostrado	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	0,0528	8,1964	0,7265	3,47	7,401	0,0326	6,394	10,364	2,407	1,259
3	0,2065	1,0279	0,0880	0,19	2,680	0,0835	2,053	6,053	1,056	0,222
5	1,1209	1,8686	0,5627	0,29	2,857	0,0539	3,304	5,413	1,063	1,371
10	0,0744	1,6904	0,1194	0,21	1,279	0,0142	1,270	1,157	0,357	0,392
15	0,1127	2,5354	0,3495	0,45	1,834	0,0420	2,057	1,804	0,944	0,216
20	0,0000	1,2168	0,0099	0,41	0,801	0,0585	2,022	1,807	0,531	0,294
30	0,0609	0,7426	0,1835	0,74	2,658	0,0474	1,766	1,333	0,507	0,677
45	0,0256	0,5204	0,1574	0,55	1,466	0,0292	1,984	1,387	0,690	0,360
60	0,1475	1,0855	0,1580	0,74	1,402	0,0223	0,706	1,284	0,494	0,343
90	0,0571	1,2360	0,1654	0,28	1,498	0,0696	1,258	0,870	0,430	0,694

Anexo IV: Variações temporais de pH

Dia	<i>R. Natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Sabvinia</i> sp.	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
0	5,74	5,74	5,74	5,92	5,92	5,92				
1	6,48	5,21	5,81	5,79	5,31	6,15	4,61	3,817	5,683	5,74
3	6,80	4,87	5,91	6,29	4,96	6,85	4,62	4,007	6,947	7,39
5	8,30	5,34	6,74	7,03	5,18	6,99	5,09	4,063	7,037	6,80
10	8,13	6,79	6,81	6,58	6,34	7,21	6,25	4,847	5,777	7,15
15	8,19	6,88	7,84	6,16	5,80	6,92	5,94	5,823	7,080	6,37
20	8,13	6,31	7,45	5,06	6,38	7,12	6,35	6,383	7,113	7,07
30	8,19	5,59	7,69	5,54	7,05	7,42	5,85	7,010	7,157	7,07
45	7,88	5,35	7,28	5,78	6,16	7,48	6,45	7,035	7,760	6,78
60	7,71	5,92	7,39	6,24	6,81	7,36	7,19	5,977	6,890	6,42
90	7,88	6,8	6,95	7,05	7,01	7,52	6,51	7,147	7,080	6,44

Anexo V: Variações temporais de CE ($\mu\text{S cm}^{-1}$).

Dia	<i>R. Natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
0	77,9	77,9	77,90	16,84	16,84	16,84				
1	1191,3	1192,0	772,67	1366,67	1163,00	462,67	650,67	531,00	1277,00	533,00
3	1218,0	1249,0	783,00	1448,00	992,33	472,00	741,00	586,00	1520,00	1036,33
5	1033,7	1165,3	708,33	1519,67	1091,67	577,33	697,00	574,00	1348,00	610,00
10	1014,7	1260,3	846,33	1658,00	1072,67	640,00	715,33	631,33	1748,00	707,33
15	1263,3	1329,0	766,33	1684,33	1259,33	818,00	640,67	608,00	1590,67	281,67
20	1211,3	1328,0	670,33	2094,67	1006,33	760,33	586,67	433,00	1454,00	519,00
30	1189,3	1352,0	753,67	2022,33	889,00	789,00	687,00	503,00	1575,67	730,33
45	718,7	1275,3	640,00	1798,67	1112,00	683,50	662,67	530,00	1624,00	489,00
60	969,0	1284,7	671,67	1726,00	931,00	626,00	673,00	552,33	1470,00	462,67
90	1084,5	1221,3	650,00	1454,67	1211,67	724,33	659,33	522,00	1725,33	660,33

Anexo VI: Variações temporais de E4/E6

Dia Amostr	<i>R. Natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Salviniasp.</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
0	0,00	0,00	0,00	0	0	0	0,67	0,67	0,67	0,67
1	4,13	1,90	2,22	1,98	2,10	3,94	1,70	3,211	2,505	1,94
3	3,63	0,97	2,15	2,09	1,61	3,07	1,34	2,019	2,807	2,56
5	5,45	1,26	3,27	2,61	2,09	6,23	1,61	1,938	3,331	3,10
10	5,29	1,32	4,36	5,18	1,96	6,98	1,65	1,666	3,729	2,32
15	5,10	1,38	3,61	4,18	2,12	5,62	1,58	1,598	2,613	1,97
20	7,99	1,50	5,55	2,84	1,91	5,73	2,08	1,751	3,521	3,20
30	6,41	1,36	5,65	2,99	4,46	4,19	1,61	1,321	3,063	3,21
45	6,29	2,80	5,65	3,59	1,94	4,72	2,01	1,638	3,541	3,87
60	3,52	1,41	5,55	2,80	2,94	4,99	2,06	1,757	2,559	4,29
90	4,93	1,54	6,08	2,87	4,60	6,89	1,90	2,183	2,898	4,49

Anexo VII: Análise estatística (Kruskal-Wallis) das atividades de celulase

Celulase											
	<i>R. Natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Salvinia</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>	
<i>R. natans</i>	0	0,00361	0,02575	0,04515	0,00025	0,9698	0,0004396	0,0005828	0,01402	0,02575	
<i>C. furcata</i>	0,1625	0	0,00911	0,01726	0,07566	0,00132	0,4727	0,3447	0,03121	0,005795	
<i>O. cubense</i>	1	0,4099	0	0,3075	0,00025	0,0058	0,0007685	0,0005828	0,05878	0,07566	
<i>E. najas</i>	1	0,7766	1	0	0,00101	0,00361	0,002202	0,001315	0,4274	0,8501	
<i>E. azurea</i>	0,01108	1	0,01108	0,04536	0	0,00018	0,162	0,273	0,001315	0,0001827	
<i>Salvinia</i> sp.	1	0,05917	0,2608	0,1625	0,00822	0	0,0001827	0,0001827	0,0004396	0,0007685	
<i>L. inclinata</i>	0,01978	1	0,03458	0,0991	1	0,00822	0	0,9698	0,004586	0,0002461	
<i>P. meissnerianum</i>	0,02623	1	0,02623	0,05917	1	0,00822	1	0	0,002827	0,0003298	
<i>U. breviscapa</i>	0,6309	1	1	1	0,05917	0,01978	0,2064	0,1272	0	0,6776	
<i>C. giganteus</i>	1	0,2608	1	1	0,00822	0,03458	0,01108	0,01484	1	0	

■ Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$)

■ Semelhanças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$)

Anexo VIII: Análise estatística (Kruskal-Wallis) das atividades de xilanase.

Xilanase										
	<i>R. natans</i>	<i>C. furcata</i>	<i>O. cubense</i>	<i>E. najas</i>	<i>E. azurea</i>	<i>Salvinia</i>	<i>L. inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C. giganteus</i>
<i>R. natans</i>	0	0,00058	0,08897	0,00283	0,00025	0,1041	0,0002461	0,0002461	0,002202	0,001706
<i>C. furcata</i>	0,02623	0	0,00033	0,00459	0,162	0,00018	0,1405	0,2413	0,01726	0,007285
<i>O. cubense</i>	1	0,01484	0	0,01726	0,00018	0,00283	0,0002461	0,0001827	0,003611	0,01726
<i>E. najas</i>	0,1272	0,2064	0,7766	0	0,0022	0,00018	0,003611	0,001315	0,1405	0,9097
<i>E. azurea</i>	0,01108	1	0,00822	0,0991	0	0,00018	0,9698	0,7913	0,002202	0,0004396
<i>Salvinia sp.</i>	1	0,00822	0,1272	0,00822	0,00822	0	0,0001827	0,0001827	0,0001827	0,0001827
<i>L. inclinata</i>	0,01108	1	0,01108	0,1625	1	0,00822	0	0,8501	0,003611	0,0007685
<i>P. meissnerianum</i>	0,01108	1	0,00822	0,05917	1	0,00822	1	0	0,002827	0,001008
<i>U. breviscapa</i>	0,0991	0,7766	0,1625	1	0,0991	0,00822	0,1625	0,1272	0	0,162
<i>C. giganteus</i>	0,07678	0,3278	0,7766	1	0,01978	0,00822	0,03458	0,04536	1	0

■ Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$)

■ Semelhanças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$)

Anexo IX: Análise estatística (ANOVA) da perda de massa de COP.

	<i>R.Natans</i>	<i>C.furcata</i>	<i>O.cubense</i>	<i>Salvinia sp.</i>	<i>P.meissnerianum</i>	<i>C.giganteus</i>	<i>E.najas</i>	<i>L.inclinata</i>	<i>U.breviscapa</i>	<i>E.azurea</i>
<i>R.Natans</i>	0	0,003656	0,9588	0,9999	0,9856	0,9966	0,005547	1	0,0001601	0,9971
<i>C.furcata</i>	5,784	0	0,0001814	0,0005941	0,09233	0,0002735	1	0,004859	0,5083	0,05346
<i>O.cubense</i>	1,789	7,574	0	0,9994	0,3717	1	0,0001976	0,9385	0,0001597	0,5085
<i>Salvinia sp.</i>	0,788	6,572	1,001	0	0,8267	1	0,000869	0,9997	0,0001598	0,9155
<i>P.meissnerianum</i>	1,526	4,258	3,316	2,314	0	0,6258	0,1251	0,992	0,0002144	1
<i>C.giganteus</i>	1,252	7,036	0,5377	0,4637	2,778	0	0,0003515	0,9933	0,0001597	0,761
<i>E.najas</i>	5,607	0,1774	7,397	6,395	4,081	6,859	0	0,00735	0,4245	0,07456
<i>L.inclinata</i>	0,1207	5,664	1,91	0,9088		1,372	5,486	0	0,0001602	0,9987
<i>U.breviscapa</i>	8,804	3,02	10,59	9,592	7,278	10,06	3,197	8,684	0	0,0001814
<i>E.azurea</i>	1,23	4,554	3,019	2,018	0,2961	2,482	4,377	1,109	7,574	0

■ Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$)

■ Semelhanças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$)

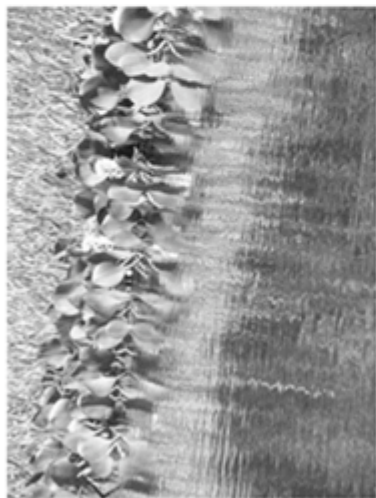
Anexo X: Análise estatística (Kruskal-Wallis) da formação de CM.

Carbono Mineralizado										
	<i>R.natans</i>	<i>C.furcata</i>	<i>O.cubense</i>	<i>E.najas</i>	<i>E.azurea</i>	<i>Salvinia</i> sp.	<i>L.inclinata</i>	<i>P. meissnerianum</i>	<i>U. breviscapa</i>	<i>C.giganteus</i>
<i>R.natans</i>	0	0,05206	0,1333	0,06369	0,1333	0,5962	0,07739	0,5962	0,07739	0,112
<i>C.furcata</i>	1	0	0,000412	0,000792	0,00268	0,000574	0,001086	0,00268	0,05206	0,01712
<i>O.cubense</i>	1	0,01855	0	0,2164	0,7911	0,02168	0,2893	0,1333	0,1333	0,5962
<i>E.najas</i>	1	0,00565	1	0	0,4799	0,006193	0,7239	0,05206	0,3772	0,9296
<i>E.azurea</i>	1	0,1206	1	1	0	0,01712	0,4268	0,1333	0,251	0,7239
<i>Salvinia</i> sp.	1	0,02581	0,9758	0,2787	0,7703	0	0,008071	0,2164	0,004718	0,01044
<i>L.inclinata</i>	1	0,04888	1	1	1	0,3632	0	0,07739	0,3314	0,9296
<i>P. meissnerianum</i>	1	0,1206	1	1	1	1	1	0	0,02728	0,05206
<i>U. breviscapa</i>	1	1	1	1	1	0,2123	1	1	0	0,5365
<i>C.giganteus</i>	1	0,7703	1	1	1	0,47	1	1	1	0

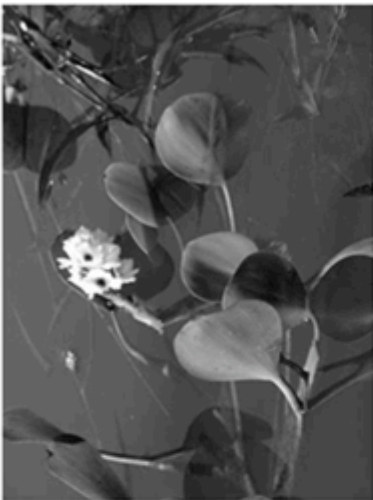
■ Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$)

■ Semelhanças estatisticamente significativas ($p \geq 0,05$)

Anexo XI: Fotos das coletas: (a) Banco de *E. azurea*; (b) Detalhe de flor de *E. azurea*; (c) Detalhe de flor de *C. furcata* e (d) *C. furcata*.



a



b

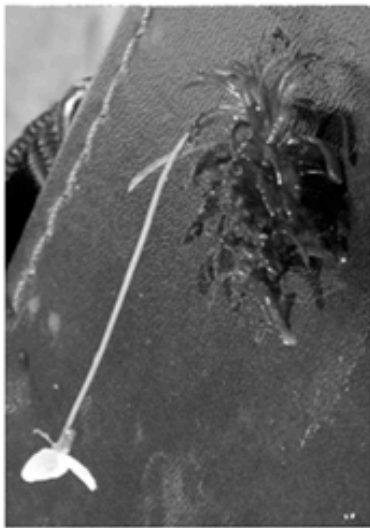


c



d

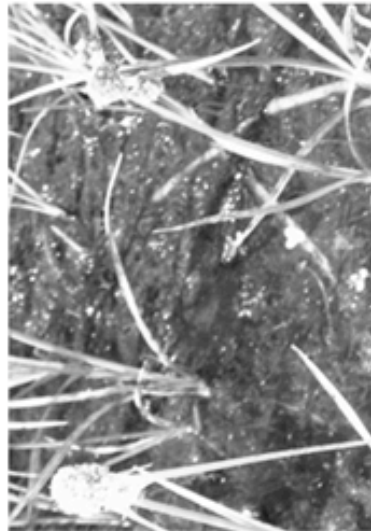
Anexo XII: Fotos das coletas: (a) Detalhe de flor de *E. najas*; (b) Banco de *E. najas*; (c) Detalhe ramo florífero de *O. cubense*; (d) Vista da lagoa do Óleo.



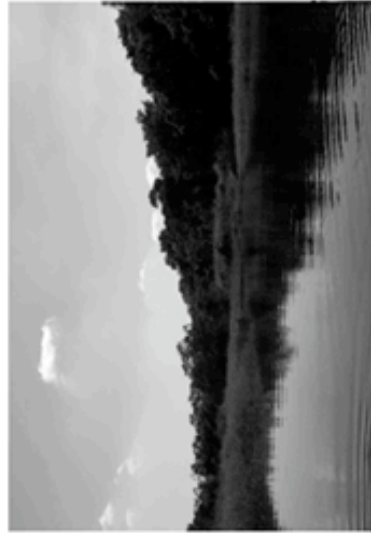
a



b

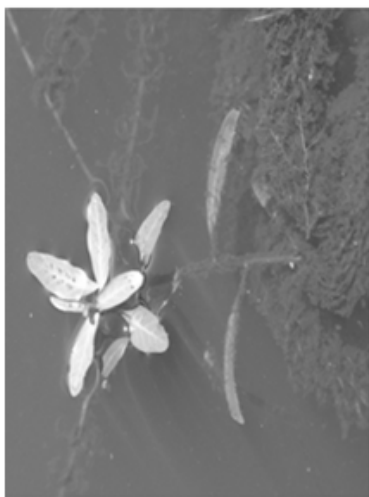


c



d

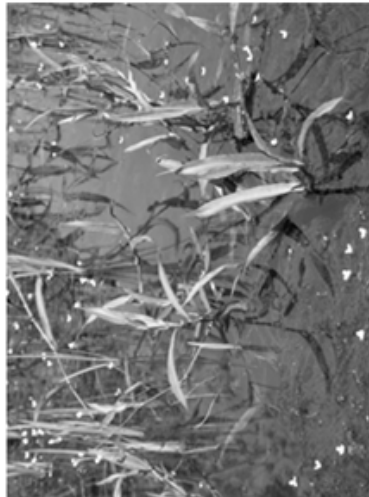
Anexo XIII: Fotos das coletas: (a) *L. incinata*; (b) *Salvinia* sp.; (c) Banco de *P. meissnerianum*; (d) *U. breviscapa*



a



b



c



d