

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

ROBERTA MAFRA FREITAS DA SILVA

Environmental drivers of bacterial metabolism in tropical reservoirs

Reguladores do metabolismo bacteriano em reservatórios tropicais

São Carlos

2017

ROBERTA MAFRA FREITAS DA SILVA

Environmental drivers of bacterial metabolism in tropical reservoirs

Reguladores do metabolismo bacteriano em reservatórios tropicais

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

Área de concentração: Ecologia e Recursos Naturais

Orientador: Hugo Sarmento

São Carlos

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Roberta Mafra Freitas da Silva, realizada em 10/03/2017:

Prof. Dr. Hugo Miguel Preto de Moraes Sarmento
UFSCar

Profa. Dra. Odete Rocha
UFSCar

Prof. Dr. André Megali Amado
UFRN

À minha avó e à minha mãe

Bactérias em um meio é cultura

Arnaldo Antunes

Agradecimentos

À minha família que sempre foi meu porto seguro.

Agradeço ao Profº Dr Hugo Sarmento pela oportunidade de me aventurar em uma nova e envolvente área e por todos os ensinamentos, tanto acadêmicos quanto profissionais e pessoais.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo financiamento da pesquisa (Processos 14/14139-3 e 11/50054-4). Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Aos componentes da banca avaliadora, pelas contribuições ao trabalho, Prof Dr André Amado e, especialmente, Profa Dra Odete Rocha por permitir a utilização de seu laboratório.

Ao Profº Dr Armando Vieira por disponibilizar seu laboratório e por toda a infraestrutura necessária para a realização desse trabalho.

Aos meus queridos amigos/família da escola Lívia, Diana, Regiane, Renato e Greg; do cursinho (vários que não cabem aqui, mas todos maravilhosos) e da graduação, em especial Helena, Vinícius, Bruna, Renan, Giovanna, Ary, Pablo, Isabela, Jaque e Jonas por compartilharem comigo momentos felizes, dos quais, nunca me esquecerei.

Aos meus queridos amigos/família da pós-graduação com os quais passei dois anos maravilhosos e divertidos, dos quais, nunca me esquecerei.

À Angela Fushita por sua amizade e por seu auxílio com a o mapa da área de estudo.

Aos meus queridos amigos/família do Laboratório de Ecologia de Insetos Aquáticos, do Laboratório de Processos Microbianos e Biodiversidade, e Laboratório de Ficologia por todos os momentos divertidos que passamos, em especial, Michaela Ladeira por auxiliar no artigo com ideias e pelo levantamento bibliográfico realizado, Helena e Guilherme por toda a ajuda no trabalho, Mariana e Erick.

Aos meus vizinhos/família queridos do Condado: Palmitão, Big Black, Lulu, Lukita, Diana, Débora, Maiko, Mari, Erso, Filipeta, Mirto e Tiemi, por todas as conversas, risadas, festas, palavras de incentivo, me proporcionando momentos dos quais sentirei muita falta.

A todos os professores que passaram por minha formação e que, de alguma forma, foram essenciais para a construção da profissional e cidadã que me tornei. À Prof Dra Alaide Aparecida Fonseca-Gessner pela generosidade e oportunidade em me orientar na iniciação científica e Prof Dra Susana Trivinho-Strixino por abrir as portas de seu laboratório, me auxiliando no aprendizado da identificação e ecologia de insetos aquáticos.

À todas minhas amigas da limpeza, em especial Naldia, Rosa (DHb), Rosinha (DEBE), Luciene, Gê, Dona Fátima, Dona Eva, Lúcia, Marlene, que sempre me receberam com lindos sorrisos e abraços carinhosos, além de deixar meu local de trabalho impecável.

Aos técnicos Luizinho e Alcídio, por todo o apoio e diversão nas coletas, sem os quais, não seria possível desenvolver meu trabalho. À técnica Jurity, pelo esforço e dedicação em me auxiliar nas análises químicas, essenciais ao meu trabalho.

Ao Laboratório de Biogeoquímica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) por nos auxiliar com as análises de produção bacteriana.

À Andreia, por todo o carinho e preocupação comigo e todos os outros alunos, sempre trazendo alegria, beleza e guloseimas ao laboratório.

Às secretárias e aos estagiários do DHb, em especial, Fabiana, que sempre foi super solícita e carinhosa comigo e todos do departamento. Aos secretários do PPGERN, João e Roseli, por sempre nos auxiliar e tirar nossas dúvidas em relação à pós, além de nos ensinarem A VER O EDITAL!!!

À Simone e à Franscielly do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) por gentilmente cederam os dados meteorológicos utilizados nesse trabalho e ao Jefferson, técnico da empresa Leco, que nos auxiliou nos reparos do CHN.

Ao Talenthuss Karaokê, Bar do Toco, Viva Cuba, Black Bird, Saint Patrick, Espaço Múltiplo e festas acadêmicas pelos momentos de descontração proporcionados (porque ninguém é de ferro!).

A todas as pessoas que não citei o nome aqui, mas que com certeza têm um lugar especial em meu coração e em minha história.

MUITO OBRIGADA POR TUDO!

Resumo

Reservatórios de regiões tropicais são fontes de carbono (C) para a atmosfera e o metabolismo bacteriano é um processo fundamental na regulação dessas emissões. No entanto, estudos que elucidem os fatores ambientais que determinam o metabolismo bacteriano em reservatórios tropicais são ainda escassos. Neste estudo foram medidas taxas metabólicas e parâmetros limnológicos em quatro reservatórios em cascata que formam um gradiente de estado trófico, com o intuito de determinar os reguladores do metabolismo bacteriano em uma região tropical e compará-los com dados obtidos a partir da literatura disponível (principalmente de regiões temperadas). Nossos modelos de regressão múltipla selecionaram variáveis relacionadas ao estado trófico como os principais reguladores da produção bacteriana (PB) e da eficiência de crescimento bacteriano (ECB). Foi encontrada uma relação fraca e negativa entre a respiração bacteriana (RB) e o carbono orgânico dissolvido (COD), diferente dos dados da literatura. As taxas de RB foram sempre elevadas, especialmente em reservatórios menos produtivos, nos quais as comunidades planctônicas estavam limitadas por fósforo. A escassez de nutrientes, as elevadas temperaturas e a alta intensidade de luz incidente aumentam o grau de hostilidade, e as células devem investir mais energia em mecanismos de reparação, o que direciona o metabolismo para a RB. Isso foi observado nos reservatórios estudados, especialmente, nos ambientes mais oligotróficos (Nova Avanhandava e Três Irmãos) nos quais a RB foi mais elevada e a ECB mais baixa. Nossos resultados indicam que os mecanismos reguladores do metabolismo bacteriano podem variar de acordo com a latitude.

Palavras-chave: produção bacteriana, respiração bacteriana, eficiência de crescimento bacteriano, demanda de carbono bacteriano, gradiente de produtividade.

Abstract

Reservoirs located in tropical regions are main carbon (C) sources to the atmosphere, and bacterial metabolism is a key process that regulates those emissions. However, studies on the environmental drivers of bacterial metabolism in tropical reservoirs are scarce. By measuring metabolic rates and the limnological parameters in four cascading reservoirs that form a trophic state gradient, we determined the environmental drivers of bacterial metabolism in a tropical region, and compared them with those found in the literature (mainly from temperate regions). Our multiple regression models selected variables related to the trophic state as the main drivers of bacterial production (BP) and bacterial growth efficiency (BGE). On the other hand, bacterial respiration (BR), and consequently bacterial carbon demand (BCD), were weakly and negatively correlated to dissolved organic carbon (DOC), contrasting with the literature data. BR was always high, especially in less productive reservoirs where planktonic communities were limited by phosphorus. Nutrient limitation, high temperatures and high incident light intensity increased the environmental hostility, and cells must invest more energy in maintenance mechanisms, which directs the metabolism towards BR. This was observed in the reservoirs studied, especially in the more oligotrophic environments (Nova Avanhandava and Três Irmãos) where BR was higher and ECB lower. Our results indicate that the regulatory mechanisms of bacterial metabolism may vary according to latitude.

Keywords: bacterial production, bacterial respiration, bacterial growth efficiency, bacterial carbon demand, productivity gradient.

Lista de abreviaturas e siglas

BB – Barra Bonita

BCD – *bacterial carbon demand*

BGE – *bacterial growth efficiency*

BP – *bacterial production*

BR – *bacterial respiration*

C – *carbon* ou carbono

Chl *a* – clorofila *a*

CO₂ – *carbon dioxide* ou dióxido de carbono

DCB – demanda de carbono bacteriano

DOC – *dissolved organic carbon*

ECB – eficiência de crescimento bacteriano

EM – energia de manutenção

GEE – gases do efeito estufa

GF/F - *glass-fiber filter*

MOD – matéria orgânica dissolvida

N – nitrogênio

NO – Nova Avanhandava

P – fósforo

PB – produção bacteriana

PCH – pequena central hidrelétrica

POC – *particulate organic carbon*

PON – *particulate organic nitrogen*

POP – *particulate organic phosphorus*

PR - Promissão

RB – respiração bacteriana

RE – respiração celular específica

RT – *residence time*

SGR – *specific growth rate*

TCA – *trichloroacetic acid*

TI – Três Irmãos

UHE – usina hidrelétrica

Zeu – *euphotic zone* ou zona eufótica

Lista de figuras (Cap. I)

Figura 1. Diagrama hipotético demonstrando as relações entre fatores de estresse ambiental (ou “hostilidade” ambiental) e a partição da energia em células bacterianas, decorrente da eficiência de crescimento bacteriano (ECB) e respiração celular específica (RE). Com o aumento da hostilidade ambiental, mais energia é dirigida à manutenção celular (EM). Dessa forma, a ECB decai e a RE aumenta. Adaptado e traduzido de Carlson et al., 2007.

Figura 2. Representação da razão C:P em sistemas aquáticos. Espécies individuais de algas em cultura (Healey e Hendzel, 1979), ou partículas do séston misturadas em amostras de lago (Elser e Hassett, 1994), mostram uma ampla gama de razões C:P (todas dadas em molar). A razão C:P de bactérias heterotróficas parece ser mais limitada, mas novamente, linhagens individuais em culturas (Kyle, 1994) e coleções de partículas do tamanho de bactérias de ecossistemas naturais (Vadstein et al., 1988) indicam considerável variabilidade nas razões C:P dentro de linhagens, embora a faixa de variação seja menor que a observada em algas. Em contrapartida, para metazoários do zooplâncton têm sido mostrada pequena variabilidade intraespecífica, e variabilidade interespecífica um pouco mais elevada (Hessen, 1990; Andersen e Hessen, 1991; Hessen e Lyche, 1991). A gama total de razões C:P em metazoários do zooplâncton é consideravelmente menor que em bactérias ou algas e varia de 100 a 200. Finalmente, as razões C:P de peixes são também limitadas, sendo também baixas (Davis e Boyd, 1978; Penczak, 1985; George, 1994). Adaptado e traduzido de Sterner et al., 1998.

Figura 3. Representação da função dos reservatórios de acordo com a localização em um *continuum* rios-lagos (Adaptado e traduzido de Kimmel e Groeger, 1984).

List of figures (Cap. II)

Fig. 1. Location of the Tietê River in the Paraná River basin, with the four reservoirs studied.

Fig. 2. Accumulated precipitation and air temperature (minimum and maximum) in Barra Bonita during the study period (INMET, 2016)

Fig. 3. Mean and standard deviation of the main environmental variables by sampling month. A: temperature; B: residence time; C: chlorophyll *a*; D: euphotic zone; E: dissolved organic carbon

Fig. 4. Mean and standard deviation of the main environmental variables by reservoir. Barra Bonita: BB; Promissão: PR; Nova Avanhandava: NO; Três Irmãos: TI. A: temperature; B: residence time; C: chlorophyll *a*; D: euphotic zone; E: dissolved organic carbon

Fig. 5. Mean and standard deviation of the main biotic variables by sampling month. A: bacterial production; B: bacterial respiration; C: bacterial growth efficiency; D: bacterial carbon demand

Fig. 6. Mean and standard deviation of the main biotic variables by reservoir. Barra Bonita: BB; Promissão: PR; Nova Avanhandava: NO; and Três Irmãos: TI. A: bacterial production; B: bacterial respiration; C: bacterial growth efficiency; D: bacterial carbon demand

Fig. 7. C:N:P atomic ratios from each reservoir. Dark grey corresponds to extreme nutrient limitation, light grey to moderate nutrient limitation and white, no nutrient limitation. Dashed line indicates N or P limitation threshold, based in Healey and Hendzel (1980).

Lista de tabelas (Cap. I)

Tabela 1: Revisão bibliográfica de estudos que encontraram relações significativas entre variáveis do metabolismo bacteriano (PB, RB e ECB) com fatores ambientais agrupados por: “Fitoplâncton” – clorofila *a*, produção primária, feopigmentos; “Carbono” – carbono orgânico dissolvido, carbono orgânico total, índice de fluorescência e índices de absorvância; “Nitrogênio” – nitrogênio total, nitrogênio dissolvido, amônia, nitrito; “Fósforo” – fósforo total, fósforo dissolvido; “Outros” – *grazing*, infecção viral e outros fatores bióticos.

Tabela 2. Comparação entre características de lagos estratificados e reservatórios (traduzido de Straškraba, 1996).

Tabela 3. Características dos quatro reservatórios em cascata do Rio Tietê. CESP, 1998.

List of tables (Cap. II)

Table 1: Mean, minimum and maximal values of environmental parameters and bacterial metabolism variables measured in the four reservoirs studied (BB: Barra Bonita; PR: Promissão; NO: Nova Avanhandava; TI: Três Irmãos).

Table 2. Correlation matrix and significance values between environmental parameters and bacterial metabolism variables (* <0.05; ** <0.001; *** <0.0001; log transformed data, excepting BGE; outlier removed Barra Bonita reservoir from March 2016).

Table 3. Multiple regressions coefficients (β) and intercept (β_0) of the best models for bacterial respiration (BR), bacterial production (BP), bacterial growth efficiency (BGE) and bacterial carbon demand (BCD).

Sumário

Capítulo I.....	18
Introdução Geral.....	18
Introdução Geral.....	19
Metabolismo bacteriano	20
Fontes de nutrientes e de matéria orgânica e metabolismo bacteriano	24
Referências.....	34
Capítulo II	44
Environmental drivers of bacterial metabolismo in tropical reservoir	44
Introduction	45
Materials and methods	47
<i>Study area and sampling</i>	47
<i>Environmental variables</i>	48
<i>Metabolic rates</i>	49
<i>Statistical analyses</i>	50
Results	52
Discussion	62
Conclusões	66
References.....	67
Supplementary material.....	77

Capítulo I

Introdução Geral

Introdução Geral

Bactérias heterotróficas são os principais decompositores da matéria orgânica em ambientes aquáticos, contribuindo com boa parte da respiração e produção planctônica (Cotner e Biddanda, 2002). São também a principal forma de entrada e de reintegração do carbono orgânico dissolvido disponível no ambiente para as teias tróficas aquáticas (Azam et al., 1983), e emitem CO₂ como subproduto de sua respiração (del Giorgio et al., 1997; Cole et al., 2007). Além disso, as bactérias desempenham importantes processos ecossistêmicos como a ciclagem do carbono, nitrogênio e fósforo, realizando a mineralização desses nutrientes (Tranvik et al., 2009; Amado et al., 2013). Além de todas essas funções, bactérias heterotróficas também são capazes de colonizar diferentes zonas climáticas (boreal, temperada e tropical), todos os tipos de ambientes, como lagos, rios, vulcões, geleiras, e são elementos essenciais para a manutenção dos ecossistemas.

Há mais de quatro décadas o conceito da teia trófica microbiana foi apresentado (Pomeroy, 1974) e, posteriormente, compreendida a sua relevância em ecossistemas aquáticos (Azam et al., 1983). Nesse modelo, se postula que uma complexa teia microbiana composta por bactérias, picoplâncton autotrófico, flagelados e ciliados, reciclam e reintegram carbono à teia trófica clássica (fitoplâncton – zooplâncton - peixes). O bacterioplâncton assimila a matéria orgânica dissolvida disponível no ambiente, transformando-a em matéria orgânica particulada (Hollibaugh et al., 1980). Já o picoplâncton autotrófico é um componente importante na produção primária (Callieri e Stockner, 2002). Posteriormente, as bactérias e o picoplâncton autotrófico são consumidos por flagelados e/ou ciliados. Os protozoários, por sua vez, são consumidos

por organismos de níveis tróficos superiores, subsidiando a cadeia trófica clássica. Essa estrutura trófica foi denominada “alça microbiana” (Azam et al., 1983).

Ambientes de água doce, constituídos por córregos, rios, riachos, lagos, lagoas, reservatórios entre outros, têm importante papel e influência na ciclagem do carbono em escala global, sendo bastante ativos no transporte, mineralização e acúmulo desse elemento (Cole et al., 2007). Embora ocupem apenas cerca de 1% da superfície do planeta, ecossistemas dulcícolas emitem grandes quantidades de carbono para a atmosfera (Tranvik et al., 2009). Desse total, sistemas tropicais são responsáveis por cerca de 60% das emissões de gases do efeito estufa (Aufdenkampe et al., 2011).

Metabolismo bacteriano

O metabolismo de bactérias heterotróficas se decompõe em produção de biomassa pela produção secundária (produção bacteriana [PB]) e utilização de carbono orgânico em sua respiração, que é o conjunto de processos bioquímicos necessários para a liberação de energia que mantém as funções do organismo, liberando como subproduto o CO₂ (respiração bacteriana [RB]). Denomina-se demanda de carbono bacteriano (DCB) a quantidade de carbono utilizada pelas bactérias tanto na produção de nova biomassa, quanto na respiração (representada pela equação $DCB=PB+RB$). Por fim, eficiência de crescimento bacteriano (ECB) é a proporção de carbono dedicada à produção de biomassa, cuja equação é $ECB=PB/[PB+RB]$ (del Giorgio e Cole, 1998). Quanto maior a ECB, maior é o total de matéria e energia disponível para os níveis tróficos superiores, da mesma forma que quanto menor a ECB, maiores são as taxas de mineralização de carbono (Amado et al., 2013).

O metabolismo bacteriano é influenciado por fatores ambientais, sejam eles bióticos (*grazing* e lise viral), ou abióticos como quantidade e qualidade de matéria orgânica dissolvida, disponibilidade e qualidade de nutrientes e temperatura. Diversos trabalhos exploraram diferentes fatores que tendem a influenciar o metabolismo bacteriano em sistemas temperados, destacando-se RB e ECB que apresentam relações positivas com a disponibilidade e/ou labilidade do carbono orgânico dissolvido, e PB que se relaciona positivamente principalmente com variáveis relacionadas com o fitoplâncton, no caso, clorofila *a* (Chl*a*), produção primária, feopigmentos (Tabela 1). Entretanto, a maioria dos estudos que investigaram os reguladores do metabolismo bacteriano em ambientes aquáticos foi realizada em regiões temperadas, nas quais a temperatura é um dos principais fatores reguladores do metabolismo bacteriano (Apple et al., 2006). Em regiões tropicais, onde as temperaturas são mais elevadas ao longo do ano, e a dinâmica sazonal está predominantemente ligada a flutuações no regime de chuvas os fatores ambientais que regulam o metabolismo microbiano poderiam ser outros (Sarmiento, 2012; Amado et al., 2013).

Tabela 1: Revisão bibliográfica de estudos que encontraram relações significativas entre variáveis do metabolismo bacteriano (PB, RB e ECB) com fatores ambientais agrupados por: “Fitoplâncton” – clorofila *a*, produção primária, feopigmentos; “Carbono” – carbono orgânico dissolvido, carbono orgânico total, índice de fluorescência e índices de absorvância; “Nitrogênio” – nitrogênio total, nitrogênio dissolvido, amônia, nitrito; “Fósforo” – fósforo total, fósforo dissolvido; “Outros” – *grazing*, infecção viral e outros fatores bióticos.

Metabolismo	Grupo de variáveis	N	% de estudos	Referências
PB	Fitoplâncton	14	58	2, 5, 6, 9, 10, 14, 15, 16, 17, 19, 20, 21, 23, 25
	Carbono	10	42	3, 4, 8, 9, 12, 16, 17, 20, 21, 22
	Fósforo	5	21	8, 14, 15, 20, 22
	Nitrogênio	4	17	6, 20, 22, 24
	Temperatura	4	17	1, 19, 20, 23
	Outros	8	33	7, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 25
RB	Carbono	6	60	3, 8, 12, 16, 17, 18
	Temperatura	3	30	7, 17, 18
	Fitoplâncton	1	10	5
	Fósforo	1	10	8
	Nitrogênio	1	10	11
	Outros	5	50	11, 14, 16, 17, 18
ECB	Carbono	6	60	3, 8, 16, 17, 22, 24
	Fitoplâncton	3	30	5, 16 17
	Temperatura	3	30	5, 7, 24
	Fósforo	2	20	8, 22
	Nitrogênio	1	10	24
	Outros	2	20	17, 18

Referências: Adams et al. 2010 (1); Présing et al. 1997 (2); Berggren et al. 2009 (3); Bergstrom e Jansson 2000 (4); Berman et al., 2010 (5); Bertilsson et al. 2007 (6); Biddanda et al. 2001 (7); Cammack et al. 2004 (8); Chrost et al. 2000 (9); Chrzanowski e Hubbard 1988 (10); Cimblaris e Kalff 1998 (11); Jansson et al. 2008 (12); Jugnia et al. 2006 (13); Kritzberg et al. 2005 (14); Ram et al. 2005 (15); Ram et al. 2013 (16); Ram et al. 2015 (17); Ram et al. 2016 (18); Robarts e Wicks 1990 (19); Robarts et al. 1994 (20); Simon e Tilzer 1987 (21); Smith e Prairie 2004 (22); Tulonen 1993 (23); Vidal et al. 2015 (24); White et al. 1991 (25).

Os ambientes aquáticos apresentam diferentes características que podem ser adversas às comunidades. O grau de estresse do sistema é chamado hostilidade ambiental e pode ser notado pela limitação de nutrientes, excesso de radiação UV, variação na temperatura da água, do pH, labilidade e disponibilidade de matéria orgânica dissolvida (MOD) concentração de toxinas e poluentes e ditará a plasticidade das comunidades, podendo proporcionar condições adversas ao metabolismo microbiano, que afetam especialmente a ECB (Carlson et al., 2007). Em ambientes com maior hostilidade, a quantidade de energia voltada à produção é reduzida (Figura 1). Isso se deve ao fato do fluxo de energia ser majoritariamente dedicado à manutenção

celular o que, conseqüentemente, aumenta a respiração celular específica (RE). Sendo assim, com o aumento do grau de hostilidade, haverá decréscimo na ECB.

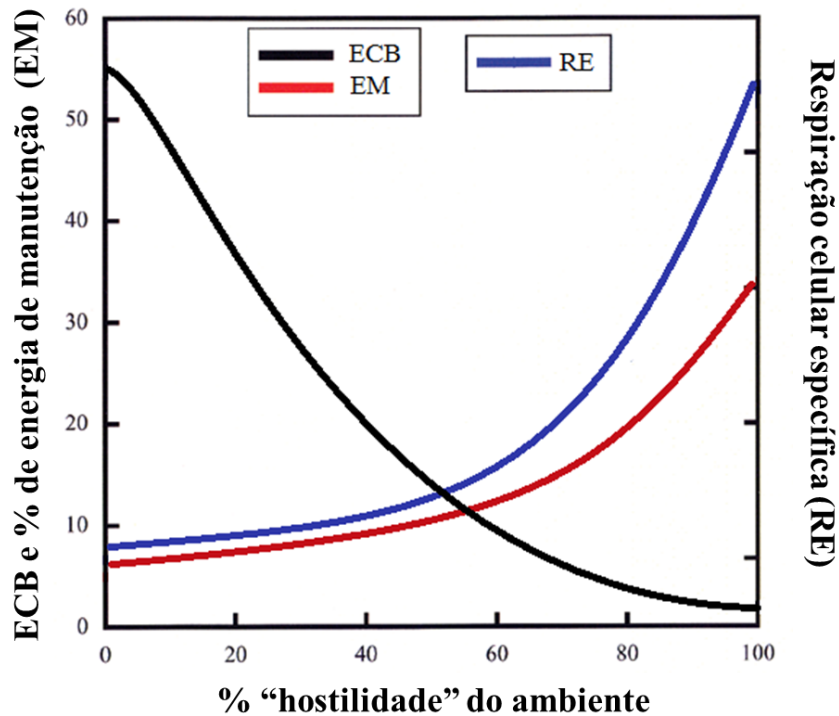


Figura 1. Diagrama hipotético demonstrando as relações entre fatores de estresse ambiental (ou "hostilidade" ambiental) e a partição da energia em células bacterianas, decorrente da eficiência de crescimento bacteriano (ECB) e respiração celular específica (RE). Com o aumento da hostilidade ambiental, mais energia é dirigida à manutenção celular (EM). Dessa forma, a ECB decai e a RE aumenta. Adaptado e traduzido de Carlson et al. 2007.

A temperatura é um fator chave para a regulação do metabolismo bacteriano (White et al., 1991; Vázquez-Domínguez et al., 2007; Sarmiento et al., 2010). Segundo a teoria metabólica da ecologia (Brown et al., 2004) o metabolismo dos organismos tende a ser mais elevado em ambientes com temperaturas mais altas. Devido à maior incidência de radiação solar nos trópicos, aliada

às altas temperaturas médias ao longo do ano (Lewis, 1987; Lewis, 1996), as taxas metabólicas são mais elevadas. Com o aumento da temperatura da água, pode haver aumento de PB, RB e ECB (Berman et al., 2010).

Além da temperatura, a configuração da teia trófica pode afetar a abundância bacteriana (Sarmiento, 2012; Domingues et al., 2016; Segovia et al., 2016). Uma meta-análise comparou taxas metabólicas de bactérias heterotróficas (PB, RB, DCB) de águas continentais de sistemas temperados e tropicais (Amado et al., 2013), mostrando que em latitudes mais baixas a ECB é menor que nos ambientes temperados.

Estudos prévios mostram que PB e RB se relacionam positivamente com a temperatura, porém, com ECB essa relação se inverte em ambientes com limitação por nutrientes como nitrogênio e fósforo (Rivkin e Legendre, 2001; Berggren et al., 2010). A ECB apresenta uma grande variação em diferentes ambientes aquáticos, variando entre menos de 0,05 e raramente superando 0,6 (del Giorgio et al., 1997; Kritzberg et al., 2005). Isso ocorre devido às taxas respiratórias bacterianas serem bem maiores que as taxas de produção, principalmente em ambientes mais quentes, resultando em menor ECB (Amado et al., 2013).

Fontes de nutrientes e de matéria orgânica e metabolismo bacteriano

As fontes da matéria orgânica que sustentam o metabolismo microbiano podem ser alóctones, quando carregadas a partir de ambientes externos, ou autóctones, quando resultam da produção primária realizada no próprio ecossistema. Desse modo, é de se esperar que o balanço entre fontes alóctones e autóctones varie ao longo do ano, sendo influenciado por diferentes fatores climáticos, tais como chuvas de degelo, variações no nível da água etc. Além disso, a entrada de nutrientes em corpos d'água pode resultar em eutrofização, um processo natural, mas que pode ser intensificado e acelerado pela ação antrópica (Tundisi e Matsumura-Tundisi, 2008). Atividades humanas como o uso

do solo para agricultura, aliado ao despejo de resíduos industriais e domésticos em corpos d'água (Abe et al., 2003), causam impactos em ecossistemas aquáticos, e ambientes tropicais são particularmente sensíveis a esses aportes (Downing et al., 1999). Aportes de nutrientes podem alterar a dinâmica das comunidades de ambientes aquáticos e afetar o ciclo do carbono, nomeadamente, as emissões de gases de efeito de estufa para a atmosfera (Schindler et al., 2008). Sistemas eutróficos fornecem substrato para o desenvolvimento de microalgas (principalmente cianobactérias) e macrófitas. Estes produtores primários são a principal reserva de carbono orgânico desses ambientes e constituem a principal fonte de matéria orgânica para as bactérias (Simon et al., 1992).

Por outro lado, a escassez de nutrientes, principalmente fósforo e a elevada radiação solar aumentam a excreção algal, que constitui uma fonte de carbono lábil rapidamente assimilado pelas bactérias heterotróficas (Zlotnik e Dubinsky, 1989; Morana et al., 2014). Em um estudo clássico, Redfield (1958) mostrou que no séston de sistemas oceânicos a razão estequiométrica esperada para a proporção de átomos de carbono, nitrogênio e fósforo (C:N:P) seria de 106:16:1. Todavia, em diferentes sistemas, esta razão pode variar (Cotner et al., 2010). Além disso, atualmente sabe-se que as razões C:P nas teias tróficas aquáticas diferem de acordo com o nível trófico, havendo seu decréscimo em níveis tróficos superiores. Produtores primários (principais constituintes do seston) geralmente apresentam uma ampla variação nas razões C:P (Sterner et al., 1998). Quando o ecossistema apresenta razão C:P alta, observa-se uma limitação por P dos produtores primários, causando um desequilíbrio nas necessidades dos consumidores de topo, afetando a eficiência da cadeia trófica (Figura 2). Um estudo recente mostrou que as bactérias heterotróficas são os organismos com maior

magnitude de variação das razões C:P, superando a amplitude observada para algas (Godwin e Cotner, 2015).

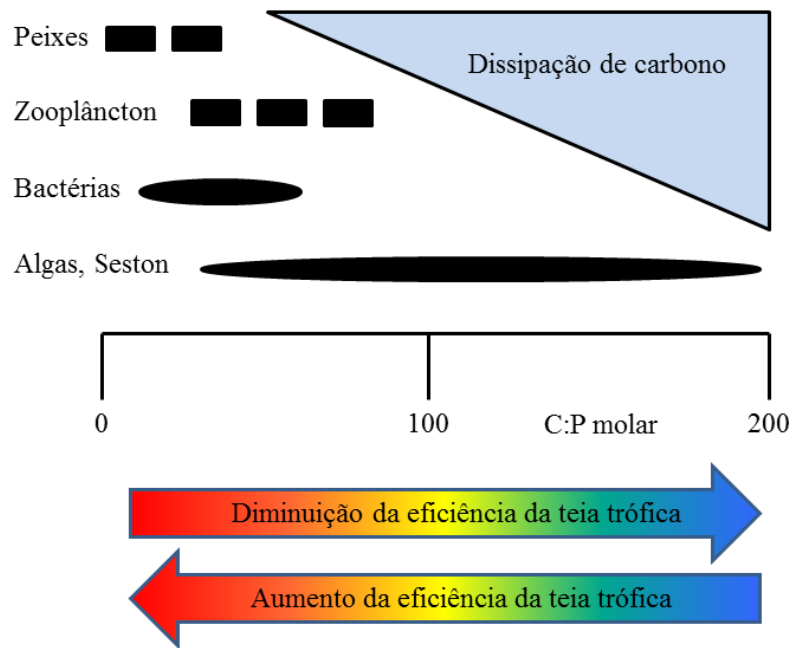


Figura 2. Representação da razão C:P em sistemas aquáticos. Espécies individuais de algas em cultura (Healey e Hendzel 1979), ou partículas do séston misturadas em amostras de lago (Elser e Hassett 1994), mostram uma ampla gama de razões C:P (todas dadas em molar). A razão C:P de bactérias heterotróficas parece ser mais limitada, mas novamente, linhagens individuais em culturas (Kyle 1994) e coleções de partículas do tamanho de bactérias de ecossistemas naturais (Vadstein et al. 1988) indicam considerável variabilidade nas razões C:P dentro de linhagens, embora a faixa de variação seja menor que a observada em algas. Em contrapartida, para metazoários do zooplâncton têm mostrado pequena variabilidade intraespecífica, e variabilidade interespecífica um pouco mais elevada (Hessen 1990; Andersen e Hessen 1991; Hessen e Lyche 1991). A gama total de razões C:P em metazoários do zooplâncton é consideravelmente menor que em bactérias ou algas e varia de 100 a 200. Finalmente, as razões C:P de peixes são também limitadas, sendo também baixas (Davis e Boyd 1978; Penczak 1985; George 1994). Adaptado e traduzido de Sterner et al. 1998.

Outro fator que influencia a dinâmica do metabolismo bacteriano é o aporte de COD, que pode ter origem autóctone, que é excretado pelo fitoplâncton, microalgas e macrófitas aquáticas (Bertilsson e Jones, 2003), ou alóctone, isto é, carbono terrestre carregado pela chuva para dentro do sistema aquático (Aitkenhead-Peterson et al., 2003). O aumento da produção de COD autóctone pode facilitar a assimilação de COD

terrestre na biomassa bacteriana. Mesmo com o aumento da produtividade do sistema, a utilização de COD alóctone será constante. Porém, não é possível inferir qual o verdadeiro grau de assimilação de COD alóctone, uma vez que o C é utilizado de diferentes formas pelas comunidades bacterianas (convertido para produção ou respiração). Também observaram que C autóctone é principalmente voltado à respiração bacteriana e C terrestre para a produção de biomassa. Além disso, há preferência por C produzido por algas, devido sua labilidade e qualidade (Guillemette et al., 2016), embora estudos prévios mostrem que o C autóctone pode não ser imediatamente respirado, mas que uma parcela pode ser acumulada ao longo do tempo (Bade et al., 2007). Resumindo, os padrões de degradação do carbono orgânico variam de acordo com a disponibilidade de nutrientes e o grau de trofia do sistema (Guillemette et al., 2013).

Reservatórios em cascata como modelo para o estudo do metabolismo bacteriano

Reservatórios artificiais são sistemas aquáticos amplamente distribuídos pelo globo e, desses, aproximadamente 20% estão associados a hidrelétricas, que abarcam uma vasta porção dos ambientes de água doce (Barros et al., 2011). Esses ambientes são responsáveis pela emissão de gases do efeito estufa (GEE) como CO₂ e CH₄, (Rudd et al., 1993; St. Louis et al., 2000), principalmente nos primeiros anos de funcionamento com o alagamento de vastas áreas (Barros et al., 2011). Isso ocorre como consequência da decomposição da vegetação da área alagada e da matéria orgânica do solo (Abril et al., 2005). Esses sistemas ocupam posição intermediária entre o *continuum* de lagos e rios, no qual as comunidades respondem às variações físicas, químicas e morfológicas

dos cursos d'água (Fig. 3), tendendo à menor perda de energia (Vannote et al., 1980). São construídos em bacias de drenagem, principalmente em suas extremidades inferiores (Kalff, 2002) e têm características distintas quando comparadas a lagos naturais (Tabela 2).

De acordo com suas funções são construídos em rios (reservatórios tradicionais, para produção de energia elétrica), no interstício lago-rio (reservatórios de armazenamento), ou em lagos, para armazenamento tributário (Kalff, 2002) (Figura 1). No Brasil, a maior parte da energia elétrica é produzida em usinas hidrelétricas (UHEs), que ultrapassam 100 unidades distribuídas por todo o território nacional, tendo como principal reservatório a Usina Hidrelétrica de Itaipu, localizada no Rio Paraná, na fronteira entre Brasil e Paraguai. Também há mais de 70 pequenas centrais hidrelétricas (PCHs), assim classificadas por suas menores áreas e menor capacidade de produção e distribuição de energia (ANEEL, 2016).

Tabela 2. Comparação entre características de lagos estratificados e reservatórios (traduzido de Straškraba 1996.).

Característica	Lagos	Reservatórios
Diferenças quantitativas (absolutas)		
Origem	Natural	Antropogênica
Idade geológica	Antiga (\geq Pleistoceno)	Maioria recente (< 60 anos)
Envelhecimento	Lento	Rápido (primeiros anos)
Formado por preenchimento	Depressões	Vales dos rios
Forma	Regular	Dendrítica
Taxa de desenvolvimento da margem	Baixa	Alta
Profundidade máxima	Próximo ao centro	Extremo (na barragem)
Sedimentos do fundo	Mais autóctone	Mais alóctone
Gradientes longitudinais	Influenciados pelo vento	Influenciados pelo fluxo
Profundidade de saída	Superfície	Fundo
Diferenças qualitativas (relativas)		
Bacia: área do lago	Menor	Maior
Tempo de retenção da água	Mais longo	Mais curto
Acoplamento com bacia	Menor	Maior
Morfometria	Em forma de U	Em forma de V
Nível de flutuações	Menor	Maior
Hidrodinâmica	Mais regular	Altamente variável
Causas dos pulsos	Natural	Operação humana
Sistema de gestão da água	Raro	Comum

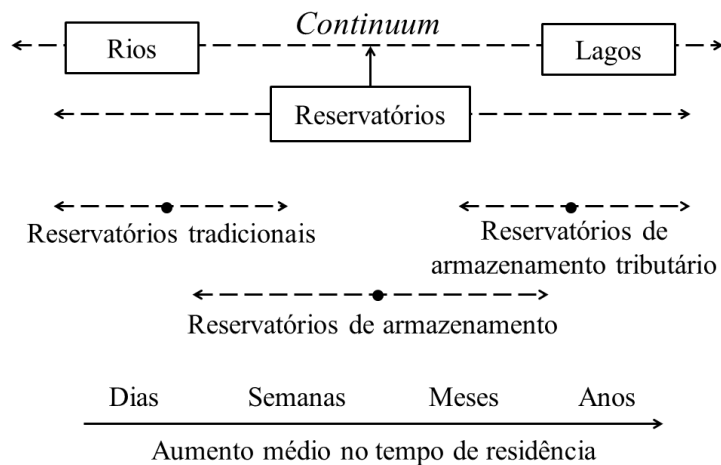


Figura 3. Representação da função dos reservatórios de acordo com a localização em um *continuum* rios-lagos (Adaptado e traduzido de Kimmel e Groeger 1984).

Dentre os reservatórios tropicais brasileiros, aqueles inseridos no Rio Tietê, na porção superior do Rio Paraná, são de porte médio. O Rio Tietê é o maior rio do estado de São Paulo, com aproximadamente 1.100 km de extensão, com nascente no município de Salesópolis e foz no Rio Paraná. Localiza-se em uma área de drenagem de seis sub-bacias hidrográficas (Alto Tietê, Sorocaba/Médio Tietê, Piracicaba-Capivari-Jundiaí, Tietê/Batalha, Tietê/Jacaré e Baixo Tietê) e apresenta confluência com o Rio Paraná. Está inserido na Bacia Hidrográfica do Rio Paraná. É um dos principais rios do Estado de São Paulo, com grande importância econômica e social (Abe et al., 2003) e o Alto Tietê é a região mais urbanizada, sofrendo grande impacto da ação humana, resultando na aceleração da eutrofização do ambiente (Esteves et al., 2007). Com o rápido aumento populacional e industrial, essa região se tornou a mais habitada e industrializada do país, exigindo aumento na demanda de energia elétrica e abastecimento de água. Dessa forma, foram construídos diversos reservatórios nesse rio.

Entre os reservatórios inseridos no Rio Tietê, podemos destacar quatro: Barra Bonita, Promissão, Nova Avanhandava e Três Irmãos (Tabela 3). Estes são utilizados para o fornecimento de energia elétrica, abastecimento de água e ambiente de recreação às populações das cidades de seu entorno.

Tabela 3. Características dos quatro reservatórios em cascata do Rio Tietê. CESP , 1998.

	Área inundada (km²)	Volume (m³x10⁶)	Início de operação
Barra Bonita	310	3.135	1963
Promissão	530	7.418	1975
Nova Avanhandava	210	2.720	1982
Três Irmãos	817	13.800	1993

Esse conjunto de usinas hidrelétricas (UHEs) forma o que é denominado cascata de reservatórios, ou seja, um complexo de reservatórios distribuídos ao longo de um mesmo rio, no caso, o Rio Tietê. Essa conformação favorece a influência do reservatório mais próximo à montante sobre os subsequentes, mais próximos à jusante. Dessa forma, a concentração de nutrientes de cada sistema varia, havendo a formação de um gradiente de estado trófico. É o caso das quatro usinas hidrelétricas supracitadas, que formam uma cascata (Barbosa et al., 1999) com nítido gradiente de estado trófico. Barra Bonita é o mais impactado devido às grandes descargas de esgoto industrial e doméstico, provenientes da cidade de São Paulo. Ao longo da cascata de reservatórios os nutrientes vão sendo retidos na biomassa de produtores primários e a qualidade da água vai melhorando, com diminuição na concentração de nutrientes, diminuição da biomassa fitoplanctônica e aumento na transparência da água (Barbosa et al., 1999).

Deste modo, o conjunto de reservatórios forma um gradiente de estado trófico de montante a jusante, e este sistema torna-se ideal para testar a resposta do metabolismo microbiano às quantidades de recursos (nutrientes e matéria orgânica) ao longo desse gradiente. Entretanto, muitos outros fatores podem influenciar a dinâmica desses sistemas, por exemplo, tempo de residência, taxas pluviométricas, abertura e fechamento das comportas da barragem, profundidade e tamanho do reservatório (Kalff, 2002).

Levando em consideração todos esses fatores e tendo em conta a escassez de estudos da dinâmica temporal do metabolismo bacteriano em sistemas tropicais, o presente trabalho pretende analisar a influência do gradiente de estado trófico ao longo do conjunto de reservatórios dispostos em cascata no Rio Tietê, conjuntamente com outros fatores ambientais (temperatura, pH, disponibilidade de nutrientes e carbono

orgânico dissolvido, clorofila *a*), sobre o metabolismo de bactérias heterotróficas (PB, RB, ECB e DCB). A análise de múltiplos fatores em sistemas tropicais, com um gradiente de estado trófico ao longo da cascata de reservatórios, deverá permitir entender quais fatores ambientais determinam o metabolismo microbiano e sua eficiência. Nossas hipóteses são que o metabolismo bacteriano responde ao gradiente de estado trófico e que os reguladores da dinâmica do metabolismo bacteriano são diferentes e atuam de formas distintas de acordo com a latitude.

Referências

- ABE, D. S. et al. Denitrification and bacterial community structure in the cascade of six reservoirs on a tropical river in Brazil. **Hydrobiologia**, v. 504, n. 1-3, p. 67-76, 2003.
- ABRIL, G. et al. Carbon dioxide and methane emissions and the carbon budget of a 10-year old tropical reservoir (Petit Saut, French Guiana). **Global Biogeochemical Cycles**, v. 19, n. 4, 2005.
- ADAMS, H. E.; CRUMP, B. C.; KLING, G. W. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 5, p. 1319-33, 2010.
- AITKENHEAD-PETERSON, J. A.; MCDOWELL, W. H.; NEFF, J. C. Sources, production, and regulation of allochthonous dissolved organic matter inputs to surface waters. p. 25-70, 2003.
- AMADO, A. M. et al. Tropical freshwater ecosystems have lower bacterial growth efficiency than temperate ones. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, 2013.
- ANDERSEN, T.; HESSEN, D. O. Carbon, nitrogen, and phosphorus content of freshwater zooplankton. **Limnology and Oceanography**, v. 36, n. 4, p. 807-814, 1991.
- ANEEL, Agência Nacional de Energia Elétrica. **Relatório de Gestão do Exercício de 2015**. Brasília, DF, p.407. 2016.
- APPLE, J. K.; DEL GIORGIO, P. A.; KEMP, W. M. Temperature regulation of bacterial production, respiration, and growth efficiency in a temperate salt-marsh estuary. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 43, p. 243-254, 2006.

- AUFDENKAMPE, A. K. et al. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, n. 1, p. 53-60, 2011.
- AZAM, F. Microbial control of oceanic carbon flux: the plot thickens. **Science**, v. 280, n. 5364, p. 694-696, 1998.
- AZAM, F. et al. The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea. **Marine Ecology Progress Series**, v. 10, n. 3, p. 257-263, 1983.
- BADE, D. L. et al. Sources and fates of dissolved organic carbon in lakes as determined by whole-lake carbon isotope additions. **Biogeochemistry**, v. 84, n. 2, p. 115-129, 2007.
- BARBOSA, F. A. R. et al. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tietê-basin, São Paulo State, Brazil. **Theoretical Reservoir Ecology and its Applications**, p. 425-437, 1999.
- BARROS, N. et al. Carbon emission from hydroelectric reservoirs linked to reservoir age and latitude. **Nature Geoscience**, v. 4, n. 9, p. 593-596, 2011.
- BERGGREN, M.; LAUDON, H.; JANSSON, M. Aging of allochthonous organic carbon regulates bacterial production in unproductive boreal lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 54, n. 4, p. 1333-1342, 2009.
- BERGGREN, M. et al. Nutrient constraints on metabolism affect the temperature regulation of aquatic bacterial growth efficiency. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 4, p. 894-902, 2010.
- BERGSTROM, A.; JANSSON, M. Bacterioplankton production in humic lake Ortrasket in relation to input of bacterial cells and input of allochthonous organic carbon. **Microbial Ecology**, v. 39, n. 2, p. 101-115, 2000.

- BERMAN, T. et al. Estimation of long-term bacterial respiration and growth efficiency in Lake Kinneret. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 71, n. 3, p. 351-63, 2010.
- BERTILSSON, S. et al. Links between bacterial production, amino-acid utilization and community composition in productive lakes. **ISME Journal**, v. 1, n. 6, p. 532-44, 2007.
- BERTILSSON, S.; JONES, J. B. **Supply of dissolved organic matter to aquatic ecosystems**. p. 3-24, Ed.: Stuart E.G. Findlay and Robert L. Sinsabaugh. 2003.
- BIDDANDA, B.; OGDahl, M.; COTNER, J. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 3, p. 730-739, 2001.
- BROWN, J. H. et al. Toward a metabolic theory of ecology. **Ecology**, v. 85, n. 7, p. 1771-1789, 2004.
- CALLIERI, C.; STOCKNER, J. G. Freshwater autotrophic picoplankton: a review. **Journal of Limnology**, v. 61, n. 1, p. 1, 2002.
- CAMMACK, W. L. et al. Fluorescent dissolved organic matter in lakes: relationships with heterotrophic metabolism. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 6, p. 2034-2045, 2004.
- CARLSON, C.; DEL GIORGIO, P.; HERNDL, G. Microbes and the dissipation of energy and respiration: from cells to ecosystems. **Oceanography**, v. 20, n. 2, p. 89-100, 2007.
- CESP, **Programa de gerenciamento de reservatórios: monitoramento de qualidade da água nos reservatórios da CESP 1986 – 1996**. São Paulo, p.67. 1998.

- CHRÓST, R.; KOTON, M.; SIUDA, W. Bacterial secondary production and bacterial biomass in four Mazurian lakes of differing trophic status. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 9, n. 4, p. 255-266, 2000.
- CIMBLERIS, A. C.; KALFF, J. Planktonic bacterial respiration as a function of C: N: P ratios across temperate lakes. **Hydrobiologia**, v. 384, n. 1-3, p. 89-100, 1998.
- COLE, J. J. et al. Plumbing the global carbon cycle: integrating inland waters into the terrestrial carbon budget. **Ecosystems**, v. 10, n. 1, p. 172-185, 2007.
- COTNER, J. B.; BIDDANDA, B. A. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. **Ecosystems**, v. 5, p. 105-121, 2002.
- COTNER, J. B.; HALL, E. K.; SCOTT, J. T.; HENDAL, M. Freshwater bacteria are stoichiometrically flexible with a nutrient composition similar to seston. **Frontiers in Microbiology**. 2010.
- DAVIS, J. A.; BOYD, C. E. Concentrations of selected elements and ash in bluegill (*Lepomis macrochirus*) and certain other freshwater fish. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 107, n. 6, p. 862-867, 1978.
- DEL GIORGIO, P. A.; COLE, J. J. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. **Annual Review of Ecology and Systematics**, p. 503-541, 1998.
- DEL GIORGIO, P. A.; COLE, J. J.; CIMBLERIS, A. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems. **Nature**, v. 385, n. 6612, p. 148-151, 1997.
- DOMINGUES, C. D. et al. Microbial food-web drivers in tropical reservoirs. **Microbial Ecology**, Nov 29 2016.

- DOWNING, J. A. et al. The impact of accelerating land-use change on the N-Cycle of tropical aquatic ecosystems: Current conditions and projected changes. **Biogeochemistry**, v. 46, n. 1-3, p. 109-148, 1999.
- ELSER, J. J.; HASSETT, R. P. A stoichiometric analysis of the zooplankton–phytoplankton interaction in marine and freshwater ecosystems. **Nature**, v. 370, n. 6486, p. 211-213, 1994.
- ESTEVEZ, K. E.; LOBO, A. V. P.; FARIA, M. D. R. Trophic structure of a fish community along environmental gradients of a subtropical river (Paraitinga River, Upper Tietê River Basin, Brazil). **Hydrobiologia**, v. 598, n. 1, p. 373-387, 2007.
- GEORGE, N. B. **Nutrient stoichiometry of piscivore-planktivore interactions in two whole-lake experiments**. 1994. (Master). The University of Texas at Arlington, Texas.
- GODWIN, C. M.; COTNER, J. B. Aquatic heterotrophic bacteria have highly flexible phosphorus content and biomass stoichiometry. **ISME Journal**, v. 9, p. 2324-2327.
- GUILLEMETTE, F.; LEIGH MCCALLISTER, S.; DEL GIORGIO, P. A. Selective consumption and metabolic allocation of terrestrial and algal carbon determine allochthony in lake bacteria. **ISME Journal**, v. 10, n. 6, p. 1373-82, 2016.
- GUILLEMETTE, F.; MCCALLISTER, S. L.; DEL GIORGIO, P. A. Differentiating the degradation dynamics of algal and terrestrial carbon within complex natural dissolved organic carbon in temperate lakes. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 118, n. 3, p. 963-973, 2013.
- HEALEY, F. P.; HENDZEL, L. L. Indicators of Phosphorus and Nitrogen Deficiency in Five Algae in Culture. **Journal of the Fisheries Research Board of Canada**, v. 36, p. 1364-1369, 1979.

- HESSEN, D. O. Carbon, nitrogen and phosphorus status in *Daphnia* at varying food conditions. **Journal of Plankton Research**, v. 12, n. 6, p. 1239-1249, 1990.
- HESSEN, D. O.; LYCHE, A. Inter- and intraspecific variations in zooplankton element composition. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 121, n. 3, p. 343-353, 1991.
- HOLLIBAUGH, J. T.; FUHRMAN, J. A.; AZAM, F. Radioactively labeling of natural assemblages of bacterioplankton for use in trophic studies1. **Limnology and Oceanography**, v. 25, n. 1, p. 172-181, 1980.
- JANSSON, M. et al. Links between Terrestrial Primary Production and Bacterial Production and Respiration in Lakes in a Climate Gradient in Subarctic Sweden. **Ecosystems**, v. 11, n. 3, p. 367-376, 2008.
- JUGNIA, L.-B.; SIME-NGANDO, T.; DEVAUX, J. Relationship between bacterial and primary production in a newly filled reservoir: temporal variability over 2 consecutive years. **Ecological Research**, v. 22, n. 2, p. 321-330, 2006.
- KALFF, J. Reservoirs. In: KALFF, J. (Ed.). **Limnology: inland water ecosystems**. New Jersey: Prentice Hall, v.592, 2002
- KIMMEL, B. L.; GROEGER, A. W. Factors controlling primary production in lakes and reservoirs: a perspective. **Lake and Reservoir Management**, v. 1, n. 1, p. 277-281, 1984.
- KRITZBERG, E. S. et al. Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs? **Aquatic Microbial Ecology**, v. 38, n. 2, p. 103-111, 2005.
- KYLE, M. **Stoichiometry of carbon, nitrogen and phosphorus in *Pseudomonas fluorescens***. 1994. (Master). The University of Texas at Arlington, Texas.

- LEWIS, W. M. Tropical lakes: how latitude makes a difference. **Perspectives in tropical limnology**, p. 43-64, 1996.
- LEWIS, W. M. J. Tropical limnology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, n. 1, p. 159-184, 1987.
- MORANA, C. et al. Production of dissolved organic matter by phytoplankton and its uptake by heterotrophic prokaryotes in large tropical lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 59, n. 4, p. 1364-1375, 2014.
- PENCZAK, T. Phosphorus, nitrogen, and carbon cycling by fish populations in two small lowland rivers in Poland. **Hydrobiologia**, v. 120, n. 2, p. 159-165, 1985.
- POMEROY, L. R. The ocean's food web, a changing paradigm. **BioScience**, v. 24, n. 9, p. 499-504, 1974.
- PRÉSING, M. et al. Relative nitrogen deficiency without occurrence of nitrogen fixing blue-green algae in a hypertrophic reservoir. **Developments in Hydrobiology**, v. 119, p. 55-61, 1997.
- RAM, A. S. et al. Phage bacteriolysis, protistan bacterivory potential, and bacterial production in a freshwater reservoir: coupling with temperature. **Microbial Ecology**, v. 50, n. 1, p. 64-72, 2005.
- RAM, A. S. et al. Viral regulation of prokaryotic carbon metabolism in a hypereutrophic freshwater reservoir ecosystem (Villerest, France). **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 81, 2016.
- RAM, A. P. et al. Viral and grazer regulation of prokaryotic growth efficiency in temperate freshwater pelagic environments. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 2, p. 1-12, 2015.

- RAM, A. S. et al. Variable viral and grazer control of prokaryotic growth efficiency in temperate freshwater lakes (French Massif Central). **Microbiology Ecology**, v. 66, n. 4, p. 906-16, 2013.
- REDFIELD, A. C. The biological control of chemical factors in the environment. **American Scientist**, v. 46, n. 3, p. 205-221, 1958.
- RIVKIN, R. B.; LEGENDRE, L. Biogenic carbon cycling in the upper ocean: effects of microbial respiration. **Science**, v. 291, n. 5512, p. 2398-400, 2001.
- ROBARTS, R. D. et al. The coupling of heterotrophic bacterial and phytoplankton production in a hypertrophic, shallow prairie lake. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 51, n. 10, p. 2219-2226, 1994.
- ROBARTS, R. D.; WICKS, R. J. Heterotrophic bacterial production and its dependence on autotrophic production in a hypertrophic African reservoir. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 5, p. 1027-1037, 1990.
- RUDD, J. W. M. et al. Are hydroelectric reservoirs significant sources of greenhouse gases? **Ambio**, v. 22, n. 4, p. 246-248, 1993.
- SARMENTO, H. New paradigms in tropical limnology: the importance of the microbial food web. **Hydrobiologia**, v. 686, n. 1, p. 1-14, 2012.
- SARMENTO, H. et al. Warming effects on marine microbial food web processes: how far can we go when it comes to predictions? **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences**, v. 365, n. 1549, p. 2137-49, 2010.

- SCHINDLER, D. W. et al. Eutrophication of lakes cannot be controlled by reducing nitrogen input: results of a 37-year whole-ecosystem experiment. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, v. 105, n. 32, p. 11254-8, 2008.
- SEGOVIA, B. T. et al. Coupling between heterotrophic nanoflagellates and bacteria in fresh waters: does latitude make a difference? **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 114, 2016.
- SIMON, M.; CHO, B. C.; AZAM, F. Significance of bacterial biomass in lakes and the ocean: comparison to phytoplankton biomass and biogeochemical implications **Marine Ecology Progress Series**, v. 86, p. 103-110, 1992.
- SIMON, M.; TILZER, M. M. Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance. **Journal of Plankton Research**, v. 9, n. 3, p. 535-552, 1987.
- SMITH, E. M.; PRAIRIE, Y. T. Bacterial metabolism and growth efficiency in lakes: the importance of phosphorus availability. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 1, p. 137-147, 2004.
- ST. LOUIS, V. L. et al. Reservoir surfaces as sources of greenhouse gases to the atmosphere: a global estimate. **BioScience**, v. 50, n. 9, p. 766, 2000.
- STERNER et al. Carbon:phosphorus stoichiometry and food chain production. **Ecology Letters**, v. 1, n. 3, p. 146-150, 1998.
- STRASKRABA, M. Ecotechnological methods for managing non-point source pollution in watersheds, lakes and reservoirs. **Water Science and Technology**, v. 33, n. 4-5, p. 73-80, 1996.
- TRANVIK, L. J. et al. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. **Limnology and Oceanography**, v. 54, n. 6, p. 2298-2314, 2009.

- TULONEN, T. Bacterial production in a mesohumic lake estimated from [¹⁴C] leucine incorporation rate. **Microbial Ecology**, v. 26, n. 3, p. 201-217, 1993
- TUNDISI, J. G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. Represas artificiais. In: TUNDISI, J. G. e MATSUMURA-TUNDISI (Ed.). **Limnologia**. São Paulo: Oficina de textos, 2008. cap. 12, p.317-354.
- VADSTEIN, O. et al. Growth and phosphorus status of limnetic phytoplankton and bacteria. **Limnology and Oceanography**, v. 33, n. 4, p. 489-503, 1988
- VANNOTE, R. L. et al. The river *continuum* concept. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 37, n. 1, p. 130-137, 1980.
- VÁZQUEZ-DOMÍNGUEZ, E.; VAQUÉ, D.; GASOL, J. M. Ocean warming enhances respiration and carbon demand of coastal microbial plankton. **Global Change Biology**, v. 13, n. 7, p. 1327-1334, 2007.
- VIDAL, L. O. et al. Hydrological pulse regulating the bacterial heterotrophic metabolism between Amazonian mainstems and floodplain lakes. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1054, 2015.
- WHITE, P. A. et al. The effect of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth rate in freshwater and marine habitats. **Microbial Ecology**, v. 21, n. 1, p. 99-118, 1991.
- ZLOTNIK, I.; DUBINSKY, Z. The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, v. 34, n. 5, p. 831-839, 1989.

Capítulo II

Environmental drivers of bacterial metabolism in tropical reservoir

Introduction

Heterotrophic bacteria play an important role in aquatic ecosystems carbon cycle producing carbon dioxide (CO₂) through respiration of the organic matter. They are the main decomposers of organic matter and incorporate DOC into biomass through secondary production (Cole et al., 1994; Del Giorgio e Cole, 1998). Moreover, this carbon becomes bioavailable for the aquatic trophic web through the microbial loop (Azam et al., 1983).

Earlier studies argued that bacteria are more effective than phytoplankton in absorbing nutrients in oligotrophic conditions due to high surface-to-volume ratio. For this reason bacteria comprise a high percentage of community metabolism in low nutrient conditions (Biddanda et al., 2001; Cotner e Biddanda, 2002). However, in more productive environments bacterial metabolic rates are comparatively lower than phytoplankton (Cole et al., 1988; Sanders et al., 1992; Simon e Rosenstock, 1992).

Several environmental factors may affect bacterial metabolism. There is a consensus that temperature is the main regulator of bacterial metabolism (e.g. White et al., 1991; Kamjunke et al., 2016). Concurrently with organic matter quality and availability, temperature regulates BP and BGE in temperate ecosystems, when the whole year cycle is considered (Apple et al., 2006). For this reason bacterioplankton in tropical regions is expected to have comparatively higher metabolic rates than in temperate regions (Lewis, 1987; Sarmiento, 2012; Amado et al., 2013).

Besides temperature, bacterial metabolism may be regulated by inorganic nutrients and/or organic carbon quantity and quality (Berggren et al., 2010; Scofield et al., 2015; Sarmiento et al., 2016). Allochthonous organic carbon inputs, phytoplankton

and macrophytes are the main carbon source in reservoirs (Fearnside, 2005). Phytoplankton is a major pool of autochthonous organic carbon that fuel bacterial metabolism (Simon et al. 1992). High light and low nutrient availability enhance phytoplankton extracellular organic carbon release, which is easily assimilated by heterotrophic bacteria (Morana et al 2014). For example, in boreal regions, external C inputs contributed to heterotrophic bacteria biomass and BR (Guillemette et al., 2016). In turn, subarctic systems BP and BGE increased due to combination of both allochthonous and algal carbon (Roiha et al., 2016). These results corroborate the “priming effect”, where algal labile components promote bacterial degradation of terrestrial recalcitrant DOC (Guenet et al., 2013; Hotchkiss et al., 2014; Guillemette et al., 2016). Also, DOC degradation patterns vary according nutrient availability and trophic state (Guillemette et al 2013). On the other hand, in environments in which respiration exceeds primary production, terrestrial carbon sources may complement bacterial metabolism (Fonte et al, 2013).

Tropical inland waters are responsible for a substantial share of CO₂ emissions to atmosphere (e.g. Aufdenkampe et al., 2011; Abril et al., 2014; Marotta et al., 2014; Borges et al., 2015). Previous studies have argued that artificial reservoirs located in tropical regions have particularly high greenhouse gas emissions (Tranvik et al., 2009; Barros et al., 2011; Raymond et al., 2013). Possible causes for these high emissions at low latitudes are high heterotrophic respiration rates, which are enhanced by high temperature (Kosten et al., 2010; Amado et al., 2013; Marotta et al., 2014) and inputs of allochthonous carbon sources that fuel microbial metabolism (Cole et al., 1994; Del Giorgio e Peters, 1994; Jugnia et al., 2006). However, a comprehensive study enlightening the environmental factors that drive bacterial metabolism in tropical

regions, where temperature is permanently high and the seasonal dynamics is dictated by the rainfall regime, is still lacking.

Given the relevance of tropical inland waters, especially reservoirs, to global carbon emissions it is important to elucidate which environmental factors drive bacterial metabolism in low latitudes, where temperature and light throughout the year is high and the seasonal dynamics is governed by the rainfall regime. Therefore, the aim of this study was to quantify bacterial metabolism and the concomitant limnological parameters in four tropical cascading reservoirs forming a trophic state gradient during one year, in order to elucidate the drivers of bacterial metabolism seasonal variation in low latitudes. We used regression models to determine which factors drove bacterial metabolism variables (BP, BR, BGE and BCD). We hypothesize that (1) bacterial metabolic rates are high throughout the year and respond to the trophic state gradient, and (2) the environmental drivers of bacterial metabolism in tropical regions act differently from those reported in temperate systems, as seasonality indicators are different.

Materials and methods

Study area and sampling

Samples were taken in four cascading reservoirs in the Tietê River: Barra Bonita (BB) (22° 32.648' S 048° 27.97' W), Promissão (PR) (21° 19.123' S 049° 44.724' W), Nova Avanhandava (NO) (21° 06.455' S 050° 10.954 W) and Três Irmãos (TI) (20° 40.110' S 051° 16.855' W), located in the Paraná River basin, in São Paulo State (Brazil) (Fig. 1), every two months, from May 2015 to March 2016. The Tietê River crosses the city of São Paulo upstream with high nutrient inputs, and flows inland

towards the Paraná River passing through a series of cascading reservoirs. During this 700 km course the nutrient charge decreases and, consequently, water quality improves, forming a decreasing trophic state gradient (Barbosa et al., 1999).

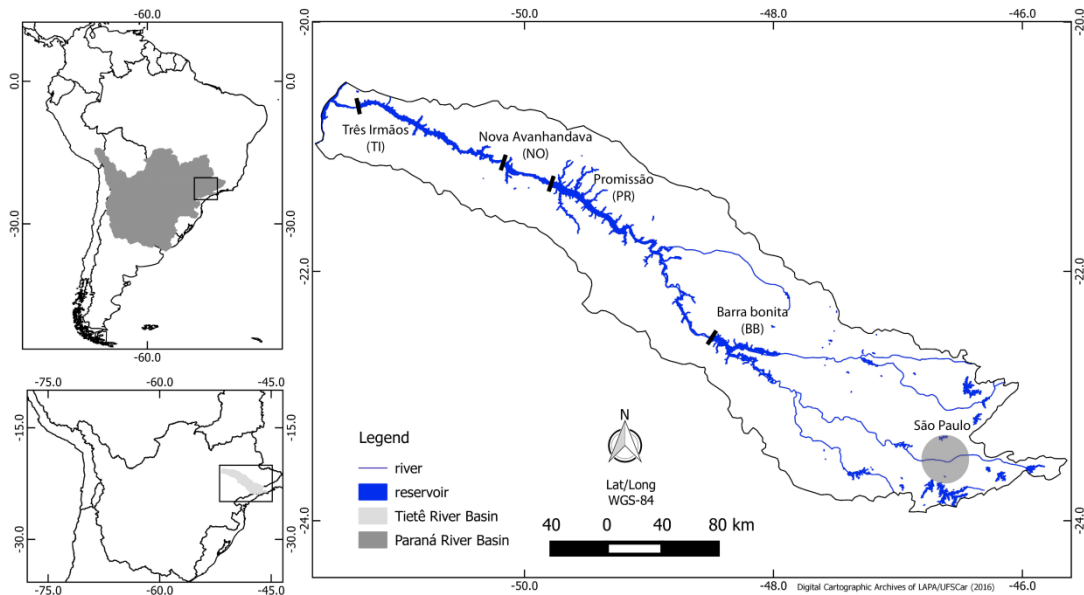


Fig. 1. Location of the Tietê River in the Paraná River basin, with the four reservoirs studied.

Water samples were collected using Van Dorn bottle at subsurface and kept in 20 L carboys, and 500 mL to 1 L of water was filtered, in field, through a glass-fiber filter (GF/F, 47 mm diameter) for chlorophyll *a* (Chla) concentration, DOC and nutrient analyses.

Environmental variables

Limnological parameters such as pH and water temperature were recorded *in situ* with a multiparameter probe YSI 6600 V2 (YSI, Yellow Springs, OH, USA). Dissolved and total organic carbon was obtained in a Shimadzu TOC-V cph Analyser. Nutrients (nitrate, nitrite, ammonium and soluble reactive phosphorus) were quantified in an Ion Chromatography System-Dionex ICS – 1100 (Thermo Scientific). Carbohydrates were obtained with phenol sulphuric method (Dubois et al. 1956).

Euphotic zone (Zeu), corresponding to depth of 1% the incident light, was determined using an underwater photosynthetically active radiation (PAR) sensor (Li-cor Model LI-250 Light Meter). Chla was extracted in 90% ethanol at 80°C (Marker, 1980; Nush, 1980) and quantified in a spectrophotometer (Lorenzen, 1967).

For particulate organic carbon (POC) and particulate organic nitrogen (PON) in the seston, water was filtered through previously carbonized GF/F filters. Half of the filter was used on the CHN TruSpec Micro analyzer (Leco®), following instructions of manufacturer. Pretreatment consisted in maintaining filters on oven for 24h, at approximately 50° C and exposed to HCl fume for removal of inorganic carbon. The other half of the filter was used for particulate organic phosphorus (POP) analysis, by colorimetric quantification after a digestion with potassium persulfate as described in Mackereth et al. (1978).

Residence time (RT) was obtained using the following equation:

$$RT = V / q \quad (1)$$

where V is the reservoir volume (m³) and q is tributaries inflow (m³ d⁻¹). Hydrological and meteorological data were gently provided by the Agência Nacional de Águas (Ana, 2016) and the Instituto Nacional de Meteorologia (INMET, 2016), respectively.

Metabolic rates

Incubations were performed in the field, immediately after water sampling. BP was estimated by H³-leucine incorporation method (Kirchman et al., 1985), in four replicates and two dead controls incubated at dark and *in situ* temperature for 1,5 hours

with 40 nM (final concentration) of H³-leucina. The incubations were stopped with 5% final concentration trichloroacetic acid (TCA). A carbon:protein conversion factor of 0,86 was used (Simon e Azam, 1989).

For BR, approximately 500 mL of water was filtered through 3 µm pore size polycarbonate membrane (37 mm diameter) discarding the first 100 mL for rinsing the filter. From these, 50 mL of water was gently dispensed in four replicate previously carbonized glass flasks, and incubated in the dark, at *in situ* temperature. Dissolved oxygen was measured in each flask at T0 = initial time, T1 ~ 2h, T2 ~ 6h and T3 ~ 10h, using an O₂ optical fiber micro-optode (Unisense©, Aarhus, Denmark) (Briand et al., 2004). BR rates were transformed to carbon units using a respiratory coefficient of 1 (Del Giorgio e Cole, 1998).

BGE and BCD were obtained according to the following equations:

$$\text{BGE} = \text{BP} / (\text{BP} + \text{BR}) \quad (2)$$

$$\text{BCD} = \text{BP} + \text{BR} \quad (3)$$

Statistical analyses

In order to achieve a normal distribution, Chl_a, DOC, RT, Zeu, nitrite and soluble reactive phosphorus data were log-transformed. For multiple regression analysis, environmental variables were tested for covariance. The lowest value of Akaike Information Criterion (AIC) index was used to generate the best multiple regression models for each metabolic variable (BP, BR, BGE and BCD). Also, a correlation matrix was made between biological parameters and environmental parameters. All statistical analyses were performed in R version 3.3.1 (R Development Core Team, 2016).

Results

The lowest water temperatures were observed during the dry season (May 2015 and July 2015), and the highest during the rainy season (January 2016 and March 2016), as expected for this region (Fig. 3A). Retention times (RT) decreased towards the end of the study period (Fig. 3B) and varied among reservoirs (Fig. 4B).

Chla registered higher values in March 2016, after the major rain events (Fig. 3C). As expected, *Zeu* increased with oligotrophy along the reservoir cascade (Fig. 4D). A similar trend was observed in DOC that increased in the rainy season (Fig. 3E) and was higher in most eutrophic systems, declining along the trophic state gradient (Fig. 4E).

Table 1: Mean, minimum and maximal values of environmental parameters and bacterial metabolism variables measured in the four reservoirs studied (BB: Barra Bonita; PR: Promissão; NO: Nova Avanhandava; TI: Três Irmãos).

Parameters	BB			PR			NO			TI		
	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max	Min	Mean	Max
Area (km ²)		310			530			210			817	
Volume (10 ⁹ m ³)		3.14			7.42			2.72			13.80	
Beginning of operation year		1963			1975			1982			1993	
Temperature (°C)	20.24	24.95	27.79	22.01	26.17	29.81	22.62	26.5	28.99	22.95	27.05	29.54
pH	6.80	7.48	8.00	7.46	8.38	9.00	7.01	8.47	9.50	7.26	8.01	9.20
Residence time (d)	31.48	99.76	179.64	35.73	143.25	283.65	13.13	48.80	104.79	63.61	357.71	1000.52
Average influx (m ³ s ⁻¹)	201.98	553.64	1152.54	302.27	971.62	2399.90	300.41	1013.48	2397.22	159.64	1006.61	2511.11
Euphotic zone (m)	1.42	2.86	4.83	3.3	4.10	5.40	3.64	5.22	7.40	5.41	9.92	14.27
Secchi disk (m)	0.30	1.35	3.80	0.90	1.28	1.60	1.00	1.47	1.90	1.80	4.22	7.60
Chlorophyll <i>a</i> (µg L ⁻¹)	1.68	33.16	76.31	7.99	19.93	43.58	4.59	13.63	26.41	0.82	4.91	11.35
Carbohydrates (mg L ⁻¹)	1.85	3.18	4.78	1.37	1.83	2.26	1.45	2.03	2.50	0.96	1.56	1.85
Dissolved organic carbon (µgC L ⁻¹)	7.75	10.84	21.67	5.13	6.22	8.65	5.28	6.12	7.39	4.09	4.88	5.46
Particulate organic carbon (mgC L ⁻¹)	0.8	7.8	28.1	1.7	3.23	4.9	1.04	2.7	5.21	0.5	1.51	3.65
Particulate organic nitrogen (mgN L ⁻¹)	0.2	1.83	6.14	0.53	0.89	1.3	0.21	0.65	1.04	0.09	0.32	0.74
Particulate organic phosphorus (mgP L ⁻¹)	0.08	0.14	0.25	0.03	0.06	0.08	0.02	0.05	0.08	0.08	0.03	0.60
C:N atomic ratio	3.60	4.88	6.10	2.42	4.41	6.68	3.24	4.83	6.00	4.41	5.85	7.89
C:P atomic ratio	20.23	115.11	295.63	106.36	153.48	261.26	58.88	150.11	336.56	68.71	148.60	244.77
N:P atomic ratio	3.97	23.89	55.41	15.92	38.57	59.92	9.81	31.73	57.78	10.58	27.68	52.76
Dissolved inorganic nitrogen (µg L ⁻¹)	1.70	2.73	4.46	0.15	0.35	0.59	0.00	0.26	0.63	0.01	0.06	0.13
Soluble reactive phosphorus (µg L ⁻¹)	8.45	49.18	109.21	1.21	4.86	13.73	1.24	4.04	9.04	1.57	9.02	28.90
Bact. abundance (10 ⁶ mL ⁻¹)	1.91	5.79	10.34	4.96	6.58	9.44	6.34	7.38	8.37	1.99	3.70	6.56
Bact. production (µgC l ⁻¹ h ⁻¹)	0.21	1.25	3.03	0.42	1.26	2.62	0.32	0.99	2.16	0.04	0.77	3.27
Bact. respiration (µgC L ⁻¹ h ⁻¹)	5.83	17.04	29.29	12.19	30.30	50.06	14.63	23.16	37.01	13.96	31.61	46.73
Bact. growth efficiency (%)	1.65	6.26	11.93	1.62	4.33	7.95	1.60	4.27	9.45	0.10	2.36	8.73
Bact. carbon demand (µgC L ⁻¹ h ⁻¹)	6.23	18.29	31.23	12.61	31.56	50.89	15.09	24.15	37.95	14.09	32.38	46.84
Bact. specific growth rate (d ⁻¹)	0.21	0.55	1.14	0.23	0.49	0.95	0.13	0.39	1.00	0.07	0.47	1.58
Bact. turnover rate (d)	0.61	1.65	3.38	0.73	1.74	3.04	0.69	2.85	5.29	0.44	3.89	9.58

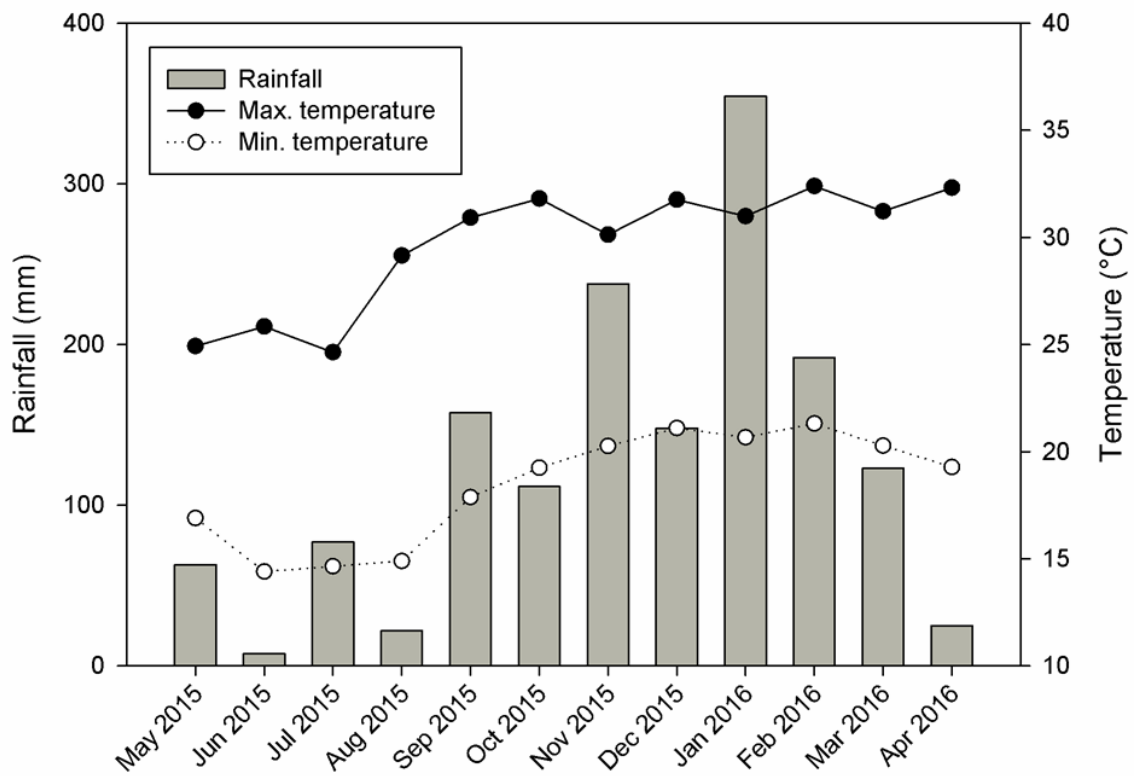


Fig. 2. Monthly accumulated precipitation and mean air temperature (minimum and maximum) in Barra Bonita during the study period (INMET, 2016)

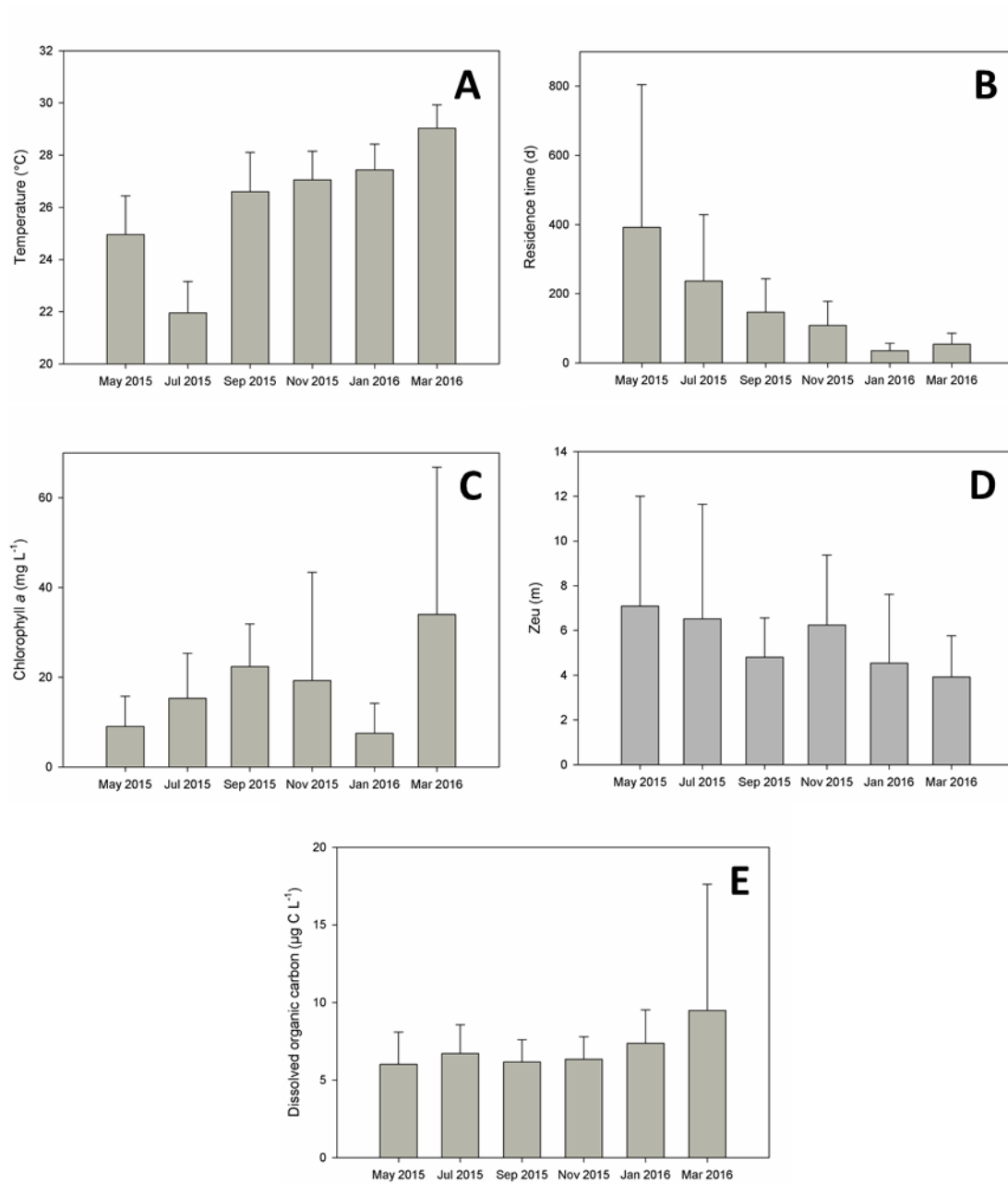


Fig. 3. Mean and standard deviation of the main environmental variables by sampling month. A: temperature; B: residence time; C: chlorophyll *a*; D: euphotic zone; E: dissolved organic carbon

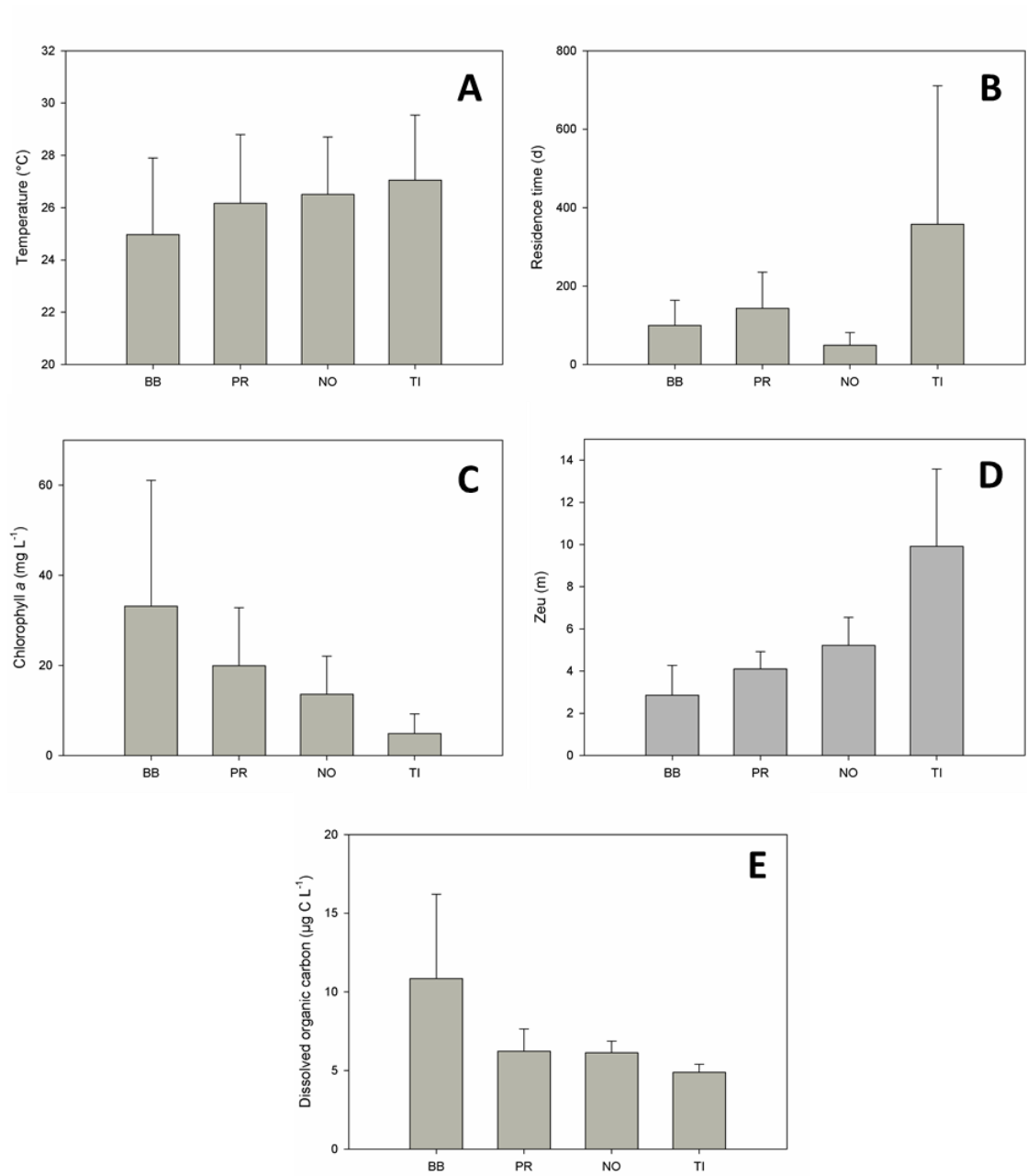


Fig. 4. Mean and standard deviation of the main environmental variables by reservoir. Barra Bonita: BB; Promissão: PR; Nova Avanhandava: NO; Três Irmãos: TI. A: temperature; B: residence time; C: chlorophyll *a*; D: euphotic zone; E: dissolved organic carbon

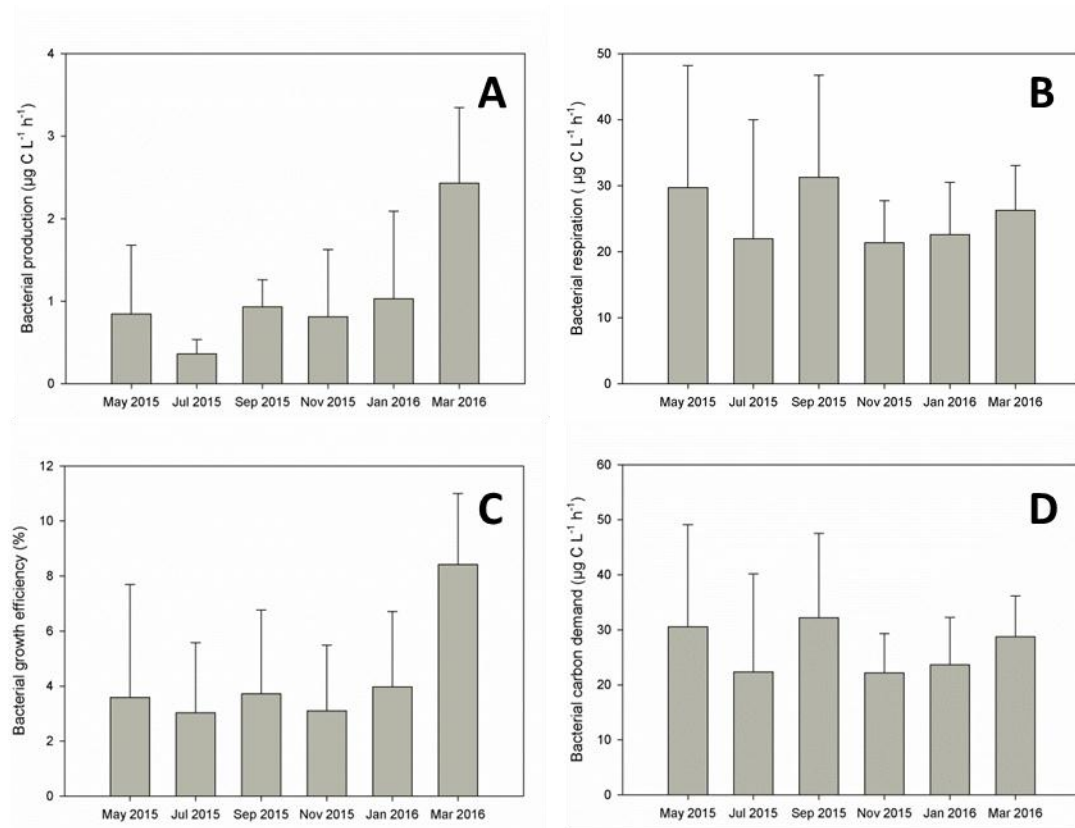


Fig. 5. Mean and standard deviation of the main biotic variables among reservoirs by sampling month. A: bacterial production; B: bacterial respiration; C: bacterial growth efficiency; D: bacterial carbon demand

BP and BGE varied along the study period, both increasing in March 2016, just after the major rain events (Fig. 5A and 5C). In turn, both BR and BCD had no clear pattern throughout the year (Fig. 5B and 5D). Furthermore, a large proportion of the BCD was accounted by BR and a small portion of BCD was incorporated into biomass (BP). BP, BGE and bacterial specific growth rate decreased with increasing oligotrophy (Fig. 6A and 6C, Table 1). On the other hand, BR, BCD and bacterial turnover rate tended to increase in the same trophic state gradient (Fig. 6B and 6D, Table 1). Other pattern observed was that BP tended to be higher at high temperatures, and declined during the cooler dry season (Fig 5A).

Significant correlations between bacterial abundance or metabolism and environmental variables are listed in Table 2. BP were positively correlated to *Chla* and carbohydrates and inversely correlated to residence time. Being part of the seston, bacterial abundance was correlated to POC, PON and all sestonic elemental ratios. BP was also correlated to temperature. The only variable that correlated to BR was DOC (negative correlation).

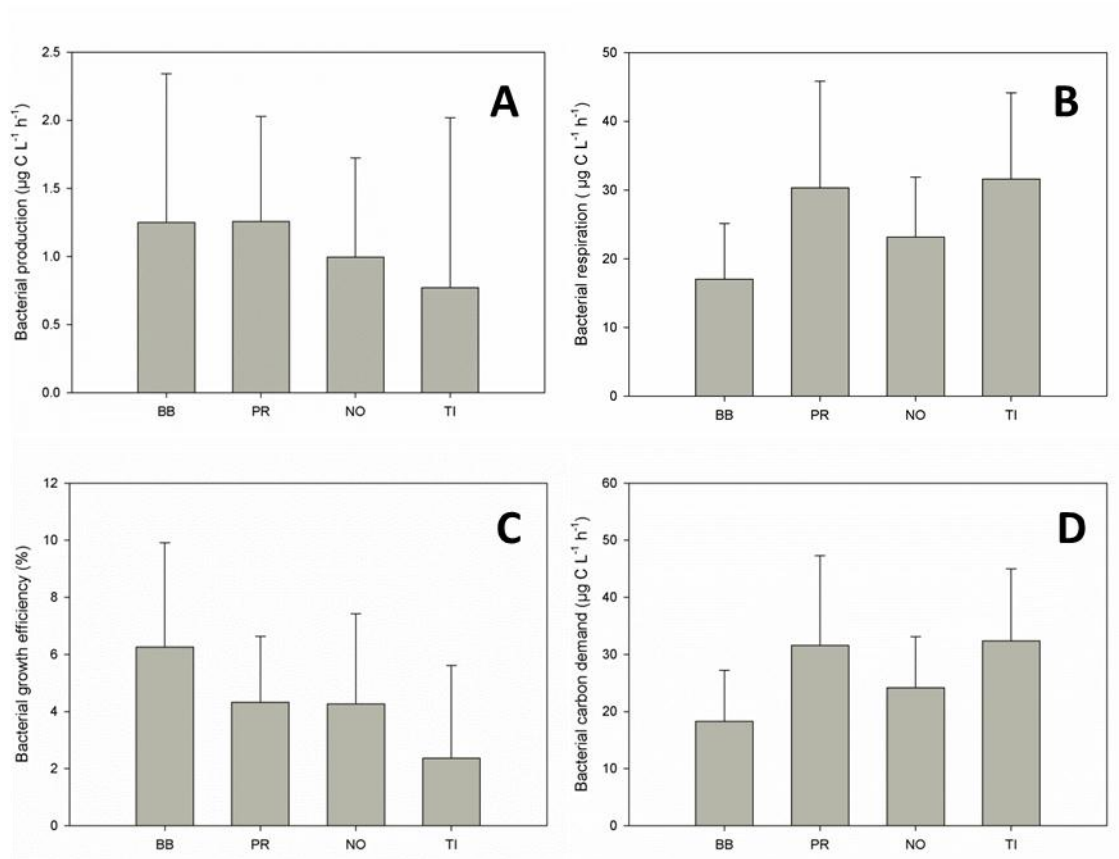


Fig. 6. Mean and standard deviation of the main biotic variables by reservoir. Barra Bonita: BB; Promissão: PR; Nova Avanhandava: NO; and Três Irmãos: TI. A: bacterial production; B: bacterial respiration; C: bacterial growth efficiency; D: bacterial carbon demand

The selected multiple regression models (Table 3) indicated variations in bacterial metabolism that were explained by distinct environmental variables. A model with Zeu and temperature as predictive variables explained 61% of BP variance. Both BR and BDC had DOC as the main environmental driver, accounting alone for 35% and 34% of their variation, respectively. The best predictors for BGE were *Chla*, nitrate and temperature, and the model explained 47% of its variance. According to the regression coefficients, temperature had relatively low or no influence on BP and BGE, respectively (Table 2 and Table 3).

C:N atomic ratios in the seston indicated that N was not a limiting factor for phytoplankton in all reservoirs studied during the study period (Fig. 7). However, P limitation was frequent, mainly in oligotrophic reservoirs (Nova Avanhandava and Três Irmãos). In March 2016 all reservoirs were P limited, when the rains started to decrease after the major rainy period in January 2016.

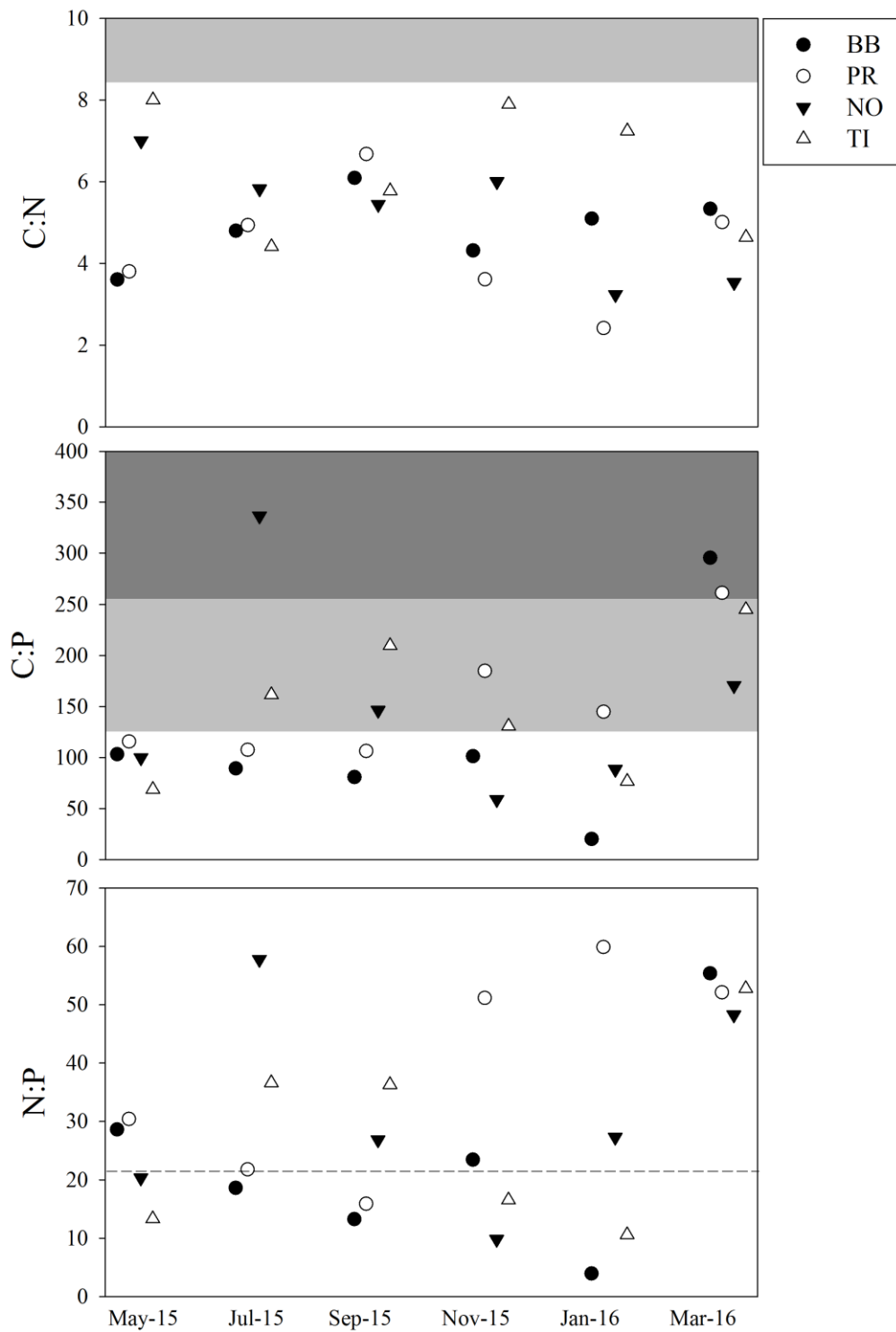


Fig. 7. C:N:P atomic ratios from each reservoir. Dark grey corresponds to extreme nutrient limitation, light grey to moderate nutrient limitation and white, no nutrient limitation. Dashed line indicates N or P limitation threshold, based in Healey and Hendzel (1980).

Table 2. Correlation matrix and significance values between environmental parameters and bacterial metabolism variables (* <0.05; ** <0.001; *** <0.0001; log transformed data, excepting BGE; outlier removed Barra Bonita reservoir from March 2016).

	Bacterial abundance	BP	BR	BGE	SGR
Bacterial abundance	-	0.70***		0.56**	
BP	0.70***	-		0.79***	0.86***
BR			-		
BGE	0.56**	0.79***		-	0.70***
SGR		0.86***		0.70***	-
Temperature		0.44*			
Residence time	-0.43*	-0.54**			
Average influx		0.44*			0.45*
Zeu		-0.61**		-0.46*	-0.52*
Chlorophyll <i>a</i>	0.73***	0.52*			
Carbohydrates	0.45*	0.47*		0.46*	
DOC			-0.59**		
C:P	0.45*				
N:P	0.49*				
POC	0.65***				
PON	0.67***	0.46*			

Table 3. Multiple regressions coefficients (β) and intercept (β_0) of the best models for bacterial respiration (BR), bacterial production (BP), bacterial growth efficiency (BGE) and bacterial carbon demand (BCD).

Best model		$\beta_{\log D}$	$\beta_{\log Z}$	$\beta_{\log C}$	$\beta_{\log Nitr}$	β_{Te}	β_0	r^2	p	F statistic	AIC
		OC	eu	hla	ate	mp					
Log BR	logDOC	-1.29					2.38	0.3	3.08×10^{-3}	11.18 (2,21)	-6.78
Log BP	logZeu, Temp		-			0.0	-	0.6	4.28×10^{-3}	16.87 (2,21)	16.8
			1.21			8	1.54	2	10^{-3}		9
BGE	logChla, logNitrate, Temp			2.04	1.92	0.5	-	0.4	4.37×10^{-3}	5.99 (2,21)	118.
						5	12.3	7	10^{-3}		12
BCD	logDOC	-70.3					82.3	0.3	3.71×10^{-3}	10.65 (2,21)	178.
							3	4	10^{-3}		21

Discussion

A large number of studies related bacterial metabolism with environmental variables, however, most of them were carried out in mid-high latitudes and analyzed a restricted number of variables, or only one metabolic parameter (only BP or only BR) (Amado et al. 2013). In this study we followed bacterial metabolism during one complete year cycle, contrasting with most reports that cover a specific period of the year, usually mid latitude summer, when aquatic systems are thermally stratified (e.g. Cimbliris e Kalff, 1998; Chróst et al., 2000; Cammack et al., 2004; Smith e Prairie, 2004; Kritzberg et al., 2005).

All variables (environmental and biotic) confirmed the trophic state gradient formed by the cascading reservoirs, from the most eutrophic BB (higher Chl*a*, lower Zeu, and higher DOC) to the oligotrophic TI (lower Chl*a*, higher Zeu, and lower DOC) (Table 1). Despite this clear trophic state gradient, dissolved inorganic nutrients (nitrate and soluble reactive phosphorus) remained low in all reservoirs throughout the year (Table 1).

In studies from temperate regions that covered a complete year cycle, temperature was the main factor determining BP and BR (Apple et al., 2006; Jansson et al., 2008). In our study, temperature had a significant but marginal effect on BP (Table 2) and BGE (low regression coefficient, Table 3). The amplitude of temperature variation in tropical regions is relatively low, and not as abrupt as in temperate environments. Thus, temperature plays a secondary role in explaining seasonal variations of bacterial metabolism in low latitudes. Still, BP increased during the (warmer) rainy season and declined during the (cooler) dry season, as recurrently observed in previous studies (e.g. Chrzanowski e Hubbard, 1988; Tulonen, 1993;

Adams et al., 2010). Our study period covered the most severe drought in 50 years in this region followed by a strong El Niño (Wmo, 2016) that caused extreme flooding towards the end of the study, early 2016 (Fig. 2).

BP and BGE responded primarily to variables related to the trophic state (Zeu and Chl a). Moreover, both BP and BGE were lower in oligotrophic systems, supporting the hypothesis that trophic state affects strongly bacterial metabolism, as already pointed out in temperate lakes (Chróst et al., 2000). Several studies found significant relationships between BP and Chl a , suggesting a high efficiency of heterotrophic bacteria in using organic compounds derived from phytoplankton (e.g. Simon e Tilzer, 1987; Robarts e Wicks, 1990; Tulongen, 1993). In our study, BP was negatively correlated to water transparency reaching maximal values in reservoirs with highest Chl a (which was inversely correlated to Zeu, data not shown). Most reports available in the literature (from temperate regions) found similar results (e.g. Bergstrom e Jansson, 2000, Bertilsson et al. 2007, Adams et al. 2010, Ram et al. 2016), indicating BP is enhanced by autochthonous carbon.

On the other hand, BR was constantly high throughout the year cycle. Moreover, BR accounted for most of the BCD, indicating that carbon is predominantly allocated in catabolic metabolism. BR was particularly high in the oligotrophic reservoir (TI), where P limitation was more frequent (Fig. 7). More productive reservoirs (such as BB) had no nutrient limitation and also lower BR, certainly allocating more carbon into biomass production, channeling carbon to other heterotrophs in the food web or removing it from the system (Biddanda et al., 2001).

Both phytoplankton and heterotrophic bacteria are regulated by nutrient availability (Fouilland e Mostajir, 2010). Our results of sestonic elemental ratios point

towards a frequent P limitation, especially in less productive reservoirs (Fig. 7). This nutrient limitation associated to high temperature and high light conditions (inherent to tropical regions) intensified the degree of environmental hostility (Carlson et al., 2007; Sarmiento et al. 2015), and the proportion of the energy devoted to cell maintenance as well as BR increased, resulting in lower BGE.

Overall, average BGE ranged between 2.36 and 6.26% (Table 1), which fits within as expected values from temperate lakes (Del Giorgio e Cole, 1998). Our dataset indicated a strong dependency of BGE from *Chl_a*, which might suggest high incorporation rates of autochthonous carbon into bacterial biomass (Kritzberg et al., 2005) or a facilitation of allochthonous DOC uptake (Guillemette et al., 2016). In addition to resource availability (bottom-up control), other factors that may have affected BGE is top-down control (grazing by heterotrophic nanoflagellates and viral lysis) (Bergstrom e Jansson, 2000; Ram et al., 2013; Ram et al., 2015; Domingues et al., 2016), however, the influence of biotic interactions was not evaluated in our study.

The best predictor for BR, and consequently to BCD, was DOC. Surprisingly this relationship was weak and negative (negative coefficient of correlation and only 35% of the variance explained) (Table 3). If DOC was a limiting factor, a strong positive relationship between BR (and consequently BCD) and DOC concentration would be expected, which is apparently the case in numerous temperate aquatic ecosystems (Berggren et al. 2009, Cammack et al. 2004, Jansson et al. 2008, Ram et al. 2013; Ram et al. 2015). Our results indicated that in our systems DOC might not be a limiting factor for bacterial metabolism. Instead, low nutrient (especially P) availability and constantly high temperatures and light incidence might enhance catabolic metabolism throughout the year. In the “endless summer” (Kilham e Kilham, 1990) of tropical lakes biological processes dominate turnover rates and nutrient cycling. In turn,

in temperate lakes, morphometry and physical processes govern nutrients loading, and temperature is a major controller of planktonic metabolism. Because of high temperatures in tropical regions that enhance metabolic rates, phytoplankton and heterotrophic bacteria rapidly assimilate dissolved nutrients, and nutrient limiting conditions are rapidly imposed (Lewis, 1987; Sarmiento, 2012; Amado et al., 2013). As a consequence, phytoplankton dissolved primary production excreted compounds accumulates at higher rates in tropical lakes (Morana et al., 2014). The fact that most studies in temperate region found carbon related variables as environmental drivers of BGE, and that in our study DOC was not a good predictor for BGE, reinforces the idea that temperate systems might be often carbon limited while in tropical systems nutrient limitation might be more frequent. This hypothesis had already been raised in a literature review but with little support from field data (Amado et al., 2013). An experimental study carried out in tropical lagoons also support this view, as BR increased in response to nutrients additions, even in lagoons with the lowest DOC concentration (Scofield et al., 2015).

Bearing in mind that tropical inland waters, including reservoirs, have an important contribution to global carbon emissions (Raymond et al., 2013), it is important to determine which environmental factors drive bacterial metabolism in low latitudes. Our results suggest that the environmental drivers of BR (but not BP) might act differently according to latitude. In contrast to temperate environments where temperature and DOC are the main drivers of BR, in this study in tropical reservoirs we observed continuously high BR, and environmental hostility (such as nutrient limitation, high temperature and high incident light intensity) regulated these rates, while temperature had low effect on both BR and BP. Thus, this study demonstrates that the mechanisms that drive bacterial metabolism might vary according to latitude.

Conclusões

O estudo em reservatórios dispostos em cascata no Rio Tietê, formando um gradiente de estado trófico elucidou os fatores reguladores do metabolismo bacteriano. Foi possível notar grande influência do gradiente de produtividade sobre o metabolismo bacteriano (principalmente PB e ECB). RB e DCB tiveram correlação negativa com COD, em contraste com os dados encontrados na literatura que geralmente indicam relações positivas entre RB e COD. Devido às altas temperaturas ao longo do ano em ambientes tropicais, as taxas metabólicas das comunidades fitoplanctônicas são elevadas, havendo uma assimilação rápida dos nutrientes inorgânicos. Dessa forma, a disponibilidade de nutrientes diminui rapidamente e a ECB é afetada negativamente. Aliada à escassez de nutrientes, as elevadas temperaturas e intensidade de luz incidente criam um grau de hostilidades elevado, o que exige que as células dediquem mais energia a mecanismos de reparação, o que direciona o metabolismo para a BR. Isso foi observado nos reservatórios estudados, especialmente, nos ambientes mais oligotróficos (Nova Avanhandava e Três Irmãos) onde a BR foi mais elevada e a ECB mais baixa. Finalmente, atual estudo demonstrou que os mecanismos reguladores do metabolismo bacteriano podem variar de acordo com a latitude.

References

- ABRIL, G. et al. Amazon River carbon dioxide outgassing fuelled by wetlands. **Nature**, v. 505, n. 7483, p. 395-8, 2014.
- ADAMS, H. E.; CRUMP, B. C.; KLING, G. W. Temperature controls on aquatic bacterial production and community dynamics in arctic lakes and streams. **Environmental Microbiology**, v. 12, n. 5, p. 1319-33, 2010.
- AMADO, A. M. et al. Tropical freshwater ecosystems have lower bacterial growth efficiency than temperate ones. **Frontiers in Microbiology**, v. 4, p. 1-8, 2013.
- ANA. **Agência Nacional das Águas**. 2016.
- APPLE, J. K.; DEL GIORGIO, P. A.; KEMP, W. M. Temperature regulation of bacterial production, respiration, and growth efficiency in a temperate salt-marsh estuary. **Aquatic Microbial Ecology**, v. 43, p. 243-254, 2006.
- AUFDENKAMPE, A. K. et al. Riverine coupling of biogeochemical cycles between land, oceans, and atmosphere. **Frontiers in Ecology and the Environment**, v. 9, n. 1, p. 53-60, 2011.
- AZAM, F. et al. The ecological role of water-column microbes in the sea. **Marine Ecology Progress Series**, v. 10, n. 3, p. 257-263, 1983.
- BARBOSA, F. A. R. et al. The cascading reservoir continuum concept (CRCC) and its application to the river Tiete-basin, São Paulo state, Brazil. **Theoretical Reservoir Ecology and its Applications**, 425-437, 1999.
- BARROS, N. et al. Carbon emission from hydroelectric reservoirs linked to reservoir age and latitude. **Nature Geoscience**, v. 4, n. 9, p. 593-596, 2011.

- BERGGREN, M. et al. Nutrient constraints on metabolism affect the temperature regulation of aquatic bacterial growth efficiency. **Microbial Ecology**, v. 60, n. 4, p. 894-902, 2010.
- BERGSTROM, A.; JANSSON, M. Bacterioplankton production in humic Lake Ortrasket in relation to input of bacterial cells and input of allochthonous organic carbon. **Microbial Ecology**, v. 39, n. 2, p. 101-115, 2000.
- BIDDANDA, B.; OGD AHL, M.; COTNER, J. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. **Limnology and Oceanography**, v. 46, n. 3, p. 730-739, 2001.
- BORGES, A. V. et al. Globally significant greenhouse-gas emissions from African inland waters. **Nature Geoscience**, v. 8, n. 8, p. 637-642, 2015.
- BRIAND, E. et al. The use of oxygen microprobes to measure bacterial respiration for determining bacterioplankton growth efficiency. **Limnology and Oceanography-Methods**, v. 2, p. 406-416, 2004.
- CAMMACK, W. L. et al. Fluorescent dissolved organic matter in lakes: relationships with heterotrophic metabolism. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 6, p. 2034-2045, 2004.
- CARLSON, C.; DEL GIORGIO, P.; HERNDL, G. Microbes and the dissipation of energy and respiration: from cells to ecosystems. **Oceanography**, v. 20, n. 2, p. 89-100, 2007.
- CHRÓST, R.; KOTON, M.; SIUDA, W. Bacterial secondary production and bacterial biomass in four Mazurian lakes of differing trophic status. **Polish Journal of Environmental Studies**, v. 9, n. 4, p. 255-266, 2000.

- CHRZANOWSKI, T. H.; HUBBARD, J. G. Primary and bacterial secondary production in a southwestern reservoir. **Applied and environmental microbiology**, v. 54, n. 3, p. 661-669, 1988.
- CIMBLERIS, A. C.; KALFF, J. Planktonic bacterial respiration as a function of C: N: P ratios across temperate lakes. **Hydrobiologia**, v. 384, n. 1-3, p. 89-100, 1998.
- COLE, J. J. et al. Carbon dioxide supersaturation in the surface waters of lakes. **Science-AAAS-Weekly Paper Edition**, v. 265, n. 5178, p. 1568-1569, 1994.
- COLE, J. J.; FINDLAY, S.; PACE, M. L. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems - a cross-system overview. **Marine Ecology Progress Series**, v. 43, n. 1-2, p. 1-10, 1988.
- COTNER, J. B.; BIDDANDA, B. A. Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. **Ecosystems**, v. 5, p. 105-121, 2002.
- DEL GIORGIO, P. A.; COLE, J. J. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 29, p. 503-541, 1998.
- DEL GIORGIO, P. A.; PETERS, R. H. Patterns in planktonic P-R ratios in lakes - influence of lake trophic and dissolved organic-carbon. **Limnology and Oceanography**, v. 39, n. 4, p. 772-787, 1994.
- DOMINGUES, C. D. et al. Microbial food-web drivers in tropical reservoirs. **Microbial Ecology**, 1-16, 2016.

- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, p. 350-356, 1956.
- FEARNSIDE, P. M. Do hydroelectric dams mitigate global warming? The case of Brazil's Curuá-Una Dam. **Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change**, v. 10, n. 4, p. 675-691, 2005.
- FONTE, E. S., AMADO, A. M., MEIRELLES-PEREIRA, F., ESTEVES, F. A., ROSADO, A. S., FARJALLA, V. F. Combination of different carbon sources enhances bacterial growth efficiency in aquatic ecosystems. **Microbial Ecology**, v. 66, p. 871-878. 2013.
- FOUILLAND, E.; MOSTAJIR, B. Revisited phytoplanktonic carbon dependency of heterotrophic bacteria in freshwaters, transitional, coastal and oceanic waters. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 73, n. 3, p. 419-29, 2010.
- GUENET, B. et al. Fast mineralization of land-born C in inland waters: first experimental evidences of aquatic priming effect. **Hydrobiologia**, v. 721, n. 1, p. 35-44, 2013.
- GUILLEMETTE, F.; LEIGH MCCALLISTER, S.; DEL GIORGIO, P. A. Selective consumption and metabolic allocation of terrestrial and algal carbon determine allochthony in lake bacteria. **ISME Journal**, v. 10, n. 6, p. 1373-82, 2016.
- HOTCHKISS, E. et al. Modeling priming effects on microbial consumption of dissolved organic carbon in rivers. **Journal of Geophysical Research: Biogeosciences**, v. 119, n. 5, p. 982-995, 2014.
- INMET – **Instituto Nacional de Meteorologia**, 2016.

- JANSSON, M. et al. Links between terrestrial primary production and bacterial production and respiration in lakes in a climate gradient in subarctic Sweden. **Ecosystems**, v. 11, n. 3, p. 367-376, 2008.
- JUGNIA, L.-B.; SIME-NGANDO, T.; DEVAUX, J. Relationship between bacterial and primary production in a newly filled reservoir: temporal variability over 2 consecutive years. **Ecological Research**, v. 22, n. 2, p. 321-330, 2006.
- KAMJUNKE, N. et al. Bacterial production and their role in the removal of dissolved organic matter from tributaries of drinking water reservoirs. **The Science of the Total Environment**, v. 548-549, p. 51-9, 2016.
- KILHAM, S. S.; KILHAM, P. Endless summer: internal loading processes dominate nutrient cycling in tropical lakes. **Freshwater Biology**, v. 23, p. 379-389, 1990.
- KIRCHMAN, D.; K'NEES, E.; HODSON, R. Leucine incorporation and its potential as a measure of protein synthesis by bacteria in natural aquatic systems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 49, n. 3, p. 599-607, 1985.
- KOSTEN, S. et al. Climate-dependent CO₂ emissions from lakes. **Global Biogeochemical Cycles**, v. 24, n. 2, p., 2010.
- KRITZBERG, E. S. et al. Does autochthonous primary production drive variability in bacterial metabolism and growth efficiency in lakes dominated by terrestrial C inputs? **Aquatic Microbial Ecology**, v. 38, n. 2, p. 103-111, 2005.
- LEWIS, W. M. J. Tropical Limnology. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, n. 1, p. 159-184, 1987.

- LORENZEN, C. J. Determination of chlorophyll and pheo-pigments - spectrophotometric equations. **Limnology and Oceanography**, v. 12, n. 2, p. 343-346, 1967.
- MACKERETH, F. J. H.; HERON, J. AND TALLING, J. F. Water analysis: some revised methods for limnologists. **Scient. Public. London**. n. 36. 1978.
- MARKER, A. The measurement of photosynthetic pigments in freshwaters and standardization of methods: conclusions and recommendations. **Arch Hydrobiol Beih**, v. 14, p. 91-106, 1980.
- MAROTTA, H. et al. Greenhouse gas production in low-latitude lake sediments responds strongly to warming. **Nature Climate Change**, v. 4, n. 6, p. 467-470, 2014.
- MORANA, C. et al. Production of dissolved organic matter by phytoplankton and its uptake by heterotrophic prokaryotes in large tropical lakes. **Limnology and Oceanography**, v. 59, n. 4, p. 1364-1375, 2014.
- NUSCH, E. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. **Archiv für Hydrobiologie–BeiheftErgebnisse der Limnologie**, v. 14, p. 14-36, 1980.
- RAM, A. P. et al. Viral and grazer regulation of prokaryotic growth efficiency in temperate freshwater pelagic environments. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 91, n. 2, p. 1-12, 2015.
- RAM, A. S. et al. Variable viral and grazer control of prokaryotic growth efficiency in temperate freshwater lakes (French Massif Central). **Microb Ecol**, v. 66, n. 4, p. 906-16, 2013.

- RAYMOND, P. A. et al. Global carbon dioxide emissions from inland waters. **Nature**, v. 503, n. 7476, p. 355-359, 2013.
- ROBARTS, R. D.; WICKS, R. J. Heterotrophic bacterial production and its dependence on autotrophic production in a hypertrophic African reservoir. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 47, n. 5, p. 1027-1037, 1990.
- ROIHA, T. et al. Allochthonous carbon is a major regulator to bacterial growth and community composition in subarctic freshwaters. **Scientific Reports**, v. 6, p. 34456, 2016.
- SANDERS, R.; CARON, D.; BERNINGER, U.-G. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters-an inter-ecosystem comparison. **Marine Ecology Progress Series**, v. 86, p. 1-14, 1992.
- SARMENTO, H. New paradigms in tropical limnology: the importance of the microbial food web. **Hydrobiologia**, v. 686, n. 1, p. 1-14, 2012.
- SARMENTO, H.; CASAMAYOR, E. O.; AUGUET, J. C.; VILA-COSTA, M.; FELIP, M.; CAMARERO, L.; GASOL, J. M. Microbial food web components, bulk metabolism, and single-cell physiology of piconeuston in surface microlayers of high-altitude lakes. **Frontiers in Microbiology**, v.6, p. 361, 2015.
- SARMENTO, H.; MORANA, C.; GASOL, J. M. Bacterioplankton niche partitioning in the use of phytoplankton-derived dissolved organic carbon: quantity is more important than quality. **ISME J**, v. 10, n. 11, p. 2582-2592, 2016.

- SCOFIELD, V. et al. Potential changes in bacterial metabolism associated with increased water temperature and nutrient inputs in tropical humic lagoons. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 310, 2015.
- SIMON, M.; AZAM, F. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. **Marine Ecology Progress Series. Oldendorf**, v. 51, n. 3, p. 201-213, 1989.
- SIMON, M.; ROSENSTOCK, B. Carbon and nitrogen-sources of planktonic bacteria in lake constance studied by the composition and isotope-dilution of intracellular amino-acids. **Limnology and Oceanography**, v. 37, n. 7, p. 1496-1511, 1992.
- SIMON, M.; TILZER, M. M. Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton biomass in Lake Constance. **Journal of Plankton Research**, v. 9, n. 3, p. 535-552, 1987.
- SMITH, E. M.; PRAIRIE, Y. T. Bacterial metabolism and growth efficiency in lakes: the importance of phosphorus availability. **Limnology and Oceanography**, v. 49, n. 1, p. 137-147, 2004.
- TRANVIK, L. J. et al. Lakes and reservoirs as regulators of carbon cycling and climate. **Limnology and Oceanography**, v. 54, n. 6, p. 2298-2314, 2009.
- TULONEN, T. Bacterial production in a mesohumic lake estimated from [14C] leucine incorporation rate. **Microbial Ecology**, v. 26, n. 3, p. 201-217, 1993.
- WHITE, P. A. et al. The effect of temperature and algal biomass on bacterial production and specific growth-rate in fresh-water and marine habitats. **Microbial Ecology**, v. 21, n. 2, p. 99-118, 1991.

WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION (WMO). **The Climate Global in
2011-2015**. Geneva, Switzerland, p.30. 2016.

Supplementary material

Supplementary material

System	Region	n	Metabolism Variable	Method	Environmental variable	Statistical analysis	slope	R	r ²	Reference
lake	Temperate	11	BP	dilution culture growth	BA	linear regression	-	-	0.63	Biddanda et al., 2001
lake	Temperate	55	BP	protein hydrolysis uptake	carbon mineralization	linear regression	0.62	-	-	Simon & Tilzer, 1987
lakes	Temperate	20	BP	leucine incorporation	chlorophyll a	correlation analyses	-	-	0.6	Kritzberg et al., 2005
lakes	Temperate	22	BP	dilution culture growth	chlorophyll a	Pearson's correlations	-	0.4	-	Ram et al., 2013
lake	Temperate	-	BP	leucine incorporation	chlorophyll a	correlation analyses	-	-	0.4	Bertilsson et al., 2007
lakes	Temperate	19	BP	thymidine incorporation	chlorophyll a	correlation analyses	-	-	0.89	Chrost et al., 2000
reservoir	Temperate	38	BP	thymidine incorporation	chlorophyll a	Pearson's correlations	-	0.43	-	Ram et al., 2005
lakes	temperate	63	BP	by growth rate	chlorophyll a	Pearson's correlations	-	0.33	-	Ram et al., 2015
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	chlorophyll a	Spearman's correlation	-	0.76	-	Robarts et al., 1994
reservoir	temperate	30-36	BP	thymidine incorporation	chlorophyll a	Spearman's correlation	-	0.81	-	Robarts and Wicks, 1990

lake	temperate	52	BP	protein hydrolysis uptake	chlorophyll a	linear regression	0.78	-	-	Simon & Tilzer, 1987
reservoir	temperate	30-39	BP	thymidine incorporation	algal extracellular DOC production	Spearman`s correlation	-	0.53	-	Robarts and Wicks, 1990
lakes	temperate	20	BP	leucine incorporation	dissolved phosphorus	correlation analyses	-	-	0.47	Kritzberg et al., 2005
lakes	temperate	21	BP	Biovolume	total dissolved phosphorus	Pearson`s correlations	-	0.73	-	Smith & Prairie, 2004
lakes	temperate	21	BP	Biovolume	DOC	Pearson`s correlations	-	0.44	-	Smith & Prairie, 2004
lake	temperate	13	BP	leucine incorporation	DOC	correlation analyses	-	-	0.4	Bergstrom & Jansson, 2000
lakes	temperate	9/26	BP	thymidine incorporation	DOC	correlation analyses	-	-	0.70/0.88	Chrost et al., 2000
lakes	boreal	21	BP	leucine incorporation	DOC age	Pearson`s correlations	-	-	0.79	Berggren et al., 2009
lakes	temperate	63	BP	by growth rate	flagellate grazing potential	Pearson`s correlations	-	0.8	-	Ram et al., 2015
lakes	boreal	21	BP	leucine incorporation	Fluorescence index	Pearson`s correlations	-	-	0.68	Berggren et al., 2009
lakes	temperate	22	BP	Dilution culture growth	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	0.49	-	Ram et al., 2013
reservoir	temperate	-	BP	by growth rate	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	-	0.44	Ram et al., 2016
lakes	temperate	63	BP	by growth rate	heterot. Nanoflagellates abundance	Pearson`s correlations	-	0.25	-	Ram et al., 2015

lake	temperate	-	BP	leucine incorporation	Arginine	correlation analyses	-	-	0.66	Bertilsson et al., 2007
lakes	temperate	21	BP	Biovolume	total dissolved nitrogen	Pearson`s correlations	-	0.47	-	Smith & Prairie, 2004
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	NH3-N	Spearman`s correlation	-	-	0.61	Robarts et al., 1994
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	NO2+NO3	Spearman`s correlation	-	-	0.73	Robarts et al., 1994
lake	temperate	14	BP	leucine incorporation	photosynthetic carbon fixation	linear regression	0.54	-	0.59	Berman et al., 2010
reservoir	temperate	30-35	BP	thymidine incorporation	percent of oxygen saturation	Spearman`s correlation	-	0.54	-	Robarts and Wicks, 1990
reservoir	temperate	30-37	BP	thymidine incorporation	pheopigments	Spearman`s correlation	-	0.81	-	Robarts and Wicks, 1990
lake	temperate	53	BP	protein hydrolysis uptake	pheopigments	linear regression	0.76	-	-	Simon & Tilzer, 1987
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	POC	Spearman`s correlation	-	0.66	-	Robarts et al., 1994
lake	temperate	51	BP	protein hydrolysis uptake	POC	linear regression	0.73	-	-	Simon & Tilzer, 1987
reservoir	temperate	6	BP	thymidine incorporation	PP	linear regression	0.85	-	0.97	Balogh & Voros, 1997
reservoir	temperate	15	BP	thymidine incorporation	PP	correlation analyses	-	-	0.77	Chrzanowski & Hubbard, 1988
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	PP	Spearman`s correlation	-	0.74	-	Robarts et al., 1994
reservoir	temperate	30-	BP	thymidine incorporation	PP	Spearman`s	-	0.77	-	Robarts and Wicks, 1990

		38				correlation				
lake	temperate	54	BP	protein hydrolysis uptake	PP	linear regression	0.63	-	-	Simon & Tilzer, 1987
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	Si	Spearman's correlation	-	0.69	-	Robarts et al., 1994
floodplain lakes, rivers	tropical	-	BP	leucine incorporation	stable isotopic of nitrogen	Spearman's correlation	-	-	0.77	Vidal et al., 2015
lakes	boreal	21	BP	leucine incorporation	SUVA254	Pearson's correlations	-	-	0.73	Berggren et al., 2009
lakes and streams	polar	4	BP	leucine incorporation	temperature	correlation analyses	-	-	0.85	Adams et al., 2010
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	temperature	Spearman's correlation	-	0.87	-	Robarts et al., 1994
reservoir	temperate	30-34	BP	thymidine incorporation	temperature	Spearman's correlation	-	0.5	-	Robarts and Wicks, 1990
lakes	temperate	22	BP	dilution culture growth	TOC	Pearson's correlations	-	0.55	-	Ram et al., 2013
lakes	temperate	63	BP	by growth rate	TOC	Pearson's correlations	-	0.26	-	Ram et al., 2015
reservoir	temperate	38	BP	thymidine incorporation	total phosphorus	Pearson's correlations	-	0.69	-	Ram et al., 2005
lake	temperate	21-25	BP	thymidine incorporation	total phosphorus	Spearman's correlation	-	0.64	-	Robarts et al., 1994
lakes	temperate	63	BP	by growth rate	viral abundance	Pearson's correlations	-	0.54	-	Ram et al., 2015

freshwater	all	275	log BP	thymide incorporation, labelled organic compounds uptake, frequency of dividing cells	BA	linear regression	0.81	-	0.21	White et al., 1991
freshwater	all	275	log BP	thymide incorporation, labelled organic compounds uptake, frequency of dividing cells	BA, chlorophyll a	multiple regression	-	-	0.37	White et al., 1991
freshwater	all	219	log BP	thymide incorporation, labelled organic compounds uptake, frequency of dividing cells	chlorophyll a	linear regression	0.49	-	0.2	White et al., 1991
lakes	temperate	28	log BP	leucine incorporation	DOC	linear regression	0.12	-	0.25	Cammack et al., 2004
reservoir	temperate	87	log BP	thymidine incorporation	log chlorophyll a	linear regression	0.48	-	0.2	Jugnia et al., 2007
lakes	subartic	12	log BP	leucine incorporation	log DOC export	linear regression	1.368 7	-	0.916	Jansson et al., 2008
reservoir	temperate	31	log BP	thymidine incorporation	log PP	linear regression	0.71	-	0.15	Jugnia et al., 2007
lake	temperate	80	log BP	leucine incorporation	log PP	multiple regression	-	-	0.52	Tulonen, 1993
lake	temperate	80	log BP	leucine incorporation	log temperature	multiple regression	-	-	0.54	Tulonen, 1993
lakes	temperate	28	log BP	leucine incorporation	log TP	linear regression	1.11	-	0.77	Cammack et al., 2004
lakes	temperate	28	log BP	leucine incorporation	T F-DOM	linear regression	0.16	-	0.77	Cammack et al., 2004
lakes	temperate	20	BR	Winkler	BA	correlation analyses	-	-	0.54	Kritzberg et al., 2005
lake	temperate	14	BR	total respiration, zoo and phytoplankton respiration	chlorophyll a	linear regression	2.33	-	0.64	Berman et al., 2010

lakes	boreal	21	BR	DIC production	DOC	Pearson`s correlations	-	0.72	-	Berggren et al., 2009
reservoir	temperate	-	BR	Winkler (1 um filtered)	DOC	Pearson`s correlations	-	0.39	-	Ram et al., 2016
lakes	temperate	22	BR	Winkler (GF/C filtered)	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	0.83	-	Ram et al., 2013
lakes	temperate	63	BR	Winkler (1 um filtered)	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	0.61	-	Ram et al., 2015
reservoir	temperate	-	BR	Winkler (1 um filtered)	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	0.4	-	Ram et al., 2016
lakes	temperate	63	BR	Winkler (1 um filtered)	heterot. nanoflagellates abundance	Pearson`s correlations	-	- 0.27	-	Ram et al., 2015
lake	temperate	11	BR	Winkler (1 um filtered)	temperature	linear regression	-	-	0.51	Biddanda et al., 2001
lakes	temperate	63	BR	Winkler (1 um filtered)	temperature	Pearson`s correlations	-	0.43	-	Ram et al., 2015
reservoir	temperate	-	BR	Winkler (1 um filtered)	temperature	Pearson`s correlations	-	0.49	-	Ram et al., 2016
lakes	temperate	22	BR	Winkler (GF/C filtered)	TOC	Pearson`s correlations	-	0.7	-	Ram et al., 2013
lakes	temperate	63	BR	Winkler (1 um filtered)	TOC	Pearson`s correlations	-	0.34	-	Ram et al., 2015
reservoir	temperate	-	BR	Winkler (1 um filtered)	viral abundance	Pearson`s correlations	-	0.43	-	Ram et al., 2016
lakes	temperate	14	log BR	Winkler (0.7)	log C:N	Pearson`s	-0.57	-	-	Cimblaris and Kalff, 1998

						correlations				
lakes	temperate	14	log BR	Winkler (0.7)	log total planktonic carbon respired	Pearson`s correlations	0.78	-	-	Cimbleiris and Kalff,1998
lakes	temperate	28	log BR	Winkler	DOC	linear regression	0.07	-	0.22	Cammack et al., 2004
lakes	subartic	13	log BR	BGE of other studies	log DOC export	linear regression	1.776	-	0.945	Jansson et al., 2008
lakes	temperate	28	log BR	Winkler	log TP	linear regression	0.55	-	0.47	Cammack et al., 2004
lakes	temperate	28	log BR	Winkler	T F-DOM	linear regression	0.1	-	0.44	Cammack et al., 2004
floodplain lakes, rivers	tropical	-	BGE	BP/(BP+BR)	C:N ratio	Spearman`s correlation	-	0.54	-	Vidal et al., 2015
lakes	temperate	21	BGE	BP/(BP+BR)	C:P ratio	Pearson`s correlations	-	-	0.56	Smith & Prairie, 2004
lakes	temperate	22	BGE	BP/(BP+BR)	chlorophyll a	Pearson`s correlations	-	0.43	-	Ram et al., 2013
lake	temperate	14	BGE	BP/(BP+BR)	chlorophyll a	linear regression	-	-	0.54	Berman et al., 2010
							0.036			
lakes	temperate	63	BGE	BP/(BP+BR)	chlorophyll a	Pearson`s correlations	-	0.32	-	Ram et al., 2015
lakes	boreal	21	BGE	BP/(BP+BR)	DOC age	Pearson`s correlations	-	-	-	Berggren et al., 2009
								0.68		
lakes	boreal	21	BGE	BP/(BP+BR)	Fluorescence index	Pearson`s correlations	-	-	-	Berggren et al., 2009
								0.63		
lakes	temperate	63	BGE	BP/(BP+BR)	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	-	-	Ram et al., 2015
								0.64		

reservoir	temperate	-	BGE	BP/(BP+BR)	frequency of infected prokaryote cells	Pearson`s correlations	-	-	-	Ram et al., 2016
								0.75		
lakes	temperate	63	BGE	BP/(BP+BR)	heterot. nanoflagellates abundance	Pearson`s correlations	-	0.27	-	Ram et al., 2015
lakes	temperate	28	BGE	BP/(BP+BR)	log total phosphorus	linear regression	19.3	-	0.42	Cammack et al., 2004
floodplain lakes, rivers	tropical	-	BGE	BP/(BP+BR)	stable isotopic of nitrogen	Spearman`s correlation	-	-	-	Vidal et al., 2015
								0.75		
lakes	boreal	21	BGE	BP/(BP+BR)	SUVA254	Pearson`s correlations	-	-	-	Berggren et al., 2009
								0.54		
lakes	temperate	28	BGE	BP/(BP+BR)	T F-DOM	linear regression	2.23	-	0.18	Cammack et al., 2004
lake	temperate	11	BGE	BP/(BP+BR)	temperature	linear regression	-	-	0.36	Biddanda et al., 2001
lake	temperate	14	BGE	BP/(BP+BR)	temperature	linear regression	1.49	-	0.32	Berman et al., 2010
reservoir	temperate	-	BGE	BP/(BP+BR)	temperature	Pearson`s correlations	-	-	-	Ram et al., 2016
								0.38		
lakes	temperate	22	BGE	BP/(BP+BR)	TOC	Pearson`s correlations	-	0.76	-	Ram et al., 2013
lakes	temperate	63	BGE	BP/(BP+BR)	TOC	Pearson`s correlations	-	0.48	-	Ram et al., 2015
lakes	temperate	21	BGE	BP/(BP+BR)	total dissolved phosphorus	Pearson`s correlations	-	0.83	-	Smith & Prairie, 2004

