



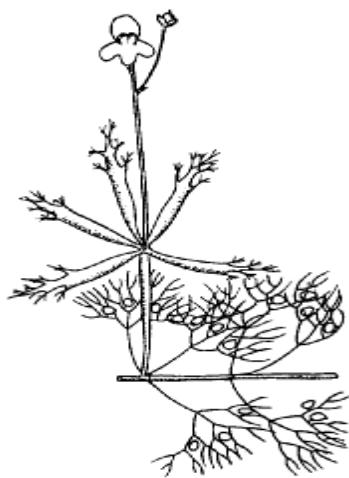
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde

Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

**Atividade enzimática, cinética e modelagem matemática da
decomposição de *Utricularia breviscapa* da lagoa do Óleo
(Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio - SP)**

Marcela Bianchessi da Cunha-Santino



Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências (Ciências Biológicas). Área de concentração em Ecologia e Recursos Naturais, campo de pesquisa: Limnologia.

São Carlos - SP

2003

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

C972ae

Cunha-Santino, Marcela Bianchessi da.

Atividade enzimática, cinética e modelagem matemática da decomposição de *Utricularia breviscapa* da lagoa do Óleo (Estação Ecológica de Jataí, Luiz Antônio – SP) / Marcela Bianchessi da Cunha-Santino. -- São Carlos : UFSCar, 2003.
140 p.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2003.

1. Ecologia aquática. 2. Consumo de oxigênio. 3. Celulase. 4. Metano. 5. Modelos matemáticos. 6. Macrófitas aquáticas. I. Título.

CDD: 574.5263 (20^a)

Orientador

Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior

Ao meu melhor amigo, pela sua essência.

Bom é fazer planos.

Melhor que fazer planos é trabalhar.

Melhor ainda é estabelecer metas e desafios.

Melhor que isso é batalhar segundo a segunda sem olhar para trás.

Melhor que batalhar é obter a conquista.

Melhor ainda é quando temos a consciência de que esta conquista foi coletiva.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Irineu Bianchini Júnior pela orientação: “Tantas vezes pensamos ter chegado...tantas vezes foi preciso ir além” (Fernando Pessoa).

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (PPG-ERN), que colaborou para o meu aperfeiçoamento profissional.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo concedida e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelos auxílios concedidos (processos: 98/15011-6 e 00/09297-6) para a realização deste trabalho.

Ao Departamento de Hidrobiologia pela infra-estrutura oferecida.

Ao LAPA/DHB/UFSCar (Angela Terumi Fushita) pelos dados cartográficos.

À banca examinadora: Profa. Dra. Regina T. R. Monteiro, Prof. Dr. Sidinei M. Thomaz, Profa. Dra. Odete Rocha e Prof. Dr. José Eduardo dos Santos.

À Regina Rossetto Cardoso da Silva, pela revisão deste trabalho.

À Dra. Vali Joana Pott, pelo auxílio na descrição da macrófita aquática utilizada.

Ao Angelo Mercadante Santino, pelo apoio, amizade e companheirismo.

À minha família, pelo incentivo constante à minha formação profissional.

Aos companheiros: Romilda, Lucilia, Alexandre, Rogério, Rafael, André, Francisco, Paula, Maura e Régis pelos momentos vividos no laboratório.

À Suely, pelos constantes incentivos.

Ao pessoal da secretaria do PPG-ERN (Eduardo, João, Rosely e Renata) e aos técnicos Jurity e Benedito pela convivência desde o mestrado.

A todos que contribuíram para que este trabalho pudesse ser concretizado, o meu sincero agradecimento.



Ninféias, 1916-1923
(Claude Oscar Monet)

SUMÁRIO

1	Introdução.....	01
1.1	Dinâmica da matéria orgânica dissolvida e particulada em ambientes aquáticos....	02
1.2	Estudos prévios sobre as enzimas.....	11
1.3	Breve histórico dos modelos para os processo de decomposição.....	14
2	Hipótese.....	17
3	Objetivos.....	17
4	Materiais e Métodos.....	19
4.1	Caracterização da área de coleta.....	19
4.2	Considerações sobre a espécie de macrófita estudada.....	23
4.3	Coleta e preparo do material.....	24
4.4	Pré-tratamento dos fragmentos de <i>U. breviscapa</i>	26
4.5	Experimento 1: Decomposição aeróbia e anaeróbia de <i>U. breviscapa</i> : aspectos cinéticos.....	27
4.6	Experimento 2: Determinação das atividades enzimáticas celulolíticas: efeito da temperatura e da disponibilidade de oxigênio.....	28
4.7	Experimento 3: Mineralização aeróbia: consumo de oxigênio.....	31
4.8	Experimento 4: Mineralização anaeróbia: formação de gases (CO ₂ e CH ₄).....	32
4.9	Hipóteses cinéticas.....	33
5	Resultados e Discussão.....	40
5.1	Caracterização da lagoa do Óleo: variáveis físicas e químicas.....	40
5.2	Experimento 1: Decomposição aeróbia e anaeróbia de <i>U. breviscapa</i> : aspectos cinéticos.....	45
5.3	Experimento 2: Determinação das atividades enzimáticas celulolíticas: efeito da temperatura e da disponibilidade de oxigênio.....	57
5.4	Experimento 3: Mineralização aeróbia: consumo de oxigênio.....	70
5.5	Experimento 4: Mineralização anaeróbia: formação de gases (CO ₂ e CH ₄).....	81
5.6	A ciclagem dos detritos de <i>U. breviscapa</i> na lagoa do Óleo.....	91
6	Conclusões.....	99
7	Perspectivas.....	101
8	Referências Bibliográficas.....	102
9	Anexos.....	129

LISTA DE FIGURAS

1 - Diagrama esquemático da decomposição dos detritos em condições aeróbias e anaeróbias (modificado de Colberg, 1988). Estrutura química da molécula de celulose (A) e de lignina (B).....	05
2 - Mecanismo da degradação da celulose (modificado de Saddler, 1986).....	07
3 - Rotas metabólicas da metanogênese (Schlegel, 1975).....	10
4 - Localização da Estação Ecológica de Jataí (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).....	20
5 - Vista aérea da lagoa do Óleo (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).....	20
6 - <i>Utricularia breviscapa</i> . (A) aspecto geral (modificado de Joly, 1977) e (B) exsicata - registro: 00111432 (Acervo: Jardim Botânico de Nova Iorque).....	24
7 - Modelo proposto para a decomposição de <i>U. breviscapa</i> (modificado de Bianchini Jr., 1999). Onde: COP _{LS} = carbono orgânico particulado lável e/ou solúvel; COP _R = carbono orgânico particulado refratário; COD = carbono orgânico dissolvido; k _T = coeficiente global de decaimento de COP _{LS} ($= k_1 + k_2$; k_1 = coeficiente mineralização das frações lábeis e k_2 = coeficiente de lixiviação; k_3 = coeficiente de mineralização do COD; k_4 = coeficiente de mineralização do COP _R ; IN ₁₋₃ = carbono mineralizado, segundo os coeficientes de mineralização (k_T , k_3 e k_4); válvula = fatores controlados (e.g. oxigênio e temperatura).....	36
8 - Valores médios da temperatura e das concentrações de oxigênio dissolvido da lagoa do Óleo; período: 2001 a 2003.....	42
9 - Variações temporais de COP, COD e CIT da decomposição (anaeróbia e aeróbia) dos detritos íntegros de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	46
10 - Coeficientes de mineralização (k_3 e k_4) em função da temperatura e da disponibilidade de oxigênio (A e C: condição anaeróbia e B e D: condição aeróbia); alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.....	51
11 - Variações temporais de COP, COD e CIT da decomposição (anaeróbia e aeróbia) da matriz LC de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	58
12 - Variações temporais de COP, COD e CIT da decomposição (anaeróbia e aeróbia) do lixiviado de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	61
13 - Atividades celulolíticas (detritos íntegros e matriz lignocelulósica) da decomposição anaeróbia de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	64
14 - (•) Atividade celulolítica acumulada (mol C ⁻¹) vs. (™) k_p (dia ⁻¹) em função da temperatura; alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.....	67

15 - Consumos acumulados de oxigênio na mineralização aeróbia dos detritos íntegros de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	71
16 - Variações temporais dos coeficientes estequiométricos (O/C) das mineralizações aeróbias dos detritos íntegros de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	78
17 - Variações dos OC _{máx} dos experimentos de consumo de oxigênio, em função da temperatura; alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.....	80
18 - Destinos das frações de carbono na mineralização anaeróbia de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura (138 dias).....	82
19 - Cinéticas das formações de CO ₂ e CH ₄ da degradação anaeróbia dos detritos íntegros de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	82
20 - Variações temporais (em função da temperatura) das taxas diárias de formação de CH ₄ , em relação às de formação de gases na decomposição de <i>U. breviscapa</i>	87
21 - Rendimentos de CO ₂ e CH ₄ em função da temperatura da decomposição anaeróbia de <i>U. breviscapa</i> (138 dias); alteres horizontais = DP.....	89
22 - Variações temporais da temperatura, oxigênio dissolvido e dos potenciais de heterotrofia (valores simulados) dos detritos de <i>U. breviscapa</i> (COD: k_3 e COP _R : k_4) da lagoa do Óleo; alteres verticais = erros.....	93
23 - Perfil vertical do potencial de oxi-redução do sedimento da lagoa do Óleo em janeiro de 2000 (Godinho, 2000) e variações temporais dos potenciais de heterotrofia das frações refratárias de <i>U. breviscapa</i> (COP _R : k_4) no sedimento; alteres verticais = erros.....	96

LISTA DE TABELAS

1 - Cronologia dos estudos sobre enzimas, com ênfase nos ecossistemas aquáticos.....	13
2 - Características morfométricas da lagoa do Óleo (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).....	19
3 - Faixas de variação, valores médios e os desvios padrão (DP) das variáveis químicas da lagoa do Óleo.....	22
4 - Variáveis físicas e químicas, carbono inorgânico e orgânico dissolvidos e profundidade de desaparecimento do disco de Secchi da lagoa do Óleo durante o período de janeiro de 2000 a junho de 2002.....	41
5 - Valores médios das concentrações de CID e de COD (mg L^{-1}) registradas a cada 30 cm na coluna d'água da lagoa do Óleo (abril de 2002).....	44
6 - Parâmetros do modelo cinético da decomposição de <i>U. breviscapa</i>	48
7 - Parâmetros do modelo cinético de consumo de oxigênio dissolvido da mineralização aeróbia de <i>U. breviscapa</i> , em função da temperatura.....	71
8 - Tempo de início para a formação do metano, coeficiente de formação (\pm erro), tempo de duplicação, coeficiente de determinação do modelo utilizado e teores de carbono mineralizado em função da temperatura.....	83

ANEXOS

I -	Decomposição dos fragmentos íntegros de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	129
II -	Decomposição dos fragmentos íntegros de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	130
III -	Decomposição da matriz LC de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	131
IV -	Decomposição da matriz LC de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	132
V -	Decomposição do lixiviado de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	133
VI -	Decomposição do lixiviado de <i>U. breviscapa</i> (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.....	134
VII -	Balanço de carbono das mineralizações anaeróbia (138 dias, Exp. 4) e aeróbia (95 dias, Exp. 3) de <i>U. breviscapa</i> em diferentes temperaturas. Em que: COP _f = carbono orgânico particulado final; COD _f = carbono orgânico dissolvido final; CM _f = carbono mineralizado final; CID _f = carbono inorgânico dissolvido final; C-gases = C-CH ₄ (rendimento de CH ₄) + C-CO ₂ (rendimento de CO ₂).....	135
VIII -	Diagrama esquemático do Experimento 1	136
IX -	Diagrama esquemático do Experimento 2 (enzimas)	137
X -	Diagrama esquemático do Experimento 2	138
XI -	Diagrama esquemático do Experimento 3	139
XII -	Diagrama esquemático do Experimento 4	140

SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

a	= constante de integração
CID	= carbono inorgânico dissolvido
CM	= carbono mineralizado
COD	= carbono orgânico dissolvido
COD_f	= carbono orgânico dissolvido final
COP	= carbono orgânico particulado
COP_{LS}	= carbono orgânico particulado lábil/solúvel
COP_L	= carbono orgânico particulado lábil
COP_R	= carbono orgânico particulado refratário
COT	= carbono orgânico total
COT_f	= carbono orgânico total final
CIT_f	= carbono inorgânico total final
DP	= desvio padrão
ϕ	= diâmetro
g	= aceleração da gravidade
ind	= indivíduo
LC	= lignocelulósico
MOD	= matéria orgânica dissolvida
MOP	= matéria orgânica particulada
MOT	= matéria orgânica total
n	= tamanho da amostra
IN	= compostos inorgânicos
k_T	= coeficiente global de decaimento da COP_{LS}
k_1	= coeficiente de mineralização das frações lábeis de COP_L
k_2	= coeficiente de lixiviação das frações solúveis de COP_{LS}
k_3	= coeficiente de mineralização do COD
k_4	= coeficiente de mineralização da COP_R
k_{ref}	= coeficiente de reação na temperatura de referência
k_{Tt}	= coeficiente de mineralização dependente da temperatura
k_a	= coeficiente de oxigenação
k_d	= coeficiente de desoxigenação das amostras
k_{dc}	= coeficiente de desoxigenação dos frascos controle
k_{CH4}	= coeficiente de formação de metano
k_p	= coeficiente de formação da celulase
O/C	= relação estequiométrica entre o consumo de oxigênio por átomo de carbono
$OC_{controle}$	= quantidade de oxigênio consumido do frasco controle
$OC_{máxc}$	= quantidade máxima de oxigênio consumido do frasco controle
$OC_{máx}$	= quantidade máxima de oxigênio consumido
OD	= oxigênio dissolvido
PF	= peso fresco
PS	= peso seco
Q_{10}	= proporção entre as taxas de reação sob incremento de 10°C
r^2	= coeficiente de determinação
t	= tempo
$t_{1/2}$	= tempo de meia-vida
t_d	= tempo de duplicação
θ	= coeficiente de ajuste da temperatura
Y_{CH4}	= rendimento máximo de formação de metano
$Z_{máx}$	= profundidade máxima
Z_{DS}	= profundidade do disco de Secchi
Z_r	= profundidade relativa máxima

RESUMO

Neste trabalho foram abordadas as atividades enzimáticas, cinéticas e modelagem matemática da decomposição de *Utricularia breviscapa* da lagoa do Óleo ($21^{\circ} 36' S$ e $47^{\circ} 49' W$), Luiz Antônio, SP. Os experimentos descreveram a decomposição em função da temperatura, da disponibilidade de oxigênio e da fonte de carbono. Para tanto, amostras da macrófita aquática e de água foram coletadas na lagoa do Óleo. Em seguida, prepararam-se incubações que foram mantidas em condições controladas. Os resultados permitiram concluir que: (i) os detritos de *U. breviscapa* apresentaram-se como um substrato heterogêneo, constituindo-se de frações lábeis/solúveis ($COP_{LS} \approx 23,5\%$) e refratárias ($COP_R \approx 76,5\%$). Os coeficientes de perda de massa das frações lábeis/solúveis ($k_T = 1,5 \text{ dia}^{-1}$) foram mais elevados que os de oxidação das frações refratárias: de ≈ 309 (condição aeróbia) a 469 (condição anaeróbia) vezes. Os incrementos da temperatura e das concentrações de oxigênio dissolvido favoreceram as mineralizações das frações refratárias. As mineralizações do COP_R na condição aeróbia foram mais rápidas que os na condição anaeróbia (1,5 vezes); (ii) as atividades enzimáticas da celulase apresentaram um padrão temporal que foi afetado pela temperatura, disponibilidade de oxigênio e fonte de carbono; (iii) as relações estequiométricas (O/C) variaram em função da temperatura e do tempo; (iv) os coeficientes de consumo de oxigênio (k_d) apresentaram baixa variação em função do incremento da temperatura; (v) o incremento da temperatura favoreceu a formação de CH_4 na decomposição anaeróbia de *U. breviscapa* e abreviou o início das emissões deste gás, (vi) possivelmente, a degradação enzimática da celulose nos estratos anaeróbios do sedimento contribui para a metanogênese da lagoa do Óleo; (vii) os potenciais de heterotrofia da lagoa do Óleo variam pouco durante o ano, a época mais favorável para a ciclagem dos detritos é a primavera (outubro - novembro), pois neste período ocorre o aumento da temperatura e uma maior disponibilidade de oxigênio.

ABSTRACT

This work approached the enzymatic activities, kinetics and mathematical modeling of the decomposition of *Utricularia breviscapa* from Óleo lagoon ($21^{\circ} 36' S$ and $47^{\circ} 49' W$), Luiz Antônio, SP. The experiments described the decomposition in function of temperature, availability of oxygen and carbon source. Samples of this macrophyte and water were collected in the Óleo lagoon; incubations were prepared and maintained in controlled conditions. The results allow us to conclude that: (i) the *U. breviscapa* detritus are a heterogeneous substrata and presented two fractions: a labile/soluble ($COP_{LS} \approx 23.5\%$) and a refractory ($COP_R \approx 76.5\%$). The mass losses coefficients of the labile/soluble fractions ($k_T = 1.5 \text{ day}^{-1}$) were higher than the refractory fractions (309 times in the aerobic condition and 469 times in the anaerobic condition). The increasing temperature and the dissolved oxygen concentrations favored the mineralization of the refractory fractions. The COP_R mineralization in the aerobic conditions was faster than in the anaerobic conditions (1.5 times); (ii) the enzymatic activities of the cellulase presented a temporal pattern that was affected by the temperature, availability of oxygen and carbon source; (iii) stoichiometric ratio (O/C) varied in function of temperature and time; (iv) the oxygen uptake coefficients (k_d) presented low variation in function of increasing temperature; (v) the increment on temperature favored the CH_4 formation in the anaerobic decomposition of *U. breviscapa* and its emissions tended to occur earlier; (vi) probably, the enzymatic degradation of the cellulose in the anaerobic strata of sediments contributed to methanogenesis in the Óleo lagoon; (vii) the simulations indicated that heterotrophic potentials of the Óleo lagoon presents low variations during the year; the favorable period for detritus cycling is in the spring (October - November), in this period increments in mineralization occurs as function of increasing temperature and high availability of oxygen.

1 Introdução

A zona litorânea dos ambientes lacustres se constitui na interface entre o ambiente terrestre e o aquático; atribui-se sua importância por: (i) ser uma zona de transição com potencial capacidade reguladora na retenção e assimilação de nutrientes (Rodrigues *et al.*, 2003); (ii) conter uma das regiões mais produtivas do mundo (Wetzel, 1990; Sfriso & Marcomini, 1999) e (iii) freqüentemente conter plantas aquáticas que contribuem para o aumento da heterogeneidade estrutural de habitats ocupados pelos animais aquáticos (Agostinho *et al.*, 2003).

Em geral, para os sistemas lacustres, a zona litorânea é colonizada por diferentes espécies de macrófitas aquáticas. Definem-se tais organismos como plantas aquáticas fanerógamas e pertencentes ao grupo das plantas superiores vascularizadas. Contudo, segundo o Programa Internacional de Biologia (IBP) considerando a taxonomia destes vegetais, é usual incluírem-se entre as hidrófitas espécies de macroalgas, pteridófitas e briófitas. Estas plantas distinguem-se das terrestres por possuírem particularidades anatômicas, fisiológicas e ecológicas (Scremin-Dias *et al.*, 1999).

A importância destes organismos nesta região não se restringe apenas na sua produtividade (Asaeda *et al.*, 2000; Best *et al.*, 2001), no seu papel como barreira física ou em sua interação com a fauna (*e.g.* refúgio, suporte para desova, alimento, substrato para a epifauna); mas, também na oxigenação da água circundante e na ciclagem de compostos (orgânicos e inorgânicos), uma vez que podem se constituir na principal fonte autóctone de detritos desta região (Rooney & Kalff, 2000), podendo ser responsáveis por até 50% da adução de matéria orgânica e de nutrientes para o sistema (Wetzel, 1983; Benner *et al.*, 1986). O acúmulo de detritos é, normalmente, regulado pela quantidade de material que entra no sistema e sua taxa de decomposição

(Pieczynska, 1990; 1993). Desse modo, os processos de produção primária das zonas litorâneas exercem influências importantes na dinâmica e no metabolismo dos sistemas aquáticos (Shrestha & Janauer, 2000).

A magnitude do coeficiente de degradação da matéria orgânica depende da concentração, da composição química do substrato, das condições ambientais (*e.g.* temperatura e disponibilidade de oxigênio dissolvido) e da capacidade enzimática da comunidade microbiana, que representa um sistema integrado de enzimas (Sinsabaugh *et al.*, 1991). Neste contexto, este estudo aborda aspectos da decomposição de uma espécie de macrófita aquática (*Utricularia breviscapa* Wright ex Griseb), com ênfase nos processos enzimáticos, cinéticos e na modelagem matemática.

1.1 Dinâmica da matéria orgânica particulada e dissolvida em ambientes aquáticos

As fontes de matéria orgânica dos ecossistemas aquáticos são principalmente os detritos orgânicos e secundariamente a biomassa viva. Segundo Wetzel (1990), detrito pode ser definido como todo material orgânico não utilizado de forma predatória em qualquer nível trófico (incluindo ingestão, excreção, secreção, etc.), ou como a entrada de carbono orgânico de fontes externas ao ecossistema. Os detritos podem ser encontrados em duas formas distintas: (i) matéria orgânica dissolvida (MOD) e (ii) matéria orgânica particulada (MOP).

As transformações bioquímicas da MOD e da MOP de origem vegetal que ocorrem através do metabolismo microbiano são fundamentais para a dinâmica dos ciclos de carbono, de nutrientes e para o fluxo de energia dos ecossistemas aquáticos (Wetzel, 1995). Os metabolismos associados com a MOP e MOD fornecem a energia

necessária para a operação e a estabilidade metabólica de todo o ecossistema (Wetzel, 1990).

Após a senectude das plantas, com as perdas das integridades dos tecidos, grandes quantidades de componentes celulares solubilizam-se rapidamente (Cunha & Bianchini Jr., 1998a). Desta forma, quantidades apreciáveis de MOD são produzidas durante os primeiros estádios da decomposição. Assim, as conversões de partes dos tecidos vasculares das plantas aquáticas em MOD são de extrema importância, uma vez que as macrófitas aquáticas mediam a transferência de carbono para os microrganismos da coluna d'água e para os aderidos nos detritos particulados (Sala & Güde, 1999).

Sendo a decomposição microbiana da matéria orgânica um processo enzimático, os organismos capazes de degradá-la produzem um conjunto de enzimas envolvidas na hidrólise dos compostos orgânicos. Estes complexos enzimáticos dependem, em termos quantitativos e qualitativos, da disponibilidade de nutrientes e das populações que crescem sob determinadas condições ambientais (Chróst *et al.*, 1986). O processo de decomposição envolve a hidrólise enzimática dos compostos de alto peso molecular. Este processo interfere diretamente nas taxas totais de perda de massa (Meyer-Reil, 1987), pois produz um fluxo de substratos assimiláveis para os diferentes tipos de organismos heterotróficos (Billen, 1982).

A partir de uma revisão sobre a atuação das enzimas em ambientes aquáticos, Chróst (1990) propôs a denominação de ectoenzimas, para qualquer enzima que é secretada e atravessaativamente a membrana citoplasmática. Também sugeriu este termo para se referir às enzimas aderidas à superfície celular que irão reagir com substratos poliméricos externos à célula.

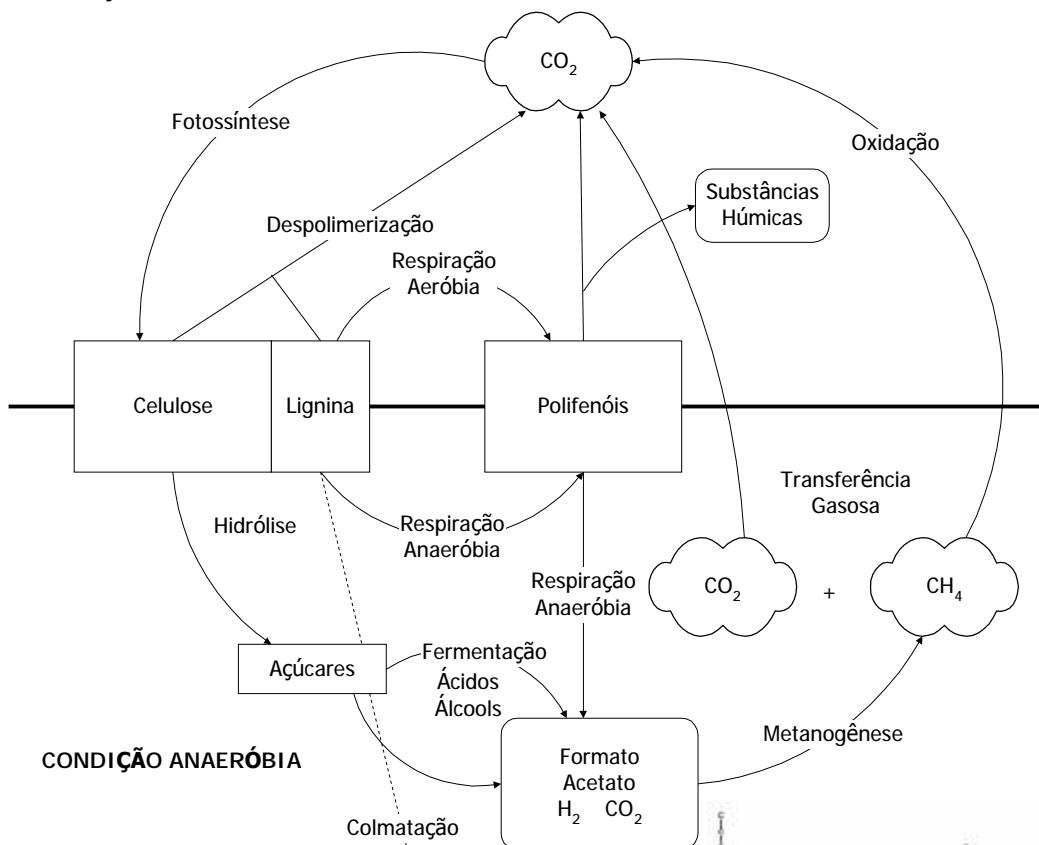
A etapa de hidrólise das substâncias de alto peso molecular é realizada principalmente através da ação de enzimas que operam externamente às células

microbianas, já que os compostos de alto peso molecular não são, normalmente, absorvidos pelos microrganismos (Billen, 1982). Desta forma, a decomposição da matéria orgânica pode ser entendida como a conversão de compostos de alto peso em substâncias mais simples, com baixo peso molecular. Este processo ocorre, principalmente, através de mecanismos enzimáticos; finalizando as transformações dos substratos orgânicos em biomassa microbiana, compostos orgânicos intermediários, elementos minerais e energia. As atividades das ectoenzimas se constituem em um fator limitante para a aquisição de carbono pelos organismos heterotróficos. As sínteses destas enzimas são controladas, em nível de transcrição, por mecanismos de indução ou depressão, que por sua vez, estão ligados à disponibilidade de nutrientes do ambiente aquático (Chróst, 1991).

De acordo com Sinsabaugh *et al.* (1997) as enzimas mais atuantes na decomposição de plantas aquáticas são as diretamente envolvidas na degradação dos compostos lignocelulósicos (Fig. 1). Detritos ricos em tais compostos representam uma fonte significativa de carbono orgânico particulado em ecossistemas aquáticos. Cerca de 50 a 80% da biomassa de plantas aquáticas são compostos por fibras que apresentam uma proporção de polissacarídeos/lignina variando de 1,75:1 a 7:1 (Maccubbin & Hodson, 1980; Bianchini Jr. & Toledo, 1996).

A celulose (Fig. 1A) é um polímero estrutural linear formado por unidades de D-glicose. Estas moléculas são unidas por ligações β -(1,4)-glicosídicas; estas cadeias lineares estão unidas por pontes de hidrogênio (Grant-Reid, 1997). O mecanismo da degradação da celulose por fungos foi proposto por Reese *et al.* (1950); nas décadas seguintes, outros estudos demonstraram a sinergia dos diversos tipos de enzima na

CONDICÃO AERÓBIA



CONDICÃO ANAERÓBIA

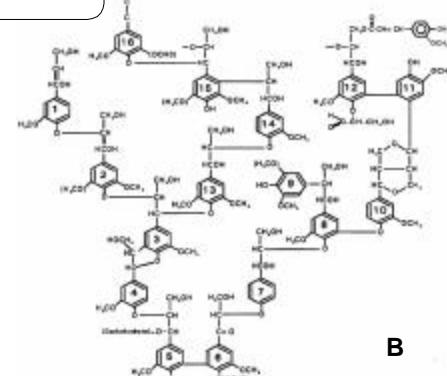
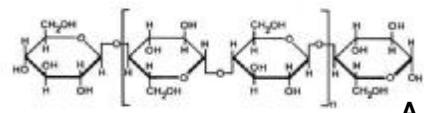
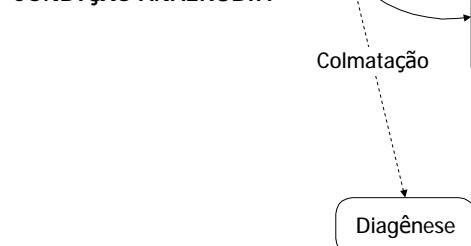


FIGURA 1 - Diagrama esquemático da decomposição dos detritos em condições aeróbias e anaeróbias (modificado de Colberg, 1988). Estrutura química da molécula de celulose (A) e de lignina (B).

degradação da celulose (Mandels & Reese, 1964; Li *et al.*, 1965; Selby & Maitland, 1967; Wood & McCrae, 1972). A celulose é hidrolisada por ectoenzimas (despolimerases) e durante sua degradação, algumas espécies de microrganismos são capazes de quebrá-la em dissacarídeos (celobiose) ou em moléculas de glicose (Tomme *et al.*, 1995). A hidrólise enzimática da celulose depende de um complexo de três enzimas (endocelulase, exocelulase e β -glicosidase; Fig. 2) que agem sinergicamente sobre o polissacarídeo (Béguin & Aubert, 1994), gerando açúcares redutores de baixo peso molecular (Saddler & Khan, 1980). Numa primeira etapa da degradação, a endocelulase hidrolisa ao acaso as ligações β -1,4-glicosídicas do polímero. A segunda etapa decorre da ação da exocelulase que atua sobre o final da cadeia polimérica, liberando unidades de celobiose do final da cadeia e por último (terceira etapa), a β -glicosidase hidrolisa a celobiose em glicose. Em comparação com a celulose, a lignina é degradada mais vagarosamente e, portanto, tende ao acúmulo nos sedimentos dos lagos (Colberg, 1988).

As ligninas (Fig 1B) são substâncias poliméricas naturais formadas por sub-unidades aromáticas de fenil-propano (*e.g.* *p*-hidroxifenil-propano, guaiacilpropano e siringilpropano); juntamente com a celulose classificam-se entre as substâncias naturais mais abundantes, representando cerca de 30% do carbono total da biosfera (Fengel & Wegener, 1984).

No catabolismo aeróbio da lignina, o oxigênio molecular é necessário como acceptor terminal de elétrons na respiração, para a hidroxilação e na reação de fissão do anel aromático. O papel das peroxidases (*e.g.* lignina peroxidase, manganês peroxidase) e das fenoloxidases na degradação da lignina foi postulado na década de 30 (século XX) para fungos de degradação branca (Eriksson *et al.*, 1990). Os mecanismos bioquímicos propostos para a degradação da lignina basearam-se em estudos que envolveram

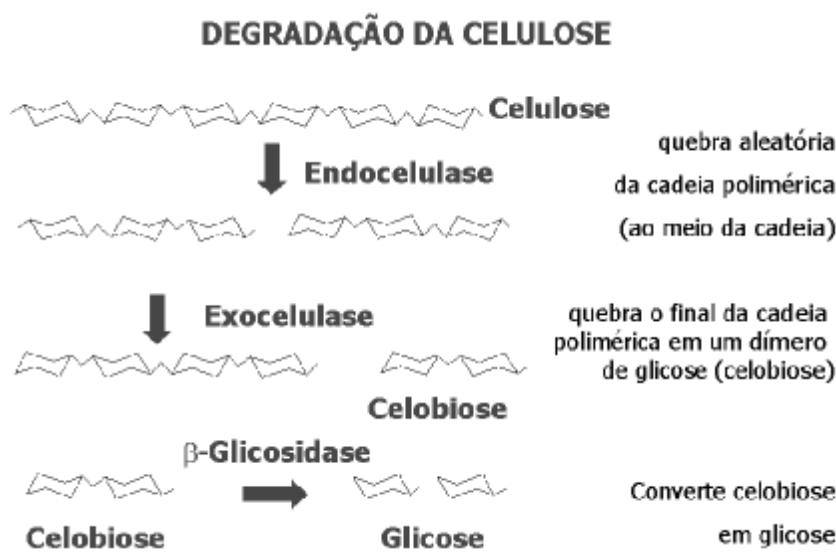


FIGURA 2 - Mecanismo da degradação da celulose (modificado de Saddler, 1986).

enzimas extracelulares de Basidiomicetos (Gold & Alic, 1993). Trabalhos realizados na década de 70 (século XX) demonstraram que as hidrólises da lignina eram reações catalisadas por oxidoredutases, do tipo lacases e peroxidases (Kirk, 1971; Ander & Eriksson, 1976). A peroxidase é constituída por glicoproteínas que contêm ferroprotoporfirina IX (heme) como grupo prostético; requer peróxido de hidrogênio (H_2O_2) para a atividade catalítica e catalisa diversos tipos de reações: (a) clivagem de ligações C-C resultando na despolimerização da lignina em fenóis metoxilados e substituindo compostos benzóicos; (b) hidroxilação e oxidação e (c) clivagem do anel aromático (Lynch & Hobbie, 1988). Atualmente esta enzima tem sido observada em vários fungos (Tien & Kirk, 1988; Collins & Dobson, 1995; Shimada *et al.*, 1997; Tuomela *et al.*, 2000; Zacchi *et al.*, 2000) e bactérias (Bon *et al.*, 1999).

Os monômeros aromáticos derivados da lignina contribuem para a formação das substâncias húmidas (Zech *et al.*, 1997). Até a década de 30, supunha-se que o

catabolismo dos compostos aromáticos somente se processava através do metabolismo aeróbio. A primeira evidência da degradação anaeróbia da lignina foi reportada em 1934 por Boruff e Buswell; neste estudo os autores concluíram que 54% das ligninas contidas em talos de milho foram convertidas em CO_2 e CH_4 , após 600 dias de incubação. Neste mesmo ano, Tarvin e Buswell registraram que compostos aromáticos (ácido benzóico, fenolacético, fenilpropiônico e cinâmico) foram completamente mineralizados ao serem adicionados em lodo de esgoto. Desta forma, com a ausência de oxigênio molecular, uma nova proposta de fissão do anel aromático foi apresentada por Dutton e Evans em 1969, pela qual se postulou que os mecanismos de redução do anel seriam realizados por reação de hidrogenação do núcleo aromático, resultando num derivado de ciclohexano e posterior abertura do anel aromático (Colberg, 1988).

Pesquisas realizadas por Benner & Hodson (1985) sobre a mineralização anaeróbia de compostos lignocelulósicos em sedimentos, concluíram que a lignina é mineralizada em CO_2 e CH_4 sob baixas velocidades; porém, quantitativamente, este processo é bastante significativo para o ambiente aquático. Estudos de laboratório indicaram, também, a importância dos detritos fibrosos para a produção de metano durante a degradação de algumas espécies de macrófitas aquáticas (Bianchini Jr. *et al.*, 1998).

Os polímeros orgânicos (*i.e.* celulose e lignina) são hidrolisados e os oligômeros ou os monômeros produzidos são metabolizados tanto na presença, quanto na ausência de oxigênio (Chróst, 1991). A disponibilidade dos aceptores de elétrons irá determinar, por sua vez, as rotas metabólicas pelas quais os compostos serão processados (Schlegel, 1975) e consequentemente, os tipos de produtos finais (*i.e.* produtos inorgânicos).

A mineralização aeróbia apresenta as seguintes características: (i) requer a presença de oxigênio; (ii) as células mantêm o balanço redox intracelular; (iii)

geralmente a respiração está operacionalmente associada ao ciclo do ácido tricarboxílico, com a produção final de CO₂ e sem a formação de metabólitos intermediários; (iv) os processos metabólicos estão acoplados à síntese de ATP, através da fosforilação oxidativa, sendo energeticamente eficientes (Hamilton, 1984).

Na ausência ou escassez de oxigênio, as degradações podem ocorrer utilizando-se outros compostos como aceptores de elétrons (NO₃⁻, SO₄²⁻); neste caso, tais processos são definidos como respiração anaeróbia. Nos processos fermentativos os aceptores de elétrons são os compostos orgânicos (Schlegel, 1975).

As características principais do metabolismo fermentativo são: (i) ocorre na ausência de oxigênio e, geralmente, este elemento exerce um efeito inibidor sobre o processo; (ii) o balanço redox intracelular é mantido nas rotas metabólicas; (iii) grandes quantidades de produtos reduzidos durante o processo são lançadas no meio extracelular (*e.g.* ácidos orgânicos voláteis); (iv) energeticamente, o processo é ineficiente; ou seja, grande parte da energia livre do substrato primário é retida para a formação dos produtos da fermentação (Lynch & Hobbie, 1988). Ainda, em relação ao metabolismo anaeróbio, o CH₄ juntamente com o CO₂ são os dois produtos finais predominantes deste processo; resultam da ação de vários grupos de microrganismos anaeróbios (*i.e.* sintrofismo). Dentre os fatores controladores da produção de CH₄ em ambientes aquáticos citam-se: (i) disponibilidade dos aceptores de elétrons; (ii) quantidade e qualidade do suprimento de matéria orgânica; (iii) temperatura; (iv) pH (Kiene, 1991). As interações entre estes fatores, em conjunto com as rotas metabólicas que geram os intermediários (Fig. 3) de reação, podem influenciar a produção de CH₄ (Bergman *et al.*, 1999). No caso dos intermediários, tem-se atribuído ao acetato como sendo o principal substrato para a metanogênese (Boone, 1991; Conrad, 1999).

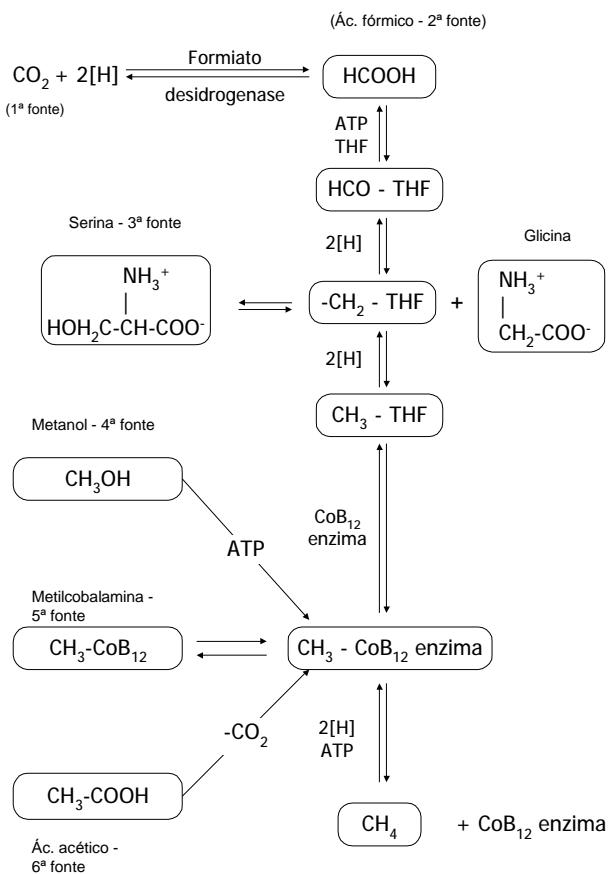


FIGURA 3 - Rotas metabólicas da metanogênese (Schlegel, 1975).

O processo de decomposição também é dependente de outros fatores; dentre os abióticos citam-se: concentração de nutrientes (López *et al.*, 1998), suprimento de aceptores de elétrons (Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2002a), temperatura (Mendelssohn *et al.*, 1999) e pH (López-Archilla *et al.*, 2001). Fatores relativos à qualidade dos detritos tais como: composição química e morfologia estrutural (*e.g.* raiz, folha; Gessner, 2000), relação C:N:P (Enriques *et al.*, 1993), tamanho (Bianchini Jr. & Antonio, 2003) e origem (Jonsson *et al.*, 2001; Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2002a; Cunha-Santino & Bianchini Jr., submetido-a) também afetam as taxas de decomposição.

Em relação à temperatura, é bem estabelecido que a mineralização do carbono aumenta com o seu incremento (Shiah & Ducklow, 1994; Lomander, 2002; Pacobahyba, 2002). A resposta das taxas de mineralização do carbono é tradicionalmente descrita pelo parâmetro Q_{10} (proporção entre as taxas de reação sob incremento de 10°C). Dentre os vários métodos de obtenção, os valores de Q_{10} podem ser determinados na descrição das mudanças nas atividades enzimáticas decorrentes do aumento da temperatura (Mihelcic *et al.*, 1998); assim podem expressar, indiretamente, as atividades metabólicas dos microrganismos heterotróficos.

Originalmente a relação Q_{10} foi desenvolvida por Van't Hoff no ano de 1898 (revisão realizada por Kirschbaum, 1995). Para sistemas biológicos freqüentemente admite-se que os valores de Q_{10} sejam próximos a 2,0 (Swift *et al.*, 1979); porém derivações deste valor são bastante comuns (Nozhevnikova *et al.*, 1997; Antonio & Bianchini Jr., 2002). Uma revisão realizada por Kätterer *et al.* (1998) discute várias funções utilizadas para descrever o efeito da temperatura nos processos de decomposição (*e.g.* funções lineares, logísticas, potenciais). No caso da mineralização, os valores de Q_{10} são possíveis de serem obtidos de coeficientes cinéticos ou das concentrações dos produtos finais gerados.

1.2 Estudos prévios sobre enzimas

“Para compreender o estado atual da ciência,
precisamos saber como ela chegou a ser assim:
nós não podemos evitar os acontecimentos históricos...
Para avançar rumo ao futuro devemos olhar para trás, no passado”
(Ziman, 1976)

A descoberta das enzimas reporta-se ao início do século XIX; a partir deste período, estudos sobre os mecanismos e as cinéticas da catálise enzimática foram

elaborados por vários pesquisadores (Tab. 1), sendo objeto de vários estudos até os dias atuais.

De acordo com uma revisão realizada por Insam (2001), em relação aos mecanismos de hidrólise enzimática da matéria orgânica do solo, a presença e atuação de enzimas estão muito bem estabelecidas; porém os papéis destes catalisadores em ambientes aquáticos têm sido pouco explorados; à exceção da fosfatase, cujos estudos datam das décadas de 60 e 70 (*e.g.* Reichardt *et al.*, 1967).

Dentre os trabalhos pioneiros sobre o papel das enzimas em ambientes aquáticos, destacam-se o de Hollibaugh & Azam (1983), no qual a degradação microbiológica de proteínas dissolvidas em ambientes marinhos foi enfocada. Hoppe (1983) descreveu o significado das atividades de ectoenzimas em águas salobras e Chróst *et al.* (1986) realizaram um estudo sobre a degradação enzimática da matéria orgânica em um lago eutrofizado.

A partir da década de 80 (século XX), devido ao desenvolvimento de inúmeros trabalhos sobre a degradação enzimática da matéria orgânica (coluna d'água e sedimentos lacustres, ecofisiologia de algas e bactérias, eutrofização, biogeoquímica e ciclagem de nutrientes tanto de águas marinhas quanto continentais) foi realizado por Jürgen Overbeck, Uwe Münster e Ryszard J. Chróst, em julho de 1989, o Primeiro Workshop sobre Enzimas em Ambientes Aquáticos. Este encontro teve o intuito de discutir padronizações e aspectos (teóricos e práticos) relevantes ao estudo da degradação microbiana (em nível enzimático) em ambientes aquáticos, como por exemplo: métodos experimentais de avaliação da atividade enzimática, regulação da síntese de enzimas, padrões de distribuição de enzimas na coluna d'água e no sedimento, papel das enzimas no metabolismo microbiano e o significado ecológico das enzimas em ambientes aquáticos.

TABELA 1 - Cronologia dos estudos sobre enzimas, com ênfase nos ecossistemas aquáticos.

Período/ Ano	Pesquisador	Descrição do estudo	Referência
Início do século XIX		Reconhecimento de alguma forma de catálise em sistemas biológicos.	
1850	Pasteur	Reconhecimento do processo de fermentação do açúcar em álcool.	Lehninger, 1993
1878	Kühne	Denominou o termo <i>enzimas</i> somente para células vivas.	Lehninger, 1993 Bobbio & Bobbio, 1992
Entre 1892 e 1902	Brown	Descobriu que as reações enzimáticas não seguiam uma cinética de segunda ordem.	Brezonik, 1994
1897	Büchner	Extraiu enzimas na forma ativa por prensagem de células de levedura.	Bobbio & Bobbio, 1992
1903	Henri	Teorizou que as enzimas catalisavam reações formando um complexo com o substrato.	Brezonik, 1994
1906	Fermi	Observou as enzimas proteolíticas em águas estagnadas.	Overbeck, 1991
Início do século XX	Fischer	Primeiros estudos sistemáticos da especificidade enzimática.	Lehninger, 1993
Década seguinte	Michaelis e Menten	Estudos sobre cinética enzimática.	Brezonik, 1994
1925	Briggs e Haldane	Utilizaram o conceito de <i>steady-state</i> e derivaram a mesma equação que Michaelis e Menten.	Overbeck, 1991
1925	Harvey	Presença de catalases e oxidases na água do mar.	Lehninger, 1993
1927	Summer	Descobrimento de que as enzimas cristalizadas eram proteínas.	Brezonik, 1994
Década de 30	Northrop e colaboradores	Reconhecimento de que enzimas eram proteínas.	Overbeck, 1991
1934	Kreps	Assumiu que as enzimas extracelulares originárias de bactérias e de plantas e animais marinhos estavam presentes na água do mar	Overbeck, 1991
1957	Vallentyne	Reconhecimento de que as enzimas livres são importantes para as transformações químicas nos ambientes aquáticos.	Overbeck, 1991
1938	Steiner	Mostrou que a fosfatase era excretada a partir do zooplâncton.	Overbeck, 1991
Últimos anos da década de 50	Overbeck	Conhecimento básico sobre tipos e mecanismos de reação enzimática para a realização de uma classificação das enzimas. Durante o 14º Encontro da <i>Societas Internationalis Limnologiae</i> demonstrou interesse em estudar o metabolismo da fosfatase.	Rodwell, 1968
1959	International Union of Biochemistry (IUB)	Sistema de nomenclatura para as enzimas.	Overbeck, 1991
1961			Rodwell, 1968

Após esta reunião, Chróst (1991) publicou um livro sobre as ectoenzimas e sua importância nos ambientes aquáticos. Nesta mesma época, Overbeck (1991) realizou uma compilação dos primeiros estudos sobre a presença de enzimas ecto e extracelulares em ambientes aquáticos; neste trabalho o autor relata seu antigo interesse (desde 1961) sobre as fosfatas.

Os avanços nas pesquisas durante a década de 90 (século XX) sobre metabolismo enzimático deram origem a inúmeras contribuições científicas. Atualmente, muitos trabalhos sobre a atuação das enzimas na regulação da ciclagem da matéria orgânica vêm sendo desenvolvidos em ambientes aquáticos das regiões temperadas (Jackson *et al.*, 1995; Sinsabaugh *et al.*, 1997; Fioretto *et al.* 2000; Moorhead & Sinsabaugh, 2000; Kourtev *et al.* 2002; Siuda & Chróst, 2002), sendo escassas as informações para os ambientes aquáticos tropicais e subtropicais.

1.3 Breve histórico dos modelos para os processo de decomposição

Vários modelos matemáticos têm sido utilizados para descrever os processos de decomposição tanto em ambientes terrestres quanto em aquáticos. Os quatro modelos mais empregados são: (i) modelo exponencial simples (cinética de primeira ordem): baseia-se no pressuposto de que as taxas de decomposição sejam proporcionais à quantidade de matéria orgânica remanescente (Jenny *et al.*, 1949; Olson, 1963; Wieder & Lang, 1982); (ii) modelo exponencial múltiplo: considera que a matéria orgânica não seja um substrato homogêneo, e que consiste em vários componentes (Minderman, 1968; Vossbrinck *et al.*, 1979; Gillon *et al.*, 1994; Bianchini Jr. *et al.*, 2002); (iii) modelo sigmóide: adota a ocorrência de um tempo de transição durante as primeiras etapas da degradação, até que os microrganismos decompositores colonizem o detrito

(Harmon *et al.*, 1986); (iv) modelo linear: adota que as taxas de decomposição sejam constantes em função do tempo (cinética de ordem zero), não sendo proporcionais às massas dos detritos remanescentes (Mason & Bryant, 1975; Sinsabaugh *et al.*, 1993; Alvarez & Guerrero, 2000).

Os coeficientes de decomposição são, geralmente, expressos pela constante k . Uma vez que a degradação dos detritos, está diretamente ligada à atividade enzimática, diferenças nesta atividade podem se refletir diretamente em mudanças em tais coeficientes. O modelo mais freqüentemente utilizado para a determinação dos ks é o modelo exponencial (Suberkropp, 2001). Este modelo foi originalmente desenvolvido para descrever a decomposição em ambientes terrestres (Jenny *et al.*, 1949; Olson, 1963). Na década de 70 (século XX), foi intensamente utilizado para descrever o decaimento de folhas em riachos (Petersen & Cummins, 1974). Conforme proposto por Minderman (1968), Lousier & Parkinson (1976) e Jenkinson (1977), a decomposição deve ser representada por um conjunto de equações exponenciais, no qual, cada uma das equações refere-se a um composto (*e.g.* lignina, celulose) ou a uma classe de compostos (*e.g.* fibras). Desde sua postulação, o modelo exponencial, tem sido utilizado para a comparação dos processos de decomposição de macrófitas aquáticas (Cunha & Bianchini Jr., 1998a; Cunha & Bianchini Jr., 1999; Komíková *et al.*, 2000) ou de recursos vegetais degradados em ambientes aquáticos (*e.g.* folhas, caules, galhos; Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2002b). Inclusões dos efeitos de variáveis abióticas (*e.g.* temperatura; Hanson *et al.*, 1984) e bióticas (*e.g.* composição química do detrito; Wieder & Lang, 1982) no modelo exponencial têm sido contempladas por vários pesquisadores.

Segundo Webster & Benfield (1986), este modelo fornece um coeficiente que descreve o processo de decomposição de maneira adequada, sendo o k um parâmetro

bastante utilizado para comparar os processos de decomposição sob diferentes condições experimentais (*e.g.* incubações *in situ* e em condições controladas).

Os modelos se propõem descrever aspectos do comportamento do sistema real, através do estabelecimento de equações matemáticas; dificilmente descrevem perfeitamente a realidade, porém o suficiente para responder a hipóteses específicas (Characklis, 1990). O uso da modelagem na análise de dados experimentais permite a discussão de hipóteses que visam à elucidação das tendências gerais do sistema estudado e para fazer comparações quantitativas (Straškraba, 1973).

Os coeficientes de ciclagem da matéria orgânica (representadas pelos k_s) representam uma importante ferramenta para a descrição da dinâmica dos ecossistemas aquáticos. Desta forma, a modelagem matemática pode contribuir significativamente para o entendimento dos processos de transferência de elementos químicos destes ambientes. Através da seleção de modelos apropriados, estes coeficientes podem ser estimados; para tanto, as cinéticas das reações químicas e biológicas devem considerar particularidades do sistema em estudo e as relações estequiométricas devem ser balanceadas (Characklis, 1990). Os coeficientes de decomposição são determinados indiretamente através das estimativas do consumo de oxigênio, da evolução de CO₂ ou do CH₄ e também, podem ser estimados (diretamente) através da perda de massa dos recursos (Saunders, 1980).

2 Hipótese

Na lagoa do Óleo, na decomposição de *Utricularia breviscapa*, as taxas de decaimento dos detritos são influenciadas por fatores abióticos (*e.g.* temperatura e disponibilidade de oxigênio) e bióticos (*e.g.* qualidade do detrito). Deste modo, este estudo admite *a priori* que estes fatores controlam diretamente as atividades enzimáticas durante a degradação. Admite ainda, que a ação conjunta dos fatores ambientais (*e.g.* temperatura e disponibilidade de oxigênio) pode elevar o potencial de heterotrofia da lagoa do Óleo.

3 Objetivos

Considerando que a transformação dos detritos, através da atividade enzimática, seja o ponto chave da regulação dos processos de ciclagem dos ambientes aquáticos, por este trabalho se propõe descrever os efeitos de fatores (abióticos e bióticos) sobre a decomposição de uma espécie de macrófita aquática; desta forma, os objetivos específicos foram:

- (i) Construir modelos cinéticos relativos à decomposição de *U. breviscapa*; ou seja, propor as rotas da transformação da matéria orgânica e determinar os coeficientes de decaimento para diferentes condições experimentais (*i.e.* disponibilidade de oxigênio e temperatura), em função do decaimento de carbono.
- (ii) Verificar o efeito da temperatura e da disponibilidade de oxigênio como um fator de regulação da atividade enzimática durante a decomposição de diferentes fontes de carbono (lixiviado, planta integra e matriz lignocelulósica) de *U. breviscapa*, avaliando para cada condição, a eficiência desta atividade e determinar a ocorrência de aumento na intensidade da atividade da celulase, em função da fonte de carbono.
- (iii) Descrever, em função da temperatura e do tempo, o consumo de oxigênio, decorrente dos processos de mineralização aeróbia dos detritos de *U. breviscapa* e

quantificar as relações estequiométricas entre as quantidades de oxigênio consumido por carbono oxidado (O/C).

(iv) Descrever e quantificar os processos de formação de CO₂ e de CH₄, em função da temperatura, decorrentes da mineralização anaeróbia dos detritos de *U. breviscapa*.

Este estudo insere-se em um programa integrado de pesquisa, que vem sendo desenvolvido por profissionais da UFSCar e de outras instituições desde 1987, denominado: "Lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu: avaliação ambiental e papel ecológico"; este programa tem como um de seus objetivos a compreensão dos sistemas aquáticos da Estação Ecológica de Jataí, com ênfase na dinâmica dos processos ecológicos.

4 Materiais e Métodos

4.1 Caracterização da área de coleta

A lagoa do Óleo ($21^{\circ} 36' S$ e $47^{\circ} 49' W$) pertence ao sistema de lagoas marginais situado na bacia de drenagem do rio Mogi-Guaçu. É uma das 15 lagoas que recebem proteção oficial da Estação Ecológica de Jataí ($21^{\circ}33'$ a $21^{\circ}37'S$ e $47^{\circ}45'$ a $47^{\circ}51'W$), município de Luiz Antônio, SP (Figs. 4 e 5). Este 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 desta região, sendo raso, com pequena área (Tab. 2) e com grande incidência de macrófitas aquáticas na zona litorânea (Rocha *et al.*, 2000).

TABELA 2 - Características morfométricas da lagoa do Óleo (LAPA/DHb/UFSCar).

Área.....	17.400 m ²
Perímetro.....	1.522 m
Largura máxima.....	50 m
Largura mínima.....	20 m
Comprimento máximo.....	678 m
Z _{máx}	4,5 m
Z _r	3,02 (%)
Índice de desenvolvimento de margem.....	3,25

Um levantamento da distribuição de metais pesados (cromo, manganês, ferro, níquel, cobre, zinco, cádmio e chumbo) nos sedimentos de várias lagoas da Estação Ecológica de Jataí (Lima, 1990) mostrou que os sedimentos da lagoa do Óleo não apresentaram contaminação por metais.

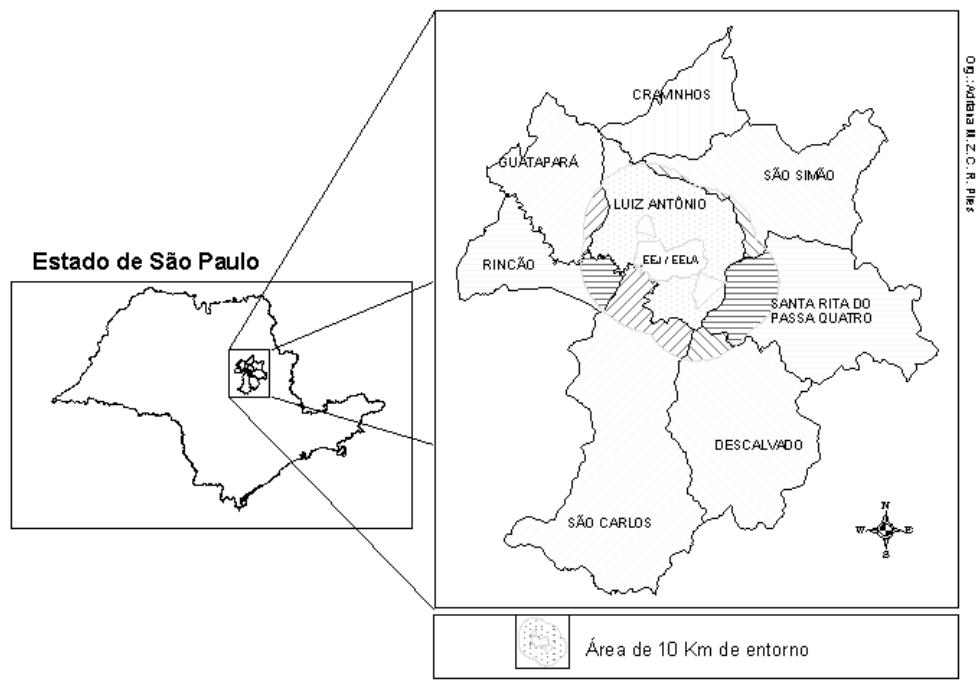


FIGURA 4 - Localização da Estação Ecológica de Jataí (Acervo: LAPA/DHb/UFSCar).



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

Strixino *et al.* (1997) realizaram um estudo na lagoa do Óleo e mostraram que a densidade média de macroinvertebrados bentônicos foi extremamente pobre tanto numericamente ($355,5 \text{ ind m}^{-2}$) como na composição faunística (n.º de taxa = 6, com predomínio dos gêneros *Chironomus* e *Sayomyia*).

Strixino *et al.* (1997) registraram os seguintes gêneros de macrófitas aquáticas na lagoa do Óleo: *Cabomba* sp., *Utricularia* sp., *Scirpus* sp., *Ceratophyllum* sp., *Ludwigia* sp. e *Eichhornia* sp. Uma caracterização estrutural e funcional preliminar das populações de macroinvertebrados que habitam as macrófitas aquáticas da lagoa do Óleo foi realizada por Trivinho-Strixino *et al.* (1998). Neste estudo foi verificado que tais populações, aparentemente, se reúnem na mesma guilda de alimentação, com participação predominante de coletores e ausência virtual de retalhadores.

Güntzel *et al.* (2000) realizaram um estudo sobre a diversidade do zooplâncton (com ênfase em Rotifera) em seis lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu; neste foi observado para a lagoa do Óleo, um índice de diversidade (Índice de Shannon-Wiener) de 3,8 e riqueza de 22 espécies de Rotifera. Os autores atribuem a alta diversidade do zooplâncton deste ambiente à grande heterogeneidade de habitats e ao baixo grau de degradação. Levantamento específico sobre a riqueza de espécies de Cladocera mostrou que a família Moinidae representou 75% do total deste grupo (Wisniewski *et al.*, 2000).

Variáveis físicas e químicas (Tab. 3) da água da lagoa do Óleo foram registradas por Rocha *et al.* (2000) e Wisniewski *et al.* (2000). Os valores encontrados para as variáveis químicas da lagoa do Óleo permitiram caracterizá-la como oligotrófica e inferir que este ambiente não esteja sob intensa interferência antrópica.

TABELA 3 - Faixas de variação, valores médios e os desvios padrão (DP) das variáveis químicas da lagoa do Óleo.

Variáveis químicas	Faixa de Variação	Média ± DP	Referência
Material orgânico em suspensão (mg L^{-1})	3,0 - 4,0	3,6 ± 0,5	Rocha <i>et al.</i> (2000)
Material inorgânico em suspensão (mg L^{-1})	0,5 - 1,0	0,8 ± 0,2	Rocha <i>et al.</i> (2000)
Material em suspensão total (mg L^{-1})	3,5 - 5,0	4,4 ± 0,8	Rocha <i>et al.</i> (2000)
Nitrato ($\mu\text{g L}^{-1}$)	4,2 - 13,6	9,0 ± 4,7	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)
Nitrito ($\mu\text{g L}^{-1}$)	0,8 - 0,9	0,9 ± 0,1	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)
Amônia ($\mu\text{g L}^{-1}$)	7,3 - 10,4	8,6 ± 1,6	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)
Nitrogênio orgânico total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	597 - 858	696 ± 141	Rocha <i>et al.</i> (2000)
Fosfato inorgânico ($\mu\text{g L}^{-1}$)	1,20	1,2 ± 0	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)
Fósforo total ($\mu\text{g L}^{-1}$)	34 - 38	36 ± 2,0	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)
Silicato (mg L^{-1})	1,9 - 2,2	2,0 ± 0,2	Wisniewski <i>et al.</i> (2000)

Em estudo preliminar realizado por Rocha *et al.* (2000) sobre a diversidade de zooplâncton com ênfase em Copepoda foi verificado que a lagoa do Óleo apresentou as maiores densidades destes organismos em relação à demais lagoas marginais da Estação ecológica de Jataí.

Numa coleta realizada recentemente (agosto de 2002) foram verificadas na região litorânea desta lagoa as seguintes espécies de macrófitas aquáticas: (i) submersas livres: *Utricularia breviscapa* Wright ex Griseb. (família Lentibulariaceae) e *Cabomba piauhyensis* Gradv (família Cabombaceae); (ii) submersas enraizadas: *Egeria najas* Planch. (família Hydrocharitaceae) e *Ceratophyllum submersum* (Gray) Wilmot-Dear (família Ceratophyllaceae); (iii) flutuantes: *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth (família Pontederiaceae), *Ludwigia* sp. (família Onagraceae), *Salvinia auriculata* Aubl. (família Salviniaceae) e *Ricciocarpus natans* (L.) Corda (família Ricciaceae); (iv) emergentes: *Scirpus cubensis* Poepp & Kunth (família Cyperaceae) e *Cyperus giganteus* Vahl (família Cyperaceae). Dentre as plantas aquáticas deste ambiente, as espécies menos freqüentes são: *Cabomba piauhyensis*, *Ceratophyllum submersum*, *Ricciocarpus natans*

e *Ludwigia* sp.; a ocorrência de *Utricularia breviscapa* é comum durante todo o ano. Experimentos em laboratório sobre a decomposição de macrófitas aquáticas e sobre a comunidade fitófila associadas as macrófitas na lagoa do Óleo iniciaram-se a partir de 1999 (Romeiro, 2002; Peláez-Rodríguez, 2003; Bitar & Bianchini Jr., submetido; Bianchini Jr. & Peret, submetido).

4.2 Considerações sobre a espécie de macrófita utilizada

Utricularia breviscapa Wright ex Griseb (Fig. 6) pertence à família Lentibulariaceae. Sua disposição geográfica abrange as regiões tropicais e subtropicais do globo. Uma vez que dependem da água para o funcionamento de seus utrículos, são plantas herbáceas aquáticas, de terrenos brejosos ou bastante úmidos (Joly, 1977; Hoehne, 1979). Este gênero possui cerca de 30 espécies; seus representantes podem ser aquáticos, encontrando-se normalmente submersos ou flutuando em águas lênticas (Notare, 1992).

São plantas perenes sem raízes, podendo flutuar ou estar fixas por meio de apêndices radiculares. Possuem folhas emergentes inteiras, peltadas, 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); as folhas modificadas transportam numerosos utrículos adaptados à captura de pequenos animais aquáticos. O utrículo é uma pequena armadilha que ao ser desarmada forma um pequeno turbilhão e para o interior dela é arrastado o animal, de onde não pode mais sair, sendo finalmente digerido. Apresentam flores grandes e vistosas, que são fortemente zgomorfas, pentâmeras, diclamídeas, com corola bilabiada; em geral, de cor amarela.

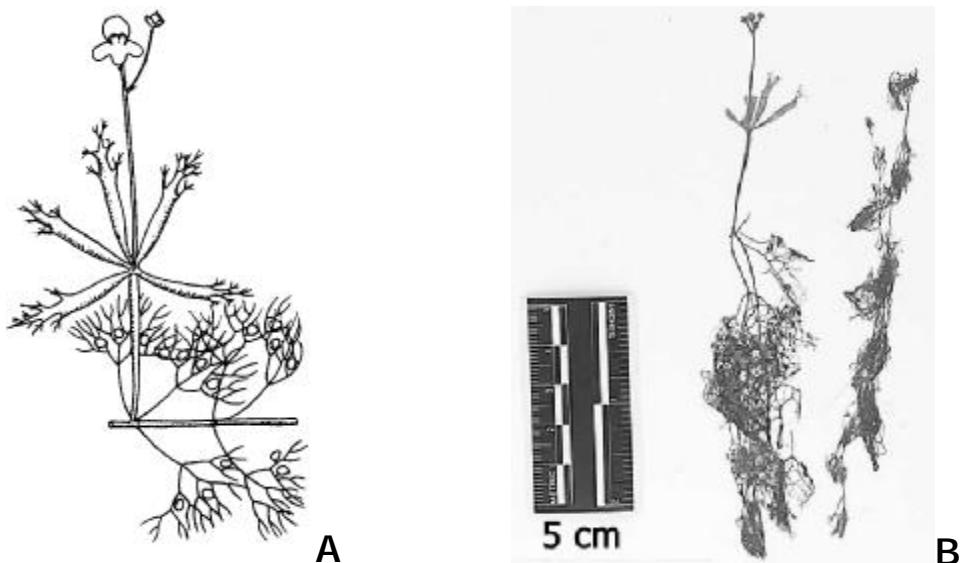


FIGURA 6 - *Utricularia breviscapa*. (A) aspecto geral (Taylor, 1989) e (B) exsicata - registro: 00111432 (Acervo: Jardim Botânico de Nova Iorque).

Apresentam uma estrutura pilosa em disposição de estrela que sustenta a inflorescência (Pott & Pott, 2000). Possuem o androceu formado por dois estames, localizados na base da corola, cada qual com uma só teca. Apresentam ovário súpero, bicarpelar, unilocular, com muitos óvulos. Seus frutos são capsulares, com uma ou mais sementes que são muito variáveis em forma e tamanho (Joly, 1977).

4.3 Coleta e preparo do material

4.3.1 Procedimentos de campo: coleta de material

As amostras de *U. breviscapa* foram coletadas manualmente, em pontos distintos, na região litorânea da lagoa do Óleo. Depois de coletadas, as plantas foram lavadas no local com água da lagoa para a remoção do perifiton, partículas de sedimento e de material aderido (Pagioro & Thomaz, 1999; Bianchini Jr. *et al.*, 2002). Com a finalidade de obter-se um lote homogêneo, as coletas foram efetuadas em sete campanhas durante um período de 12 meses (21/03/01, 07/05/01, 27/06/01, 18/09/01, 31/10/01 e 28/11/01, 12/04/02). Ao adotar este procedimento, foram eliminadas as

possíveis diferenças de composição química dos tecidos das plantas, relativas aos diferentes estádios fenológicos e várias condições ambientais nas quais estas plantas se desenvolveram.

Para a execução dos experimentos, também foram coletadas amostras de água da lagoa com garrafa de Van Dorn, em três profundidades: 0,5 m (superfície), 2,0 m (meio) e 4,0 m (fundo); em seguida as amostras foram misturadas. Este procedimento visou aumentar a representatividade dos ensaios, uma vez que os componentes químicos da coluna d'água poderiam estar estratificados verticalmente e a distribuição e a composição da comunidade microbiana normalmente variam com a profundidade.

Em 2000 e 2002 foram realizados 9 levantamentos para caracterização da lagoa (25/01/00; 21/03/01, 07/05/01, 27/06/01, 18/09/01, 31/10/01 e 28/11/01, 12/04/02; 03/06/02). Nas visitas foram contempladas variáveis físicas e químicas. A profundidade foi determinada com poita e corda graduada e a transparência com disco de Secchi. O pH, a condutividade elétrica, a temperatura e as concentrações de oxigênio dissolvido foram determinados (a cada metro até o fundo) com sonda múltipla (Horiba Water Quality-Checker, modelo U-10). As concentrações de carbono inorgânico (CID) e de carbono orgânico (COD) dissolvidos das amostras de água (coletadas na superfície) foram determinadas por combustão e detecção em infravermelho (Shimadzu TOC-5000A). Na campanha realizada em abril de 2002 foram realizadas determinações de carbono (CID e COD) considerando o perfil vertical da coluna d'água. Complementando o inventário limnológico (9 campanhas), no período de 2001 a 2003 foram realizados levantamentos mensais da temperatura e das concentrações de oxigênio dissolvido ($n = 43$); estas variáveis foram determinadas como nos inventários limnológicos, com sonda múltipla (Horiba Water Quality-Checker, modelo U-10).

4.3.2 Procedimentos de laboratório

Após cada coleta, as plantas foram levadas ao laboratório onde foram novamente lavadas com água corrente. Posteriormente, foram desidratadas em estufa (50°C). Depois de secas, foram trituradas ($0,2\text{ cm} < \phi < 1,32\text{ cm}$) e armazenadas em sacos de polietileno. As amostras de águas utilizadas nos experimentos de decomposição de *U. breviscapa* (Experimentos 1, 2, 3 e 4) foram filtradas em rede de náilon (ϕ da trama = 400 µm) e a seguir, em lã de vidro para a remoção de material particulado em suspensão.

4.4 Pré-tratamento dos fragmentos de *U. breviscapa*

Os estoques de fragmentos previamente secos e moídos de *U. breviscapa* foram utilizados para a obtenção da MOD (lixiviado) e da MOP (matriz lignocelulósica (LC)), utilizadas nos experimentos de determinação das atividades enzimáticas.

4.4.1 Obtenção da MOD (lixiviado)

Para a obtenção do lixiviado foram realizadas extrações aquosas a frio (4°C) com duração de 24 h (Møller *et al.*, 1999). A extração constituiu-se da adição de 10 g (PS) de fragmentos de planta íntegra (previamente esterilizados) em 1 L de água (destilada esterilizada). As esterilizações das plantas (previamente secas, trituradas e embaladas em papel alumínio) e das amostras de água destilada foram realizadas em autoclave durante 15 min, 1 atm e 121°C (Ward & Johnson, 1996).

Após as extrações, as frações particuladas (matriz LC) foram separadas das dissolvidas por centrifugação (1 h; $2.191 \times g$). Em seguida, as soluções de MOD foram

filtradas em membrana de éster de celulose com poro de 0,45 µm (Millipore), previamente lavadas com 100 ml de água destilada.

4.4.2 Obtenção da matriz lignocelulósica (MOP)

A matriz LC constituiu-se dos resíduos remanescentes da lixiviação dos fragmentos íntegros de *U. breviscapa*; após centrifugação (1 h; 2.191 × g), a MOP (centrifugado) foi lavada com água destilada, até que a água de lavagem não apresentasse mais cor e em seguida, este material foi seco em estufa (50°C).

4.5 Experimento 1 - Decomposição aeróbia e anaeróbia de *U. breviscapa*: aspectos cinéticos

Foram montadas incubações (experimento destrutivo; n = 96) em frascos de vidro com tampa de rosca (volume de 450 ml e φ interno da tampa: 3 cm) contendo fragmentos íntegros de *U. breviscapa* e alíquotas de água da lagoa do Óleo na proporção de 10 g (PS) L⁻¹ (Bianchini Jr. et al., 2002). As incubações foram mantidas no escuro e sob temperaturas controladas ($15,3 \pm 1,2^\circ\text{C}$, n = 52; $20,8 \pm 1,2^\circ\text{C}$, n = 102; $25,7 \pm 1,7^\circ\text{C}$, n = 47 e $30,3 \pm 1,3^\circ\text{C}$, n = 50). Foram preparadas, para cada temperatura, 24 incubações, sendo 12 mantidas em condições aeróbias (por borbulhamento com ar comprimido; duração: 2 h dia⁻¹) e 12 em condições anaeróbias (por borbulhamento com N₂; duração: 20 min). Os frascos utilizados para as descrições dos processos anaeróbios foram mantidos fechados e somente foram abertos nos seus respectivos dias de amostragem.

Em dias previamente determinados (1, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 dias) os conteúdos das incubações foram fracionados em matéria orgânica

particulada (MOP) e matéria orgânica dissolvida (MOD), por pré-filtração e, em seguida, por centrifugação (1 h; $1048 \times g$). As amostras de MOP foram secas em estufa (50°C) até peso constante, tendo suas massas finais determinadas por gravimetria (Wetzel & Likens, 1991); foram convertidas em base de carbono (carbono orgânico particulado - COP) após a realização de análise elementar dos detritos remanescentes (CHN Analyser - Carlo Erba EA1110). Para tanto, admitiu-se que os detritos (livre de cinzas) possuíam 30,5% de carbono. Este teor de carbono foi calculado desde uma curva padrão ($n = 25$, $r^2 = 0,91$) confeccionada com detritos de *U. breviscapa* submetidos a diferentes condições de incubação.

Aliquotas de MOD (50 ml; $n = 2$) foram filtradas em membranas de éster de celulose (Millipore; com poro de 0,22 μm), previamente lavadas com 100 ml de água destilada. No filtrado foram determinadas as concentrações de carbono orgânico dissolvido por combustão não dispersiva e detecção em infravermelho (TOC 5000A - Shimadzu, temperatura de combustão de 680°C).

Os teores de carbono mineralizado (CM) foram estimados das diferenças entre os conteúdos iniciais dos fragmentos de planta (COT = material orgânica total; planta íntegra $\approx 3336 \text{ mg C L}^{-1}$) e os remanescentes, determinados nos dias de amostragem (COP + COD).

4.6 Experimento 2 - Determinação das atividades enzimáticas celulolíticas: efeito da temperatura e da disponibilidade de oxigênio

4.6.1 Obtenção dos extratos enzimáticos das câmaras de decomposição

Para a obtenção dos extratos enzimáticos envolvidos na degradação de *U. breviscapa* foram preparadas incubações com os mesmos procedimentos descritos para o Experimento 1 (condições aeróbias e anaeróbias e diferentes temperaturas). Os

substratos utilizados foram diferenciados segundo o pré-tratamento que as plantas foram submetidas (detritos íntegros, matriz LC e lixiviado).

Para a matriz LC, os experimentos que trataram das atividades enzimáticas foram acompanhados de outro pelo qual registraram-se as variações temporais de COP, COD e CM, a exemplo do descrito no Experimento 1. Para tanto, foram preparadas 96 incubações (experimento destrutivo), contendo matriz LC e alíquotas de água da lagoa do Óleo na proporção de 10 g (PS) L⁻¹. As incubações foram mantidas nas mesmas condições descritas no item 4.5. Em dias previamente determinados os conteúdos das incubações foram fracionados de acordo com o exposto no Experimento 1. As frações particuladas foram convertidas em base de carbono através de análise elementar (CHN Analyser - Carlo Erba EA1110). Admitiu-se que a matriz LC (livre de cinzas) possuísse 32,1% de carbono. Este teor de carbono foi calculado desde uma curva padrão ($n = 33$, $r^2 = 0,96$) confeccionada com matriz LC de *U. breviscapa* submetidas a diferentes condições de incubação.

Nos dias amostrais, as concentrações de COD ($n = 2$), foram obtidas com analisador de carbono (Shimadzu - TOC 5000A). Os teores CM foram estimados através das diferenças entre os conteúdos iniciais dos fragmentos de planta (COT = matriz LC $\approx 3648 \text{ mg C L}^{-1}$) e os remanescentes determinados nos dias de amostragem (COP + COD). Especificamente para descrição da atividade da celulase foram preparados 16 frascos (experimento não destrutivo), 2 para cada condição (aeróbia e anaeróbia) e temperatura.

Para as determinações das atividades enzimáticas da decomposição dos detritos íntegros foram preparados 16 frascos (experimento não destrutivo), 2 para cada condição (aeróbia e anaeróbia) e temperatura. Considerando a realização do

Experimento 1 não foram preparados frascos adicionais, a exemplo do adotado para a matriz LC.

Para a preparação das câmaras de decomposição (experimento não destrutivo) contendo MOD (número de frascos: 4). O lixiviado foi diluído em amostra de água da lagoa. As concentrações finais de COD das diluições foram 122 mg C L^{-1} . As incubações foram mantidas nas mesmas condições e temperatura que nas dos demais experimentos. Em dias previamente determinados (item 4.5) as concentrações de COD foram determinadas com analisador de carbono (Shimadzu - TOC 5000A). Após as quantificações, as amostras foram submetidas à filtração em membrana de éster de celulose (Millipore) com poro de $0,22 \mu\text{m}$. Estes processos sucessivos de filtração permitiram estimar, por diferença, a biomassa de microrganismos (em equivalentes de carbono - COP).

Para todos os recursos (planta íntegra, matriz LC e lixiviado), as quantificações das atividades enzimáticas procederam-se a partir de extratos enzimáticos obtidos das incubações. A cada dia (1, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 45, 65, 85, 125, 155 e 180 dias), as incubações foram homogeneizadas e sub-amostras (10 ml) foram centrifugadas ($2.191 \times g$, 40 min e 4°C). Os sobrenadantes resultantes das centrifugações foram utilizados como extratos para as determinações das atividades da celulase. Foram também preparadas câmaras controles (contendo apenas água da lagoa, $n = 2$) para cada condição (condição aeróbia/anaeróbia: 2; temperatura: 4). As atividades foram expressas como mol de enzima por massa de carbono remanescente da decomposição de *U. breviscapa* e calculada como atividade-dia (Jackson *et al.*, 1995). Os valores acumulados de atividade foram calculados, integrando-se as taxas diárias. As variações temporais das atividades acumuladas foram ajustadas ao modelo sigmoidal (Krebs,

1972); os ajustes foram realizados utilizando-se o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (Press *et al.*, 1993).

4.6.2 Atividade enzimática celulolítica

A atividade celulolítica C₁ (ação sinérgica das enzimas endocelulases: EC 3.2.1.4 e exocelulases: EC 3.2.1.91) 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 foi constituída de 50 mg de papel de filtro Whatman n.^o 1 (tiras de 1 × 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 (n = 2) 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 dos açúcares redutores foram determinadas em espectrofotômetro a 540 nm e comparadas à curva padrão previamente elaborada com glicose ($r^2 = 0,96$; n = 18). Uma unidade de atividade de celulase correspondeu a 1 µmol de glicose liberado, por minuto de reação, por mililitro.

4.7 Experimento 3 - Mineralização aeróbia: consumo de oxigênio

Para avaliar os consumos de oxigênio dissolvido (OD), decorrentes dos processos de mineralização aeróbia dos fragmentos íntegros de *U. breviscapa*, foram preparadas para cada temperatura (15,3°C, 20,8°C, 25,7°C e 30,3°C) duas câmaras de mineralização, contendo fragmentos de plantas íntegras e água da lagoa do Óleo na

proporção de 200 mg (PS) L⁻¹. Também foram preparadas câmaras controles (contendo apenas água da lagoa, n = 2).

Após as adições dos fragmentos as câmaras foram aeradas (borbulhamento com ar comprimido) durante 1 h, para elevar as concentrações de OD à saturação. Em seguida, foram determinadas com oxímetro (YSI modelo 58; Yellow Spring Instruments; precisão: 0,03 mg L⁻¹), as concentrações iniciais de oxigênio dissolvido. Após as quantificações, os frascos foram mantidos fechados sob temperatura controlada e no escuro.

Periodicamente, até constatar as estabilizações dos consumos (após 95 dias de experimento), foram registradas as concentrações de OD. Depois de efetuadas as determinações, os frascos foram novamente tampados para evitar os processos de difusão de oxigênio atmosférico. Quando as concentrações de oxigênio dissolvido aproximaram-se de 2,0 mg L⁻¹, as câmaras foram oxigenadas até que as concentrações atingissem o valor de saturação, este procedimento foi adotado para evitar os processos degradativos anaeróbios.

Após 95 dias de experimento, os conteúdos das câmaras foram fracionados em MOD e MOP (*c.f.* item 4.5). Na fração dissolvida foram determinadas as concentrações finais de carbono orgânico (COT_f) e inorgânico (CIT_f) das misturas, com analisador de carbono (Shimadzu TOC-5000A). As concentrações finais de carbono orgânico dissolvido (COD_f) também foram estimadas depois da filtração da fração dissolvida em membrana de éster de celulose (Millipore) com poro de 0,22 µm. As diferenças entre COT_f e COD_f permitiram estimar as frações de carbono orgânico particulado (COP ≡ microrganismos). Nas frações particuladas ($\phi > 400 \mu\text{m}$; COP-detrito) foram determinados os teores de carbono com analisador elementar (CHN Analyser - Carlo

Erba EA1110). Segundo estes procedimentos foi possível concluir os balanços de massa (em base de carbono) das câmaras de mineralização.

As estimativas das variações temporais das relações estequiométricas (quantidade de oxigênio consumido ($OC_{máx}$) pela quantidade de carbono oxidado) foram calculadas através das razões entre as taxas diárias de oxigênio consumido (dOC/dt) e as de carbono mineralizado (dCM/dt ; Experimento 1).

4.8 Experimento 4 - Mineralização anaeróbia: formação de gases (CO_2 e CH_4)

Para acompanhar exclusivamente a formação de CO_2 e de CH_4 , resultantes dos processos anaeróbios de decomposição, foram preparadas quatro incubações (volume do frasco = 1.150 ml) contendo detritos de *U. breviscapa*. Estas incubações foram preparadas com fragmentos de planta em amostra de água da lagoa do Óleo na proporção de 8 g (PS) L⁻¹. Os frascos foram mantidos durante 138 dias sob condições anaeróbias, temperatura controlada (15,3°C, 20,8°C, 25,7°C e 30,3°C) e no escuro. Também foram preparados quatro frascos controle (somente alíquota de água da lagoa) que foram submetidos aos mesmos tratamentos que as incubações. Periodicamente, subamostras dos gases (10 µl) contidos nos volumes livres dos frascos (150 ml) foram coletas e as concentrações de CO_2 e CH_4 foram quantificadas por cromatografia gasosa (Cromatógrafo CG, modelo 370: coluna Porapak N, gás de arraste: H₂, fluxo de 31,5 ml min⁻¹). As concentrações destes gases foram comparadas às curvas padrão previamente elaboradas com CO_2 (Pureza: 99,998%; r^2 = 0,98; n = 10) e CH_4 (Pureza: 99,99%; r^2 = 0,99; n = 10), respectivamente.

Após as determinações, as pressões internas dos frascos foram equilibradas com a pressão atmosférica, por borbulhamento com N₂ (\approx 20 min). Após 138 dias, os conteúdos das câmaras foram fracionados em MOD e MOP (*c.f.* Experimento 1). Na

fração dissolvida foram determinadas com analisador de carbono (Shimadzu TOC-5000A), as concentrações finais de carbono orgânico (COT_f) e inorgânico (CIT_f) das misturas. As concentrações finais de carbono orgânico dissolvido (COD_f) foram estimadas após a filtração da fração dissolvida em membrana de éster de celulose (Millipore; $\phi = 0,22 \mu\text{m}$). As diferenças entre COT_f e COD_f permitiram estimar as frações de carbono orgânico particulado ($COP \equiv$ microrganismos). Nos detritos particulados remanescentes ($\phi > 400 \mu\text{m}$; COP-detrito) foram determinados os teores de carbono com analisador elementar (CHN Analyser - Carlo Erba EA1110). Com base nestes procedimentos concluíram-se os balanços de massa (em base de carbono) das câmaras de mineralização.

4.9 Hipóteses cinéticas

4.9.1 Experimentos de decomposição aeróbia e anaeróbia de *U. breviscapa*

Considerando as incubações como sistemas fechados em relação às quantidades de carbono orgânico (Bianchini Jr. *et al.*, 2002), estimaram-se as concentrações de carbono mineralizado de acordo com a Eq. 1.

em que: CM_t = carbono mineralizado no tempo: C-gases (*e.g.* CO_2 , CH_4) + carbono inorgânico dissolvido total (CID_t ; *e.g.* carbonatos); COT_0 = carbono orgânico total no início do experimento; COP_t = COP remanescente ($\phi > 0,22 \mu m$) no tempo e COD_t = COD remanescente ($\phi < 0,22 \mu m$) no tempo.

Admitindo que as cinéticas da decomposição de *U. breviscapa* fossem de primeira ordem (Mtambanengwe & Kirchmann, 1995; Henriksen & Breland, 1999), as Eqs. 2 a 5 foram selecionadas para representar este processo (Bianchini Jr., 2000). Para

a obtenção dos parâmetros cinéticos utilizou-se um método de regressão não linear, o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (Press *et al.*, 1993).

$$IN_1 = \frac{k_1}{k_T} COP_{LS} (1 - e^{-k_T t}) \dots \text{ (Eq. 2)}$$

$$IN_2 = \frac{k_2}{k_T} COP_{LS} \left(1 + \frac{k_3}{k_T - k_3} e^{-k_T t} + \frac{k_T}{k_3 - k_T} e^{-k_3 t} \right) \dots \text{ (Eq. 3)}$$

$$IN_3 = COP_R (1 - e^{-k_4 t}) \dots \text{ (Eq. 4)}$$

$$CM = \sum_{i=1}^3 IN_i \dots \text{ (Eq. 5)}$$

em que:

COP_{LS} = carbono orgânico particulado lável/solúvel (%);

COP_R = carbono orgânico particulado refratário (%);

COP_L = carbono orgânico particulado lável (%); $COP_L = \frac{k_1}{k_T} COP_{LS}$

COD = carbono orgânico dissolvido (%); $COD = \frac{k_2}{k_T} COP_{LS}$

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 láveis de COP_L (dia⁻¹);

k_2 = coeficiente de lixiviação das frações solúveis de COP_{LS} , obtido da lixiviação (dia⁻¹);

k_3 = coeficiente de mineralização do COD (dia⁻¹);

k_4 = coeficiente de mineralização da COP_R (dia⁻¹);

$IN_{1\text{ a }3}$ = compostos inorgânicos produzidos através das 3 rotas de mineralização (%).

O modelo cinético proposto (Eqs. 2 a 5) considerou que os detritos de *U. breviscapa* possuíam natureza química heterogênea (*i.e.* fração lável e fração refratária; Asaeda *et al.*, 2000; Bouchard & Lefreuve, 2000) e três possíveis rotas de mineralização/oxidação (Fig. 7). Considerou, ainda, que a perda de massa da parte lável do COP (COP_{LS}) ocorreu devido a dois processos concorrentes (paralelos): a oxidação direta (primeira rota de mineralização: IN_1) e a solubilização. Supõe-se que o COP_{LS} corresponda às frações protoplasmáticas e hidrossolúveis do detrito. As oxidações dos

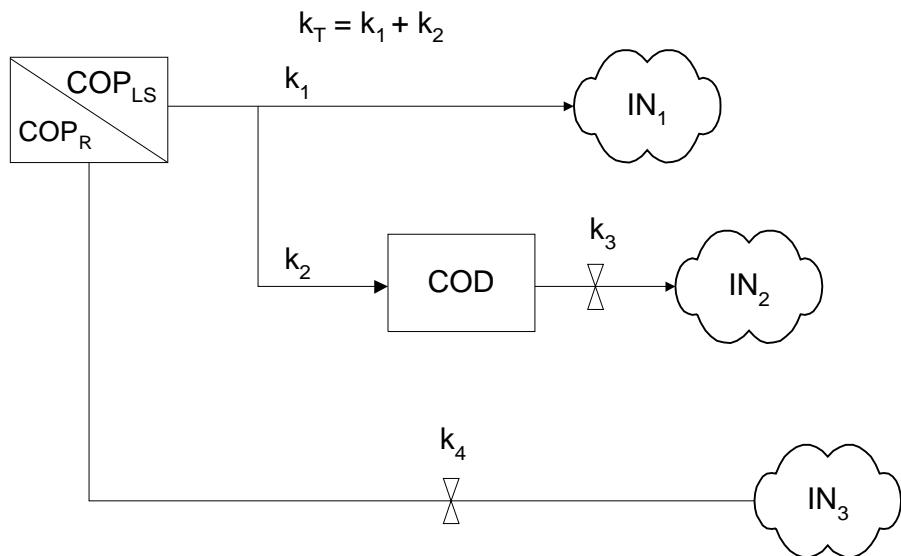


FIGURA 7 - Modelo proposto para a decomposição de *U. breviscapa* (modificado de Bianchini Jr., 1999a). Onde: COP_{LS} = carbono orgânico particulado lâbil e/ou solúvel; COP_R = carbono orgânico particulado refratário; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de decaimento de COP_{LS} ($= k_1 + k_2$); k_1 = coeficiente mineralização das frações lâbeis e k_2 = coeficiente de lixiviação; k_3 = coeficiente de mineralização do COD; k_4 = coeficiente de mineralização do COP_R ; IN_{1-3} = carbono mineralizado, segundo os coeficientes de mineralização (k_T , k_3 e k_4); válvula = fatores controlados (e.g. oxigênio e temperatura).

solubilizados (COD) constituíram-se na segunda rota de mineralização (IN_2). A terceira rota referiu-se às oxidações das frações refratárias (COP_R) de matéria orgânica (IN_3). Neste caso considerou-se que o COP_R seja basicamente constituído por compostos das estruturas de sustentação das paredes celulares (celulose, hemicelulose e lignina).

Os teores de COP_{LS} e COP_R foram obtidos do estudo realizado por Peret & Bianchini Jr. (no prelo) para esta espécie de macrófita aquática. As diferenças entre COP_{LS} e COD foram utilizadas para estimar os valores de IN_1 . Os coeficientes k_1 e k_2 foram determinados das estimativas dos valores de IN_1 e IN_2 . As variações temporais de COP e COD foram utilizadas para as determinações dos coeficientes de mineralização do COD (k_3) e do COP_R (k_4). Os tempos de meia-vida ($t_{1/2}$) dos processos de decomposição da *U. breviscapa* foram calculados pela Eq. 6.

Por este modelo admitiu-se que a temperatura condicionou as reações de mineralização (Kätterer *et al.*, 1998). Desta forma, no caso das mineralizações de *U. breviscapa*, considerou-se que os valores dos coeficientes de mineralização (processo aeróbio e anaeróbio) foram dependentes da temperatura. Este efeito foi descrito pelas Eqs. 7 a 10:

$$k_{Tt} = k_{ref}(\text{aeróbico}) \cdot \theta(\text{aeróbico})^{(T-Tref)} \quad \dots \quad (\text{Eq. 9})$$

$$k_{Tt} = k_{ref}(\text{anaeróbio}), \theta(\text{anaeróbio})^{(T-Tref)} \dots \quad (\text{Eq. 10})$$

em que:

θ = coeficiente de ajuste da temperatura = $(Q_{10})^{0,1}$;
 k_{Tt} = coeficiente de mineralização do COD ou do COP_R (condição aeróbia ou anaeróbia), dependente da temperatura (dia⁻¹);
 k_{ref} = coeficiente de reação na temperatura de referência (dia⁻¹).

Os coeficientes de ajuste da temperatura (θ) foram determinados dos valores de Q_{10} . Este parâmetro foi estimado através de regressão não linear, e deduzido pela fórmula: $Q_{10} = e^{10\alpha}$; em que α = coeficiente angular obtido da relação exponencial entre a temperatura e as variáveis dependentes selecionadas (*e.g.* coeficiente de mineralização (k_3 e k_4), produtos finais, etc.).

4.9.2 Experimento de mineralização aeróbica de *U. breviscapa*: consumo de oxigênio

Admitindo-se que durante a mineralização aeróbia, o oxigênio consumido tenha correspondência com a quantidade de CO₂ formado (Findlay & Arsuffi, 1989; Komínková *et al.*, 2000; Panhota & Bianchini Jr., 2003), utilizaram-se as Eqs. 11 e 12 para as determinações dos coeficientes de desoxigenação (k_d) e as quantidades máximas

de oxigênio consumido. A Eq. 11 foi utilizada para avaliar o consumo de OD referente à oxidação da matéria orgânica das câmaras controle (água da lagoa do Óleo); após a parametrização, esta equação foi adicionada à Eq. 12 para que este efeito fosse neutralizado nas câmaras de mineralização contendo fragmentos de *U. breviscapa*.

Considerou-se, portanto, que o consumo de oxigênio esteja diretamente relacionado com a oxidação do recurso orgânico, e que este processo possa ser representado por modelos cinéticos de primeira ordem (Bitar & Bianchini Jr., 2002). Os ajustes cinéticos de oxigênio consumido (OC) foram realizados utilizando-se regressões não lineares, calculadas com o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (Press *et al.*, 1993). Segundo estes procedimentos, descreveram-se as variações temporais do consumo de oxigênio (Eqs. 11 e 12).

$$OC_{\text{controle}} = OC_{\text{máxc}} \times k_{dc} \left(\frac{e^{-k_{dc}t}}{k_a - k_{dc}} + \frac{e^{-k_a t}}{k_{dc} - k_a} \right) \dots \dots \dots \text{(Eq. 11)}$$

em que:

- OC_{controle} = oxigênio consumido do frasco controle (mg L^{-1});
- $OC_{\text{máxc}}$ = consumo de oxigênio máximo devido às oxidações da matéria orgânica da lagoa do Óleo (controle) (mg L^{-1});
- k_{dc} = coeficiente de consumo oxigênio devido às oxidações da matéria orgânica da lagoa do Óleo (controle) (dia^{-1});
- k_a = coeficiente de oxigenação (dia^{-1}).

$$OC = OC_{\text{máx}} \times k_d \left(\frac{e^{-k_d t}}{k_a - k_d} + \frac{e^{-k_a t}}{k_d - k_a} \right) + OC_{\text{máxc}} \left(1 - e^{-k_{dc} t} \right) \dots \dots \dots \text{(Eq. 12)}$$

em que:

- OC = variação temporal da quantidade de oxigênio consumido($\text{mg g}^{-1} \text{PS}$);
- $OC_{\text{máx}}$ = quantidade máxima de oxigênio consumido devido à oxidação da matéria orgânica das amostras($\text{mg g}^{-1} \text{PS}$);
- k_d = coeficiente de desoxigenação (dia^{-1}).

No caso da mineralização aeróbia dos detritos de *U. breviscapa*, o coeficiente Q_{10} foi obtido pela relação (exponencial) entre a temperatura e a quantidade máxima de

oxigênio consumido ($OC_{máx}$).

4.9.3 Experimento de mineralização anaeróbia de *U. breviscapa*: formação de gases (CO_2 e CH_4)

De acordo com Cai & Yan (1999) as taxas de formação de metano variam em função da quantidade de reagentes e das atividades específicas das arqueas metanogênicas, sendo que em culturas de batelada, as populações alteram-se no tempo. Desta forma, as concentrações de metano (Eq. 13) foram descritas por cinéticas de primeira ordem (Chan & Parkin, 2000), sendo ajustadas ao modelo da curva logística. Para tanto, utilizaram-se regressões não lineares, calculadas pelo algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (Press *et al.*, 1993).

$$CH_4 = \frac{Y_{CH_4}}{1 + e^{a - k_{CH_4}t}} \quad \dots \dots \dots \quad (\text{Eq. 13})$$

em que:

a = constante de integração = $\left(\frac{Y_{CH_4} - [CH_4]_i}{[CH_4]_i} \right)$;
 k_{CH_4} = coeficiente de formação de metano (dia $^{-1}$);
 Y_{CH_4} = rendimento máximo de formação de metano em relação à quantidade de biomassa, em base de carbono (%);
 t = tempo (dia $^{-1}$).

Os tempos de duplicação (t_d) dos processos de formação de metano foram calculados pela Eq. 14.

No caso da mineralização anaeróbia de *U. breviscapa*, os coeficientes Q_{10} foram obtidos pelas relações (exponenciais) entre a temperatura e as quantidades máximas de CH_4 e de CO_2 formados.

5 Resultados e Discussão

5.1 Caracterização da lagoa do Óleo: variáveis físicas e químicas

Os valores de pH, temperatura, OD, condutividade elétrica, concentração de carbono orgânico e inorgânico dissolvidos e profundidade do disco de Secchi da lagoa do Óleo, no período de janeiro de 2000 a junho de 2002 são apresentados na Tab. 4.

Os valores de pH da coluna d'água foram normalmente baixos, variaram de 4,74 a 6,20; nos estratos mais profundos os valores de pH foram menores (média = 4,88) e aumentaram em direção à superfície (média = 5,49). Em geral, as lagoas de infiltração subterrâneas apresentam valores de pH baixos e capacidade de tamponamento reduzida (Wetzel, 1983). Em relação ao sistema carbonato ($\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{CO}_3^{2-}$), os valores de pH indicaram que as formas “livres” de carbono inorgânico (CO_2 e H_2CO_3) foram predominantes. Assim, as baixas concentrações dos íons carbonatos e bicarbonatos devem limitar a capacidade de tamponamento deste ambiente.

Os baixos valores de pH da água da lagoa do Óleo relacionam-se, também, com a drenagem dos solos ácidos característicos desta região (Lorandi *et al.*, 1990). Ainda, pode-se atribuir a acidez predominante neste ambiente, à degradação da biomassa vegetal da zona litorânea e ao acúmulo de ácidos orgânicos, especialmente as substâncias húmicas que podem manter o pH de sistemas naturais entre 4-5 (Allan, 1996). As concentrações de íons H^+ podem atuar como fator fisiológico sobre a comunidade microbiana (hidrólise dos constituintes da parede celular e desnaturação de proteínas) ou na especiação química de muitas moléculas (*e.g.* dissociação e solubilidade).

TABELA 4 - Variáveis físicas e químicas, carbono inorgânico e orgânico dissolvidos e profundidade de desaparecimento do disco de Secchi da lagoa do Óleo durante o período de janeiro de 2000 a junho de 2002.

Variáveis físicas e químicas	Faixa de Variação	Média ± DP
pH		
Superfície	4,23 - 6,20	5,49 ± 0,65
1,0 m	5,15 - 5,92	5,58 ± 1,66
2,0 m	5,05 - 5,70	5,42 ± 1,27
3,0 m	4,78 - 5,80	4,88 ± 1,40
Temperatura (°C)		
Superfície	18,0 - 30,1	25,3 ± 3,70
1,0 m	17,9 - 29,1	24,2 ± 7,64
2,0 m	17,6 - 28,7	23,5 ± 6,21
3,0 m	17,4 - 27,5	21,3 ± 6,30
Oxigênio Dissolvido (mg L ⁻¹)		
Superfície	0,14 - 5,74	3,57 ± 2,18
1,0 m	0,11 - 5,01	2,86 ± 2,16
2,0 m	0,03 - 4,53	1,99 ± 1,68
3,0 m	0,00 - 4,18	1,10 ± 1,35
Condutividade Elétrica (μS cm ⁻¹)		
Superfície	11 - 25	16 ± 4
1,0 m	11 - 20	15 ± 6
2,0 m	11 - 35	18 ± 8
3,0 m	12 - 27	16 ± 5
CID (mg L ⁻¹)	1,473 - 4,219	3,05 - 0,98
COD (mg L ⁻¹)	1,123 - 5,386	3,03 - 1,12
Z _{DS} (m)	0,5 - 3,7	1,74 - 0,92

A variação da temperatura da água da lagoa apresentou um padrão sazonal bem definido (Fig. 8); aumentou nos meses mais quentes (máxima: 30,1°C na estação chuvosa) e diminuiu no inverno (máxima: 17,4°C na estação seca).

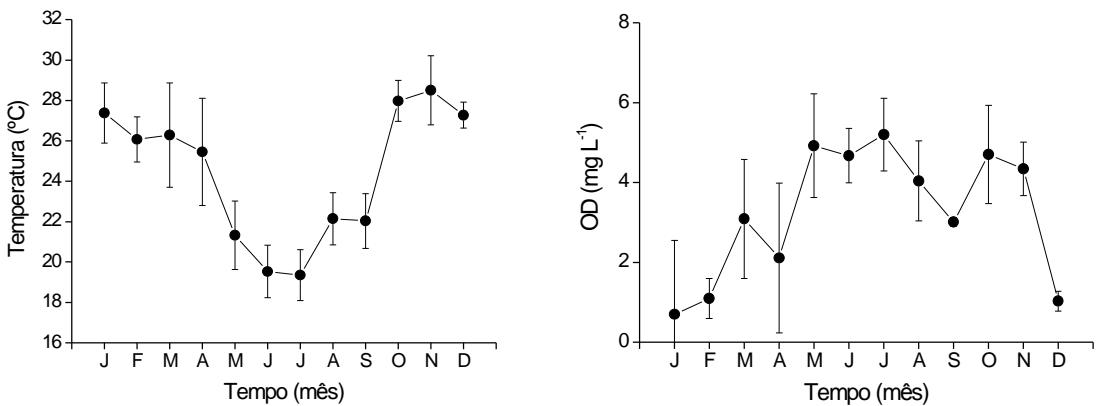


FIGURA 8 - Valores médios da temperatura e das concentrações de oxigênio dissolvido da lagoa do Óleo; período: 2001 a 2003.

As temperaturas mais baixas foram registradas nos estratos mais profundos (2 e 3 m); em média foram cerca de 2°C menores que as da superfície.

Assim como para a temperatura, as concentrações de OD da água da lagoa apresentaram uma variação sazonal bem definida (Fig. 8), aumentando no inverno (máxima média: $5,74 \pm 0,91 \text{ mg L}^{-1}$) e diminuiu no verão (máxima média: $0,70 \pm 1,20 \text{ mg L}^{-1}$). As baixas concentrações de OD verificadas nos meses mais quentes podem ser atribuídas aos seguintes fatores: (i) as concentrações de saturação diminuem com o aumento da temperatura; (ii) os processos metabólicos da decomposição são favorecidos nas épocas mais quentes; (iii) à adução de matéria orgânica alóctone (por inundação e enxurradas), uma vez que nesta época (verão), ocorrem normalmente, nesta região, precipitações elevadas. Em média, as concentrações de OD foram relativamente baixas (Tab. 4), variando de $1,10 \text{ mg L}^{-1}$ (fundo) a $3,57$ (superfície).

Os valores de condutividade elétrica podem ser considerados baixos; oscilaram entre 11 (período seco) e $35 \mu\text{S cm}^{-1}$ (período chuvoso). Em geral, os maiores valores podem ser atribuídos à lixiviação de espécies químicas ionizadas de origem alóctone, decorrentes das inundações, das enxurradas e das infiltrações.

A maior profundidade de desaparecimento do disco de Secchi foi 3,7 m (estação seca) e a menor ocorreu na estação chuvosa ($Z_{DS} = 0,5$ m). Os resultados de transparência da água apresentaram um padrão estacional definido; os valores mais elevados foram registrados nas épocas de seca e os menores nas estações chuvosas. Além dos efeitos das chuvas e dos ventos, as variações da Z_{DS} provavelmente relacionaram-se, nos meses mais quentes, com as maiores taxas de degradação da biomassa vegetal autóctone e com a adição de compostos coloridos (*e.g.* ácidos fúlvicos) das áreas adjacentes à lagoa. Em geral, no verão ocorre o aumento da precipitação e das enxurradas superficiais e consequentemente, se estabelece a conexão da lagoa com o rio Mogi-Guaçu; desta forma aumentos nos teores de material particulado em suspensão são freqüentemente observados (diminuindo a Z_{DS}); no inverno, predominam os processos biológicos de assimilação (*i.e.* produção primária) e os teores de material particulado tendem também a diminuir pela sedimentação (aumentando a Z_{DS}).

Os locais de amostragem selecionados da lagoa do Óleo apresentaram profundidades relativamente baixas, os valores variaram entre 3,0 a 4,5 m. Na região litorânea, as profundidades não ultrapassaram 1,5 m.

Em relação às concentrações médias de carbono inorgânico (CID) e orgânico (COD) totais registrados (Tab. 5), observou-se que os valores foram relativamente similares (CID: $3,05 \text{ mg L}^{-1}$ e COD: $3,03 \text{ mg L}^{-1}$) aos registrados para lagoas marginais

TABELA 5 - Valores médios ($n = 3$) das concentrações de CID e de COD (mg L^{-1}) registradas a cada 30 cm na coluna d'água da lagoa do Óleo (abril de 2002).

Z (m)	CI (mg L^{-1})	COD (mg L^{-1})
0,3	7,50	6,01
0,6	8,06	5,45
0,9	8,43	5,42
1,2	9,19	5,49
1,5	10,45	5,42
1,8	11,65	6,83
2,1	17,84	8,46
2,4	21,11	10,21
2,7	24,88	11,49
3,0	30,96	14,87

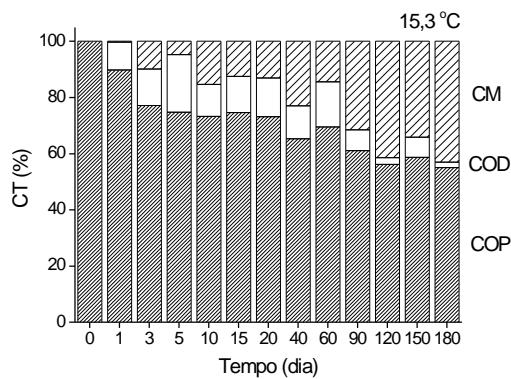
da mesma região (dados não publicados). No que se refere às variações verticais das concentrações de CID e de COD, os valores mais elevados foram encontrados nos estratos profundos ($30,96$ e $14,87 \text{ mg L}^{-1}$, respectivamente); o perfil vertical registrado (Tab. 5) sugere que os processos degradativos nas camadas mais próximas ao sedimento sejam intensos.

5.2 Experimento 1 - Decomposição aeróbia e anaeróbia de *U. breviscapa*: aspectos cinéticos

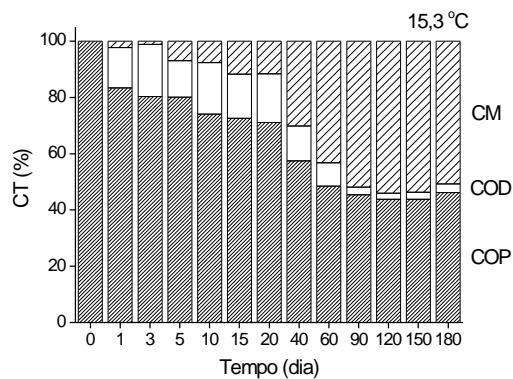
A adoção do modelo exponencial duplo na descrição do processo de decomposição leva em consideração a heterogeneidade do substrato, *i.e.* admite distinções relativas à composição química do detrito. Independente da condição ensaiada, as cinéticas de perda de massa (COP) dos detritos de *U. breviscapa* apresentaram um decaimento bifásico (Fig. 9) constituído por um evento rápido e outro lento; tal padrão temporal de perdas de massa sugere a presença de, pelo menos, dois tipos de estruturas. Desta forma, os detritos são diferenciados de acordo com seu potencial de degradação, neste caso, apresentando uma fração lábil e outra refratária (Swift *et al.*, 1979; Bianchini Jr., 1997; Cunha & Bianchini Jr., 1998a; Campos Jr., 1998; Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2000; Asaeda *et al.*, 2000). A fração lábil caracteriza-se por um decaimento rápido, enquanto que a refratária pode decrescer de 10 a 20 vezes mais lentamente (Gillon *et al.*, 1994).

As variações temporais do COP, do COD e do CM em função da temperatura, durante a decomposição aeróbia e anaeróbia de *U. breviscapa* são apresentados na Fig. 9 e nos Anexos I e II. Os intensos decaimentos do COP durante os períodos iniciais estiveram relacionados, basicamente, com a ocorrência de dois eventos paralelos: (i) as oxidações (químicas/biológicas; Bianchini Jr., 2000) e (ii) as dissoluções dos compostos com natureza polar (*i.e.* lixiviação; Moorhead *et al.*, 1996) presentes nas frações protoplasmáticas e dos tecidos estruturais das plantas (Webster & Benfield, 1986). A lixiviação ocorre, usualmente, nos primeiros estágios da decomposição; o tempo de duração é variado, podendo concluir-se nas primeiras 24 h (Fallon & Pfaender, 1976; Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2000; Bianchini Jr. *et al.*, submetido) ou perdura vários

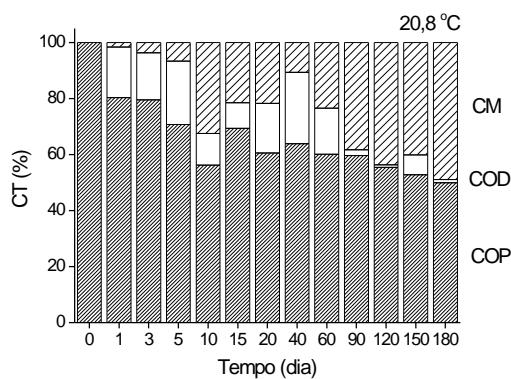
Processo Anaeróbio



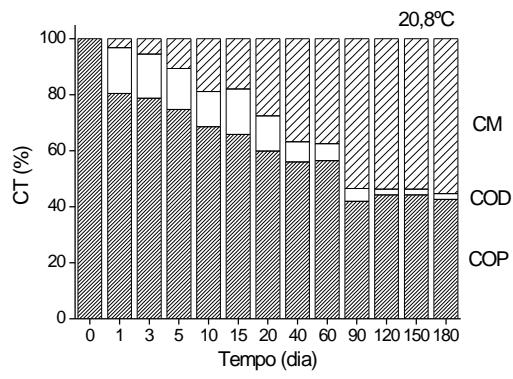
Processo Aeróbio



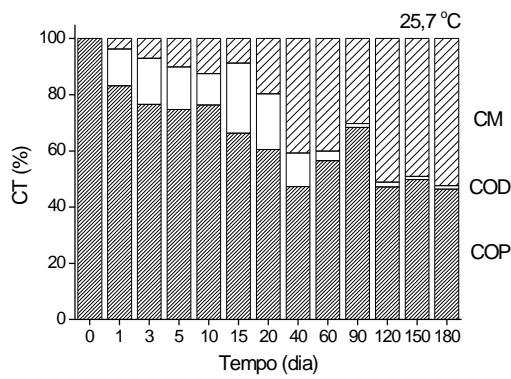
20,8 °C



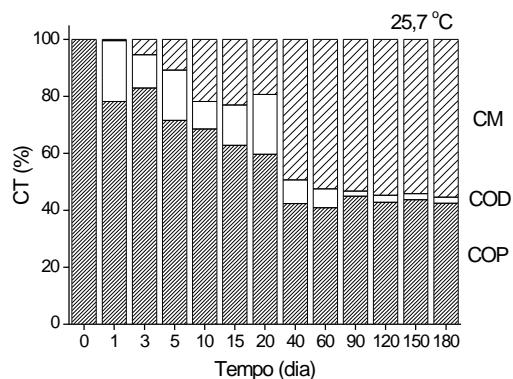
20,8 °C



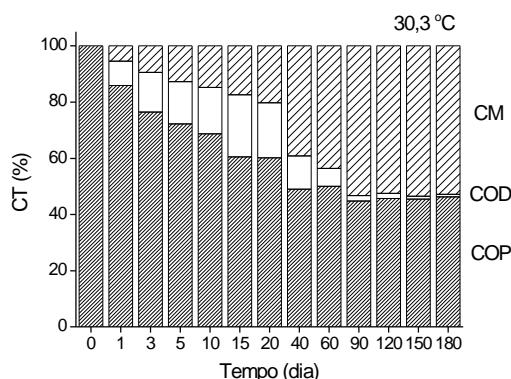
25,7 °C



25,7 °C



30,3 °C



30,3 °C

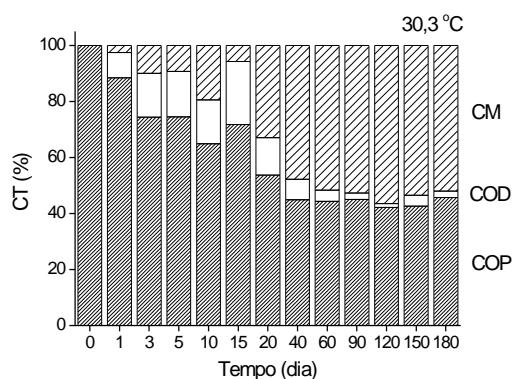


FIGURA 9 - Variações temporais de COP, COD e CM da decomposição (anaeróbia e aeróbia) dos detritos íntegros de *U. brevisscapa*, em função da temperatura.

dias. Neste contexto, têm-se reportados os seguintes dias para a conclusão deste processo: 2 (Wrubleski *et al.*, 1997; Pope *et al.*, 1999; Brum & Esteves, 2001; Albariño & Balseiro, 2002), 3 (Otsuki & Wetzel, 1974; Bianchini Jr. 1985; Schlickeisen *et al.*, 2003), 4 (Singhal *et al.*, 1992; Gupta *et al.*, 1996), 7 (Esteves & Barbieri, 1983; Canhoto & Graça, 1996) ou 15 dias (France *et al.*, 1997). O lixiviado é basicamente constituído de carboidratos (Best *et al.*, 1990), polifenóis (Suberkropp *et al.*, 1976; Cunha-Santino *et al.*, no prelo-b) e nutrientes como nitrogênio (*e.g.* amônia), orto-fosfato, fósforo total (Gupta *et al.*, 1996), potássio e cálcio (Mun *et al.*, 2001). As liberações de compostos solúveis são de extrema importância para os ecossistemas aquáticos, uma vez que nestes ambientes, a biomassa senescente encontra-se em permanente contato com a água (Polunin, 1984); desta forma, estas substâncias são rapidamente incorporadas no reservatório de MOD dos ambientes, possuindo desta maneira, um elevado potencial de utilização pelo metabolismo microbiano (Wetzel, 1995). Devido aos elevados teores de nutrientes e à natureza da MOD, os compostos lixiviados da decomposição das macrófitas aquáticas tendem ser muito reativos, apresentando frações que são prontamente disponibilizadas para o metabolismo do bacterio e fitoplâncton (Bianchini Jr., 1985; Findlay *et al.*, 1986; Sala & Güde, 1999; Faria & Esteves, 2001).

No caso da *U. breviscapa*, a lixiviação concluiu-se nas primeiras 24 h, contribuindo efetivamente para uma intensa perda de massa dos detritos. Das integrações das taxas diárias de perda de massa (COP; Fig. 9) foi possível determinar que os processos rápidos (solubilização + oxidação dos compostos lábeis) envolveram $23,5\% \pm 5,9\%$ do detrito (COP_{LS}; Fig. 7). Dos ajustes cinéticos das variações temporais do COP (Fig. 9) constatou-se que independente da condição experimental (anaeróbia

TABELA 6 - Parâmetros do modelo cinético da decomposição de *U. breviscapa*.

	15,3°C		20,8°C		25,7°C		30,3°C	
Processo Anaeróbio								
COP _{LS} (%)	23,5	5,9	23,5	5,9	23,5	5,9	23,5	5,9
COP _R (%)	76,5	2,9	76,5	2,9	76,5	2,9	76,5	2,9
COP _L (%)	7,8	-	3,9	-	3,8	-	5,3	-
COD (%)	15,7	1,5	19,6	2,9	19,7	2,5	18,2	1,9
k_T (dia ⁻¹)	1,5	0,56	1,5	0,56	1,5	0,56	1,5	0,56
k_3 (dia ⁻¹)	0,0075	0,0020	0,0099	0,0050	0,0190	0,0060	0,0141	0,0040
k_4 (dia ⁻¹)	0,0021	0,0002	0,0028	0,0005	0,0034	0,0006	0,0045	0,0007
r^2	0,90	-	0,77	-	0,89	-	0,91	-
Processo Aeróbio								
COP _{LS} (%)	23,5	5,9	23,5	5,9	23,5	5,9	23,5	5,9
COP _R (%)	76,5	2,9	76,5	2,9	76,5	2,9	76,5	2,9
COP _L (%)	4,6	-	6,2	-	5,1	-	5,6	-
COD (%)	18,9	1,3	17,3	0,9	18,4	2,4	17,9	1,8
k_T (dia ⁻¹)	1,5	0,56	1,5	0,56	1,5	0,56	1,5	0,56
k_3 (dia ⁻¹)	0,0138	0,0020	0,0171	0,0020	0,0168	0,0060	0,0169	0,0050
k_4 (dia ⁻¹)	0,0043	0,0006	0,0046	0,0005	0,0054	0,0009	0,0051	0,0009
r^2	0,92	-	0,93	-	0,85	-	0,81	-

ou aeróbia e temperatura) os coeficientes globais de decaimento do COP_{LS} (lixiviação/mineralização, k_T) foram elevados ($1,5 \pm 0,57 \text{ dia}^{-1}$; Tab. 6), correspondentes a tempos de meia vida ($t_{1/2}$) de 12 ± 9 h. Devido à natureza dos eventos em questão (lixiviações de detritos), o mais importante para o entendimento da dinâmica dos ciclos biogeoquímicos é a descrição da ordem de grandeza do processo.

De experimentos de decomposição de macrófitas aquáticas (*Eichhornia crassipes*: Lima, 1999; *Eichhornia azurea*: Pagioro & Thomaz, 1999; *Eleocharis interstincta*, *Potamogeton stenostachys* e *Nymphaea ampla*: Brum & Esteves, 2001; *Eichhornia azurea*: Tartaglia, 2001; *Eichhornia azurea* e *Egeria najas*: Bitar, 2003), nos quais foram utilizados *litter bags* e incubações em condições controladas, foi possível estimar valores similares de k_T ($1,5 \text{ dia}^{-1}$) que os obtidos para a decomposição de *U. brevissima*.

De acordo com Bianchini Jr. (1999b) tem-se verificado que os coeficientes de decaimento das frações lábeis/solúveis (k_T) são relativamente elevados e apresentam grande variação: de 0,01 a $3,33 \text{ dia}^{-1}$, que correspondem a tempos de meia vida de 0,2 a 70 dias; o autor atribuiu a variabilidade dos valores de k_T às: (i) diferenças de composição química dos vários tipos de detritos; (ii) várias condições ambientais impostas aos processos de decomposição; (iii) limitações metodológicas intrínsecas (*e.g.* escassez de amostragens nos estágios iniciais da decomposição e tamanho da malha dos *litter bags*).

Ressalta-se que o teor de COP_{LS} e os principais eventos envolvidos com processos rápidos de perda de massa (lixiviação e oxidação química) são, basicamente, característicos da origem e da qualidade do detrito (*e.g.* rigidez e teores de nitrogênio do detrito; Mun *et al.*, 2001). Em adição, Carpenter (1979) postulou que as taxas de lixiviação, praticamente não variam com a temperatura. Diante do exposto, admitiu-se

que independentemente da condição experimental adotada (temperatura e concentração de OD), as perdas de massas resultantes dos processos rápidos ocorreram com o mesmo coeficiente ($k_T = 1,5 \text{ dia}^{-1}$) e envolveram a mesma quantidade de detrito (COP_{LS}), 23,5%. Este valor foi relativamente próximo aos teores médios de COP_{LS} obtidos de uma compilação que relacionou estudos de decomposição de macrófitas aquáticas (Bianchini Jr., 1999b) no qual determinou-se que o valor médio do COP_{LS} foi $34,44 \pm 16,1\%$ ($n = 29$). Por se tratar de um recurso em que foram detectadas apenas duas categorias de estruturas (lábeis e refratárias), o teor de COP_{LS} foi considerado inversamente proporcional ao conteúdo dos resíduos lignocelulósicos (COP_{R}).

Para todas as condições experimentais, após o 5º dia, as perdas de massa tornaram-se mais lentas e os incrementos dos teores de carbono mineralizado (CM - Eq. 1) foram atenuados (Fig. 9). Basicamente, as diferenças nas velocidades de perda de massa tiveram origem na heterogeneidade dos detritos que definiram as duas rotas de mineralização do COP: (i) a que envolveu as frações lábeis/solúveis (COP_{LS}) e (ii) a que oxidou as frações refratárias (COP_{R}). As oxidações das frações lábeis da matéria orgânica (IN₁ - Eq. 2) variaram de 16,2 (25,7°C) a 33,2% (15,3°C) na condição anaeróbia e de 19,6 (15,3°C) a 26,4 (20,8%) na condição aeróbia.

Em decorrência da perda de massa do COP_{LS} , ocorreram as formações das frações dissolvidas de matéria orgânica (COD; Fig. 9). Os valores máximos, determinados para o COD indicaram que os detritos de *U. brevisscapa* solubilizaram-se, de $15,7 \pm 1,5\%$ (15,3°C) a $19,7 \pm 2,5\%$ (20,8°C) na condição anaeróbia e de $17,3 \pm 0,9\%$ (20,8°C) a $18,9 \pm 1,3\%$ (15,3°C) na condição aeróbia. A similaridade dos valores de COD em função da temperatura (condição anaeróbia: $18,3 \pm 2,2\%$ e condição aeróbia: $18,1 \pm 1,6\%$) sugere que a composição química (lábil/refratária) do detrito foi o principal fator que definiu o potencial de solubilização (Fig. 9). Após a fase de

predomínio da lixiviação (COD; Tab. 6) verificaram-se, em todas as condições, tendências de redução das concentrações de COD. Os coeficientes de mineralização (k_3) estimados dos decréscimos das concentrações de COD foram: $0,0075 \pm 0,002$ ($15,3^\circ\text{C}$); $0,0099 \pm 0,005$ ($20,8^\circ\text{C}$); $0,0190 \pm 0,006$ ($25,7^\circ\text{C}$) e $0,0141 \pm 0,004 \text{ dia}^{-1}$ ($30,3^\circ\text{C}$) para a condição anaeróbia. Nestas mesmas temperaturas, estes valores foram para a condição aeróbia: $0,0138 \pm 0,002$; $0,0171 \pm 0,002$; $0,0168 \pm 0,006$ e $0,0169 \pm 0,005$, respectivamente (Fig. 10).

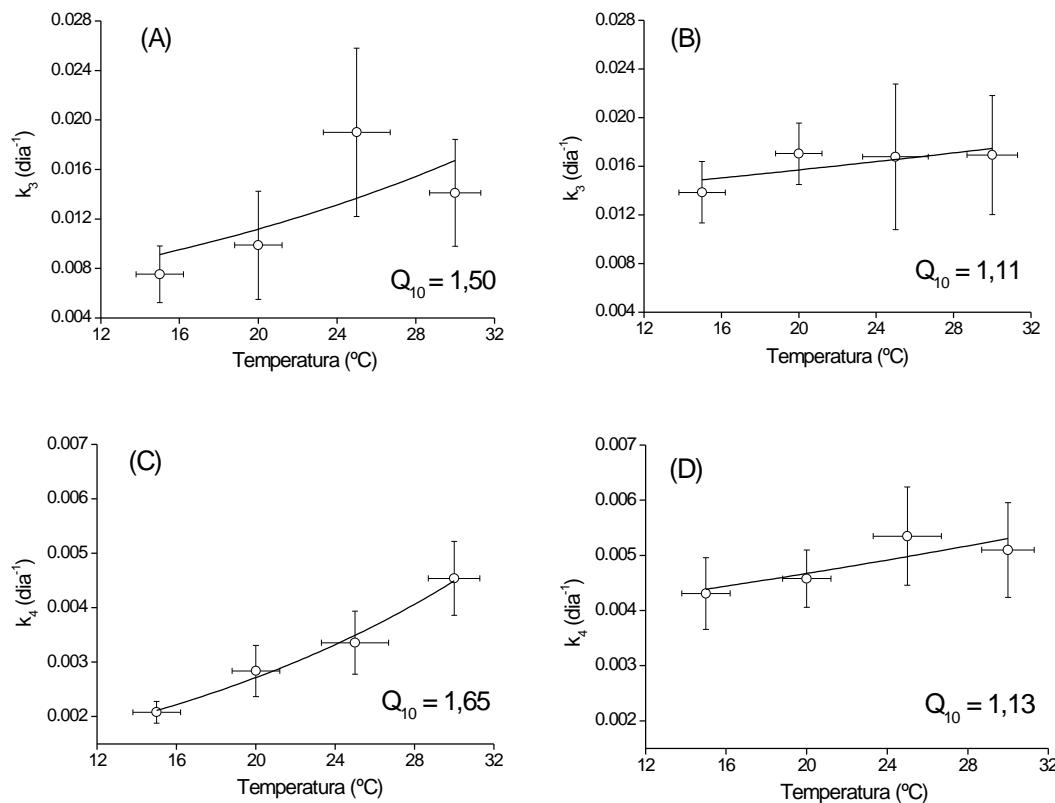


FIGURA 10 - Coeficientes de mineralização k_3 (coeficiente de mineralização do COD) e k_4 (coeficiente de mineralização do COP_R) em função da temperatura e da disponibilidade de oxigênio (A e C: condição anaeróbia e B e D: condição aeróbia); alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.

Em função da temperatura, na condição anaeróbia, os valores de k_3 tenderam ao incremento, atingindo um valor máximo a 25,7°C. Para a condição aeróbia o valor de k_3 incrementou-se mais acentuadamente nas temperaturas mais baixas (15,3 e 20,8°C), na seqüência os valores se mantiveram próximos até 30,3°C. Os $t_{1/2}$ variaram para a condição anaeróbia de 36 (20,8°) a 92 dias (15,3°C) e de 40 (20,8°) a 50 (15,3°C) dias.

Em experimento de decomposição com *Salvinia auriculata* (Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2000) foi observada a ausência de perda de massa do material lixiviado ($k_3 = 0$); os autores atribuíram esta ocorrência à natureza refratária da MOD. Entretanto, os decréscimos nas concentrações de MOD são esperados; nesse contexto, na decomposição aeróbia de lixiviados de outras espécies de macrófitas aquáticas (Cunha & Bianchini Jr., 1998a; Bianchini Jr. *et al.*, 2002) foram obtidos os seguintes valores para os coeficientes de mineralização da MOD (k_3): 0,370 (*Scirpus cubensis*), 0,196 (*Cabomba piauhensis*) e 0,0125 dia⁻¹ (*Montrichardia arborescens*). Segundo Cunha & Bianchini Jr. (1998a) as diminuições das concentrações do COD devem-se, principalmente, à mineralização (respiração) e à assimilação (incorporação em biomassa) dos compostos pelos microrganismos heterotróficos.

Em relação à mineralização das frações dissolvidas de lixiviados de macrófitas aquáticas, uma revisão realizada por Bianchini Jr. (1999b) determinou que o coeficiente médio de mineralização da MOD (k_3) foi de $0,187 \pm 0,370$ dia⁻¹ ($n = 8$), para carboidratos solúveis o k_3 médio foi $0,057 \pm 0,0712$ dia⁻¹ ($n = 13$), para polifenóis o k_3 médio foi $0,069 \pm 0,017$ dia⁻¹ ($n = 2$) e o k_3 médio do nitrogênio orgânico dissolvido (NOD) foi $0,101 \pm 0,022$ dia⁻¹ ($n = 2$); ressalta-se que o k_3 referente à mineralização da MOD inclui a degradação de todos os componentes desta fração.

O teor de fração refratária (COP_R) dos detritos de *U. brevisscapa* foi $76,5 \pm 2,9\%$. Os coeficientes de mineralização anaeróbia das frações refratárias (15,3°C:

$0,0021 \pm 0,0002 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 330$ dias; $20,8^\circ\text{C}$: $0,0028 \pm 0,0005 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 247$ dias; $25,7^\circ\text{C}$: $0,0034 \pm 0,0006 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 204$ dias; $30,3^\circ\text{C}$: $0,0045 \pm 0,0007 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 154$ dias) foram, em média, 1,5 vezes menores que os coeficientes de mineralização aeróbia ($15,3^\circ\text{C}$: $0,0043 \pm 0,0006 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 161$ dias; $20,8^\circ\text{C}$: $0,0046 \pm 0,0005 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 151$ dias; $25,7^\circ\text{C}$: $0,0054 \pm 0,0009 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 128$ dias; $30,3^\circ\text{C}$: $0,0051 \pm 0,0009 \text{ dia}^{-1}$ e $t_{1/2} = 136$ dias); Fig. 10.

Os coeficientes (k_4) evidenciaram o efeito da temperatura nos processos de perda de massa de longo-prazo. O intervalo de variação destes coeficientes (0,0021 a $0,0054 \text{ dia}^{-1}$) refletiu a natureza recalcitrante dos detritos, tendo em vista que esta fração é, basicamente, constituída por fibras dos tecidos de sustentação das plantas: lignina, hemicelulose e celulose (Newell *et al.*, 1995).

A composição da comunidade e a densidade dos microrganismos podem provavelmente ter influenciado as velocidades de mineralização das frações refratárias. Os valores determinados para os coeficientes de mineralização (k_4) do COP_R sugerem que, em relação à condição de oxi-redução, a microbiota decompositora apresentou diferenças nos potenciais de heterotrofia. Os microrganismos envolvidos na decomposição aeróbia do material lignocelulósico foram aparentemente mais eficientes, pois o processo foi mais rápido (11%). Estes resultados são similares aos usualmente verificados em estudos de ciclagem e de degradação de compostos orgânicos (Best *et al.*, 1990; Moore Jr. *et al.*, 1992; Lillebø *et al.*, 1999; Bianchini Jr. *et al.*, submetido), através dos quais têm-se registrado que os processos aeróbios são, em geral, mais rápidos.

Uma revisão sobre a decomposição de macrófitas aquáticas (Bianchini Jr., 2000) caracterizou os detritos destes vegetais como tendo natureza heterogênea, identificou que os teores das frações refratárias foram, em média, 2,8 vezes maiores que os das

frações lábeis/solúveis; esta proporção é próxima à verificada neste experimento ($COP_R:COP_{LS} = 3,2$). Nesta revisão foi também relatado que os coeficientes de mineralização das frações refratárias (k_4) variaram de 0,0001 (*Eleocharis mutata*) a 0,1007 dia⁻¹ (folhas de *Nuphar luteum*). No geral, os valores de k_4 obtidos na degradação de *U. breviscapa* incluíram-se no intervalo de variação apresentado na compilação.

Os valores de Q_{10} para os processos anaeróbios foram 1,50 (k_3) e 1,65 (k_4); para os processos aeróbios estes valores corresponderam a 1,11 e 1,13, respectivamente (Fig. 10). No caso da decomposição anaeróbia de *U. breviscapa*, a comunidade decompositora mostrou-se mais sensível a temperatura que a aeróbia (cerca de 1,35 vezes para k_3 e 1,46 vezes para k_4). A dependência do metabolismo de qualquer organismo em função da temperatura (Q_{10}) é determinada pelas reações de diferentes enzimas que atuam no processo de respiração; a razão para isso é a maior ativação das moléculas no equilíbrio termodinâmico. No processo de respiração, o aumento da energia de ativação por certas enzimas pode ter efeitos tanto positivos quanto negativos (Straškraba *et al.*, 1999). Entretanto, os casos que descrevem os incrementos das taxas dos processos em função do aumento da temperatura são mais comuns. Por exemplo, Tartaglia (2001) encontrou um Q_{10} de 2,80 na mineralização anaeróbia das frações refratárias (k_4) de *Eichhornia azurea*. Antonio & Bianchini Jr. (2002) descreveram o decaimento da glicose e determinaram para o processo aeróbio $Q_{10} = 1,12$ e para o anaeróbio $Q_{10} = 3,30$.

Além da temperatura, as diferenças entre os valores de Q_{10} , podem também expressar a interdependência de vários fatores controladores da decomposição, tais como: o potencial de adaptabilidade, a versatilidade fisiológica (*e.g.* taxa de crescimento e produção de enzimas), a diversidade da comunidade, o número e a biomassa de

microrganismos. É possível, ainda, que este parâmetro seja também influenciado pela disponibilidade de recurso e pela especificidade da microbiota decompositora.

Kirchman & Rich (1997) encontraram um Q_{10} de 2,4 tanto para o consumo da glicose quanto da manose; segundo os autores, o efeito da temperatura no consumo do COD têm importantes implicações para o entendimento dos processos competitivos entre as populações microbianas e no entendimento da biogeoquímica da COD no ciclo do carbono. Assim, o aumento da temperatura regularia o controle das concentrações de COD através do crescimento bacteriano, por afetar tanto o tempo de resposta quanto a afinidade das bactérias pela COD.

Numa revisão sobre a dependência metabólica (*e.g.* crescimento, respiração) de vários organismos em relação à temperatura, Straškraba (1999) apresentou uma faixa de variação de Q_{10} de 1,17 a 7,79, com valor médio de 2,31 ($n = 23$). Nesta revisão o Q_{10} apresentado para o processo de decomposição por bactérias em sedimentos foi de 1,71.

Kätterer *et al.* (1998) sugerem que o uso do Q_{10} , em experimentos de decomposição, somente é adequado na faixa de temperatura compreendida entre 5 e 35°C; temperaturas fora deste intervalo fazem com que os valores de Q_{10} desviem significativamente de 2; segundo os autores, possivelmente, tais variações dos valores de Q_{10} são devidas às variações (temporais e espaciais) das temperaturas ótimas dos organismos envolvidos na decomposição.

Apesar da grande variação de resposta dos organismos em função da temperatura, é evidente que cada comunidade responde diferentemente às variações deste fator. Nicarlarot *et al.* (1994) encontraram maior sensibilidade aos efeitos da temperatura para a comunidade decompositora da holocelulose ($Q_{10} = 4,5$) que para a da glicose ($Q_{10} = 2,9$). Coûteaux *et al.* (2001) reportaram diferenças nas respostas da comunidade em relação à temperatura na decomposição da matéria orgânica lábil e

refratária. Bunnell *et al.* (1977) estudando a decomposição de serapilheira, encontraram diferentes repostas fisiológicas da comunidade em relação à idade do substrato; neste caso, a serapilheira com menos de um ano apresentava um Q_{10} de 8,79 e a com mais de um ano, um Q_{10} de 2,56; os autores atribuíram tal diferença ao caráter recalcitrante dos substratos mais antigos.

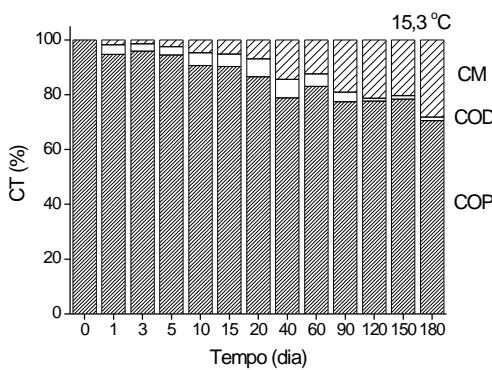
Comparando-se as variações temporais de CM, dos confrontos entre os resultados experimentais e os simulados (com regressões lineares), foi possível obter elevados coeficientes de determinação (r^2 ; Tab. 6). Estas comparações permitiram inferir que o modelo proposto (Eqs. 2 a 5) foi adequado para representar as diferentes rotas de mineralização, corroborando as hipóteses cinéticas adotadas na sua proposição (item 4.9.1).

5.3 Experimento 2 - Determinação das atividades enzimáticas celulolíticas: efeito da temperatura e da disponibilidade de oxigênio

A decomposição da matéria orgânica pode ser tratada em vários níveis de resolução, isto é, como um processo sistêmico, como um evento da dinâmica da comunidade sapróbia, como consequência da fisiologia dos microrganismos ou como um processo bioquímico mediado por enzimas (Moorhead *et al.*, 1996). As determinações das atividades enzimáticas permitiram comparar a ação da celulase sob diferentes temperaturas e condições de oxi-redução; estes resultados forneceram subsídios para avaliar a importância relativa dos regimes térmicos e da disponibilidade de oxigênio sobre a ciclagem de resíduos vegetais em ambientes aquáticos.

As relações temporais entre o COP, COD e CM das diferentes fontes de carbono de *U. breviscapa* (detritos íntegros e matriz LC: anexos III e IV; Figs. 9 e 11, respectivamente) mostraram padrões semelhantes de perdas de massa, de variação temporal de COD e de incremento do CM. No geral, os processos aeróbios de decomposição foram mais rápidos que os anaeróbios; independente da condição, o aumento da temperatura favoreceu estes processos. As variações de perda de massa foram semelhantes às verificadas no Experimento 1. Normalmente, os processos de decomposição de macrófitas aquáticas sob condições aeróbias são mais rápidos que os anaeróbios (Lillebø *et al.*, 1999). Algumas características do metabolismo aeróbio em relação ao anaeróbio têm sido relacionadas; dentre as quais citam-se: (i) o processo anaeróbio rende menos energia por unidade de substrato que a respiração aeróbia (Lynch & Hobbie, 1988) e (ii) a ausência de oxigênio implica na indisponibilidade do carbono orgânico para os organismos heterotróficos, uma vez que muitos processos enzimáticos (*e.g.* catálise pelas oxigenases) usam o oxigênio molecular como reagente para o efetivo uso do substrato (Brune *et al.*, 2000).

Processo Anaeróbio



Processo Aeróbio

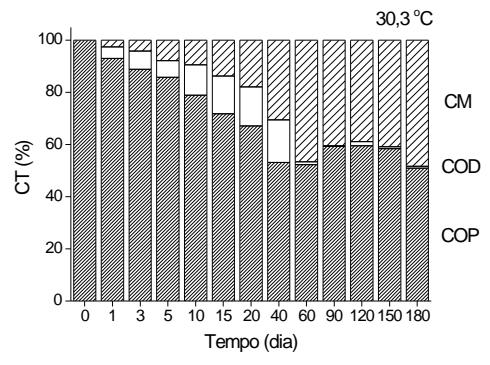
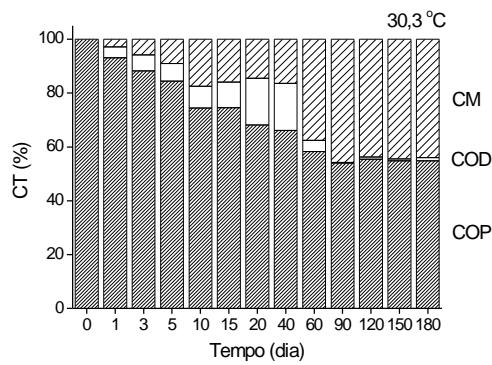
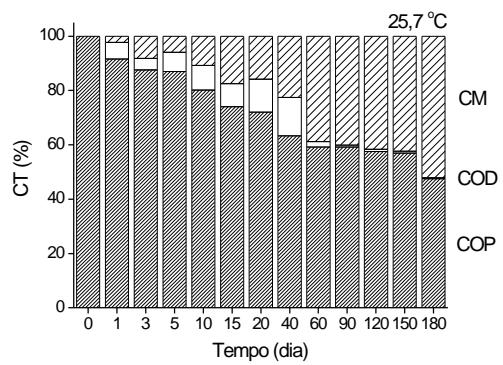
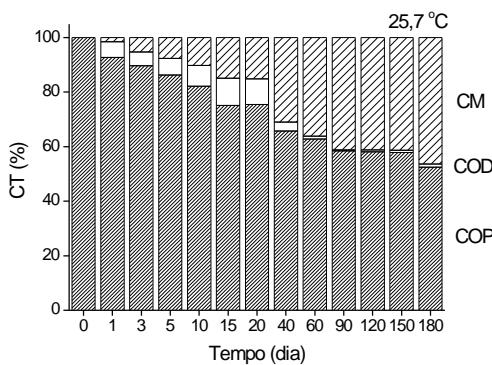
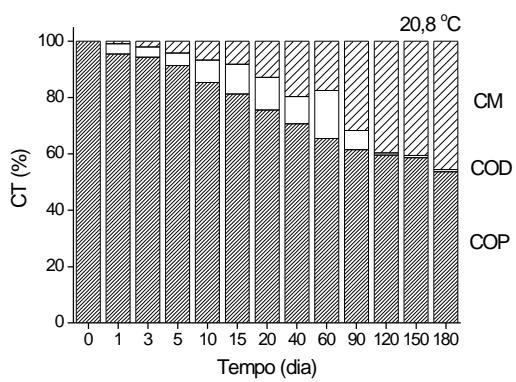
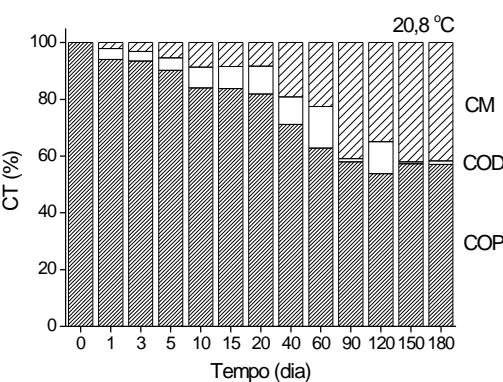
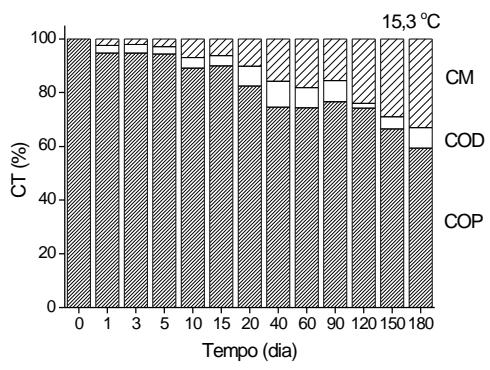


FIGURA 11 - Variações temporais de COP, COD e CM da decomposição (anaeróbia e aeróbia) da matriz LC de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

Comparando-se os efeitos conjuntos de fatores externos sobre a decomposição, têm-se verificado que as mudanças nas temperaturas afetam mais a eficiência de decaimento do COP que o estabelecimento de condições aeróbias ou anaeróbias (Godshalk & Wetzel, 1978). Mudanças nas temperaturas alteram a composição das espécies e ao mesmo tempo exercem influências diretas sobre os microrganismos (*e.g.* na produção da biomassa e nas taxas de crescimento; Ribas *et al.*, 1995). No caso da decomposição dos detritos de *U. breviflora* (Experimento 1) verificou-se que, em média (condição aeróbia e anaeróbia), o incremento de $\approx 15^{\circ}\text{C}$ aumentou o k_4 em 66%. Por outro lado, ao se considerar apenas a diferença de condição (aeróbio/anaeróbio), na condição anaeróbia o k_4 foi 51% maior.

Após 180 dias, nas incubações contendo matriz LC e detritos íntegros, as frações particuladas foram predominantes (COP). No processo anaeróbio o COP remanescente foi, em média, 11% mais elevado que no aeróbio. Nas incubações com detritos íntegros, o COP remanescente variou de 42% (condição aeróbias; $25,7^{\circ}\text{C}$) a 55% (condição anaeróbia; $15,3^{\circ}\text{C}$). Para as incubações contendo matriz LC, estes valores variaram de 48% (condições aeróbias a $25,7^{\circ}\text{C}$) a 71% (condições anaeróbias a $15,3^{\circ}\text{C}$). Ao comparar os rendimentos de perda de massa (detritos íntegros e da matriz LC) utilizando-se análise não paramétrica (teste de Friedman), verificou-se que, no geral, os incrementos nas perdas de massa em função do aumento da temperatura ocorreram no intervalo de 15,3 a $25,7^{\circ}\text{C}$; os efeitos da temperatura não foram significativos ($P > 0,05$) para o intervalo de 25,7 a $30,3^{\circ}\text{C}$. Estes resultados sugerem que por volta de 25°C , o metabolismo dos microrganismos (*e/ou* os sistemas enzimáticos envolvidos com a degradação) provenientes da lagoa do Óleo encontra-se operando na faixa do ótimo.

Como consequência do decaimento do COP, foi observado um aumento nas concentrações de COD; estas frações atingiram os valores máximos entre os 15° e o 40°

dias para a matriz LC e entre 1º e 60º dias para os detritos íntegros (Figs. 9 e 11). As concentrações do COD sofreram transformações (consumo e/ou mineralização) causando diminuições em suas concentrações. Nas incubações contendo matriz LC, o aumento da temperatura provocou um aumento nas solubilizações do COD, especialmente a 25,7 e 30,3°C (Fig. 11). Ao comparar os rendimentos finais do CM nas 4 temperaturas (Figs. 9 e 11) notou-se que este foi aproximadamente 21% mais elevado nas incubações contendo detritos íntegros que para as incubações com matriz LC. De modo geral, após 180 dias, a condição anaeróbia gerou menores teores de CM que a condição aeróbia (detritos íntegros remanescentes = 8%; matriz LC remanescentes = 12%). O aumento da temperatura induziu uma maior mineralização (maiores rendimentos de CM), *e.g.* a decomposição dos detritos íntegros produziu de 47% (15,3°C) a 53% (30,3°C) de CM; nas incubações com a matriz LC os rendimentos finais de CM nas temperaturas de 15,3 e 30,3°C foram 31% e 46%, respectivamente. Em relação às incubações nas temperaturas de 25,7 e 30,3°C, observaram-se poucas variações nos rendimentos do CM.

Nas incubações com lixiviado, o aumento da temperatura estimulou o consumo do COD, a formação do COP (\equiv microrganismos) e a mineralização. Os rendimentos de CM foram, em média, 6% mais elevados nas condições aeróbias (Anexos V e VI; Fig. 12). Os rendimentos máximos de COP, nas quatro temperaturas, foram aproximadamente 21% mais elevados nas condições aeróbias. O aumento da temperatura na faixa de 25,7 a 30,3°C intensificou as mineralizações do COD. Em média, o COD remanescente (após 180 dias) foi \approx 7%; nas temperaturas mais baixas (15,3°C) este valor foi 13%. Desta forma, os resultados indicam que na decomposição de *U. brevisscapa* ocorreu o predomínio da microbiota decompositora mesófila; estando a comunidade anaeróbia mais adaptada às maiores temperaturas.

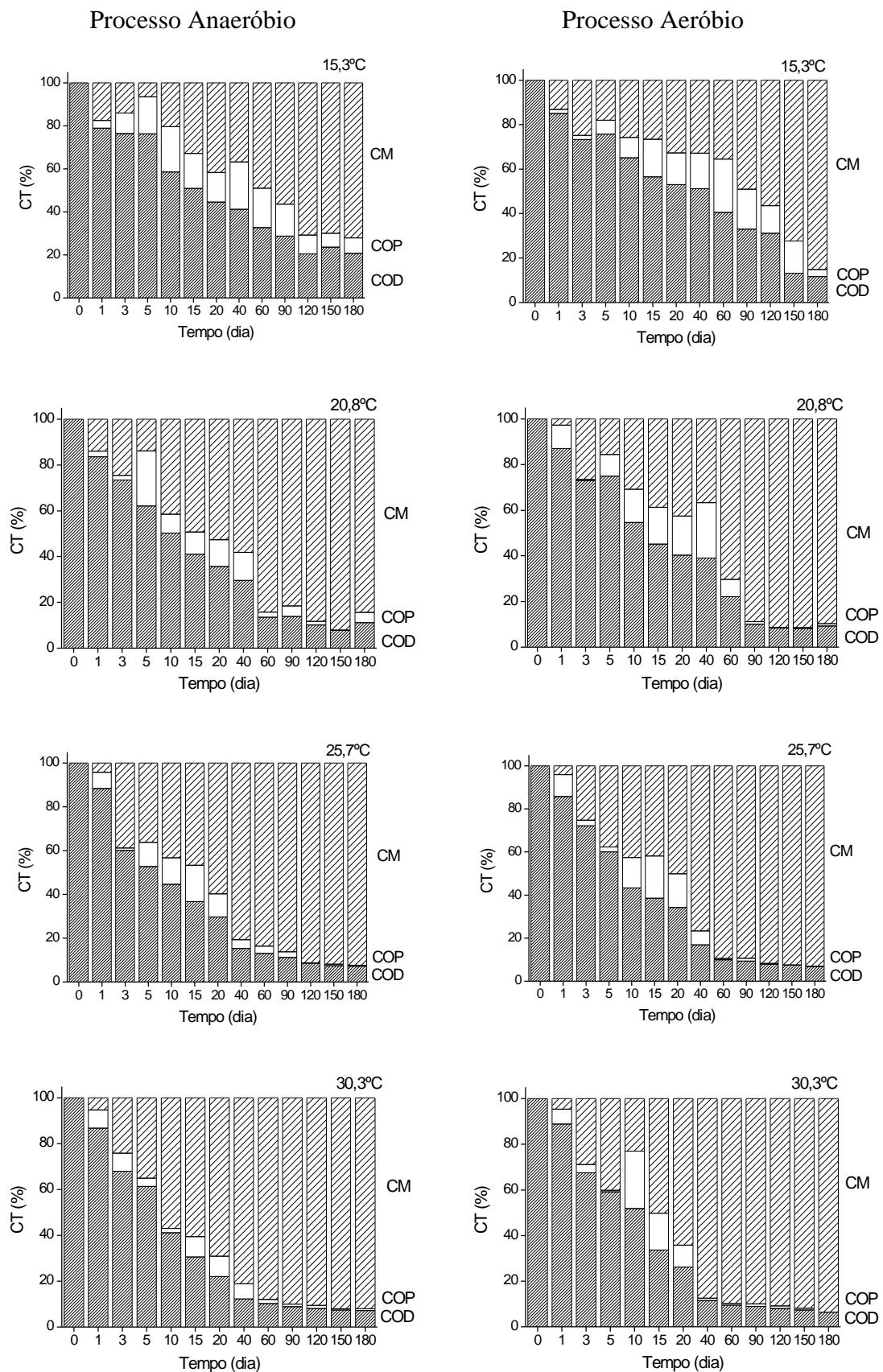


FIGURA 12 - Variações temporais de COP, COD e CM da decomposição (anaeróbia e aeróbia) do lixiviado de *U. brevisscapa*, em função da temperatura.

Não foram observadas atividades da celulase nas incubações com lixiviados e nas mantidas sob condições aeróbias (independente do tipo de recurso particulado). A falta de atividade celulolítica nas incubações com lixiviado pode ser atribuída à ausência de celulose, que se constituiu no fator indutor para a produção da celulase; nesse sentido, os sistemas celulolíticos dos decompositores podem ser considerados indutíveis ou adaptativos (Bhat & Hazlewood, 2001). Em relação às condições aeróbias, uma possível explicação para a ausência de atividade celulolítica, reside no fato de que a celulase poderia estar aderida às células dos microrganismos ou ao polímero de celulose e não em sua forma dissolvida.

Estudos sobre o sistema celulolítico de *Cellulosomas flavigena* detectaram duas classes de endocelulase, uma firmemente aderida à celulose (observada nos primeiros dias de cultivo) e outra livre no filtrado da cultura (detectada na fase mais adiantada do crescimento; Béguin *et al.*, 1977). Coughlan & Kjungdahl (1988) descreveram os mecanismos de hidrólise enzimática da celulose; várias celulases de bactérias aeróbias foram descritas como sendo aderidas às células ou ao substrato. Isto significa que uma mesma população de microrganismos pode adotar estratégias distintas na produção destas enzimas.

As atividades celulolíticas foram somente observadas nas incubações contendo fontes de carbono particulado (detritos íntegros e matriz LC) e sob condições anaeróbias (Fig. 13); nas temperaturas mais altas as atividades foram abreviadas; *e.g.* a 30,3°C as atividades foram observadas entre o 9º (matriz LC) e o 12º dia (detritos íntegros). Na temperatura de 15,3°C as incubações com detritos íntegros e com matriz LC exibiram atividades enzimáticas somente a partir do 45º dia. As atividades das celulases nas temperaturas mais altas não foram incrementadas, apresentaram reduções acentuadas a 30,3°C (Fig. 13). Diferentes estratégias nas produções de enzimas podem ser adotadas

pelas bactérias aeróbias e anaeróbias; de maneira geral, as aeróbias produzem enzimas extracelulares individuais com diferentes módulos de aderências para diferentes configurações do substrato celulolítico. Estas enzimas são, geralmente, produzidas em concentrações elevadas e agem em conjunto para a hidrólise eficaz da celulose (Schwarz, 2001). Por outro lado, as bactérias anaeróbias utilizam um complexo multi-enzimático (celulosoma) que opera na interface celular (Lamed & Bayer, 1988). Os celulosomas são considerados eficientes complexos enzimáticos nos quais ocorrem endo e exocelulases; ambas cooperam sinergicamente para a hidrólise da celulose (Béguin & Lemaire, 1996). Ainda, em relação à degradação anaeróbia, as associações simbióticas ou os consórcios também aumentam a eficiência da degradação (Ljungdahl & Eriksson, 1985).

Os tempos necessários para os inícios das atividades da celulase (9º dia: matriz LC; 12º dia: detrito íntegro) estiveram, provavelmente, relacionados à utilização dos compostos não estruturais liberados durante a lixiviação. De acordo com Sala & Güde (1999), durante a decomposição de *Potamogeton pectinatus* a sucessão de enzimas envolvidas na hidrólise dos carboidratos iniciou-se com a hidrólise dos compostos com baixos pesos moleculares. Com o desaparecimento dos carboidratos solúveis, iniciaram-se as hidrólises dos polissacarídeos estruturais (celulose e hemicelulose). As utilizações dos compostos simples são energeticamente mais favoráveis que o consumo de polímeros de alto peso molecular (Moorhead & Sinsabaugh, 2000).

Ainda em relação à aderência dos microrganismos ao substrato, o contato físico (por material capsular, por componentes enzimáticos aderidos às células ou por hifas penetrantes) entre celulose e os microrganismos tem sido apontado como necessário para a indução das enzimas celulolíticas (Coughlan & Kjungdahl, 1988; Coughlan & Mayer, 1992).

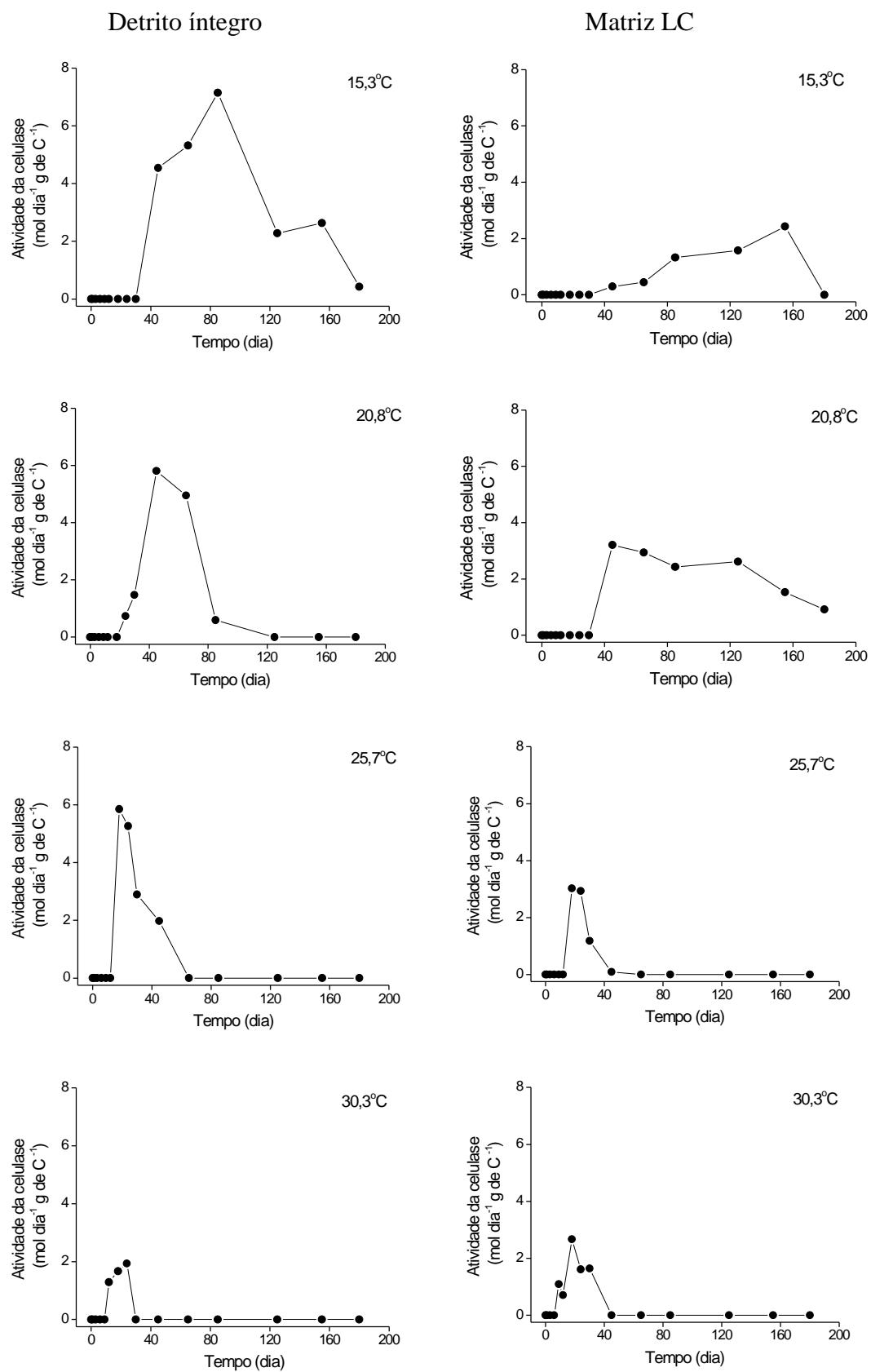


FIGURA 13 - Atividades celulolíticas (detritos íntegros e matriz LC) da decomposição anaeróbia de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

No entanto, estudo de degradação de celulose em culturas mostrou que o contato dos microrganismos com o polímero, não é essencial para a sua degradação. No entanto, neste caso, para haver a produção da celulase, devem estar presentes compostos indutores, dentre os quais encontram-se os produtos intermediários da hidrólise da celulose (Kauri & Kushner, 1985).

Os atrasos nos inícios das atividades celulolíticas nas temperaturas de 15,3 e 20,8°C (em comparação com as temperaturas de 25,7 e 30,3°C) estiveram provavelmente relacionados com as intensidades das atividades metabólicas dos organismos. Assim, supõe-se que o aumento do tempo necessário para a colonização dos resíduos tenha sido devido às baixas taxas metabólicas induzidas pelas temperaturas mais baixas.

As elevadas atividades enzimáticas (observadas nas incubações com detritos íntegros; Fig. 13) estiveram, provavelmente, relacionadas com a presença do COD (lixiviado); supõe-se que os nutrientes e as vitaminas não se constituiriam em fatores limitantes ao crescimento microbiano. Por exemplo, em microcosmos, verificou-se que a adição de fósforo favoreceu o crescimento de microrganismos em até 10 vezes (Sala *et al.*, 2001). Os produtos da decomposição de macrófitas mostraram-se capazes de suprir deficiências de fósforo e de vitaminas no crescimento de *Scenedesmus bijugatus* (Bianchini Jr., 1985).

As variações temporais das atividades da celulase apresentaram um padrão bastante característico. A partir dos inícios das ocorrências (do 9º ao 45º dia) as atividades incrementaram-se até atingirem valores máximos. Após, as atividades tenderam a decrescer. Os decréscimos alteraram-se em função da temperatura, *i.e.* nas temperaturas mais elevadas os decréscimos foram mais acentuados. Os valores máximos das atividades enzimáticas nas incubações com detritos íntegros (em base de

carbono) foram: 7,2 (15,3°C); 5,8 (20,8°C); 5,3 (25,7°C) e 1,9 mol dia C⁻¹ (30,3°C). Para as incubações com matriz LC, estes valores, nestas mesmas temperaturas foram: 2,4; 3,2; 3,0 e 2,6 mol dia⁻¹ C⁻¹, respectivamente. Em média, a produção de celulase foi 1,83 mais alta nos meios com detritos íntegros, com exceção da temperatura de 30,3°C, na qual foram observadas atividades semelhantes para as incubações com as duas fontes de COP.

Na Fig. 14 é possível notar que na decomposição dos detritos íntegros, os valores acumulados das atividades das celulases diminuíram em função do aumento da temperatura. Em contrapartida, os valores de k_p (*i.e.* coeficiente de formação da celulase) incrementaram-se (tais parâmetros originaram-se dos ajustes dos resultados ao modelo sigmóide). Os valores acumulados das atividades celulolíticas foram: 538,5 ± 12,56 (15,3°C), 237,5 ± 1,79 (20,8°C), 129,8 ± 2,15 (25,7°C) e 27,5 ± 0,17 mol C⁻¹ (30,3°C), os k_p correspondentes a estas temperaturas foram 0,054 ± 0,005 ($r^2 = 0,99$), 0,107 ± 0,004 ($r^2 = 0,99$), 0,171 ± 0,020 ($r^2 = 0,99$) e 0,329 ± 0,017 dia⁻¹ ($r^2 = 0,99$). As variações destes parâmetros, contudo, foram diferentes das verificadas nas incubações com matriz LC; neste caso houve um padrão crescente nas atividades de 15,3°C até 20,8°C (195,5 ± 3,77 a 326,5 ± 12,4 mol C⁻¹). Entre 25,7 e 30,3°C os valores foram similares (49,4 ± 0,4 mol C⁻¹). O k_p foi 0,044 ± 0,002 dia⁻¹ a 15,3 ($r^2 = 0,99$) e 20,8°C ($r^2 = 0,99$), atingiu valor máximo a 25,7°C (0,259 ± 0,017 dia⁻¹; $r^2 = 0,99$) e decresceu a 30,3°C (0,196 ± 0,011 dia⁻¹; $r^2 = 0,99$).

As intensidades das atividades para todas as condições (detritos íntegros e matriz LC) decresceram nas temperaturas mais altas (Fig. 14).

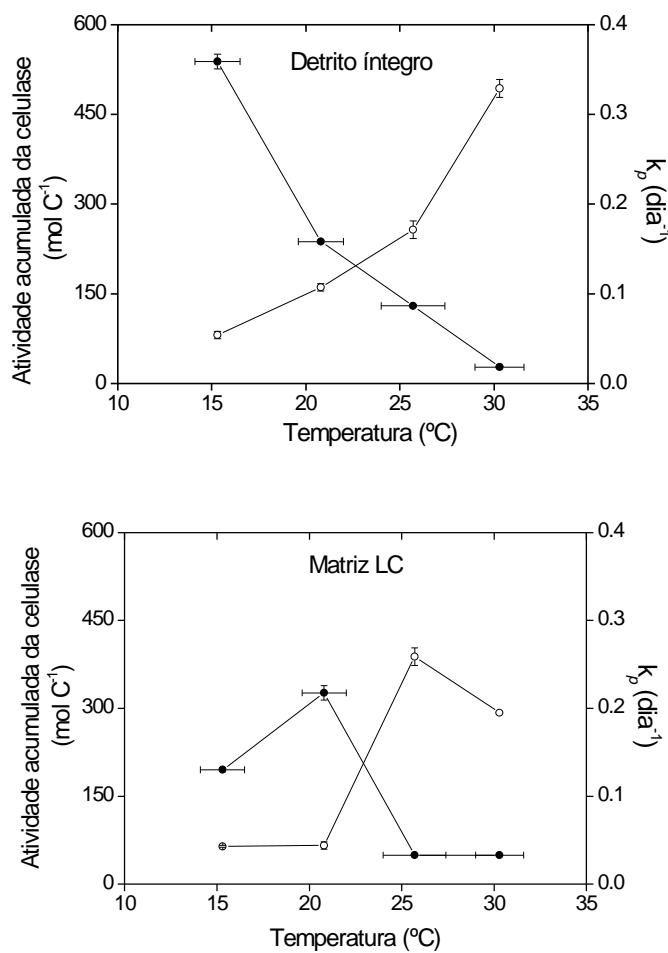


FIGURA 14 – (●) Atividade celulolítica acumulada (mol C⁻¹) vs. (TM) k_p (dia⁻¹) em função da temperatura; alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.

Neste caso, é possível supor que as taxas metabólicas tenham favorecido a ocorrência de processos concorrentes (*e.g.* produção da xilanase) na degradação dos polissacarídeos estruturais. Ressalta-se que devido à entrelaçada associação do material lignocelulósico, os sistemas celulolíticos estão, geralmente, associados com as xilanases (Tomme *et al.*, 1995). Estudos sobre as atividades enzimáticas de *Cellulomonas* sp. indicaram que a formação da xilose (produto final da degradação da hemicelulose) pode afetar as atividades celulolíticas destes organismos; sugerindo, desta maneira, interdependências entre os sistemas reguladores da celulase e da xilanase (Rodríguez *et al.*, 1996). Ainda em relação aos decréscimos das atividades em função da temperatura, é possível supor que (i) os inóculos naturais da lagoa do Óleo continham uma comunidade de microrganismos adaptada à faixa de temperatura de 15 e 20°C. Por este argumento assume-se que as atividades enzimáticas foram proporcionais à população de microrganismos (Chróst & Rai, 1993); (ii) a elevação da temperatura induziu o consumo decorrente de co-fatores relacionados com a produção da celulase (*e.g.* agente tiol e íons Ca²⁺) e (iii) a temperatura tenha aumentado a eficiência das taxas das reações bioquímicas (enzimas-substrato), em detrimento das produções de enzimas.

Para as incubações com detritos íntegros e matriz LC, com o aumento da temperatura, os valores do parâmetro k_p tenderam ao incremento (Fig. 14). A elevação da temperatura acelera a maioria dos processos fisiológicos (*e.g.* metabolismo microbiano; Shiah & Ducklow, 1994); para o experimento com *U. breviscapa* ocorreu um aumento na eficiência da produção destas enzimas. Apesar dos valores de k_p terem sido maiores a 25,7°C que a 30,3°C nas incubações com matriz LC, supõe-se que para o funcionamento dos processos metabólicos da lagoa do Óleo, estes valores encontram-se dentro da mesma ordem de grandeza.

As atividades da celulase são normalmente avaliadas *in situ*, onde a técnica dos *litter bags* é geralmente empregada (Jackson *et al.*, 1995; Fioretto *et al.*, 2000). A falta de dados provenientes de ensaios em condições controladas fez com que fosse difícil a comparação dos resultados obtidos na decomposição de *U. breviscapa*. Contudo, as informações obtidas neste estudo esclareceram vários mecanismos envolvidos na hidrólise da celulose no ambiente. Forneceu, também, evidências importantes que tratam do estado fisiológico das populações dos microrganismos que vivem na lagoa do Óleo.

5.4. Experimento 3 - Mineralização aeróbia: consumo de oxigênio

As concentrações de oxigênio dissolvido têm sido freqüentemente utilizadas para avaliar o metabolismo heterotrófico em ecossistemas aquáticos (Berman *et al.*, 2001; Strauss & Lamberti, 2002). Nestes estudos estão implícitas as relações quantitativas entre o consumo de oxigênio, a produção do CO₂ e a atividade microbiana (Characklis, 1990); em base molar, a concentração de CO₂ é aproximadamente similar à quantidade de oxigênio consumido (Karl, 1986).

As cinéticas de consumo de oxigênio, decorrentes das mineralizações aeróbias dos detritos íntegros de *U. breviscapa*, são apresentadas na Fig. 15. Os valores dos consumos tiveram neutralizado os efeitos das mineralizações das amostras de água da lagoa do Óleo (câmaras controle), através da inclusão da Eq. 11 ao modelo (Eq. 12).

Do ponto de vista cinético, independentemente da temperatura, notou-se que os consumos de oxigênio foram similares aos registrados por Lemos & Bianchini Jr. (1998), Borsuk & Stow (2000) e Bitar & Bianchini Jr. (2002). Observou-se uma tendência de consumo mais acentuado no início dos processos (variando do 20º ao 30º dia). Após este período, verificaram-se decréscimos graduais nas oxidações do oxigênio dissolvido, tendendo à estabilização, nas fases finais. Os ajustes dos resultados do Experimento 1 permitiram estimar que os rendimentos (no 95º dia) do CM foram: 44,1 (15,3°C), 47,1 (20,8°C), 50,3 (25,7°C) e 49,3% (30,3°C). Estes valores foram proporcionais aos rendimentos obtidos neste experimento (Anexo VII; $r^2 = 0,68$) que, em média, foram aproximadamente 20% maiores. Provavelmente estas diferenças estiveram relacionadas com as quantidades de fragmentos utilizados no Experimento 3 (200 mg). Ressalta-se que nos estádios avançados da decomposição de *U. breviscapa* os detritos tiveram suas propriedades alteradas, tornando-se pastosos o que pode

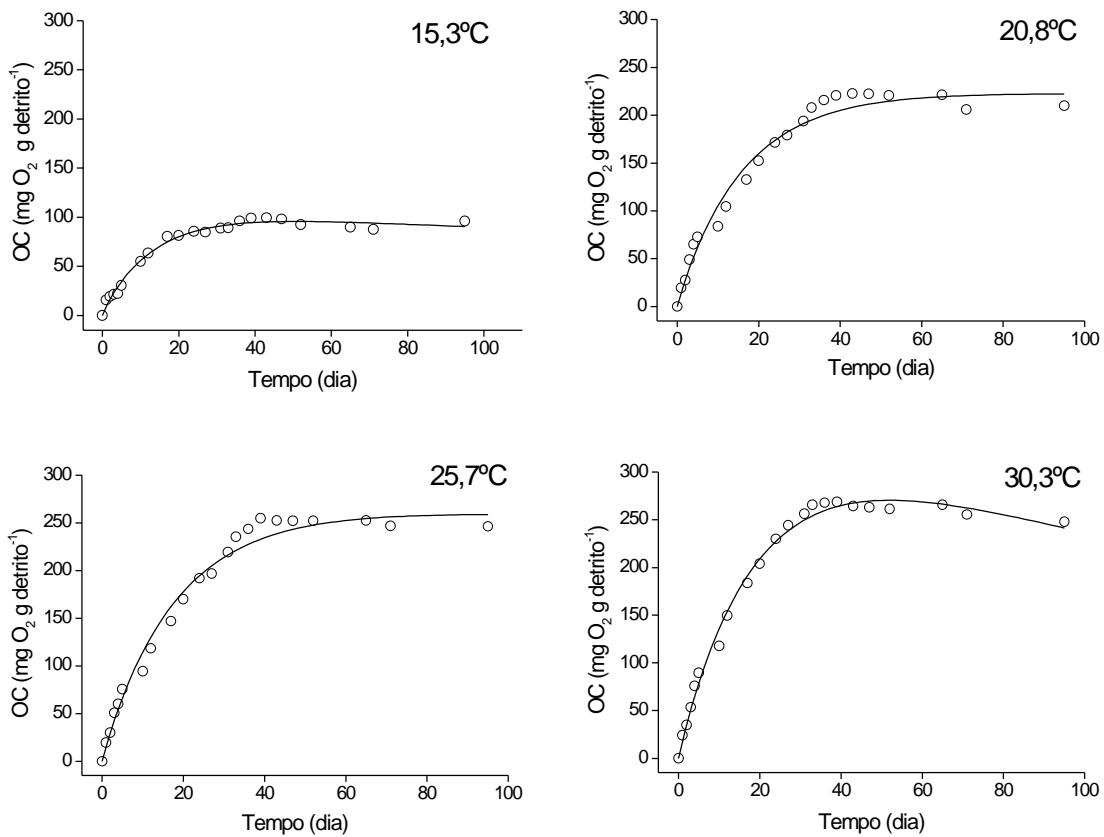


FIGURA 15 - Consumos acumulados de oxigênio na mineralização aeróbia dos detritos íntegros de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

TABELA 7 - Parâmetros do modelo cinético de consumo de oxigênio dissolvido da mineralização aeróbia de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

Temperatura (°C)	$OC_{\text{máx}}$ (mg g detrito ⁻¹)	Erro	k_d (dia ⁻¹)	Erro	r^2
15,3	101,9	5,9	0,074	0,008	0,98
20,8	220,0	-	0,062	0,003	0,97
25,7	260,0	-	0,055	0,002	0,98
30,3	337,7	22,2	0,051	0,005	0,99

ter dificultado sua extração e, consequentemente, induzido suas subestimativas.

O aumento da temperatura incrementou os valores de OC_{máx}, sendo que o consumo por grama (PS) de detrito variou de $101,9 \pm 5,89$ ($15,3^{\circ}\text{C}$) a $337,7 \pm 22,25$ mg ($30,3^{\circ}\text{C}$); (Tab. 7). Com base numa compilação realizada por Bianchini Jr. (2003), os consumos de oxigênio das mineralizações aeróbias de macrófitas submersas ($n = 4$) foram, em média $354,5 \pm 17,6$ mg g⁻¹ PS; segundo este autor o coeficiente médio de desoxigenação (k_d) foi $0,0785 \pm 0,0202$ dia⁻¹, equivalente a $t_{1/2}$ de 8,85 dias.

Na mineralização da *U. brevisscapa*, o OC_{máx} médio para as quatro temperaturas foi $229,8$ mg g⁻¹ PS; este valor foi menor que os registrados na degradação de *Cabomba piauhyensis* ($339,0$ mg g⁻¹ PS; Cunha & Bianchini Jr., 1998a), *Nymphaea ampla* ($258,0$ e $450,0$ mg g⁻¹ PS; Brum *et al.*, 1999; Farjalla *et al.*, 1999), *Potamogeton stenostachys* ($360,0$ e $377,0$ mg g⁻¹ PS; Brum *et al.*, 1999; Farjalla *et al.*, 1999), *Cabomba* sp. ($342,0$ mg g⁻¹ PS; Bitar & Bianchini Jr., 2002) e *Wolffia* sp. ($573,5$ mg g⁻¹ PS; Bitar & Bianchini Jr., 2002). O valor médio obtido neste estudo foi próximo aos observados em experimentos de degradação com *Lemna* sp. ($230,0$ mg g⁻¹ PS; Bitar & Bianchini Jr., 2002) e *Montrichardia arborescens* ($235,2$ mg g⁻¹ PS; Cunha-Santino *et al.*, submetido-b) e maior que os verificados nas mineralizações de *Scirpus cubensis* ($165,3$ mg g⁻¹ PS; Cunha & Bianchini Jr., 1998a; Lemos & Bianchini Jr., 1998), *Salvinia* sp. ($185,0$ mg g⁻¹ PS; Bitar & Bianchini Jr., 2002), *Eichhornia azurea* ($165,8$ mg g⁻¹ PS; Bianchini Jr. *et al.*, submetido-b) e $140,0$ mg g⁻¹ PS; Bitar & Bianchini Jr., 2002) e *Typha domingensis* ($32,5$ mg g⁻¹ PS; Farjalla *et al.*, 1999).

Experimentos de decomposição aeróbia de outros tipos de recursos apresentaram os seguintes valores de consumo de oxigênio (OC_{máx}): 997 mg g⁻¹ C - células de *Staurastrum iversenii* (incubadas em diferentes temperaturas; Pacobahyba, 2002); 476 e 496 mg g⁻¹ de glicose (amostras de água de um reservatório eutrofizado;

Panhota, 2002); 139,9 mg g⁻¹ C de ácidos húmicos e 581,9 mg g⁻¹ C de ácidos fúlvicos (amostras de água de uma lagoa marginal; Cunha-Santino & Bianchini Jr., no prelo-c); 307,4 mg g⁻¹ de ácido tânico (amostras de água do reservatório do Monjolinho (Cunha-Santino *et al.*, 2002c); 339,2 e 386,3 mg g⁻¹ de glicina e lisina (amostras de água do reservatório do Monjolinho; Cunha-Santino & Bianchini Jr., no prelo-a); 156,6 mg g⁻¹ folhas (PS), 35,4 mg g⁻¹ galhos (PS), 44,2 mg g⁻¹ cascas (PS) e 118,2 mg g⁻¹ serapilheira (PS) (Antonio *et al.*, 1999); 238,1 mg g⁻¹ de glicose (amostra de água de uma lagoa marginal; Antonio & Bianchini Jr., 2002) e 126,9 mg g⁻¹ (PF) de folhas de gramíneas (Branco & Rocha, 1977).

Considerando que os detritos das macrófitas aquáticas sejam quimicamente heterogêneos, apresentando frações lábeis e refratárias (*c.f.* modelo cinético utilizado no Experimento 1), a exemplo do que ocorre com outros tipos de recursos (Aprile *et al.*, 1999; Antonio *et al.*, 1999), supõe-se que no início tenham predominado as oxidações das frações lábeis que, normalmente, geram demandas elevadas de oxigênio. Por outro lado, as reduções nos consumos de oxigênio estiveram, provavelmente, relacionadas com as mineralizações das frações refratárias, *i.e.* celulose e lignina (Cunha & Bianchini Jr., 1998b) e substâncias húmicas (Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2002a). Outros fatores também podem ter interferido (aumentando ou diminuindo) nas taxas de consumo de oxigênio: (i) a agitação mecânica decorrente do manuseio das amostras durante a determinação das concentrações de OD (Cunha-Santino & Bianchini Jr., submetido-c); (ii) as reações bioquímicas (*e.g.* β -oxidação de ácidos graxos saturados; Ratledge, 1994; desaminação de aminoácidos; Rose, 1976) que geram peróxido de hidrogênio; (iii) os processos quimiolitotróficos (*e.g.* nitrificação; Henze *et al.*, 2002); (iv) as oxidações químicas (*e.g.* formações de óxidos de Fe; Golterman, 1975); (v) a composição química do recurso (quantidade de oxigênio; Dagley, 1986).

Ao contrário do observado para o OC_{máx}, os coeficientes de desoxigenação (k_d) tenderam a decrescer com o incremento da temperatura: $0,074 \pm 0,0083 \text{ dia}^{-1}$ ($15,3^\circ\text{C}$), $0,062 \pm 0,0034 \text{ dia}^{-1}$ ($20,8^\circ\text{C}$), $0,055 \pm 0,0024 \text{ dia}^{-1}$ ($25,7^\circ\text{C}$) e $0,051 \pm 0,0052 \text{ dia}^{-1}$ ($30,3^\circ\text{C}$). Os respectivos $t_{1/2}$ para estas temperaturas foram 9,4; 11,2; 13,6 e 13,4 dias. De acordo com os $t_{1/2}$ notou-se que: (i) os consumos de oxigênio caracterizaram-se por serem processos de curto prazo e (ii) embora tenderam a decrescer em função dos incrementos da temperatura, os k_d variaram dentro da mesma ordem de grandeza; este evento de certo modo minimizou o efeito da temperatura sobre a variação deste parâmetro, ao contrário do inicialmente esperado.

Pacobahyba (2002) estudando a mineralização aeróbia de recursos provenientes de *Staurastrum iversenii*, também observou uma tendência de redução dos valores de k_d com o aumento da temperatura. No geral, os valores de OC_{máx} e os de k_d variam em função das origens e lotes dos detritos (composição química, estrutura, etc.), das comunidades de microrganismos, das concentrações de nutrientes e da temperatura (Bianchini Jr., 2003). Contudo, comparando-se as variações de k_d e OC_{máx} em função da temperatura (Tab. 7), é possível inferir que estes parâmetros sejam interdependentes e inversamente proporcionais.

De acordo com Grady *et al.* (1996), em experimentos desenvolvidos sob condições controladas, o estado fisiológico da microbiota decompositora está sujeito a mudanças, podendo exibir dois tipos de propriedades cinéticas: (i) intrínsecas e (ii) existentes. Os parâmetros intrínsecos dependem da natureza do substrato, do tipo de microrganismos e das condições físicas e químicas da incubação. Em contrapartida, as propriedades existentes referem-se ao estado fisiológico dos microrganismos. A faixa de variação da temperatura utilizada na mineralização aeróbia de *U. breviscapa* (15 a 30°C) não refletiu de maneira evidente no aumento na velocidade do processo (*i.e.* taxas

metabólicas ≡ estado fisiológico), mas na quantidade de oxigênio consumido. Possivelmente, neste caso, tenham ocorrido alternâncias nas rotas metabólicas; desta forma, supõe-se que as rotas que consomem mais oxigênio estariam sendo acionadas, ou preferencialmente mantidas nas temperaturas mais elevadas; outra explicação reside no fato de que nas temperaturas mais elevadas, outros processos que consomem oxigênio (*e.g.* nitrificação) estariam sendo também favorecidos.

O valor médio do coeficiente de desoxigenação (k_d : 0,061 dia⁻¹) determinado para a mineralização aeróbia de *U. breviscapa* foi 2,9 vezes menor que o valor médio obtido de vários experimentos de decomposição de macrófitas aquáticas (0,180 dia⁻¹; n = 21; Bianchini Jr., 2003). Foi também menor que o verificado na oxidação biológica de ácido tânico (0,39 dia⁻¹; Cunha-Santino *et al.*, 2002c) e nas oxidações dos seguintes recursos orgânicos: folhas (0,11 dia⁻¹), galhos (0,52 dia⁻¹), cascas (0,36 dia⁻¹) e serapilheira (0,11 dia⁻¹); Antonio *et al.* (1999).

Em ensaios de mineralização de substâncias húmicas, os valores dos k_d variaram (entre 0,140 dia⁻¹ e 0,310 dia⁻¹) em função da origem destes substratos (MOD, sedimento, ou da decomposição de macrófitas aquáticas; Cunha-Santino & Bianchini Jr., no prelo-c). Apesar destas substâncias serem considerados recalcitrantes, os coeficientes de consumo de oxigênio foram maiores do que os obtidos na degradação de *U. breviscapa*; os autores atribuem os elevados k_d à oxidação das frações lábeis destas substâncias (27%).

Valores de k_d mais baixos que os obtidos neste estudo foram determinados na degradação aeróbia de *Montrichardia arborescens* (0,044 dia⁻¹; Cunha-Santino *et al.*, submetido-b) e na de alguns compostos orgânicos: glicose (0,016 dia⁻¹), sacarose (0,025 dia⁻¹), amido (0,050 dia⁻¹) e lisina (0,048 dia⁻¹; Cunha-Santino *et al.* no prelo-a).

O efeito da degradação microbiana na regulação dos teores de matéria orgânica de detritos relaciona-se com os k_d . Supõe-se que as frações responsáveis pela ocorrência de valores elevados de k_d possuam reduzidos períodos de meia vida, não tendendo, portanto, ao acúmulo nos ecossistemas.

Considerando os elevados coeficientes de determinação (r^2 : de 0,97 a 0,99) obtidos dos ajustes do modelo cinético aos resultados experimentais (Fig. 15) foi possível constatar que o modelo proposto (Eq. 12) foi adequado para representar as cinéticas de consumos de oxigênio dos processos aeróbios de degradação de *U. breviscapa*.

No caso da degradação sob condições aeróbias, as oxidações são completas e todos os produtos finais são inorgânicos. Desse modo, admite-se que todo o oxigênio consumido seja utilizado na oxidação dos compostos orgânicos (Brezonik, 1993). Assim, a relação entre o oxigênio consumido e o carbono oxidado fornece, com base nos balanços de massa, os coeficientes estequiométricos. Para as determinações dos coeficientes estequiométricos, obtiveram-se os valores acumulados de CM das simulações geradas da parametrização do modelo cinético (Eq. 5), adotado para descrever a decomposição aeróbia dos detritos íntegros de *U. breviscapa* (Experimento 1). Como este modelo admitiu a heterogeneidade estrutural do recurso, os valores acumulados de CM foram decorrentes de três rotas de mineralização (Fig. 7). Experimentos desta natureza, realizados com macrófitas aquáticas (Cunha & Bianchini Jr., 1998a; Farjalla *et al.*, 1999), sugerem que os acúmulos iniciais de CM referem-se ao consumo das frações lábeis e com o decorrer do tempo, ocorre o predomínio gradual do consumo de formas orgânicas mais resistentes, ou seja, das frações refratárias.

A Fig. 16 apresenta as relações estequiométricas obtidas dos consumos de oxigênio e carbono. Os resultados indicaram que, a relação O/C variou em função da

temperatura e do tempo. Entretanto, independentemente da temperatura, foi possível identificar um padrão de variação comum. Verificou-se, na fase inicial, o incremento dos valores dos coeficientes estequiométricos; os valores máximos de O/C foram observados no 5º dia: 9,5 (15,3°C), 16,2 (20,8°C), 16,0 (25,7°C) e 20,2 (°C); após, os coeficientes decresceram continuamente até o final do experimento (180 dias), tendendo a zero.

Experimentos de mineralização aeróbia de cascas, galhos, folhas e serapilheira apresentaram o mesmo padrão de variação temporal de O/C que os verificados neste estudo. Nestes casos, registraram valores máximos a partir do 3º dia, sendo os respectivos valores: 6,73; 1,05; 2,45 e 3,88 (Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2002b); os autores sugeriram que o valor elevado de O/C máximo, verificado na degradação das cascas, seja decorrente da composição química do recurso.

Durante a decomposição de macrófitas aquáticas, foram registrados os seguintes valores máximos para os coeficientes estequiométricos O/C: 5,03 (*Montrichardia arborescens*, valor máximo: 17º dia; Cunha-Santino *et al.*, submetido-b), 11,88 (*Eichhornia azurea*, valor máximo: 6º dia; Cunha-Santino *et al.*, submetido-d) e 11,05 (*Salvinia auriculata*, valor máximo: 3º dia; Cunha-Santino & Bianchini Jr., 2001).

Os valores máximos das relações estequiométricas, obtidos nas primeiras etapas da decomposição, provavelmente decorreram das oxidações (química ou bioquímicas) do COD (lixiviado); esta fração, conforme já discutido no Experimento 1, é caracterizada por uma diversidade de compostos orgânicos reativos. Numa segunda etapa, possivelmente, as variações dos coeficientes estequiométricos estiveram relacionadas às oxidações bioquímicas (rotas metabólicas) e com a diversidade

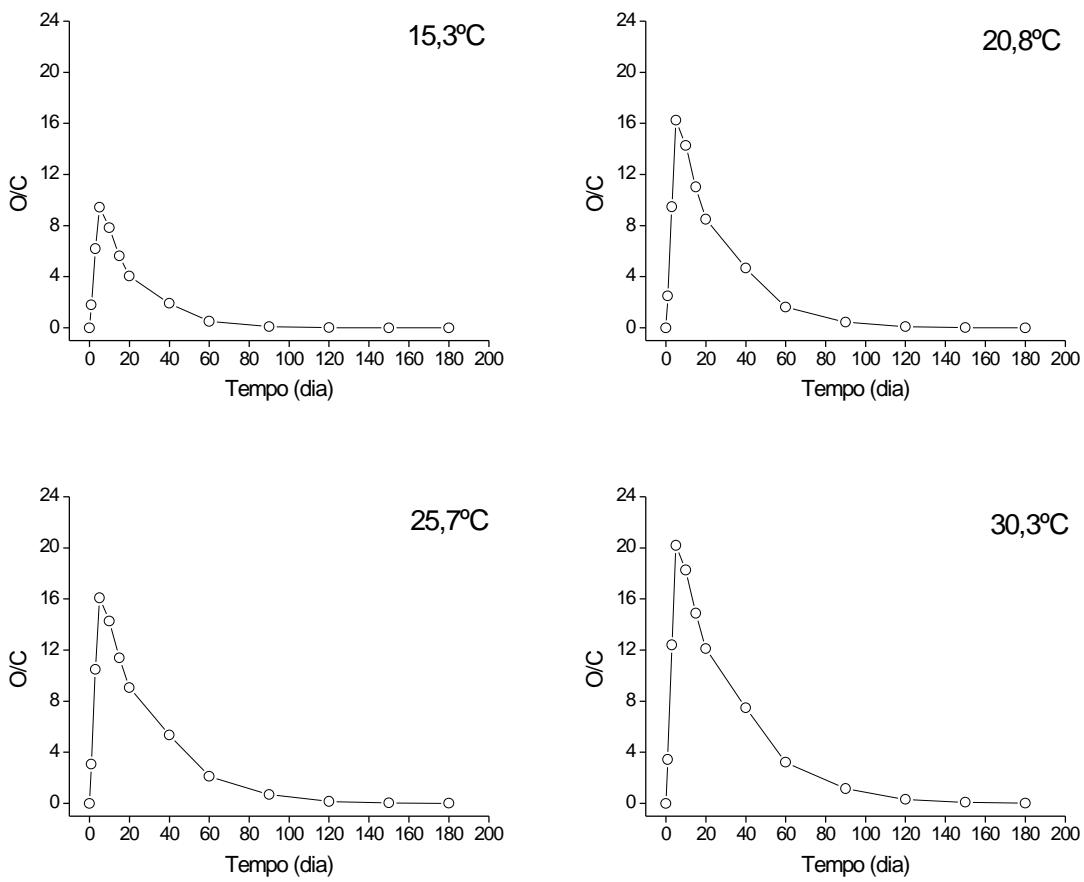


FIGURA 16 - Variações temporais dos coeficientes estequiométricos (O/C) das mineralizações aeróbias dos detritos íntegros de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

dos microrganismos heterotróficos. Desta forma, as variações dos valores estequiométricos podem ser atribuídas: (i) às oxidações químicas entre os diferentes compostos orgânicos envolvidos no processo de decomposição; (ii) às reações mediadas por enzimas (*e.g.* clivagem dos núcleos benzênicos de compostos polifenólicos pelas oxidases, desaminações de compostos nitrogenados pelas desidrogenases e oxidações parciais dos ácidos graxos); (iii) às alterações das rotas metabólicas predominantes (*e.g.* via oxidativa das pentoses-fosfato, glicólise ou via de Embden-Meyerhof-Parnas e via de Entner-Doudoroff); (iv) às variações das quantidades e das espécies de

microrganismos envolvidos; (v) às variações da quantidade e da qualidade (fração lábil ou refratária) dos compostos orgânicos disponíveis e (vi) aos teores de oxigênio dos detritos.

Os aumentos das relações estequiométricas em função da temperatura podem ser atribuídos aos incrementos das atividades metabólicas (*e.g.* efeito positivo sobre as taxas de produção enzimáticas) e ao favorecimento de reações químicas, pelo efeito do aumento da energia de ativação no equilíbrio termodinâmico. Considerando os valores de OC_{máx} foi possível estimar que o Q₁₀ de consumo de oxigênio na decomposição da *U. breviscapa* foi 1,89 (Fig. 17). Ao comparar este valor com os obtidos no Experimento 1, verificou-se que este foi cerca de 1,7 vezes maior; neste caso há que se considerar que o valor de 1,89 inclui todas as rotas metabólicas, ou seja, decaimento da COP_{LS}, do COD e do COP_R. No caso do experimento cinético, as rotas foram diferenciadas e o efeito da temperatura foi avaliado individualmente. Este valor também reflete o efeito da temperatura sobre as variações temporais dos coeficientes estequiométricos.

Estudos que trataram da decomposição de folhas de *Phragmites communis* mostraram que o consumo de oxigênio foi muito relacionado com a temperatura; o Q₁₀ (10 - 20°C) variou de 1,8 a 2,3 (Andersen, 1978). Experimentos de consumo de oxigênio em ambientes aquáticos relacionados por USEPA (1985) registraram valores de Q₁₀ que variaram de 1,22 a 4,05; nesta compilação, sugere-se que valores de Q₁₀ em torno de 1,58 ocorrem, em geral, somente nas temperaturas entre 20 e 30°C, sendo observados valores mais elevados para processos que se desenvolvem em temperaturas mais baixas. Os valores mais elevados de Q₁₀ nas temperaturas mais baixas também foram verificados neste estudo de mineralização de *U. breviscapa*, o valor de Q₁₀ na

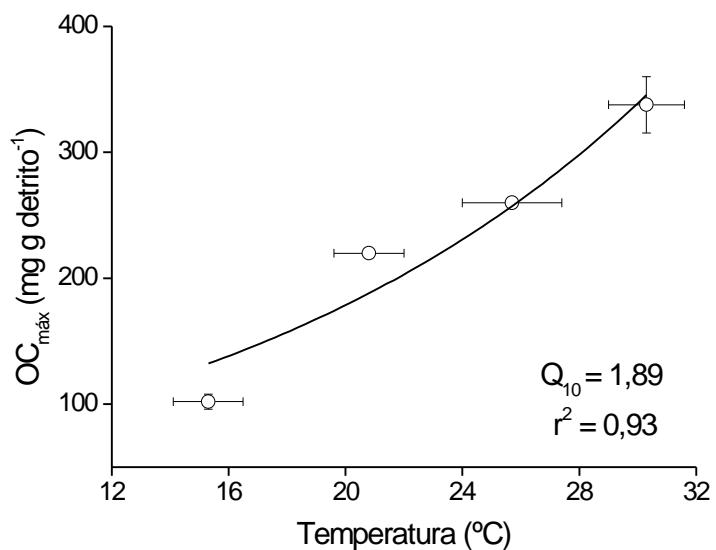


FIGURA 17 - Variações dos OC_{máx} dos experimentos de consumo de oxigênio, em função da temperatura; alteres horizontais = DP e alteres verticais = erros.

faixa de temperatura de 15,3 a 20,8°C foi 4,05; na faixa de 20,8 a 25,7°C 1,41 e na faixa de 25,7 a 30,3°C foi 1,76. Segundo Kätterer *et al.* (1998) valores de Q₁₀ são próximos de 2 na faixa de temperatura compreendida entre 5 a 35°C. Estes valores (próximos de 2) são usualmente utilizados nas simulações que tratam de processos de ciclagem em ecossistemas. Entretanto, quando se trata de substratos individuais, o valor de Q₁₀ pode se distanciar muito de 2, pois o efeito da temperatura ótima pode ser diferente entre os organismos de uma comunidade.

5.5 Experimento 4: Mineralização anaeróbia de *U. breviscapa*: formação de gases (CO₂ e CH₄)

Com base nas cinéticas de consumo de oxigênio descritas para os detritos de *U. breviscapa* (Experimento 3) e na quantidade máxima de oxigênio dissolvido, disponível em cada frasco ($[OD]_{sat}$ para 15 a 30°C ≈ 10,08 a 7,43 mg L⁻¹ × 0,4 l = 4,03 a 2,97 mg), estimou-se que as misturas tornaram-se anaeróbias entre 1 e 3 h, após as adições dos detritos. Considerando a ordem de grandeza do período experimental, conclui-se que os procedimentos de preparação das incubações foram adequados para a obtenção de meios anaeróbios. Desse modo, pelo balanço de massa (em base de carbono) foi possível estimar os destinos do CM (nas formas de CO₂, CH₄ e CID; Anexo VII) durante as mineralizações anaeróbias dos detritos íntegros de *U. breviscapa* em função, da temperatura (Fig. 18).

O CID contribuiu com 1,43 (15,3°C) a 5,23% (20,8°C) do CM durante o processo de decomposição. O CO₂ predominou em todas as temperaturas, participando com 29,7 (15,3°C), 40,5 (20,8°C), 49,6 (25,7°C) e 52,9% (30,3°C) do CM (Fig. 19); sendo que os seus teores incrementaram-se com o aumento da temperatura. A produção de CO₂ teve início a partir do 1º dia de experimento em todas as temperaturas.

Exceto para a incubação na temperatura de 15,3°C, na qual não se observou a formação de CH₄, o rendimento deste gás (Fig. 19) também aumentou com o incremento da temperatura: 0,44% (20,8°C), 2,34% (25,7°C) e 2,58% (30,3°C). Com o incremento da temperatura o início da produção de CH₄ foi abreviado. Estes processos iniciaram-se a partir do 61º (20,8°C), 21º (25,7°C) e 21ºdia (30,3°C) (Tab. 8). A produção de CO₂ foi um processo contínuo, enquanto que a de CH₄ foi intermitente, apresentando várias fases.

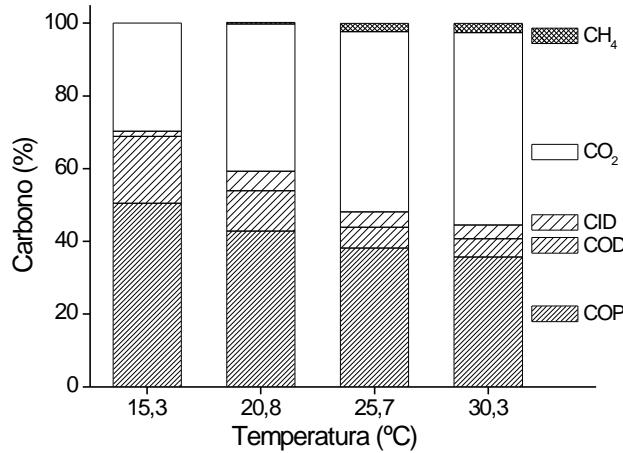


FIGURA 18 - Destinos das frações de carbono na mineralização anaeróbia de *U. breviscapa*, em função da temperatura (138 dias).

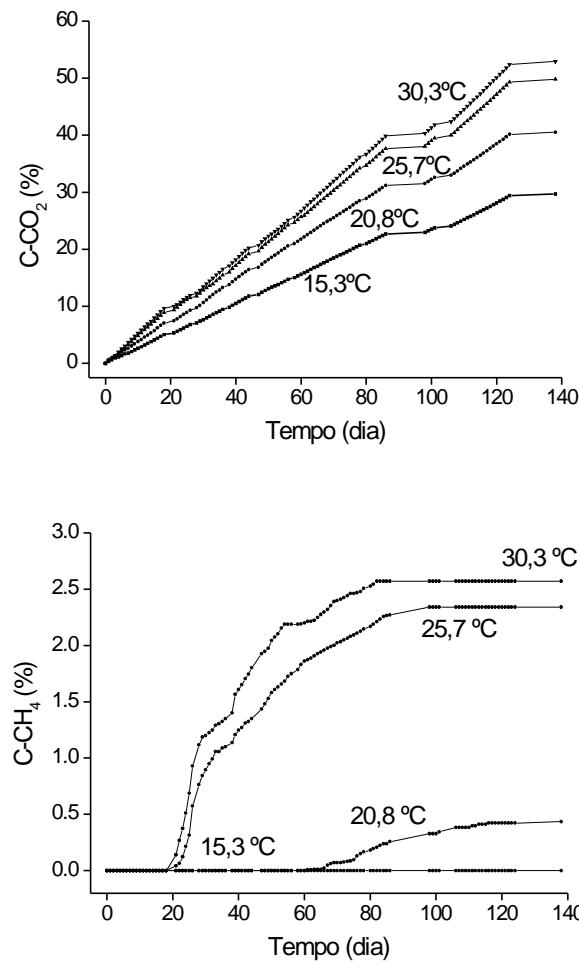


FIGURA 19 - Cinéticas das formações de CO_2 e CH_4 da degradação anaeróbia dos detritos íntegros de *U. breviscapa*, em função da temperatura.

TABELA 8 - Tempo de início para a formação do metano, coeficiente de formação (\pm erro), tempo de duplicação, coeficiente de determinação do modelo utilizado e teores de carbono mineralizado, em função da temperatura.

Temperatura (°C)	Tempo (dias)	k_{CH_4} (dia $^{-1}$)	Erro	t_d (dias)	r^2	CM _{138 dias} (%)
15,3	> 138	-	-	-	-	31,11
20,8	61	0,1289	0,0061	5,4	0,99	46,38
25,7	21	0,0885	0,0041	7,8	0,97	56,08
30,3	21	0,1116	0,0052	6,2	0,98	59,29

Existem três fases durante a formação do CH₄ (NAS, 1981): (i) a primeira caracteriza-se por ser lenta, com predomínio dos processos de hidrólise de polímeros (*e.g.* celulose, ácidos graxos, gorduras e proteínas). Este estágio limita a produção de CH₄, pois os processos relacionados com as hidrólises dos polímeros (celulose, lipídios e proteínas) são lentos. Esta fase caracteriza-se, ainda, por ser sensível à composição do substrato, ao número de microrganismos e a variação da temperatura; monômeros e oligômeros são os produtos característicos desta fase; (ii) na segunda fase há o predomínio da produção de ácidos, normalmente denominada de etapa acidogênica. Nesta fase ocorre o acúmulo de produtos da fermentação, tais como: ácido acético, ácido propiônico, ácido lático, metanol; nesta fase ocorre, ainda, o aumento da biomassa das arqueas metanogênicas; (iii) por último, a formação do CH₄ é diretamente controlada pela mineralização anaeróbia do carbono e depende de fatores como a temperatura, ausência de óxidos, pH, etc.

Embora não tenha sido observada a produção de CH₄ na temperatura de 15,3°C, vários trabalhos descrevem sua formação em temperaturas de 2 (Nozhevnikova *et al.*, 1997), 4 (Nüsslein & Conrad, 2000) e 6°C (Vavilin *et al.*, 1997). Segundo Chin &

Conrad (1995) e Hoehler *et al.* (1999), nas baixas temperaturas o H₂ e os ácidos orgânicos voláteis são produzidos em baixas concentrações devido ao incremento da acetogênese (processo concorrente). Chin *et al.* (1999) observaram que a temperatura induz mudanças na estrutura da comunidade metanogênica, assim a 15°C existe um predomínio de *Methanosaeta* (responsável pela formação do CH₄ através do consumo de H₂) e a 30°C de *Methanosarcina* (responsável pela formação do CH₄ através do consumo de acetato). Nozhevnikova *et al.* (1997) discutiram a formação de CH₄ em relação às faixas de temperatura que selecionam as comunidades psicrófilas, mesófilas e termófilas; os autores observaram que nas comunidades termófilas a produção de CH₄ aumentou com o aumento das concentrações de acetato, enquanto que as comunidades mesófilas parecem preferir baixas concentrações de acetato na primeira semana de incubação.

Estudos sobre o efeito da temperatura na metanogênese de macrófitas aquáticas, não detectaram a formação de CH₄ a 18,2°C para *Eichhornia azurea*; entretanto, para *Egeria najas* foi observada a produção deste gás desde 17,7°C (Bitar, 2003). Provavelmente neste estudo de degradação de *U. breviflora*, a temperatura de 15,3°C, não tenha sido o único interferente na produção de CH₄, neste caso, possivelmente as presenças mais duradouras de nitratos, sulfatos e Fe(III) (devido ao metabolismo mais lento) adiaram as formações de H₂, acetato e outros produtos da fermentação (dos carboidratos, proteínas etc.) que constituem substratos para a formação de CH₄ (Conrad, 1999).

As simulações permitiram comparar os resultados obtidos no Experimento 1 com os deste. Pelas simulações os seguintes valores de CM (138º dia) foram determinados: 37,0 (15,3°C), 43,3 (20,8°C), 50,4 (25,7°C) e 56,5% (30,3°C). Comparando-se estes valores com os apresentados na Tab. 8 foi possível constatar que

os procedimentos experimentais empregados geraram boa reprodutibilidade entre os experimentos. Desse modo, supõe-se que houve compatibilidade dos métodos que foram empregados para as descrições dos produtos finais gerados (CO_2 , CID, CH_4 e CM). Com base neste experimento, verificou-se que o CM foi constituído principalmente por CO_2 (média: 90,1%) e em menor proporção por CID (média: 7,5%) e CH_4 (média: 2,4%). Durante a decomposição anaeróbia, a produção de CO_2 ocorreu desde o 1º dia; sendo que a etapa inicial foi basicamente constituída das mineralizações de curto prazo, *i.e.* as oxidações químicas e bioquímicas rápidas, decorrentes das rotas representadas pelo coeficiente k_T (Fig. 7).

A exemplo do obtido na degradação de *U. brevisscapa* (0,44 a 2,58% de CH_4), baixos rendimentos de CH_4 foram também observados na decomposição anaeróbia de *Cyperus papyrus* (Romeiro, 2003); neste estudo, em 125 dias, registrou-se um rendimento de 3,6% (20°C) e o início da produção de CH_4 ocorreu no 37º dia. Na decomposição anaeróbia de *Eichhornia azurea*, também foram obtidos rendimentos baixos de CH_4 (2,4%; Bitar, 2003) com início da formação deste gás a partir do 16º dia. Em contrapartida, na degradação anaeróbia de *Egeria najas*, os rendimentos de CH_4 variaram de 13,7% (18°C) a 28,7% (24°C). Neste caso, o autor atribuiu a elevada formação de CH_4 principalmente à degradação das frações refratárias dos detritos (Bitar, 2003) embora o início da metanogênese tenha ocorrido a partir do 3º dia. Em experimentos que envolveram a decomposição de folhedo (Kusel & Drake, 1999) as emissões de CH_4 tiveram o início a partir do 40º dia de incubação. Estudos que descreveram o efeito da temperatura sobre a emissão de CH_4 em solos indicaram que os aparecimentos do CH_4 ocorreram a partir do 14º (30°C) e no 28º dia (40°C); solos enriquecidos com glicose ou alanina tiveram as emissões de CH_4 registradas a partir do 7º dia (Inubushi *et al.*, 1997). Fey & Conrad (2000) reportaram o aparecimento do

metano a partir do 2º dia em incubações de solos anóxicos. Wu *et al.* (2001) trabalhando com o efeito da temperatura na metanogênese de culturas enriquecidas com celulose observaram que a produção de CH₄ iniciou a partir do 1º dia de incubação a 30°C e a partir do 25º dia a 15°C. O tempo necessário para o aparecimento do CH₄ na decomposição anaeróbia de *U. breviscapa* (Tab. 8) provavelmente esteve relacionado com o estabelecimento das condições necessárias: (i) exaustão de outros aceptores de elétrons como nitrato, sulfato (Kiene, 1991); (ii) estabelecimento de pH favorável (Bergman *et al.*, 1999; Duval & Goodwin, 2000); (iii) concentrações adequadas de compostos de baixo peso molecular (*e.g.* acetato, propionato; Wu & Conrad, 2001) e (iv) condição apropriada de oxi-redução para a ocorrência da metanogênese. Estes fatos explicariam o atraso do início da produção deste gás (a partir do 21º dia nas temperaturas de 25,7 e 30,3°C e do 61º dia a 15,3°C).

As contribuições relativas de CO₂ e CH₄ nas taxas diárias de produção de gases (em base de carbono) são apresentadas na Fig. 20. Os resultados evidenciam os maiores rendimentos do CO₂ (complementar do CH₄) em relação à produção total de gases. Provavelmente, as variações das taxas de CO₂ estiveram relacionadas a dois fatores: (i) numa primeira etapa, às elevadas taxas de mineralização dos compostos lábeis e nos estágios mais avançados da decomposição com as oxidações das frações refratárias e (ii) a utilização do CO₂ na formação do CH₄, incluiria a utilização do H₂ e do CO₂ (via hidrogenotrófica).

Como constatado para os coeficientes de consumo de oxigênio (k_d - Experimento 3), os coeficientes de formação de metano (k_{CH_4} - Eq. 13 e Tab. 8) não apresentaram uma tendência nítida de variação (de crescimento ou decréscimo) em função da temperatura (0,1289 (20,8°C); 0,0885 (25,7°C); 0,1116 dia⁻¹ (30,3°C)); permaneceram oscilando dentro da mesma ordem de grandeza. Os tempos de duplicação (t_d) foram: 5,4

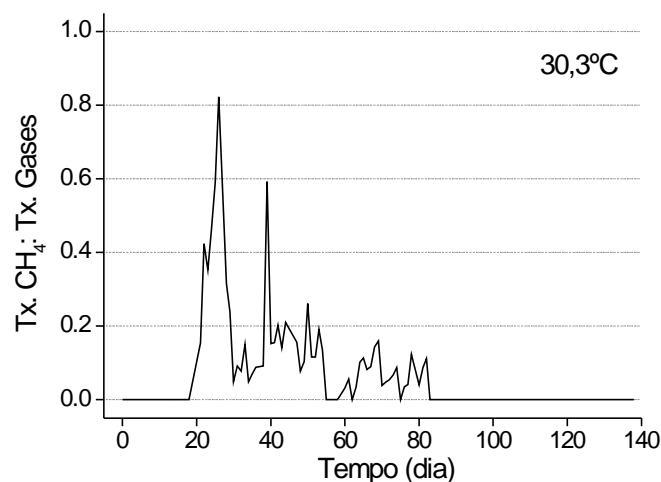
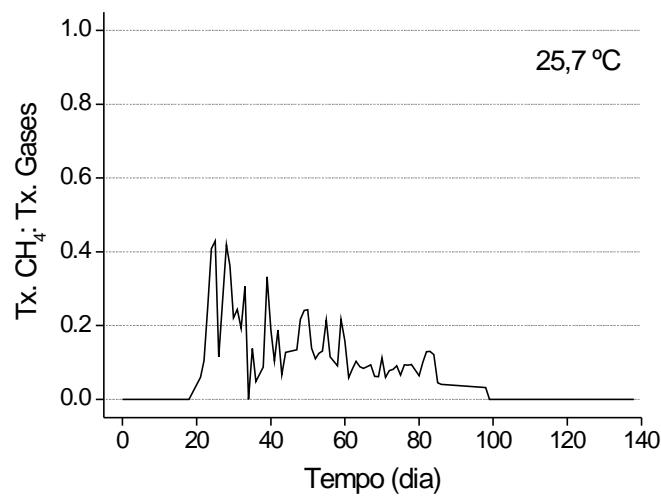
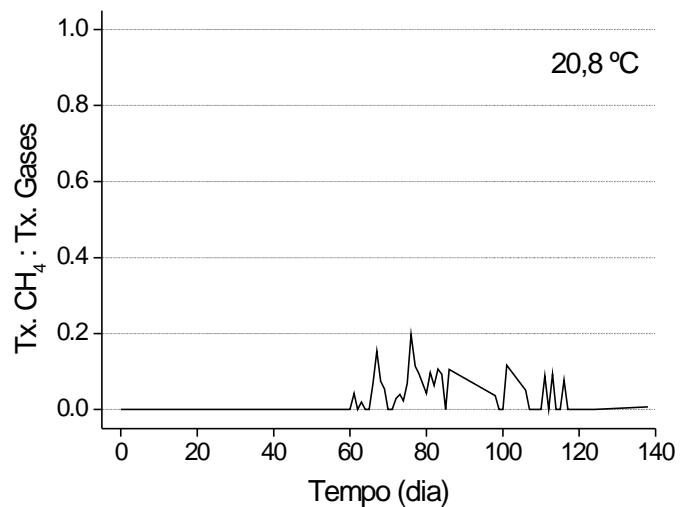


FIGURA 20 - Variações temporais (em função da temperatura) das taxas diárias de formação de CH₄, em relação às de formação de gases na decomposição de *U. brevisscapa*.

(20,8°C), 7,8 (25,7°C) e 6,2 dias (30,3°C). Por outro lado, observou-se que os rendimentos de CH₄ incrementaram-se com ao aumento da temperatura.

Experimentos de decomposição anaeróbia de macrófitas aquáticas nos quais foram adotados procedimentos experimentais similares, apresentaram coeficientes de formação de metano (k_{CH_4}) que variaram de 0,08 a 0,448 dia⁻¹ (Bitar, 2003). Os coeficientes obtidos na degradação de *U. breviflora* (Tab. 8) foram próximos aos valores registrados na degradação de *Eichhornia azurea* e menores que os observados na degradação de *Egeria najas*. Considerando a variação química dos detritos das plantas aquáticas em questão, supõe-se que além dos fatores já mencionados (temperatura, potencial de oxi-redução, pH, etc.), as taxas de metanogênese sejam também influenciadas pela qualidade do recurso (e.g. relação C/N; teor de fibras; compostos alelopáticos). Os elevados coeficientes de determinação ($r^2 > 0,97$) obtidos dos ajustes dos resultados de formação do CH₄ à curva logística permitem inferir que o modelo cinético proposto (Eq. 13) foi adequado e corroborou as hipóteses propostas (item 4.9.3).

Quando considerados os rendimentos de CO₂, o valor de Q₁₀ para o processo anaeróbio de degradação de *U. breviflora* foi 1,43. Ao considerar os rendimentos de CH₄ foi 3,66 (Fig. 21). Ao comparar as médias ponderadas destes coeficientes com os obtidos no Experimento 1 (processo anaeróbio: $k_3 = 1,50$ e $k_4 = 1,65$), verificou-se que os valores foram similares (cerca de 1,50). Desta forma, constatou-se que os valores de Q₁₀ encontraram-se dentro da mesma ordem de grandeza, indicando compatibilidade dos métodos frente à sensibilidade dos microrganismos envolvidos.

Estudos que descreveram a metanogênese da decomposição de *Eichhornia azurea* apresentaram Q₁₀ = 3,2, para a degradação anaeróbia de *Egeria najas* este valor

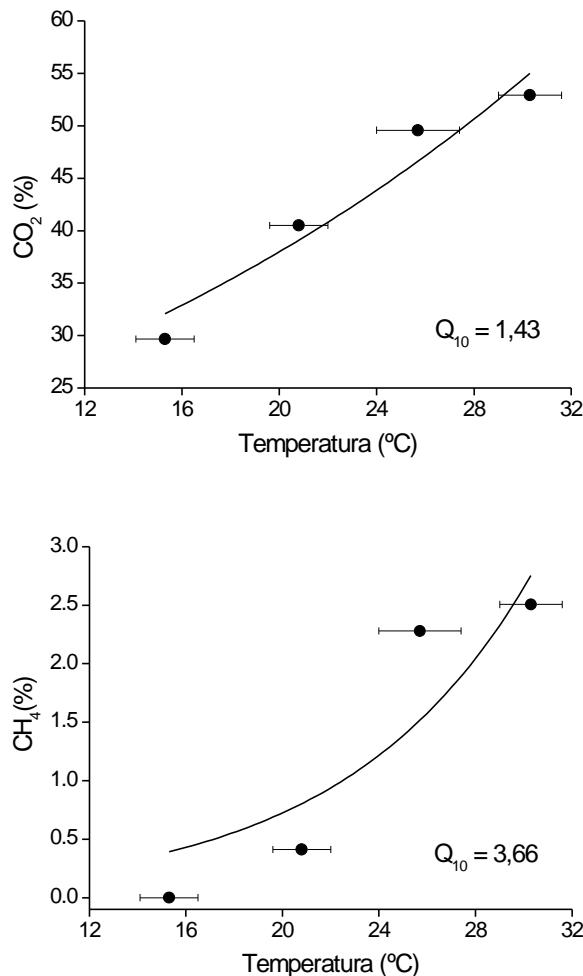


FIGURA 21 - Rendimentos de CO₂ e CH₄ em função da temperatura da decomposição anaeróbia de *U. breviscapa* (138 dias); alteres horizontais = DP.

foi 1,58 (Bitar, 2003). Experimentos de metanogênese em sedimentos enriquecidos de ambientes aquáticos obtiveram valores de Q_{10} que variam entre 1,32 (enriquecimento com butirato) a 2,75 (enriquecimento com metanol); neste experimento notou-se que os valores de Q_{10} na faixa de 5 a 15°C foram 2,27 vezes maiores que na faixa de 20 a 30°C (Nozhevnikova *et al.*, 1997). Fey & Conrad encontraram valores de $Q_{10} = 2,8$ (10 a 20°C) e 1,8 (27 a 30°C) em incubações de solos alagados anóxicos. Numa revisão sobre a metanogênese, Segers (1998) relacionou para o coeficiente Q_{10} variações de 0,9 a 28 ($n = 17$); o autor atribuiu os elevados valores deste coeficiente ao um comportamento

anômalo das arqueas metanogênicas e às interações inerentes do processo (*e.g.* tipo de consórcio).

Vários estudos têm evidenciado o incremento da produção de CH₄ em função da hidrólise da celulose (Converti *et al.*, 1998; Wu & Conrad, 2001; Wu *et al.*, 2001). Ao comparar a variação temporal das atividades da celulase (Fig. 13) com o início da produção de CH₄, pode-se observar uma relação evidente entre a formação deste gás com a fase de maior atividade enzimática da celulase. Assim, estes resultados evidenciam que a produção de CH₄ esteve envolvida com a hidrólise da celulose. Segundo Wu & Conrad (2001), a degradação anaeróbia da celulose ocorre em duas etapas: num primeiro estágio, a celulose é degradada a propionato e acetato que tendem ao acúmulo; enquanto o acetato e o propionato acumulam-se o CH₄ é formado via H₂ (metanogênese hidrogenotrófica); na segunda fase, o acetato e o propionato são consumidos e a produção de CH₄ ocorre via acetato (metanogênese acetoclástica). De acordo com os procedimentos experimentais adotados por Wu & Conrad (2001), esta segunda fase iniciou-se a partir do 37º dia.

Considerando que os resíduos lignocelulósicos (em especial a celulose) estariam suprindo a formação de CH₄, os processos rápidos de mineralização (IN₁ - Fig. 7) não contribuíram para a formação deste gás já que pela simulação da formação de gases pelos processos anaeróbios (Experimento 1), a rota IN₁ concluiu-se no 5º dia e a produção de CH₄ somente iniciou-se a partir do 21º dia (Fig. 20). Esta evidencia também pode ser observada ao simular as variações temporais das taxas diárias de formação de gases, pelas quais verificaram-se as que as taxas mais elevadas de mineralização ocorreram no início da decomposição. Desta forma, as possíveis rotas metabólicas que estariam mantendo as produções de CH₄ seriam as IN₂ (COD) e IN₃ (COP_R).

5.6 A ciclagem dos detritos de *U. breviscapa* na lagoa do Óleo

Nos ambientes aquáticos, os processos de produção primária das zonas litorâneas exercem influências importantes na dinâmica e no metabolismo destes sistemas, pois os detritos gerados nestes locais são exportados para as regiões bentônicas e pelágicas. Dependendo do ambiente, grande parte dos detritos gerados nas regiões litorâneas se constitui de resíduos das macrófitas aquáticas.

Durante a época de crescimento, as macrófitas aquáticas acumulam nutrientes e biomassa e quando estes vegetais morrem, a decomposição disponibiliza grandes quantidades de COP que são sedimentados; concomitante a este processo, o COD da lixiviação é liberado na coluna d'água (Wetzel, 1991; 1995). Assim, os detritos (tanto particulados quanto dissolvidos) são utilizados pelos organismos heterotróficos (Fenchel *et al.*, 1998; Schlickeisen *et al.*, 2003); o processamento deste material pode, eventualmente, ser mais importante para a manutenção das cadeias tróficas que a produção primária (alça microbiana; Azam *et al.*, 1979).

A dinâmica da adução dos detritos de macrófitas aquáticas pode estar acoplada ao processo de produção primária. Caso haja relação direta entre estes dois processos (taxas de produção ≈ taxas de adução de detritos), as épocas de ocorrência das taxas elevadas de produção primária coincidem com as taxas máximas de adução de detritos. No caso destes processos serem defasados, outras variáveis ambientais são responsáveis pelos processos de senectude das plantas (*e.g.* temperatura, vento, etc.) e consequentemente pela adução de detritos. Nesta situação é possível a ocorrência de épocas mais favoráveis à produção primária (*e.g.* primavera - verão) e outras nas quais os processos de senescência predominem (*e.g.* outono - inverno). Em termos de representação destes processos por simulação, no primeiro caso (taxas de senescência

proporcionais às de produção), a quantidade de detrito aduzido ao sistema será uma fração constante da produção primária líquida; na outra possibilidade será necessário relacionar a função de senescência das plantas com uma variável externa *e.g.* temperatura (Bianchini Jr., 2003). No caso de *U. breviscapa* da lagoa do Óleo, têm-se observado que nos meses mais frios (principalmente em junho e julho) ocorre uma tendência de diminuição da sua biomassa; desta maneira, supõe-se que nesta época do ano a senescência desta macrófita estaria contribuindo de modo mais acentuado para a adução de detritos deste ambiente (hipótese dos processos desacoplados). Estudo que tratou da variação temporal de macrófitas aquáticas na lagoa do Infernão, registrou a menor abundância de *Utricularia* sp. em fevereiro (Moschini-Carlos, 1991). A autora atribuiu este fato à diminuição da radiação subaquática, pelo aumento da turbidez, decorrente das chuvas e da inundação desta planície.

Os parâmetros obtidos dos ajustes cinéticos do processo de decomposição de *U. breviscapa* permitem utilizar os resultados dos experimentos desenvolvidos numa abordagem sistêmica, isto é, com base nas variações temporais das variáveis-chave registradas *in situ* (temperatura e concentração de oxigênio dissolvido), foi possível simular as variações temporais dos potenciais da ciclagem de detritos destas macrófitas e eventualmente da matéria orgânica detrital da lagoa do Óleo, se considerar que os processos degradativos deste ambiente sejam influenciados pelas mesmas variáveis que controlam a decomposição de *U. breviscapa*.

As variações (obtidas por simulação; Eqs. 9 e 10) dos coeficientes k_3 e k_4 (\equiv potencial de mineralização do COD e do COP_R), em função das alterações anuais das concentrações de oxigênio dissolvido e da temperatura da lagoa do Óleo são apresentadas na Fig. 22. De acordo com a variação temporal da temperatura percebe-se que este sistema aquático acompanha a sazonalidade climática da região; de acordo com

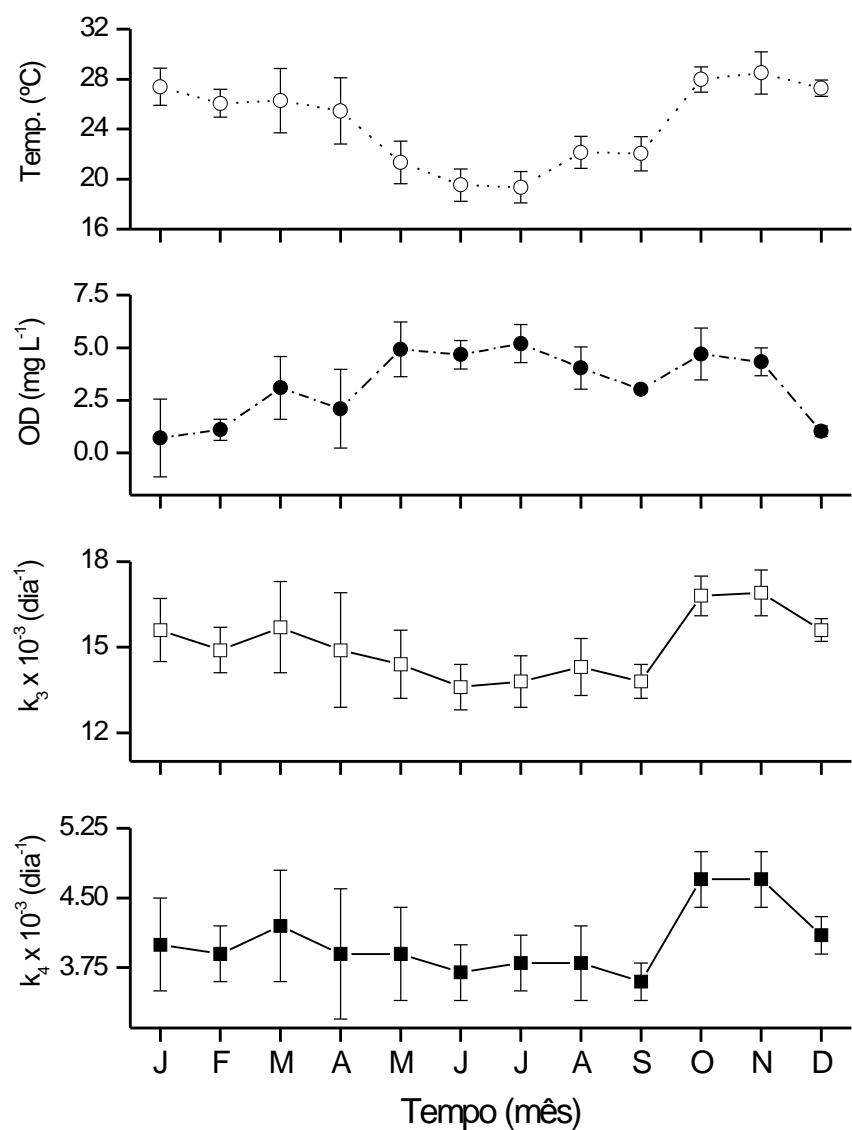


FIGURA 22 - Variações temporais da temperatura, oxigênio dissolvido e dos potenciais de heterotrofia (valores simulados) dos detritos de *U. brevisscapa* (COD: k_3 e COP_R: k_4) da lagoa do Óleo; alteres verticais = erros.

a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw (Setzer, 1966) *i.e.* clima tropical chuvoso com inverno seco. Na Fig. 22 é possível observar ainda, que as menores disponibilidades de oxigênio dissolvido ocorrem no verão, sendo que freqüentemente são observadas baixas concentrações deste gás (até mesmo anoxia) nos estratos mais profundos (Tab. 4). Considerando que estas duas variáveis sejam importantes para os controles dos processos de ciclagem, o hidroperíodo desta região pode ser considerado como um dos principais fatores que determinam a extensão do metabolismo heterotrófico deste ambiente.

Os valores mais elevados para os coeficientes k_3 e k_4 foram obtidos nos meses de outubro e novembro; foram, em média, 0,0168 (k_3) e 0,0047 (k_4). Na lagoa do Óleo, estes dois meses caracterizaram-se por apresentarem elevadas temperaturas (27,3°C) e concentrações de oxigênio dissolvido; neste período, a concentração média de oxigênio dissolvido foi 4,5 mg L⁻¹ e neste ambiente, este valor pode ser considerado alto. Os meses de junho, julho e setembro apresentaram os coeficientes mais baixos (k_3 médias: 0,0137 e k_4 médias: 0,0037). Apesar das concentrações de oxigênio dissolvido terem sido mais elevadas nos meses de junho (4,67 mg L⁻¹) e julho (5,20 mg L⁻¹), o que favorece os processos de ciclagem, as temperaturas registradas neste período foram as mais baixas (19,4°C), neutralizando o efeito da maior disponibilidade de oxigênio, pois os processos aeróbios apresentaram-se mais rápidos que os anaeróbios (*c.f.* Experimento 1).

Com base nestas simulações infere-se que nos meses mais frios (junho e julho) os valores de k_3 e de k_4 sejam, respectivamente, ≈ 22% e 25% menores que nos meses mais quentes (outubro e novembro). Em média, os processos de mineralização do COD são 3,7 vezes mais rápidos que os do COP_R. Para a lagoa do Óleo, os valores médios dos coeficientes k_3 e k_4 correspondem a tempos de meia-vida de 46 e 173 dias, respectivamente. No geral, as simulações permitiram supor que os potenciais de

heterotrofia deste ambiente variem pouco e que a época mais favorável para a ciclagem de detritos da lagoa do Óleo seja a primavera (outubro - novembro), pois neste período há a conjunção das temperaturas elevadas e das maiores disponibilidades de oxigênio. Estudo da formação de gases biogênicos em lagoas marginais desta planície de inundação (lagoa do Infernão e do Diogo) desenvolvido por Ballester (1994) indicou que as formações de CO₂ e CH₄ foram favorecidas no verão e na primavera. Em parte estas constatações corroboram com os resultados obtidos pela simulação (Fig. 22). Neste caso há que se considerar que as emissões desses gases decorreram da disponibilidade de detritos (autóctones e alóctones), das condições hidrológicas, dos efeitos do hidroperíodo (Ballester & Santos, 2001) e do potencial de heterotrofia das lagoas; enquanto que as simulações trataram, basicamente, do potencial de heterotrofia (definido pela temperatura e disponibilidade de oxigênio). De acordo com Ballester & Santos (2001) estes ambientes são fontes potenciais de gases reduzidos para a atmosfera, por gerarem significativas contribuições de CO₂ e CH₄ decorrentes da mineralização do carbono (*e.g.* macrófitas aquáticas e material alóctone).

As variações temporais dos coeficientes estequiométricos observadas na decomposição de *U. breviscapa* (Experimento 3), sugerem que, nas fases iniciais do processo, concentrações baixas de carbono orgânico são suficientes para gerar grandes demandas de oxigênio. Conseqüentemente, o sistema aquático no qual estes eventos estão ocorrendo tende à anoxia. As tendências de reduções dos valores dos coeficientes estequiométricos sugerem que numa fase mais adiantada da decomposição, embora possa haver ainda, grandes quantidades de carbono detrital, o consumo de oxigênio pode ser baixo, gerado, por exemplo, na lagoa do Óleo uma demanda bentônica de oxigênio contínua e de baixa intensidade. Nesse contexto, com base no perfil de Eh (Fig. 23; Godinho, 2000), observou-se que a anaerobiose se estabeleceu no sedimento da

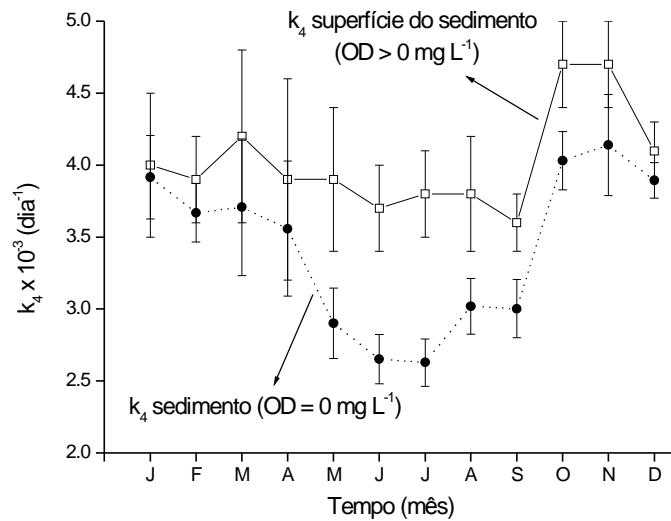
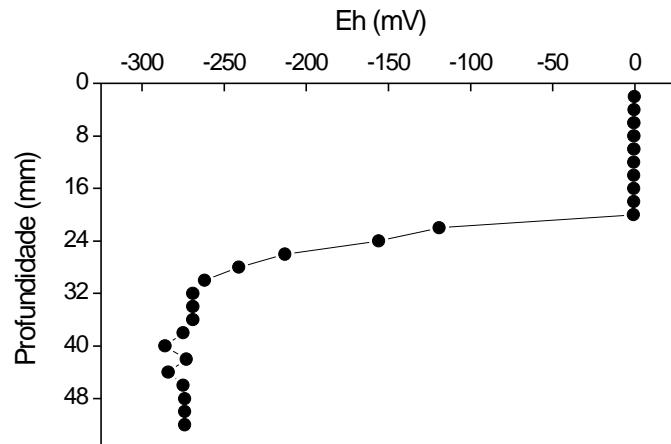


FIGURA 23 - Perfil vertical do potencial de oxi-redução do sedimento da lagoa do Óleo em janeiro de 2000 (Godinho, 2000) e variações temporais dos potenciais de heterotrofia das frações refratárias de *U. breviscapa* (COP_R ; k_4) no sedimento; alteres verticais = erros.

lagoa do Óleo desde as camadas superficiais (1 mm: - 0,35 mV) e que os potenciais de oxi-redução tenderam a ficar menores na medida que a profundidade foi aumentando (50 mm: - 275 mV).

Tendo em vista que os sedimentos da lagoa do Óleo possuem elevados teores de matéria orgânica (\approx 79%; Godinho, 2000), supõe-se que as condições anaeróbias predominem. Deste modo, as simulações referentes aos processos de degradação do COP_R (rota do k_4) consideraram que as concentrações de oxigênio dissolvido fossem nulas e que os coeficientes k_4 somente variassem em função da temperatura (Fig. 23). Desta forma, supõe-se os maiores valores de k_4 ocorram nos meses mais quentes (outubro e novembro) e os menores nos meses mais frios (junho e julho). Comparando as variações temporais de k_4 , observou-se que na época mais quente, os processos de degradação do COP_R no sedimento sejam 56% mais rápidos que nos meses mais frios. Esta comparação também permite avaliar o efeito da disponibilidade de oxigênio dissolvido em conjunto com o da temperatura. Quando considerados nas simulações os efeitos das duas variáveis, verificou-se que os coeficientes k_4 alteraram-se cerca de 23% entre as épocas mais quentes e mais frias. Quando considerado apenas o efeito da temperatura este valor foi de 56%.

Ainda com relação aos processos anaeróbios que ocorrem no sedimento, supõe-se que com os eventos da sedimentação e da colmatação do COP_R da decomposição de *U. breviscapa*, a metanogênese deva desenvolver-se a partir do 30º mm, uma vez que nesta profundidade verificaram-se os valores mais apropriados para a ocorrência deste processo ($Eh > -250$ mV). Com base nos experimentos de decomposição anaeróbia (Experimento 4); supõe-se também que nos meses mais frios (junho e julho), os processos de produção de CH₄ estejam sendo limitados ou diminuídos (temperaturas menores que 20°C). Considerando que os processos degradativos do COP_R ocorram

preferencialmente, nos sedimentos, as simulações permitiram, ainda, inferir que se tais processos se desenvolvem em estratos com oxigênio (*e.g.* camada superficial do sedimento), os potenciais de ciclagem são mais elevados ($\approx 19\%$) em comparação com os das camadas mais profundas, além de que, os produtos finais gerados destes processos são distintos.

6 Conclusões

Com base nos procedimentos experimentais adotados, concluiu-se que:

- (i) Os detritos de *U. breviscapa* apresentaram-se como um substrato heterogêneo do ponto de vista estrutural (composição química) constituíram-se de duas frações: uma lábil/solúvel ($COP_{LS} \approx 23,5\%$) e outra refratária ($COP_R \approx 76,5\%$). Os coeficientes de perda de massa das frações lábeis/solúveis ($k_T = 1,5 \text{ dia}^{-1}$) foram mais elevados que os de oxidação das frações refratárias: de ≈ 309 (condição aeróbia) a 469 vezes (condição anaeróbia). Os incrementos da temperatura e das concentrações de oxigênio dissolvido favoreceram as velocidades das mineralizações das frações refratárias dos detritos de *U. breviscapa*. As mineralizações do COP_R na condição aeróbia foram mais rápidas que os na condição anaeróbia (em média $\approx 1,5$ vezes). Os coeficientes de mineralização do COD (k_3) foram, em média, de 3,4 (condição aeróbia) a 4 vezes (condição anaeróbia) mais levados que os do COP_R (k_4).
- (ii) As atividades enzimáticas da celulase apresentaram um padrão temporal que foi afetado pela temperatura, disponibilidade de oxigênio e fonte de carbono: (i) o aparecimento da celulase foi abreviado com o aumento da temperatura; (ii) não houve atividade da celulase nas incubações contendo lixiviado e nas em condições aeróbias; a celulase é uma enzima de indução, visto que não foi observada nas incubações que não continham celulose; (iii) foram observadas atividades nas incubações contendo detritos particulados e em condições anaeróbias; (iv) um aumento das atividades enzimáticas foi observado nas incubações contendo detritos íntegros.
- (iii) Nos processos aeróbios de mineralização de *U. breviscapa* ocorreram variações temporais nas relações estequiométricas O/C. O incremento da temperatura

induziu um maior consumo de oxigênio ($OC_{máx}$) e aumentou o valor máximo das relações estequiométricas; por outro lado, os coeficientes de consumo de oxigênio (k_d) apresentaram baixa variação em função do incremento da temperatura, tendendo ao decréscimo.

(iv) Na decomposição anaeróbia de *U. breviscapa* o principal produto final gerado foi o CO₂. O incremento da temperatura favoreceu as formações do CO₂ e do CH₄. Também, abreviou o início das emissões do metano. Na lagoa do Óleo, o CO₂ resultante do metabolismo anaeróbio do sedimento provavelmente seja o produto final dominante nesse ambiente, cabendo ao CH₄ um papel secundário. A degradação enzimática da celulose nos estratos anaeróbios do sedimento possivelmente contribui para os processos de metanogênese da lagoa do Óleo. Considerando o intervalo de variação da temperatura deste ambiente, as emissões de gases biogênicos são mais intensas nos meses mais quentes.

(v) Os valores de Q₁₀ foram mais elevados nos processos de mineralização que se desenvolveram sob condições anaeróbias, sugerindo que na lagoa do Óleo os microrganismos anaeróbios (e.g. metanogênicos) e/ou aeróbios facultativos sejam mais sensíveis às variações de temperatura que os estritamente aeróbios.

(vi) Os modelos matemáticos adotados para descrever os processos de decomposição de *U. breviscapa* foram robustos; em geral, os confrontos dos resultados experimentais com os teóricos geraram coeficientes de determinação elevados. As simulações indicaram que os potenciais de heterotrofia da lagoa do Óleo variam pouco durante o ano; a época mais favorável para a ciclagem dos detritos é a primavera (outubro - novembro), pois neste período ocorre o aumento da temperatura e uma maior disponibilidade de oxigênio.

7 Perspectivas

O desenvolvimento de modelos que consideram as enzimas e a cinética da decomposição depende do estabelecimento de relações entre as atividades enzimáticas e as taxas de perda de massa. Ao se estabelecer tais relações é possível estimar as taxas instantâneas de perda de massa *in situ*. Desta forma, há a necessidade do estabelecimento de conexões entre as reações em nível molecular e os fatores ambientais que condicionam a decomposição na lagoa do Óleo, gerando informações básicas sobre o potencial de heterotrofia dos ecossistemas. Diante do exposto, este estudo remete às seguintes atividades:

- (i) Determinação *in situ* das atividades de enzimas que atuam na degradação de resíduos lignocelulósicos (*e.g.* celulase, peroxidase, xilanase) e correlacionar tais atividades com as perdas de massa e com os modelos de decomposição.
- (ii) Descrição das variações temporais das atividades enzimáticas e suas eficiências na decomposição de plantas aquáticas, em função das condicionantes ambientais (*e.g.* temperatura e disponibilidade de oxigênio) da lagoa do Óleo.

8 Referências Bibliográficas

- AGOSTINHO, A. A.; GOMES, L. C.; JULIO JÚNIOR, H. F. Relações entre macrófitas aquáticas e fauna de peixes. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Eduem, 2003. cap. 13, p. 261-279.
- ALBARIÑO, R. J.; BALSEIRO, E. G. Leaf breakdown in Patagonian streams: native versus exotic trees and the effect of invertebrate size. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, New York, v. 12, p. 181-192, 2002.
- ALLAN, J. D. *Stream ecology - structure and function of running waters*. London: Chapman & Hall, 1996. 388 p., il.
- ALVAREZ, S.; GUERRERO, M. C. Enzymatic activities associated with decomposition of particulate organic matter in two shallow ponds. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 32, p. 1941-1951, 2000.
- ANDER, P.; ERIKSSON, K. E. The importance of phenol oxidase activity in lignin degradation by the white-rot fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Archives of Microbiology*, Berlin, v. 109, p. 1-8, 1976.
- ANDERSEN, F. O. Effects of nutrient level on the decomposition of *Phragmites communis* Trin. *Archives of Hydrobiology*, Stuttgart, v. 84, n. 1, p. 42-54, 1978.
- ANTONIO, R. M.; BITAR, A. L.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Oxygen uptake during the mineralization of leaves, barks, litter and branches. *Acta Limnologica Brasiliensis*, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 67-78, 1999.
- ANTONIO, R. M.; BIANCHINI JÚNIOR, I. The effect of temperature on the glucose cycling and oxygen uptake rates in the Infernão lagoon water, state of São Paulo, Brazil. *Acta Scientiarum*, Maringá, v. 24, n. 2, p. 291-296, 2002.
- APRILE, F. M.; DELITTI, W. B. C.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Proposta de modelo cinético da degradação de laminados de madeiras em ambientes aquáticos e terrestres. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 59, n. 3, p. 493-501, 1999.

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

AZAM, F.; FENCHEL, T.; FIELD, J. G.; GRAY, J. S.; MEYER-REIL, L. A.; THINGSTAD, F. The ecology role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series*, Oldendorf, v. 10, p. 257-263, 1979.

BALLESTER, M. V. R. *Dinâmica de gases biogênicos (CH_4 , O_2 e CO_2) em ecossistemas aquáticos da planície de inundação do Rio Mogi-Guaçu (Estação Ecológica de Jataí, São Paulo)*. 1994. 172 f., il. Tese (Doutorado) - Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1985.

BALLESTER, M. V. R.; SANTOS, J. E. Biogenic gases (CH_4 , CO_2 and O_2) distribution in a riverine wetland system. *Oecologia Brasiliensis*, Rio de Janeiro, v. IX, p. 21-31, 2001.

BÉGUIN, P.; EISEN, H.; ROUPAS, A. Free and cellulose-bound cellulases in a *Cellulomonas* species. *Journal of General Microbiology*, London, v. 101, p. 191-196, 1977.

BÉGUIN, P.; AUBERT, J. P. The biological degradation of cellulose. *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology Reviews*, Amsterdam, v. 13, p. 25-58, 1994.

BÉGUIN, P.; LEMAIRE, M. The cellulosome: an exacellular, multiprotein complex specialized in cellulose degradation. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, Boca Raton, v. 31, p. 201-236, 1996.

BENNER, R. B.; HODSON, R. E. Thermophilic anaerobic biodegradation of [^{14}C]lignin, [^{14}C]cellulose, and [^{14}C]lignocellulose preparations. *Applied Environment Microbiology*, Washington, DC, v. 50, p. 971-976, 1985.

BENNER, R. B.; MORAN, M. A.; HODSON, R. E. Biogeochemical cycling of lignocellulosic carbon in marine and freshwater ecosystems: Relative contributions of prokaryotes and eukaryotes. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 31, p. 89-100, 1986.

BERGMAN, I.; LUNDBERG, P.; NILSSON, M. Microbial carbon mineralization in an acid surface peat: effects of environmental factors in laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 31, p. 1867-1877, 1999.

BERMAN, T.; KAPLAN, B.; CHAVA, S.; VIMER, Y.; SHERR, B. F.; SHERR, E. B. Metabolically active bacteria in lake Kinneret. *Aquatic Microbial Ecology*, Oldendorf/Lihe, v. 23, p. 213-224, 2001.

BEST, E. P. H.; DASSEN, J. H. A.; BOON, J. J., WIEGERS, G. Studies on decomposition of *Ceratophyllum demersum* litter under laboratory and field conditions: losses of dry mass and nutrients, qualitative changes in inorganic compounds and consequences for ambient water and sediments. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 194, p. 91-114, 1990.

BEST, E. P. H.; BUZZELLI, C. P.; BARTELL, S. M.; WETZEL, R. L.; BOYD, W. A.; DOYLE, R. D.; CAMPBELL K. Y. M. R. Modeling submersed macrophyte growth in relation to underwater light climate: modeling approaches and application potential, *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 444, p. 43-70, 2001.

BHAT, M. K.; HAZLEWOOD, G. P. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases. In: BEDFORD, M.R.; PARTRIDGE, G.G. (Ed.) *Enzymes in farm animal nutrition*. London: Finnfeeds International, 2001. p. 11-60.

BIANCHINI JÚNIOR, I. *Estudos dos processos de humificação de Nymphaeales indica (L.) O. Kuntze*. 1985. 285 f., il. Tese (Doutorado) - Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1985.

BIANCHINI JÚNIOR, I.; TOLEDO, A. P. P. Estudo da mineralização de *Eleocharis mutata*. In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 7., 1996, São Carlos. *Anais...* São Carlos: PPG-ERN. UFSCar, 1996. p. 57-72.

BIANCHINI JÚNIOR, I. The degradation process of organic matter in reservoirs. In: ROSA, L. P.; SANTOS, M. A. (Ed.). *Hydropower Plants and Greenhouse Gas Emissions*. Rio de Janeiro: COPPE Report/Editora Tecnologia, 1997. v.1, p. 1-27.

BIANCHINI JÚNIOR, I.; GIANOTTI, E. P.; CUNHA, M. B.; SILVA, E. L. Degradação anaeróbia de macrófitas aquáticas: metanogênese. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE FERMENTAÇÕES, 7., 1998, Uberlândia. *Anais...* Uberlândia: DEQ. UFU, 1998. 1-CDROM.

BIANCHINI JÚNIOR, I. A decomposição da vegetação e o consumo de oxigênio nos reservatórios: implicações ecológicas. In: RAOUL, H. (Ed.). *Ecologia de Reservatórios: Estrutura, Função e Aspectos Sociais*. Botucatu: FAPESP/FUNDBIO, 1999a. cap. 21, p. 627-650.

BIANCHINI JÚNIOR, I. Aspectos do processo de decomposição nos ecossistemas aquáticos continentais. In: POMPÉO, M. L. M. (Ed.). *Perspectivas da Limnologia no Brasil*. São Luís: Gráfica e Editora União, 1999b. cap. 2, p. 21-43.

BIANCHINI JÚNIOR, I. Decomposição de macrófitas aquáticas da lagoa do Infernão: o estado da 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 JÚNIOR, I.; PACOBAHYBA, L. D.; CUNHA-SANTINO, M. B. Aerobic and anaerobic decomposition of *Montrichardia arborescens* (L.) Schott. *Acta Limnologica Brasiliensis*, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 27-34, 2002.

BIANCHINI JÚNIOR, 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. cap. 4, p. 85-126.

BIANCHINI JÚNIOR, I.; ANTONIO, R. M. The effect of particle size on the leaching of *Scirpus cubensis* Poepp & Kunth. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 63, n. 2, p. 195-205, 2003.

BIANCHINI JÚNIOR, I.; PERET, A. M. Aerobic mineralization of aquatic macrophytes from Óleo lagoon (Luiz Antônio, SP - Brazil). *Hydrobiologia*, Dordrecht. (submetido).

BIANCHINI JÚNIOR, I.; CUNHA-SANTINO, M. B.; RIBEIRO, J. U.; PENTEADO, D. G. B. Decomposição aeróbia e anaeróbia de *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth. *O campus da Universidade Federal de São Carlos: Aspectos biológicos*. São Carlos: RiMa Editora. (submetido).

BILLEN, G. Modeling processes of organic matter degradation and nutrient recycling in sedimentary systems. In: NEDWELL, D. B.; BROWN, C.M. (Ed.). *Sedimentary microbiology*. New York: Academic Press, 1982. p. 15-52.

BITAR, A. L.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Mineralization assays of some organic resources of aquatic systems. *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 62, p. 557-564, 2002.

BITAR, A. L. *Mineralização e formação de gases da degradação de Eichhornia azurea Kunth e Egeria najas Planch.* 2003. 118 f., il. Tese (Doutorado) - Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

BITAR, A. L.; BIANCHINI JÚNIOR, I. The formation of methane and carbon dioxide during decomposition of *Egeria najas* Planch. *Hydrobiologia*, Dordrecht. (submetido).

BOBBIO, F. O.; BOBBIO, P. A. *Introdução à química de alimentos.* São Paulo: Varela, 1992. 223 p., il.

BON, P. S. E.; NASCIMENTO, H. J.; MACEDO, J. M. B.; SILVA JÚNIOR, J. G. Lignin peroxidase isoforms from *Streptomyces viridosporus* T7A: are they a monomer based structure? *Biotechnology Techniques*, Dordrecht, v. 13, p. 289-293, 1999.

BOONE, D. R. Ecology of methanogens. In: ROGERS, J. E.; WHITMAN, W. B. (Ed.). *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides, and halomethanes.* Washington, DC: American Society for Microbiology. 1991. cap. 4, p. 39-51.

BORSUK, M. E.; STOW, C. A. Bayesian parameter estimation in a mixed-order model of BOD decay. *Water Research*, Amsterdam, v. 34, n. 6, p. 1830-1836, 2000.

BOUCHARD, V.; LEFREUVE, J. C. Primary production and macro-detritus dynamics in a European salt marsh: carbon and nitrogen budgets. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 67, p. 23-42, 2000.

BRANCO, S. M.; ROCHA, A. A. *Poluição, proteção e usos múltiplos de represas.* São Paulo: Editora Edgard Blücher/Cetesb, 1977. 185 p., il.

BREZONIK, P. L. *Chemical kinetics and process dynamics in aquatic systems.* Boca Raton: Lewis, 1994. 754 p., il.

BRUM, P. R.; FARJALLA, V. F.; GONÇALVES JÚNIOR, J. F.; SANTOS, A. M.; PÔRTO, M. T.; VIEIRA, E. D. R.; FERREIRA, F. M.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Aspects of the uptake of dissolved oxygen in Cabiúnas and Imboassica Lagoons (Macaé, RJ). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 42, n. 4, p. 433-440, 1999.

BRUM, P. R.; ESTEVES, F. A. Changes in abundance and biomass of the attached bacterial community throughout the decomposition of three species of aquatic macrophyte. *Oecologia Brasiliensis*, Rio de Janeiro, v. IX, p. 77-95, 2001.

BRUNE, A.; FRENZEL, P.; CYPIONKA, H. Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology Reviews*, Amsterdam , v. 24, p. 691-710, 2000.

BUNNELL, F. L.; TAIT, D. E. N.; FLANAGAN, P. W.; CLEVE, K. V. Microbial respiration and substrate weight loss – I. A general model of the influence of abiotic variables. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 9, p. 33-40, 1977.

CAI, Z.; YAN, X. Kinetic model for methane oxidation by paddy soil as affected by temperature, moisture and N addition. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 31, p. 715-725, 1999.

CAMPOS JÚNIOR, J. J. F. *Contribuição ao estudo da decomposição de macrófitas aquáticas da lagoa do Infernão: processo anaeróbio*. 1998. 130 f., il. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1998.

CANHOTO, C.; GRAÇA, M. A. S. Decomposition of *Eucalyptus globulus* leaves and three native leaf species (*Alnus glutinosa*, *Castanea sativa* and *Querus faginea*) in a Portuguese low order stream. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 333, p. 79-85, 1996.

CARPENTER, S. R. Enrichment of lake Wingra, Wisconsin, by submerged macrophyte decay. *Ecology*, Washington, DC, v. 61, n. 5, p. 1145-1154, 1979.

CHAN, A. S. K.; PARKIN, T. B. Evaluation of potential inhibitors of methanogenesis and methane oxidation in a landfill cover soil. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 32, p. 1581-1590, 2000.

CHARACKLIS, W. G. Kinetics of microbial transformations. In: CHARACKLIS, W. G., MARSHALL, K. C. (Ed.). *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons, 1990. p. 233-264.

CHIN, J. K.; CONRAD, R. Intermediary metabolism in methanogenic paddy soil and the influence of temperature. *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology and Ecology*, Amsterdam, v. 18, p. 85-102, 1995.

CHIN, J. K.; LUCKOW, STUBNER, S.; CONRAD, R. Structure and function of the methanogenic archaeal community in stable cellulose-degrading enrichment cultures at two different temperatures (15°C and 30°C). *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology and Ecology*, Amsterdam, v. 30, p. 313-326, 1999.

CHRÓST, R. J.; SIUDA, W.; ALBRECHT, D.; OVERBECK, J. A method for determining enzymatically hydrolyzable phosphate (EHP) in natural waters. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 31, p. 662-667, 1986.

CHRÓST R. J. Microbial ectoenzymes in aquatic environments. In: OVERBECK, J.; CHRÓST, R. J. (Ed.). *Aquatic microbial ecology: biochemical and molecular approaches*. New York: Springer-Verlag, 1990. cap. 3, p 47-78.

CHRÓST, R. J. Environmental control of microbial ectoenzymes. In: CHRÓST, R. J. (Ed.). *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. New York: Springer-Verlag, 1991. cap. 3, p. 29-59.

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

COLBERG, P. J. Anaerobic microbial degradation of cellulose, lignin, oligolignols, and monoaromatic lignin derivates. In: ZEHNDER A. J. B. (Ed.). *Biology of Anaerobic Microorganisms*. New York: John Wiley & Sons, 1988. cap. 7, p. 333-372.

COLLINS, P. J.; DOBSON, A. D. W. Extracellular lignin and manganese peroxidase production by the white-rot fungus *coriolus versicolor* 290. *Biotechnology Letters*, Kew, v. 17, n. 9, p. 989-992, 1995.

CONRAD, R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediment. *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology and Ecology*, Amsterdam, v. 28, p. 193-202, 1999.

CONVERTI, A.; REZZANI, L. G.; DEL BORGHI, M. Kinetic study on methane fermentation of pre-hydrolyzed lignocellulosics. *Journal of the Air and Waste Management Association*, Pittsburgh, v. 48, p. 366-370, 1998.

COUGHLAN, M. P.; KJUNGDAHL, L. G. Comparative biochemistry of fungal and bacterial cellulolytic enzyme systems. In: AUBERT, J. P.; BÉGUIN, P.; MILLET, J. (Ed.). *Biochemistry and genetic of cellulose degradation*. London: Academic Press, 1988. p 11-30.

COUGHLAN, M. P.; MAYER, F. The cellulose-decomposing bacteria and their enzyme systems. In: BALOWS, A.; TRÜPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIFER, K.-H. (Ed.). *The prokaryotes*. New York: Springer-Verlag, 1992. p. 460-516.

COÛTEAUX, M. M.; BOTTNER, P.; ANDERSON, J. M.; BERG, B.; BOLGE, T.; CASALS, P.; ROMANÝA, J.; THIÉRY, J.; VALLEJO, R. V. Decomposition of ^{12}C -labelled standard plant material in a latitudinal transect of European coniferous forest: differential impact of climate on the decomposition of soil organic matter compartments. *Biogeochemistry*, Amsterdam, v. 54, p. 147-170, 2001.

CUNHA, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Mineralização aeróbia de *Cabomba piauhensis* e *Scirpus cubensis*. *Acta Limnologica Brasiliensis*, São Paulo, v.10, n. 1, p. 81-91, 1998a.

CUNHA, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Cinéticas de mineralização aeróbia de celulose e lignina durante a degradação de *Cabomba piauhensis* e *Scirpus cubensis*. *Acta Limnologica Brasiliensis*, São Paulo, v.10, n. 2, p. 59-69, 1998b.

CUNHA, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Degradação anaeróbia de *Cabomba piauhensis* e *Scirpus cubensis*: cinéticas de formação de gases. *Acta Limnologica Brasiliensis*, São Paulo, v.11, n. 1, p. 5-26, 1999.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Decomposição aeróbia e anaeróbia de *Salvinia auriculata* da lagoa do Infernão. In: Santos, J. E.; Pires, J. S. R. (Ed.). *Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí*. São Carlos: RiMa, 2000. vol. 2, p. 631-643.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Consumo de oxigênio durante a mineralização aeróbia de *Utricularia gibba* e *Salvinia auriculata*. In: VIII Congresso Brasileiro de Limnologia, 8., 2001, João Pessoa. *Anais...* João Pessoa: UFP, 2001. 1-CDROM.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Humic substance mineralisation from a tropical oxbow lake (São Paulo, Brazil). *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 236, p. 34-44, 2002a.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Estequiometria da decomposição aeróbia de galhos, cascas serapilheira e folhas. In: ESPÍNDOLA, E. L. G., MAUAD, F. F., SCHALCH, W., ROCHA, O., FELICIDADE, N., RIETZLER, A. C. (Ed.). *Recursos hidroenergéticos: usos, impactos e planejamento integrado*. São Carlos: RiMa, 2002b. cap. 4, p. 43-56.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I.; SERRANO, L. E. F. Aerobic and anaerobic degradation of tannic acid on water samples from Monjolinho reservoir (São Carlos, SP, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos, v. 62, n. 4A, p. 585-590, 2002c.

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Oxygen consumption during mineralization of organic compounds in water samples from a small sub-tropical reservoir (Brazil). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba. (no prelo-a).

CUNHA-SANTINO, M. B.; PACOBAHYBA, L. D.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Changes in the amount of soluble carbohydrates and polyphenols contents during decomposition of *Montrichardia arborescens* (L.) Schott. *Acta Amazonica*, Manaus. (no prelo-b).

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Oxygen uptake during mineralization of humic substances from Infernão lagoon (São Paulo, Brazil). *Brazilian Journal of Biology*, São Carlos (no prelo-c: 65:1, 2005).

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Humic substances mineralization: the variation of pH, electrical conductivity and optical density. *Acta Limnologica Brasiliensis*, Botucatu. (submetido-a).

CUNHA-SANTINO, M. B.; PACOBAHYBA, L. D.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Oxygen uptake from mineralization of *Montrichardia arborescens*. *Brazilian Journal of Ecology*, São Paulo. (submetido-b).

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Determination of the aeration coefficient for long-term BOD experiments. *Acta Scientiarum*, Maringá. (submetido-c).

CUNHA-SANTINO, M. B.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Decomposição aerobia de *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth: variação temporal da relação estequimétricas (O/C). *O campus da Universidade Federal de São Carlos: Aspectos biológicos*. São Carlos: RiMa Editora. (submetido-d).

DAGLEY, S. Catabolism of aromatic compounds by micro-organisms. *Advances in Ecological Research*, London, v. 15, p. 1-48, 1986.

DUVAL, B.; GOODWIN, S. Methane production and release from two New England peatlands. *International Microbiology*, Berlin, v. 3, p. 89-95, 2000.

ENRIQUES, E.; DUARTE, C. M.; SAND-JENSEN, K. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms: the importance of detritus C:N:P content. *Oecologia*, Berlin, v. 94, p. 457-471, 1993.

ERIKSSON, K. E.; BLANCHETTE, R. A.; ANDER, P. Biodegradation of lignin. In: ERIKSSON, K. E.; BLANCHETTE, R. A.; ANDER, P. (Ed.). *Microbial and enzymatic degradation of wood and wood components*. Berlin: Springer-Verlag, 1990. p. 225-333.

ESTEVES, F. A.; BARBIERI, R. Dry weight and chemical changes during decomposition of tropical macrophytes in Lobo reservoir - São Paulo, Brazil. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 16, p. 285-295, 1983.

FALLON, R. D.; PFAENDER, F. K. Carbon metabolism in model microbial systems from a temperate salt marsh. *Applied Environment of Microbiology*, Washington, DC, v. 31, p. 959-968, 1976.

FARJALLA, V. F.; MARINHO, C. C.; ESTEVES, F. A. Dissolved organic carbon in two Brazilian coastal lagoons: sources and utilization for heterotrophic bacteria. *Oecologia Brasiliensis*, Rio de Janeiro, v. IX, p. 57-64, 2001.

FARJALLA, V. F.; MARINHO, C. C.; ESTEVES, F. A. Uptake of oxygen in the initial stages of decomposition of aquatic macrophytes and detritus from terrestrial vegetation in a tropical coastal lagoon. *Acta Limnologica Brasiliensis*, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 185-193, 1999.

FENCHEL, T.; KING, G. M.; BLACKBURN, T. H. *Bacterial biogeochemistry - the ecophysiology of mineral cycling*. San Diego: Academic Press, 1998. 307 p., il.

FENGEL, D.; WEGENER, G. *Wood: chemistry, ultrastructure, reactions*. Berlin: Walter de Gruyter, 1984. 613 p., il.

FEY, A.; CONRAD, R. Effect of temperature on carbon and electron flow and on the archaeal community in methanogenic rice field soil. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, DC, v. 66, n. 11, p. 4790-4797, 2000.

FINDLAY, S. E. G.; CARLOUGH, L.; CROCKER, T.; GILL, H. K.; MEYER, J. L.; SMITH, P. J. Bacterial growth on macrophyte leachate and fate of bacterial production. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 31, n. 6, p. 1335-1341, 1986.

FINDLAY, S. E. G.; ARSUFFI, T. L. Microbial growth and detritus transformations during decomposition of leaf litter in a stream. *Freshwater Biology*, Oxford, v. 21, p. 261-269, 1989.

FIORETTO, A.; PAPA, E.; CURCIO, E.; SORRENTINO, G.; FUGGI, A. Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in Mediterranean ecosystem. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 32, p. 1847-1855, 2000.

FRANCE, R.; CULBERT, H.; FREEBOROUGH, C.; PETERS, R. Leaching and early mass loss of boreal leaves and wood in oligotrophic water. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 345, p. 209-214, 1997.

GESSNER, M. O. Breakdown and nutrient dynamics of submerged *Phragmites* shoots in the littoral zone of a hardwater lake. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 66, p. 9-20, 2000.

GILLON, D.; JOFFRE, R.; IBRAHIMA, A. Initial litter properties and decay rate: a microcosm experiment on Mediterranean species. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 72, p. 946-954, 1994.

GODINHO, M. J. L. *Ecologia de microrganismos lacustres*. Disciplina do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais São Carlos: UFSCar, 2000. 52p., il. Relatório de aula prática.

GODSHALK, G. L.; WETZEL, R. G. Decomposition of aquatic angiosperms III. *Zostera marina* L. and conceptual model of decomposition. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 5, p. 329-354, 1978.

GOLD, M. H.; ALIC, M. Molecular biology of the lignin-degrading Basideomycete *Phanerochaete chrysopurum*. *Federation of European Microbiological Societies of Microbiological Reviews*, Washington, DC, v. 57, n. 3, p. 605-622. 1993.

GOLTERMAN, H. L. *Physiological Limnology – An approach to the physiology of lake ecosystems*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing. 1975. 489 p., il.

GRADY, C. P. L.; SMETS JÚNIOR, B. F.; BARBEAU, D. S. Variability in kinetic parameter estimates: a review of possible causes and proposed terminology. *Water Research*, Amsterdam, v.30, p. 23-38, 1996.

GRANT-REID, J. S. Carbohydrate Metabolism: Structural Carbohydrates In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (Ed.). *Plant Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1997. cap. 5, p. 205-236.

GÜNTZEL, A. M.; ROCHA, O. ESPÍNDOLA, E. L. G.; RIETZLER, A. C. Diversidade do zooplâncton de lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu: I Rotifera. In: SANTOS, J. E.; PIRES, J. S. R. (Ed.). *Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí*. São Carlos: RiMa, 2000. vol. 2. p. 537-557.

GUPTA, M. K.; SHRIVASTAVA, P.; SINGHAL, P. K. Decomposition of young water hyacinth leaves in lake water. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 335, p. 33-41, 1996.

HAMILTON, W. A. Energy sources for microbial growth: an overview. In: CODD, G. A. (Ed.). *Aspects of microbial metabolism and ecology*. Orlando: Academic Press, 1984. p. 35-57.

HANSON, B. J.; CUMMINS, K. W.; BARNES, J. R.; CARTER, M. W. Leaf litter processing in aquatic systems: a two variable model. *Hydrobiologia*. Dordrecht, v. 111, p. 21-29, 1984.

HARMON, M. E.; FRANKLIN, J. F.; SWANSON, F. J.; SOLLINS, P.; GREGORY, S. V.; LATTIN, J. D.; ANDERSON, N. H.; CLINE, S. P.; AUMEN, N. G.; SEDELL, J. R.; LIENKAMPER, G. W.; CROMACK, J. R.; CUMMINS, K. W. Ecology of coarse woody debris in temperate ecosystems. *Advanced in Ecological Research*, London, v.15, p.133-302, 1986.

HENRIKSEN, T. M.; BRELAND, T. A. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology Biochemistry*, Amsterdam, v. 31, p. 1121-1134, 1999.

HENZE, M.; HARREMOËS, P.; JANSEN, J.C.; ARVIN, E. *Wastewater Treatment- Biological and chemical processes*. Berlin: Springer-Verlag, 2002.430 p., il.

HOEHLER, T. M.; ALBERT, D. B.; ALPERIN, M. J.; MARTENS, C. S. Acetogenesis from CO₂ in an anoxic marine sediment. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 44, p. 662-667, 1999.

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

HOLLIBAUGH, J. T.; AZAM, F. Microbial degradation of dissolved proteins in sea-water. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 28, p. 1104-1116, 1983.

HOPPE H. G. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl substances. *Marine Ecology Progress Series*, Oldendorf/Luhe, v. 11, p. 299-308, 1983.

INSAM, H. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. *Geoderma*, Amsterdam, v. 100, p. 389-402, 2001.

INUBUSHI, K.; HORI, K.; MATSUMOTO, S.; WADA, H. Anaerobic decomposition of organic carbon in paddy soil in relation to methane emission to the atmosphere. *Water Science and Technology*, London, v. 36, 6-7, p. 523-530, 1997.

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. *Freshwater Biology*, Oxford, v. 34, p. 329-342, 1995.

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. *Journal of Soil Science*, Oxford, v. 19, p. 25-39, 1977.

JENNY, H.; GESSEL, S. P.; BINGHAM, F. T. Comparative study of decomposition of organic matter in temperate and tropical regions. *Soil Science*, Baltimore, v. 68, p. 419-432, 1949.

JOLY, A. B. *Botânica: Introdução à Taxonomia Vegetal*. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1977. 775 p., il.

JONSSON, A.; MEILI, M.; BERGSTRÖM, A. K.; JANSSON, M. Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Örträsket, N. Sweden). *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 46, p. 1691-1700, 2001.

KARL, D. M. Determination of the in situ microbial biomass, viability, metabolism, and growth. In: PONDEXTER, J. S.; LEADBETTER, E. R. *Bacteria in nature - methods and special applications in bacterial ecology*, New York: Plenum Press, 1986. cap. 3, p. 85-176.

KÄTTERER, T.; REICHSTEIN, M.; ANDRÉN, O.; LOMANDER, A. Temperature dependence of organic matter decomposition: a critical review using literature data analyzed with different models. *Biology Fertility Soils*, Berlin, v. 27, p. 258-262, 1998.

KAURI, T.; KUSHNER, D. J. Role of contact in bacterial degradation of cellulose. *Federation of European Microbiological Societies of Microbiology and Ecology*, Amsterdam, v. 31, p. 301-306, 1985.

KICKHMAN, D. L.; RICH, J. H. Regulation of bacterial growth rates by dissolved organic carbon and temperature in the equatorial pacific ocean, *Microbial Ecology*, New York, v. 33, p. 11-20, 1997.

KIENE, R. P. Production and consumption of methane in aquatic systems. In: ROGERS, J. E.; WHITMAN, W. B. (Ed.). *Microbial production and consumption of greenhouse gases: methane, nitrogen oxides, and halomethanes*. Washington, DC: American Society for Microbiology. 1991. cap. 7, p. 111-146.

KIRK, T. K. Effects of microorganisms on lignin. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 9, p. 185-210, 1971.

KIRSCHBAUM, M. U. F. The temperature dependence of soil organic matter decomposition and the effect of global warming on soil organic C storage. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 27, p. 753-760, 1995.

KOMÍNKOVÁ, D.; KUEHN, K. A.; BÜSING, N.; STEINER, D.; GESSNER, M. O. Microbial biomass, growth, and respiration associated with submerged litter of *Phragmites australis* decomposing in a littoral reed stand of a large lake. *Aquatic Microbial Ecology*, Oldendorf/Lihe, v. 22, p. 271-282, 2000.

KOURTEV, P. S.; EHRENFIELD, J. G.; HUANG, W. Z. Enzyme activities during litter decomposition of two exotic and two native plant species in hardwood forests of New Jersey. *Soil Biology Biochemistry*, Amsterdam, v. 34, p. 1207-1218, 2002.

KREBS, C. J. Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance. New York: Harper and Row Publishers Inc., 1972. 678 p., il.

KUSEL, K; DRAKE, H. L. Microbial turnover of low molecular weight organic acids during leaf litter decomposition. *Soil Science and Biochemistry*, Amsterdam, v. 31, p. 107-118, 1999.

LAMED, R.; BAYER, E. A. The cellulosome concept: exocellular/extracellular enzyme reactor counters for efficient binding and cellulosys. In: Aubert, J.P.; Béguin, P.; Millet, J. (Ed.). *Biochemistry and genetic of cellulose degradation*. London: Academic Press, 1988. p. 102-116.

LEHNINGER, A. L. *Princípios de Bioquímica*. São Paulo: Sarvier, 1993. 725p., il.

LEMOS, R. M. A.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Decomposição de *Scirpus cubensis* Poepp & Kunth da lagoa do Infernão (SP): I Efeito do teor de nitrogênio e da quantidade de matéria orgânica. In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8., 1998, São Carlos. *Anais...* São Carlos: PPG-ERN. UFSCar, 1997. v. 3, p. 1271-1287.

LI, L.; FLORA, R.; KING, K. Individual roles of cellulase components derived from *Trichoderma viride*. *Archives Biochemistry Biophysics*, San Diego, v. 111, p. 439-447, 1965.

LILLEBØ, A. I.; FLINDT, M.; PARDAL, M. A.; MARQUES, J. C. The effect of macrofauna, meiofauna and microfauna on the degradation of *Spartina maritima* detritus from a salt marsh area. *Acta Oecologica*, Paris, v. 20, n. 4, p. 249-258, 1999.

LIMA N. R. W. Análises dos níveis de metais pesados no sistema hídrico da Estação Ecológica do Jataí, SP. *Acta Limnologica Brasiliensis*, São Carlos, v. 3, n. 2, p. 1001-1021, 1990.

LIMA, N. *Estudo da colonização pelos invertebrados durante o processo de decomposição de Eichhornia azurea Kunth e Eichhornia crassipes Solms na represa de Jurumirim (zona de desembocadura dos rios Paranapanema e Guareí - SP)*. 1999. 89 f., il. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências– UNESP, Botucatu, 1999.

LJUNGDAHL, L. G.; ERIKSSON, K.-E. Ecology of microbial cellulose degradation. In: MARSHALL K. C. (Ed.). *Advances in microbial ecology*. New York: Plenum Press, 1985. p. 237-299.

LOMANDER, A. *Organic matter turnover in forest and arable land - temperature and moisture effects and dynamics of heavy metals*. 2002. 44 f. Thesis (Doctoral) - Department of Forest Soils - Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, 2002.

LÓPEZ, N. I.; DUARTE, C. M.; VALLESPINÓS, F.; ROMERO, J.; ALCOVERRO, T. The effect of nutrients additions on bacterial activity in seagrass (*Posidonia oceanica*) sediments. *Journal Experimental Marine Biology Ecology*, Sydney, v. 224, p. 155-166, 1998.

LÓPEZ-ARCHILLA, A. I.; MARIN, I.; AMILS, R. Microbial community composition and ecology of an acidic aquatic environment: the Tinto River, Spain. *Microbial Ecology*, New York, v. 41, p. 20-35, 2001.

LORANDI, R.; FREIRE, O.; GONÇALVES, A. R. L.; TRINDADE, M. *Mapa de solos da bacia do córrego Jataí e áreas adjacentes*. Escala 1:25000. 1990.

LOUSIER, J. D.; PARKINSON, D. Litter decomposition in a cool temperate deciduous forest. *Canadian Journal of Botany*, Ottawa, v. 54, p. 419-436, 1976.

LYNCH, J. M.; HOBBIE, J. E. *Microorganisms in action: concepts and applications in microbial ecology*. Oxford: Blackwell Scientific Publishers, 1988. 363 p., il.

MØLLER, J.; MILLER, M.; KJØLLER, A. Fungal-bacterial interaction on beech leaves: influence on decomposition and dissolved organic carbon quality. *Soil Biology Biochemistry*, Amsterdam, v. 31, p. 367-374, 1999.

MACCUBBIN, A. E.; HODSON, R. E. Mineralization of detrital lignocellulose by salt marsh sediment microflora. *Applied Environment Microbiology*, Washington, DC, v. 40, p. 735-740, 1980.

MANDELS, M.; ANDREOTTI R.; ROCHE, C. Measurement of saccharifying cellulose. *Biotechnology Bioengineering Symposium*, New York, v. 6, p. 21-33, 1976.

MANDELS, M.; REESE, E. T. Fungal cellulases and the microbial decomposition of cellulosic fabric. *Developments in Industrial Microbiology. Society for Industrial Microbiology*, Washington, DC, v. 5, p.5-20, 1964.

MASON, C. F.; BRYANT, R. J. Production, nutrient content and decomposition of *Phragmites communis* Trin. and *Typha angustifolia* L. *Journal of Ecology*, Oxford, v. 63, p. 71-95, 1975.

MAYR, C.; MILLER, M.; INSAM, H. Elevated CO₂ alters community-level physiological profiles and enzyme activities in alpine grassland. *Journal of Microbiological Methods*, Amsterdam, v. 36, p. 35-43, 1999.

MENDELSSOHN, I. A.; SORRELL, B. K.; BRIX, H.; SCHIERUP, H. H.; LORENZEN. B.; MALTBY, E. Controls on soil cellulose decomposition along a salinity gradient in a *Phragmites australis* wetland in Denmark. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 64, p. 381-398, 1999.

MEYER-REIL, L. A. Seasonal and spatial distribution of extracellular enzymatic activities and microbial incorporation of dissolved organic substrates in marine sediments. *Applied Environment Microbiology*, Washington, DC, v. 53, n. 8, p.1748-1755, 1987.

MIHELCIC, J. R.; URBAN, N. R.; PELINGER, J. A.; HAND, D. W. Chemistry. In: MIHELCIC, J. R. (Ed). *Fundamentals of environmental engineering*. New York: John Wiley and Sons, 1998. cap. 3, pp. 43-137.

MINDERMAN, G. Addition, decomposition and accumulation of organic matter in forests. *Journal of Ecology*, Oxford, v. 56, p. 355-362, 1968.

MOORE JUNIOR, P. A.; REDDY, K. R.; GRAETZ, D. A. Nutrient transformations in sediments influenced by oxygen supply. *Journal of Environmental Quality*, Madison, v. 21, p. 387-393, 1992.

MOORHEAD, D. L.; SINSABAUGH, R. L.; LIKINS, A. E.; REYNOLDS, J. F. Decomposition processes: modeling approaches and applications. *The Science of the Total Environment*, Amsterdam, v. 183, p. 137-149, 1996.

MOORHEAD, D. L.; SINSABAUGH, R. L. Simulated patterns of litter decay predict patterns of extracellular enzyme activities. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v.14, p.71-79, 2000.

MOSCHINI-CARLOS, V. *Aspectos ecológicos da associação vegetal de Scirpus cubensis na lagoa do Infernão – SP*. 1991. 125 f., il. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Botânica, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1991.

MTAMBANENGWE, F.; KIRCHMANN, H. Litter from a tropical savanna woodland (Miombo): chemical composition and C and N mineralization. *Soil Biology Biochemistry*, Amsterdam, v. 37, n. 12, p. 1639-1651, 1995.

MUN, H. T.; NAMGUNG, J.; KIM, J. H. Decay rate and changes of nutrients during decomposition of *Zizania latifolia*. *Korean Journal of Ecology*, Seoul, v. 24, n. 2, p. 81-85, 2001.

NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES (NAS). *Methane generation from human, animal, and agricultural wastes*. Washington, DC: National Academy of Sciences, 1981. 131 p. il.

NEWELL, S. Y.; MORAN, M. A.; WICKS, R.; HODSON, R. E.; ABRAHA, T. K. Productivity of microbial decomposers during early stage of decomposition of leaves of a freshwater sedge. *Freshwater Biology*, Oxford, v. 34, p. 135-148, 1995.

NICARLAROT, B.; FAUVET, G.; CHENEBY, D. Carbon and nitrogen cycling through soil microbial biomass at various temperatures. *Soil Biology and Biochemistry*, Amsterdam, v. 26, p. 253-261, 1994.

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

NOZHEVNIKOVA, A. N.; HOLLINGER, C.; AMMANN, A.; ZEHNDER, J. B. Methanogenesis in sediments from deep lakes at different temperatures (2-17°C). *Water Science and Technology*, London, v. 36, n. 6-7, p. 57-64, 1997.

NÜSSLEIN, B.; CONRAD, R. Methane production in eutrophic lake Pluβsee: seasonal change, temperature effect and metabolic processes in the profundal sediment. *Archives of Hydrobiology*, Stuttgart, v. 149, n. 4, p. 597-623, 2000.

OLSON, J. S. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems. *Ecology*, Washington, DC, v. 44, p. 322-331, 1963.

OTSUKI, A.; WETZEL, R. G. Release of dissolved organic matter by autolysis of a submerged macrophyte, *Scirpus subterminalis*. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 19, p. 842-845, 1974.

OVERBECK, J. Early Studies on ecto- and extracellular enzymes in aquatic environments. In: CHRÓST, R. J. (Ed.). *Microbial Enzymes in Aquatic Environments*. New York: Springer-Verlag, 1991. p. 1-5.

PACOBAHYBA, L. D. Decomposição de *Straurastrum* c.f. *iversenii* Nygaard var. *americanum*: efeitos da qualidade do recurso, da disponibilidade de oxigênio e da temperatura. 2002. 118 f., il. Tese (Doutorado) - Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

PAGIORO, T. A.; THOMAZ, S. M. Decomposition of *Eichhornia azurea* from limnologically different environments of the Upper Paraná River floodplain. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 411, p. 45-51, 1999.

PANHOTA, R. S. Degradation of glucose by bacterioplankton: mineralization and formation of intermediate products. 2002. 111 f., il. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

PANHOTA, R. S.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Potential cycling of organic matter in a eutrophic reservoir (Barra Bonita - SP - Brazil). *Acta Limnologica Brasiliensis*, Botucatu, v. 15, n. 2, p. 1-11, 2003.

PELÁEZ-RODRIGUEZ, M. *Influência do ciclo hidrológico sobre a comunidade fitófila associada a Eichhornia azurea em duas lagoas marginais da planície de inundação do rio Mogi-Guaçu (Estação Ecológica de Jataí – Luiz Antônio, SP): Estrutura taxonômica e dinâmica numérica dos povoamentos de Chironomidae (Diptera) e Oligochaeta*. 2003. Relatório de atividades do projeto de pesquisa de pós-doutorado/FAPESP. Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

PERET A. M.; BIANCHINI JÚNIOR, I. Stoichiometry of aerobic mineralization (O/C) of aquatic macrophytes leachate from a tropical lagoon (São Paulo - Brazil). *Hydrobiologia*, Dordrecht. (no prelo).

PETERSEN, R. C.; CUMMINS, K. W. Leaf processing in a woodland stream. *Freshwater Biology*, Oxford, v. 4, p. 343-368, 1974.

PIECZYNSKA, E. Littoral habitats and communities. In: JORGENSEN S. E.; LOFFLER H (Ed.). *Guidelines of lake management*. Shiga: International Lake Environment Committee Foundation, 1990. v. 3, p. 39-71.

PIECZYNSKA, E. Detritus and nutrient dynamics in the shore zone of lakes: a review. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 251, p. 49-58, 1993.

POLUNIN, N. V. C. The decomposition of emergent macrophyte in freshwater. *Advances in Ecological Research*. London, v. 14, p. 115-166, 1984.

POPE, R. J.; GORDON, A. M.; KAUSHIK, N. K. Leaf litter colonization by invertebrates in the littoral zone of a small oligotrophic lake. *Hydrobiologia*, Dordrecht, v. 392, p. 99-112, 1999.

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

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

RATLEDGE, C. Biodegradation of oils, fats and fatty acids. In: RATLEDGE, C. *Biogeochemistry of microbial degradation*. Dordrecht: Kluwer Academic Press, 1994. cap. 4, p. 89-141.

REESE, E. T.; SIU, R. G. H.; LEVINSON, H. S. The biological degradation of soluble cellulose derivatives and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *Journal of Bacteriology*, Washington, DC, v. 59, p. 485-497, 1950.

REICHARDT W.; OVERBECK, J.; STEUBING, L. Free dissolved enzymes in lake waters. *Nature*, London, v. 216, p. 1345-1347, 1967.

RIBAS, F.; FRÍAS, J.; VENTURA, F.; MOHEDANO, L.; LUCENA, F. Assessment of biological activity and fate of organic compounds in a reactor for the measurement of biodegradable organic carbon in water. *Journal of Applied Bacteriology*, Oxford, v. 79, p. 558-568, 1995.

ROCHA, O.; ESPÍNDOLA, E.L.G.; RIETZLER, A. C.; SANTOS-WISNIEWSKI, M.J. (2000) Diversidade do zooplâncton nas lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu: III. Copepoda (Crustácea). In: SANTOS, J. E.; PIRES, J. S. R. (Ed.). *Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí*. São Carlos: RiMa, 2000. vol. 2. p. 587-598.

RODRIGUES, L.; BICUDO, D. C.; MOSCHINI-CARLOS, V. O papel do perifítion em área alagáveis e nos diagnósticos ambientais. In: THOMAZ, S. M.; BINI, L. M. (Ed.). *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Eduem, 2003. cap. 10, p. 211-229.

RODRÍGUEZ, H.; ALEA, F.; KYSLÍKOVA, E. Regulation of cellulolytic activation in *Cellulomonas* sp. IIBC. *Bioresorce Technology*, Amsterdam, v. 55, p. 79-82, 1996.

RODWELL, V. Enzimas In: HARPER, H. A. (Ed.). *Manual de química fisiológica*. São Paulo: Atheneu Editora, 1968. cap. 8, p. 125-164.

ROMEIRO, F. *Efeito da qualidade do detrito na decomposição anaeróbia de Cyperus papyrus* L. 2002. 39 f., il. Monografia (Especialização) – Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

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

ROSE, A. H. *Chemical Microbiology - an introduction to microbial physiology*. London: Butterworths, 1976. 469 p., il.

SADDLER, J. N. Factors limiting the efficiency of cellulase enzymes. *Microbiological Sciences*, Oxford, v. 3, n. 3, p. 84-87, 1986.

SADDLER, J. N.; KHAN, A.W Cellulase production by *Acetivibrio cellulolyticus*. *Canadian Journal of Microbiology*, Ottawa, v. 26, p. 760-765, 1980.

SALA, M. M.; GÜDE, H. Role of protozoans on the microbial ectoenzymatic activity during the degradation of macrophytes. *Aquatic Microbial Ecology*, Oldendorf/Lihe, v. 20, p. 75-82, 1999.

SALA, M. M.; KARNER, M.; ARIN, L.; MARRASÉ, C. Measurements of ectoenzyme activities as an indicator of inorganic nutrient imbalance in microbial communities. *Aquatic Microbial Ecology*, Oldendorf/Lihe, v. 23, p. 301-311, 2001.

SANTOS, J. E.; MOZETO, A. A. Programa de análise de ecossistemas e monitoramento ambiental: Estação Ecológica de Jataí (Luiz Antônio, SP). Ecologia de área alagáveis da planície de inundação do rio Mogi-Guaçu. São Carlos: Gráfica da UFSCar, 1992, 59p., il.

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

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

SCHLICKEISEN, E.; TIETJEN, T. E.; ARSUFFI, T. L.; GROEGER, A. W. Detritus processing and microbial dynamics of an aquatic macrophyte and terrestrial leaf in a themally constant, spring-fed stream. *Microbial Ecology*, New York, v. 45, p. 411-418, 2003.

SCHWARZ, W. H. The cellulosome and cellulose degradation by anaerobic bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Amsterdam, v. 56, p. 634-649, 2001.

SCREMIN-DIAS, E.; POTT, V. J.; HORA, R. C.; SOUZA, P. R. Nos jardins submersos da Bodoquena - Guia para identificação de plantas aquáticas de Bonito e região. Campo Grande: Editora UFMS, 1999. 160 p., il.

SEGERS, R. Methane production and methane consumption: a review of process underlying wetland methane fluxes. *Biogeochemistry*, Amsterdam , v. 41, p. 23-51, 1998.

SELBY, K.; MAITLAND, C. The cellulase of *Trichoderma viride*. *Biochemistry Journal*, Tokyo, v. 104, p. 716-724, 1967.

SETZER, J. Atlas climatológico do Estado de São Paulo. Comissão Interestadual da Bacia do Paraná-Paraguai. São Paulo:CESP, 1966.

SFRISO, A.; MARCOMINI, A. Macrophyte production in a shallow coastal lagoon. Part II. Coupling with sediment, SPM and tissue carbon, nitrogen and phosphorus concentrations. *Marine Environmental Research*, Plymouth, v. 47, n. 3, p. 285-309, 1999.

SHIAH, F. K.; DUCKLOW, H. W. Temperature regulation of heterotrophic bacterioplankton abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 39, p. 1243-1258, 1994.

SHIMADA, M.; AKAMTSU, Y.; TOKIMATSU, T.; MII, K.; HATTORI, T. Possible biochemical roles of oxalic acid as a low molecular weight compound involved in brown-rot and white-rot wood decays. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v. 53, p. 103-113, 1997.

SHRESTHA, P.; JANAUER, G. A. Species diversity of aquatic macrophytes in Lake Phewa and Lake Rupa of Pokhara Valley, Nepal. *International Journal of Ecology and Environmental Science*, New Dalhi, v. 26, p. 269-280, 2000.

SINGHAL, P. K.; GAUR, S.; TALEGAONKAR, L. Relative contribution of different decay processes to the decomposition of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 42, p. 265-272, 1992.

SINSABAUGH, R. L.; ANTIBUS, R. K.; LINKINS, A. E. An enzymic approach to the analysis of microbial activity during plant litter decomposition. *Agriculture Ecosystems Environment*, Charlottetown, v. 34, p. 43-54, 1991.

SINSABAUGH, R. L.; ANTIBUS, R. K.; LINKINS, A. E.; MCCLAUGHERTY, C. A.; RAYBURN, L.; REPERT, D.; WEILAND, T. Wood decomposition: nitrogen and phosphorous dynamics in relation to extracellular enzyme activity. *Ecology*, Washington, DC, v. 74, n. 5, p. 1586-1593, 1993.

SINSABAUGH, R. L.; FINDLAY, S.; FRANCHINI, P.; FISCHER, D. Enzymatic analysis of riverine bacterioplankton production. *Limnology and Oceanography*, Waco, v. 42, n. 1, p. 29-38, 1997.

SIUDA, W.; CHRÓST, R. J. Decomposition and utilization of particulate organic matter by bacteria in lakes of different trophic status. *Polish Journal of Environmental Studies*, Olsztyn, v. 11, p. 53-65, 2002.

SOMOGYI, M. Notes on sugar determination. *Journal of Biological Chemistry*, Bethesda, v. 195, p.19-23, 1952.

STRAŠKRABA, M. Limnological Basis for modeling Reservoir Ecosystems. In: ACKERMANN, W. C., WHITE, G. F., WORTHINGTON, E. B. (Ed.). *Geophysical Monograph Series*. Washington, DC: American Geophysical Union, 1973. v. 17, p. 517-535.

STRAŠKRABA, M. Self-organization, direct and indirect effects. In: TUNDISI, J. G.; STRAŠKRABA, M. (Ed.). Theoretical reservoir ecology and its application. International Institute of Ecology/Backhuys Publishers:Rio de Janeiro/Leiden, 1999. p. 29-51.

STRAŠKRABA, M.; JØRGENSEN, S. E.; PATTEN, B. Ecosystem emerging: 2. Dissipation. *Ecological Modelling*, Amsterdam, v. 117, p. 3-39, 1999.

STRAUSS, E. A.; LAMBERTI, G. A. Effect on dissolved organic carbon quality on microbial decomposition and nitrification rates in stream sediments. *Freshwater Biology*, Oxford , v. 47, p. 65-74, 2002.

STRIXINO, G.; TRIVINHO-STRIXINO, S.; ALVES, R. G. Macroinvertebrados bentônicos de lagoas marginais da planície de inundação do rio Mogi-Guaçu (Estação Ecológica de Jataí). In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8., 1997, São Carlos. *Anais...* São Carlos: PPG-ERN. UFSCar, 1997. v. 2, p. 33-42.

SUBERKROPP, K.; GODSHALK, G. L.; KLUG, M. J. Changes in the chemical composition of leaves during processing in a woodland stream. *Ecology*, Washington, DC, v. 57, p. 720-727, 1976.

SUBERKROPP, K. F. Microorganisms and organic matter. In: NAIMAN, R. J.; RILBY, R. E. (Ed.). *River and management: lessons from Pacific Coastal Ecoregion*. New York: Springer-Verlag, 2001. cap. 6, p. 120-143.

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

TARTAGLIA, D. *O efeito da temperatura na degradação anaeróbia de Eichhornia azurea*. 2001. 40 f., il. Monografia (Especialização) – Departamento de Hidrobiologia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2001.

TAYLOR, P. G. *The genus Utricularia: a taxonomic monograph*. Kew: HMSO, 1989. 724 p., il.

TIEN, M.; KIRK, T. K. Lignin peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*. *Methods in Enzymology*, London, v. 161, p. 238-249, 1988.

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

TRIVINHO-STRIXINO, S; GEßNER, F. A.; CORREIA, L. C. S.; Macroinvertebrados associados a macrófitas aquáticas das lagoas marginais da Estação Ecológica de Jataí (Luiz Antônio – SP). In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 8., 1998, São Carlos. *Anais...* São Carlos: PPG-ERN. UFSCar, 1997. v. 3, p. 1189-1198.

TUOMELA, M.; VIKMAN, M.; HATAKKA, A.; ITAVAARA, M. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*. Amsterdam, v. 72, p. 169-183, 2000.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL AGENCY (USEPA). Rates, constants, and kinetics formulations in surface water quality modeling. Athens: EPA, 1985. 230 p., il.

VAVILIN, V. A.; LOKSHINA, L. Y.; RYTOV, S. V.; KOTSYURBENKO, O. R.; NOZHEVNIKOVA, A. N.; PARSHINA, S. N. Modeling methanogenesis during anaerobic conversion of complex organic matter at low temperatures. *Water Science and Technology*, London, v. 36, n. 6-7, p. 531-538, 1997.

VOSSBRINCK, C. R.; COLEMAN, D. C.; WOOLLEY, T. A. Abiotic and biotic factors in litter decomposition in a semiarid grassland. *Ecology*, Washington, DC, v. 60, n. 2, p. 265-271, 1979.

WARD, A. K.; JOHNSON, M. D. Heterotrophic microorganisms. In: HAUER, F. R.; LAMBERTI, G. A. Methods in stream ecology. San Diego: Academic Press, 1996. cap. 12, p. 233-268.

WEBSTER, J. R.; BENFIELD, E. F. Vascular plant breakdown in freshwater ecosystems. *Annual Review Ecological Systematics*, Palo Alto, v. 17, p. 567-594, 1986.

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

WETZEL, R. G. Detritus, macrophytes and nutrient cycling in lakes. *Memorie dell'Instituto Italiano di Idrobiologia Dott Marco de Marchi*, Pollanza, v. 47, p. 233-249, 1990.

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

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

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

WISNIEWSKI, M. J. S.; ROCHA, O.; RIETZLER, A. C.; RIETZLER, A. C. Diversidade do zooplâncton nas lagoas marginais do rio Mogi-Guaçu: II Cladocera (Crustacea, Branchiopoda). In: SANTOS, J. E.; PIRES, J. S. R. (Ed.). *Estudos integrados em ecossistemas - Estação Ecológica de Jataí*. São Carlos: RiMa, 2000. vol. 2. p. 559-586.

WOOD, T.; McCRAE, S. The purification and properties of the C1 component of *Trichoderma koningii* cellulase. *Journal of Biochemistry*, Tokyo, v.128, p.1183-1192, 1972.

WRUBLESKI, D. A.; MURKIN, H. R.; VAN DER VALK, A. G.; NELSON, J. W. Decomposition of emergent macrophyte roots and rhizomes in a northern prairie marsh. *Aquatic Botany*, Amsterdam, v. 58, p. 121-134, 1997.

WU, X. L.; CHIN, K. J.; STUBNER, S.; CONRAD, R. Functional patterns and temperature response of cellulose-fermenting microbial cultures containing different methanogenic communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v. 56, p. 212-219, 2001.

WU, X. L.; CONRAD, R. Functional and structural response of a cellulose-degrading methanogenic microbial community to multiple aeration stress at two different temperatures. *Environmental Microbiology*, Oxford, v. 3, n. 6, p. 355-362, 2001.

ZACCHI, L., BURLA, G., ZUOLONG, D., HARVEY, P. J. Metabolism of cellulose by *Phanerochaete chrysosporium* in continuously agitated culture is associated with enhanced production of lignin peroxidase. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v. 78, p. 185-192, 2000.

ZECH, W.; SENESI, N.; GUGGENBERG, G.; KAISER, K.; LEHMANN, J.; MIANO, T. M.; MILTNER, A.; SCHROTH, G. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, Amsterdam, v. 79, p. 117-161, 1997.

ZIMAN, J.M. *The Force of Knowledge: the Scientific Dimension of Society*. New York: Cambridge University Press, 1976. 374 p.

9 Anexos

ANEXO I - Decomposição dos fragmentos íntegros de *U. breviscapa* (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
15,3°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	89,75	9,98	0,27	83,39	14,38	2,24
3	77,08	13,07	9,84	80,27	18,55	1,18
5	74,70	20,53	4,76	80,10	13,00	6,89
10	73,27	11,41	15,32	74,05	18,35	7,60
15	74,64	12,79	12,57	72,51	15,76	11,74
20	73,18	13,75	13,07	71,05	17,35	11,60
40	65,28	11,78	22,93	57,47	12,37	30,16
60	69,49	16,11	14,40	48,39	8,37	43,25
90	61,11	7,34	31,56	45,37	2,78	51,85
120	56,19	2,42	41,39	43,82	2,18	54,00
150	58,65	7,24	34,11	43,84	2,47	53,70
180	55,07	1,91	43,03	46,22	3,07	50,71
20,8°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	80,36	18,04	1,60	80,49	16,44	3,07
3	79,56	16,79	3,65	78,78	15,75	5,47
5	70,75	22,70	6,55	74,78	14,66	10,56
10	56,30	11,23	32,47	68,57	12,64	18,79
15	69,38	9,18	21,44	65,88	16,14	17,98
20	60,57	17,67	21,76	59,96	12,51	27,53
40	63,93	25,40	10,66	56,02	7,21	36,77
60	60,17	16,42	23,41	56,47	5,99	37,54
90	59,71	1,98	38,31	41,92	4,62	53,46
120	55,40	0,95	43,65	44,23	2,07	53,70
150	52,87	7,05	40,08	44,20	2,10	53,70
180	50,01	1,09	48,90	42,62	2,10	55,28

ANEXO II - Decomposição dos fragmentos íntegros de *U. breviscapa* (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
25,7°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	83,17	13,14	3,68	78,27	21,34	0,39
3	76,57	16,37	7,06	83,00	11,73	5,26
5	74,79	15,17	10,05	71,57	17,73	10,70
10	76,39	11,13	12,48	68,56	9,64	21,80
15	66,30	24,95	8,75	62,86	14,10	23,05
20	60,51	19,88	19,61	59,60	21,13	19,27
40	47,24	12,11	40,65	42,37	8,36	49,28
60	56,58	3,34	40,08	40,93	6,64	52,43
90	68,40	1,41	30,19	44,92	1,86	53,22
120	47,20	1,65	51,15	42,73	2,57	54,70
150	49,74	1,21	49,04	43,69	2,10	54,21
180	46,36	1,29	52,35	42,48	2,10	55,42
30,3°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	85,96	8,55	5,49	88,43	9,08	2,49
3	76,52	14,07	9,41	74,42	15,59	9,99
5	72,32	14,99	12,69	74,53	16,28	9,19
10	68,73	16,45	14,82	65,00	15,57	19,42
15	60,56	22,09	17,35	71,74	22,61	5,65
20	60,11	19,62	20,26	53,73	13,39	32,88
40	49,03	11,80	39,17	44,97	7,21	47,82
60	50,06	6,33	43,61	44,31	4,06	51,63
90	44,80	1,93	53,27	44,99	2,38	52,63
120	45,76	1,75	52,50	42,13	1,40	56,47
150	45,43	1,12	53,44	42,70	3,82	53,48
180	46,27	0,95	52,79	45,71	2,30	52,00

ANEXO III - Decomposição da matriz LC de *U. breviscapa* (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
15,3°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	94,75	3,44	1,81	94,71	2,86	2,43
3	95,87	2,67	1,46	94,79	3,08	2,13
5	94,45	3,03	2,51	94,32	2,77	2,92
10	90,62	4,70	4,68	89,19	3,89	6,91
15	90,25	4,58	5,17	89,97	3,80	6,23
20	86,48	6,59	6,93	82,42	7,36	10,22
40	78,86	6,73	14,41	74,55	9,69	15,77
60	83,06	4,52	12,42	74,38	7,45	18,17
90	77,48	3,47	19,05	76,64	7,85	15,51
120	77,66	1,04	21,29	74,23	1,79	23,98
150	78,33	1,27	20,39	66,44	4,56	28,99
180	70,57	1,26	28,17	59,31	7,61	33,07
20,8°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	94,11	3,74	2,16	95,41	3,67	0,91
3	93,58	3,34	3,08	94,39	3,56	2,05
5	90,19	4,38	5,43	91,35	4,46	4,19
10	84,02	7,39	8,59	85,30	8,05	6,65
15	83,82	7,78	8,40	81,29	10,60	8,11
20	81,86	9,81	8,33	75,65	11,48	12,87
40	71,13	9,74	19,13	70,78	9,53	19,69
60	62,84	14,64	22,51	65,47	17,14	17,39
90	57,97	1,17	40,86	61,50	6,85	31,65
120	53,78	11,27	34,95	59,58	0,81	39,61
150	57,37	0,62	42,01	58,63	0,81	40,56
180	57,07	1,20	41,74	53,63	0,79	45,58

ANEXO IV - Decomposição da matriz LC de *U. breviscapa* (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
25,7°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	92,80	5,68	1,52	91,68	6,08	2,24
3	89,72	5,03	5,25	87,62	4,26	8,13
5	86,37	6,00	7,63	87,04	7,03	5,93
10	82,17	7,67	10,16	80,19	9,03	10,78
15	75,12	9,98	14,89	74,02	8,59	17,39
20	75,47	9,42	15,11	72,05	12,12	15,83
40	65,79	3,19	31,02	63,26	14,19	22,55
60	62,81	1,01	36,18	59,20	1,95	38,85
90	58,45	0,41	41,14	59,19	0,72	40,09
120	58,11	0,70	41,19	57,54	0,78	41,68
150	57,85	0,81	41,34	57,00	0,70	42,30
180	52,51	1,17	46,32	47,55	0,38	52,06
30,3°C						
0	100,00	0,00	0,00	100,00	0,00	0,00
1	93,19	3,95	2,86	93,10	4,43	2,47
3	88,24	6,04	5,71	88,85	7,01	4,14
5	84,42	6,66	8,91	85,88	6,28	7,85
10	74,48	8,10	17,42	78,99	11,60	9,41
15	74,59	9,58	15,83	71,88	14,42	13,70
20	68,17	17,38	14,44	67,16	14,95	17,89
40	66,22	17,47	16,31	53,18	16,34	30,47
60	58,29	4,18	37,53	52,24	1,12	46,65
90	53,95	0,23	45,82	59,24	0,26	40,50
120	55,46	0,82	43,72	59,49	1,62	38,89
150	54,85	0,76	44,39	58,41	0,73	40,85
180	54,84	1,14	44,02	50,89	0,74	48,37

ANEXO V - Decomposição do lixiviado de *U. brevisscapa* (temperatura média: 15,3 e 20,8°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
15,3°C						
0	100,0	0,00	0,00	100,0	0,00	0,00
1	78,94	3,59	17,48	85,01	1,90	13,08
3	76,36	9,61	14,03	73,26	1,90	24,84
5	76,33	17,19	6,48	75,73	6,24	18,03
10	58,58	21,02	20,41	65,07	9,25	25,68
15	50,93	16,31	32,77	56,55	16,83	26,62
20	44,51	13,80	41,69	53,00	14,28	32,71
40	41,25	21,98	36,76	51,25	15,92	32,83
60	32,75	18,22	49,03	40,55	23,98	35,47
90	28,79	14,87	56,34	33,00	17,97	49,02
120	20,52	8,69	70,79	31,12	12,39	56,49
150	23,64	6,53	69,83	13,18	14,45	72,37
180	20,68	7,23	72,09	11,62	3,26	85,12
20,8°C						
0	100,0	0,00	0,00	100,0	0,00	0,00
1	83,58	2,46	13,95	87,11	10,24	2,65
3	73,53	1,94	24,53	73,02	0,50	26,47
5	62,07	24,11	13,82	75,00	9,49	15,50
10	50,31	8,19	41,51	54,62	14,56	30,82
15	41,06	9,68	49,26	45,19	16,09	38,73
20	35,65	11,74	52,61	40,33	17,17	42,50
40	29,53	12,40	58,06	39,01	24,34	36,66
60	13,46	2,31	84,23	22,10	7,60	70,30
90	13,74	4,71	81,55	10,07	1,08	88,84
120	10,06	1,55	88,39	8,26	0,29	91,45
150	7,73	0,12	92,15	8,13	0,46	91,41
180	11,11	4,55	84,34	9,25	0,96	89,79

ANEXO VI - Decomposição do lixiviado de *U. brevisscapa* (temperatura média: 25,7 e 30,3°C). Variações dos teores de COP, COD e CM.

Tempo (dia)	Condição anaeróbia			Condição aeróbia		
	COP (%)	COD (%)	CM (%)	COP (%)	COD (%)	CM (%)
25,7°C						
0	100,0	0,00	0,00	100,0	0,00	0,00
1	88,46	7,36	4,18	85,81	10,11	4,07
3	60,12	1,10	38,78	72,15	2,58	25,27
5	52,70	11,08	36,22	60,06	2,30	37,64
10	44,58	12,16	43,26	43,39	13,98	42,63
15	36,73	16,62	46,65	38,57	19,51	41,92
20	29,65	10,53	59,82	34,18	15,78	50,04
40	15,34	3,96	80,70	16,89	6,49	76,62
60	13,01	3,37	83,61	9,92	0,63	89,45
90	11,21	2,53	86,26	9,37	1,29	89,33
120	8,62	0,13	91,24	7,87	0,35	91,78
150	7,46	0,70	91,84	7,50	0,14	92,36
180	7,20	0,40	92,40	6,91	0,12	92,97
30,3°C						
0	100,0	0,00	0,00	100,0	0,00	0,00
1	86,79	7,89	5,32	88,89	6,41	4,69
3	68,02	7,89	24,09	67,51	3,56	28,93
5	61,39	3,56	35,05	59,17	0,67	40,16
10	41,11	1,88	57,01	51,75	25,15	23,10
15	30,50	8,90	60,60	33,71	16,13	50,16
20	22,06	8,83	69,11	26,22	9,62	64,16
40	12,19	6,61	81,21	11,57	1,00	87,43
60	10,15	1,83	88,02	9,53	0,81	89,66
90	8,84	1,17	90,00	8,97	1,05	89,98
120	8,02	1,33	90,65	8,08	1,07	90,85
150	7,37	0,55	92,09	7,40	0,79	91,81
180	7,13	0,81	92,06	6,47	0,04	93,50

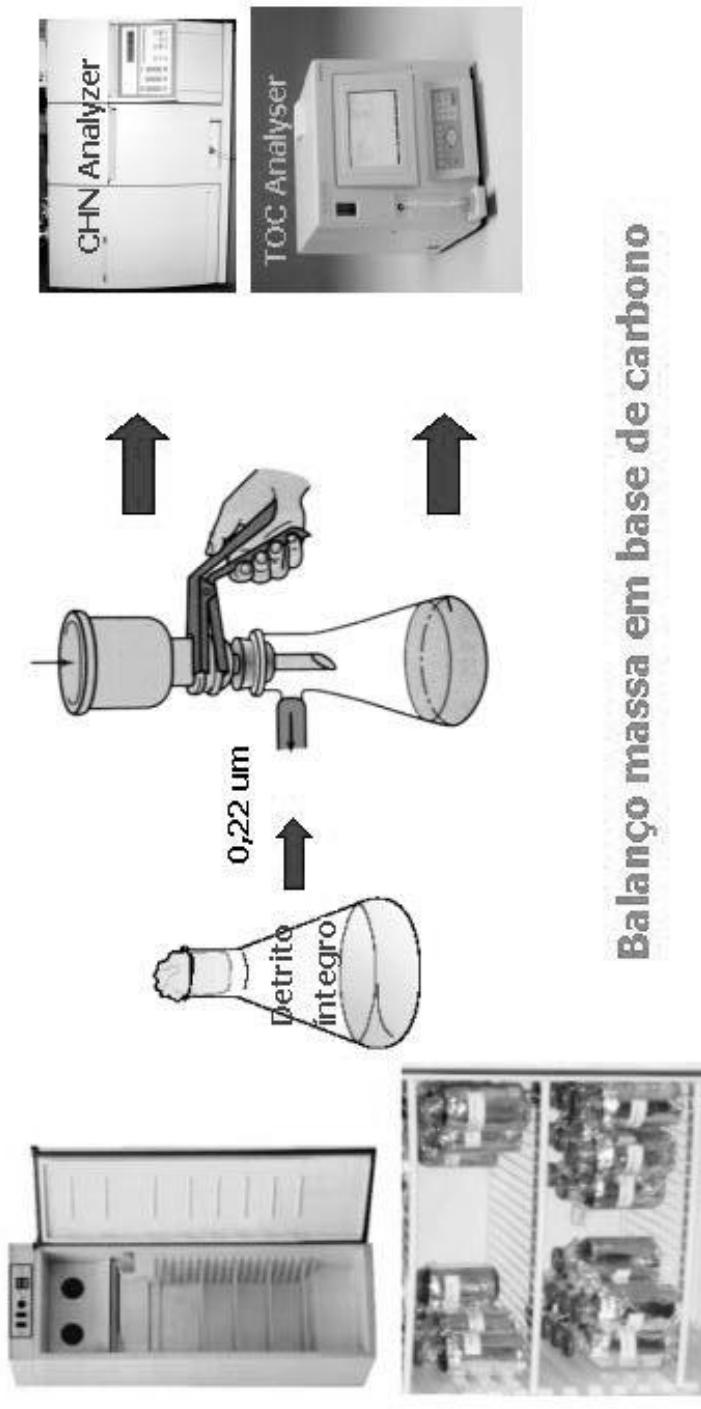
ANEXO VII - Balanço de carbono das mineralizações anaeróbia (138 dias, Exp. 4) e aeróbia (95 dias, Exp. 3) de *U. breviscapa* em diferentes temperaturas. Em que: COP_f = carbono orgânico particulado final; COD_f = carbono orgânico dissolvido final; CM_f = carbono mineralizado final; CID_f = carbono inorgânico dissolvido final; C-gases = C-CH₄ (rendimento de CH₄) + C-CO₂ (rendimento de CO₂).

Temperatura (°C)	COP _f (%)	COD _f (%)	CM _f (%)	CID _f (%)	C-gases (%)	C-CH ₄ (%)	C-CO ₂ (%)
Processo Anaeróbio							
15,3	50,50	18,40	31,11	1,43	29,68	0	29,68
20,8	42,82	11,08	46,38	5,43	40,95	0,44	40,51
25,7	38,18	5,74	56,08	4,17	51,91	2,34	49,57
30,3	35,76	4,95	59,29	3,81	55,48	2,58	52,90
Processo Aeróbio							
15,3	48,71	0,00	51,36				
20,8	42,00	2,78	55,22				
25,7	32,94	0,80	66,27				
30,3	32,08	1,34	66,58				

Experimento 1

Decomposição aeróbia e anaeróbia: aspectos cinéticos

ANEXO VIII - Diagrama esquemático do Experimento 1.



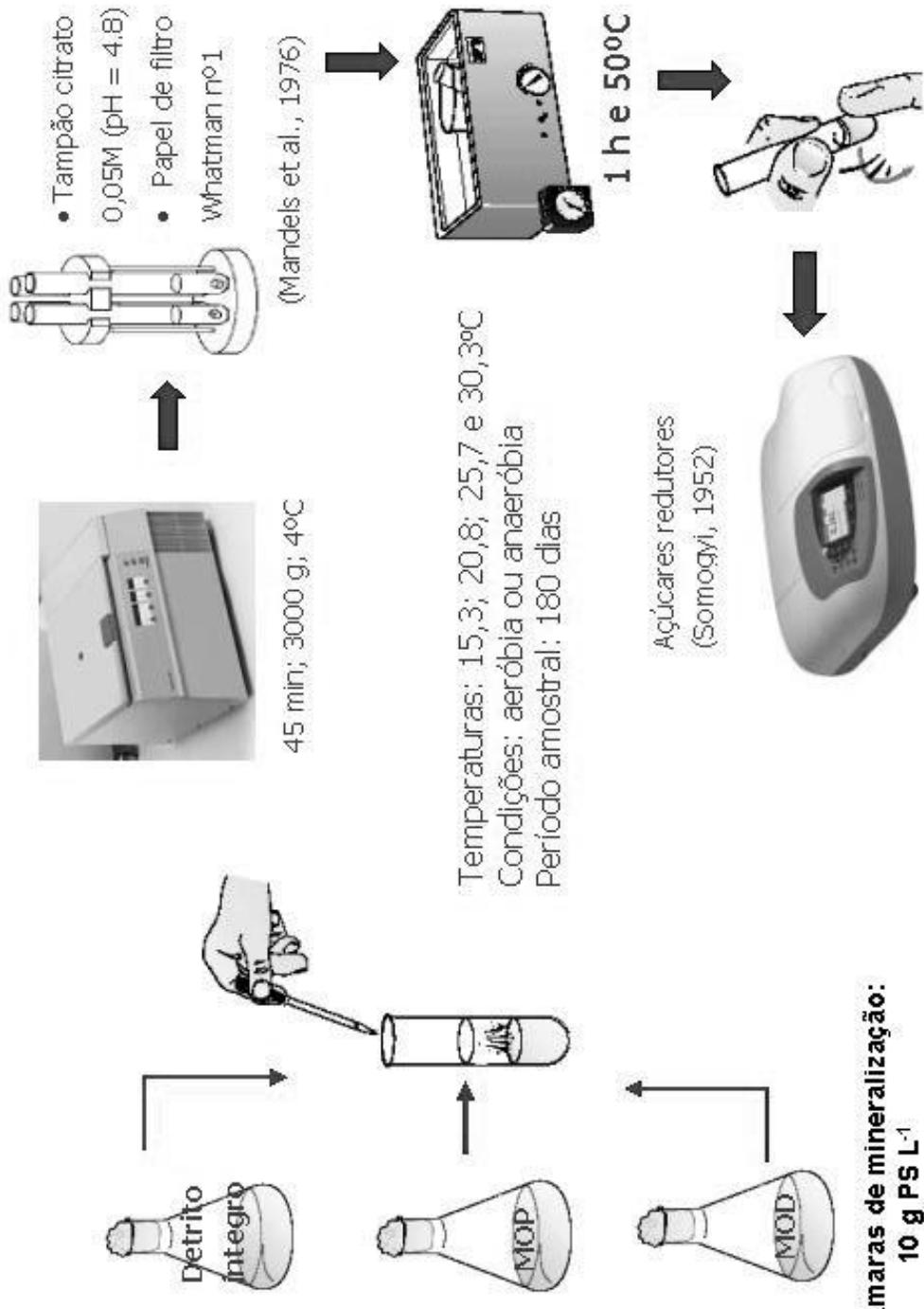
Balanço massa em base de carbono

Temperaturas: 15,3; 20,8; 25,7 e 30,3°C
Condições: aeróbia ou anaeróbia
Período amostral: 180 dias

Câmaras de mineralização:
10 g PS L⁻¹

Experimento 2

Determinações das atividades enzimáticas celulolíticas

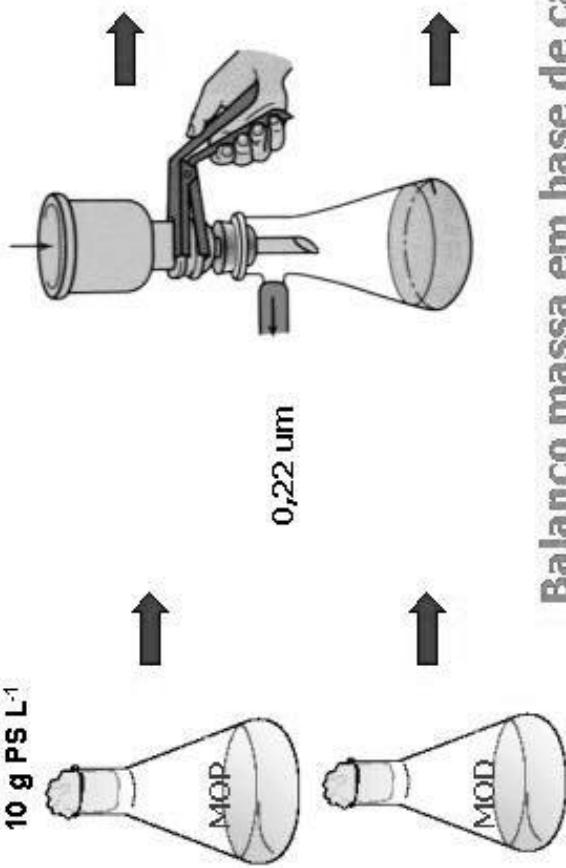


ANEXO IX - Diagrama esquemático do Experimento 2 (enzimas).

Experimento 2

Decomposição aeróbia e anaeróbia de MOP e MOD

Câmaras de mineralização:
 10 g PS L^{-1}



Balanço massa em base de carbono



Temperaturas: 15,3; 20,8; 25,7 e 30,3°C
Condições: aeróbia ou anaeróbia
Período amostral: 180 dias

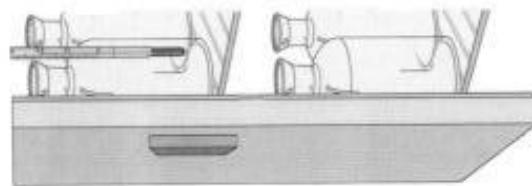
ANEXO X - Diagrama esquemático do Experimento 2.

Experimento 3

Consumo de Oxigênio



Câmaras de mineralização:
 200 mg PS L^{-1}



Tempo de incubação = 95 dias
Condição aeróbia
Temperaturas: 15,3; 20,8; 25,7 e 30,3°C

ANEXO XI - Diagrama esquemático do Experimento 3.

Experimento 4

Formação de Gases: CO_2 e CH_4



Câmaras de mineralização:
 8 g PS L^{-1}

Tempo de incubação = 138 dias
Condição anaeróbia
Temperaturas: 15,3; 20,8; 25,7 e 30,3°C