

Variação sazonal da interação luz-bactéria sobre a degradação do Carbono Orgânico dissolvido no lago Tupé

¹João Henrique Fernandes AMARAL
email: jh.amaral@gmail.com

²Sérgio de MELO
email: melo.joaopedro@gmail.com

³Albert Luis SUHETT
email: suhett@gmail.com

¹Laboratório de Plâncton, Curso de Biologia de Água Doce e Pesca Interior – BADP

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA

²Universidade Federal do Oeste do Pará

³Universidade Federal do Rio de Janeiro

Resumo: A fotodegradação do carbono orgânico dissolvido (COD) produz substratos que interagem com o metabolismo bacteriano aumentando a remoção do COD em ecossistemas aquáticos. Essa relação é mais forte em ecossistemas cujo COD é predominantemente húmico, porém esta relação não foi reportada para águas pretas da bacia do rio Negro. Investigamos sazonalmente a interação entre o processo de fotodegradação e o metabolismo bacteriano sobre a utilização do COD, a fim de clarificar a participação de cada processo sobre sua remoção em águas húmicas pretas amazônicas. Usamos amostras (lago Tupé) expostas à radiação solar natural e controles (isolados desse efeito) em incubações (6h) nos períodos de um ciclo anual de variação do nível d'água, para determinar a fotodegradação do COD e a resposta metabólica do bacterioplâncton às

alterações pela luz. Nossos resultados apontam interação positiva entre luz e bactérias sob a utilização do COD em todos os períodos amostrados. Vimos que a sazonalidade influencia a fotodegradação e os processos de respiração e produção bacteriana, assim como a participação desses processos sobre a produção de CO₂ e remoção total do COD. No período de águas altas, há renovação de substratos e o COD é muito disponível à ação do processo de fotodegradação e ao metabolismo bacteriano. Concluímos que luz solar e bactérias interagem promovendo maior remoção do COD em ecossistemas amazônicos de águas pretas.

Palavras-chave: sazonalidade, carbono orgânico dissolvido (COD), Amazônia, bactéria, fotodegradação.

Introdução

Atualmente está em voga a discussão sobre o papel dos ecossistemas amazônicos como fonte ou sumidouro de carbono à atmosfera. Esse debate direcionou diversas pesquisas em diferentes ecossistemas da bacia amazônica, a fim de clarificar o entendimento sobre a participação de processos ecológicos (e.g. Devol et al., 1984; Engle & Melack 2000) e impactos antrópicos (e.g. Nepstad et al., 1994; Fearnside 1997; Kemenes et al., 2007) sobre o balanço regional de carbono (Houghton et al., 2009). Nesse sentido, os ecossistemas aquáticos e as planícies de inundação foram recentemente incluídos no balanço de carbono para a bacia amazônica. Esses ecossistemas são considerados fontes de carbono à atmosfera, liberando 500 TgC y⁻¹, cerca de 10 vezes mais que o total de carbono exportado ao oceano (Richey et al., 2002). Essa evasão de CO₂ é, principalmente, resultado do processo de respiração da matéria orgânica (OM)

(Richey et al., 1980; Richey et al., 1990; Mayorga et al., 2005). Apesar dessas evidências, o entendimento sobre quais processos contribuem para a produção de CO₂ nesses ecossistemas, e como eles variam espaço e temporalmente, ainda é pouco discutido.

Os ecossistemas amazônicos de água doce são supersaturados em CO₂ e a respiração da matéria orgânica dissolvida é tida como a principal responsável por essa característica (Mayorga et al., 2005). Somado ao processo de respiração a fotodegradação do carbono orgânico dissolvido (COD) é outro relevante processo envolvido na produção de CO₂ em ecossistemas aquáticos (Valentine & Zepp 1993; Granéli et al., 1996; Amado et al., 2006). Juntos esses dois processos são os principais agentes mineralizadores do COD, como reportado em um lago húmico temperado, onde 70% do COD foi mineralizado a CO₂ por ação desses processos (Johnsson et



al., 2001). Foi demonstrado que para ecossistemas amazônicos de águas claras, a fotodegradação do COD estimula a respiração bacteriana, o que sugere ação complementar desses dois processos na mineralização total do COD nos ambientes investigados. (Amado et al., 2006). É estabelecido que para ambientes húmicos, COD predominantemente alóctone, o processo de fotodegradação estimula o metabolismo bacteriano, enquanto em ambientes onde o COD é de origem algal, há supressão do metabolismo bacteriano (revisado por Tranvick & Bertilsson 2001). Uma relação direta de estímulo ao metabolismo bacteriano em amostras de COD previamente fotodegradadas foi reportada para lagoas costeiras húmicas tropicais (Amado et al., 2007; Farjalla et al., 2009). No entanto, ao analisar um único período do ciclo anual de variação do nível d'água, aos quais os ecossistemas amazônicos estão submetidos, nas ricas águas húmicas do rio Negro, nenhuma interação entre a fotodegradação do COD e o metabolismo bacteriano foi observada (Amon & Benner 1996). Recentemente, nesse mesmo ambiente, durante o período de águas baixas, a fotodegradação do COD e seu efeito sobre o metabolismo bacteriano e evasão de CO₂ foram investigados. Resultados não conclusivos foram obtidos e os autores ressaltam a necessidade de estudos sazonais para avaliar o papel do processo de fotodegradação na mineralização do COD (Remington et al., 2011).

A sazonalidade nos ambientes amazônicos de água doce é governada pelo pulso de inundação (Junk et al., 1989) que causa flutuação de nível água. Essa dinâmica afeta a biogeoquímica do carbono, mudando sazonalmente as concentrações de COD, qualidade, e o metabolismo bacteriano (Rai & Hill 1981; Benner et al., 1995 Amado et al., 2006). Diante dessa variação emerge-se uma questão relevante; Como o processo de fotodegradação e o metabolismo bacteriano interagem para a mineralização do COD nesses ecossistemas? Foi documentado para ecossistemas amazônicos de águas claras, variação sazonal na remoção do COD; fotodegradação quando o COD é predominantemente húmico e respiração bacteriana, quando o COD é de origem algal (Amado et al., 2006). A qualidade do COD no rio Negro varia sazonalmente, e há diferenças no total de carbono exportado aos oceanos entre períodos do ciclo anual de variação do nível d'água, além de variação sazonal na intensidade da radiação solar incidente (Moreira-Turq et al., 2003; Huete et al., 2006; Rodríguez-Zúñiga et al., 2008). Essas mudanças podem afetar a intensidade dos processos de fotodegradação e sua interação com o metabolismo bacteriano afetando a mineralização total do COD. As águas do rio Negro têm elevado potencial para o processo de fotodegradação, ao menos 15% do COD é muito foto-reativo (Amon & Benner 1996). Foi visto para ambientes húmicos tropicais, que há variação sazonal nas taxas de fotodegradação em função de mudanças na foto-reatividade

do COD, atreladas ao regime de chuvas (Suhett *et al.*, 2007). Reconhecido o papel desses processos na formação de CO₂ em ecossistemas húmicos tropicais (Farjalla *et al.*, 2009), é relevante entender como eles são regulados e variam sazonalmente em ecossistemas da bacia do rio Negro. Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivos (i) estimar a produção potencial de carbono inorgânico dissolvido (CID) pelo processo de fotodegradação. (ii) Avaliar a degradação do COD pelas bactérias planctônicas e sua resposta metabólica as alterações do COD pela luz solar. (iii) Avaliar o efeito da sazonalidade sobre a qualidade do COD e as implicações sobre os processos de fotodegradação e ao metabolismo bacteriano no lago Tupé.

Material e Métodos

Coletas

As amostragens foram realizadas em: setembro (vazante) e dezembro (seca) de 2008 e abril (cheia) e setembro (vazante) de 2009 (Fig. 1). Amostras de água foram coletadas em um ponto central do lago Tupé a 10 cm de profundidade. Posteriormente foram transportadas, sob refrigeração, a Manaus onde foram realizados experimentos para avaliar a fotodegradação e degradação bacteriana do COD.

Delineamento Amostral

Foram realizados experimentos para avaliar a fotodegradação e a degradação bacteriana no lago Tupé, nos

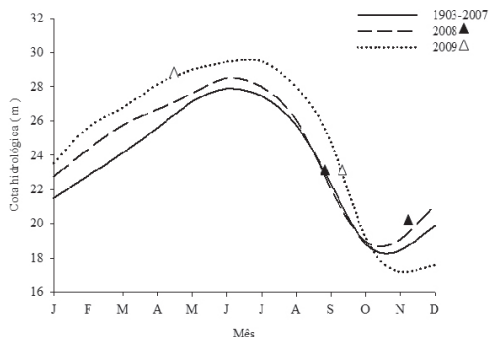


Figura 1: Cota (m) do rio Negro por mês. Linha sólida representa a média histórica, medida no porto de Manaus (1903-2007). Linha tracejada representa a média mensal da cota hidrográfica em 2008 e a linha pontilhada em 2009. Triângulos pretos representam os períodos amostrados em 2008 (vazante e águas baixas) e triângulos brancos em 2009 (águas altas e vazante).

diferentes períodos da variação do nível da água. Em cada período amostrado, foram utilizados dois jogos de tubos: um jogo para avaliar exclusivamente o processo de fotodegradação e outro para avaliar a degradação bacteriana, seguida (ou não, no caso dos controles) da fotodegradação. O uso de dois jogos de tubos fez-se necessário, pois a amostragem realizada nos tubos após a fotodegradação é destrutiva, i.e. consome boa parte do volume de água do tubo, limitando incubações posteriores com a comunidade bacteriana. Cada jogo de tubos era composto por dois tratamentos contendo cinco réplicas cada um: tubos que seriam expostos à radiação solar e tubos controles (submetidos às mesmas condições, porém envoltos em papel alumínio para isolar o efeito da radiação). Logo, por período, foram incubados 20

tubos (ver esquema do delineamento amostral na Fig. 2).

Procedimentos

Em Manaus, as amostras foram filtradas em filtros de fibra de vidro (0,7 μm GF 75 – Advantec) e membranas estéreis (0,2 μm VacuCap®, Gelman Sciences) a fim de se obter apenas carbono orgânico dissolvido para as incubações. As taxas de fotodegradação foram calculadas

pela produção de carbono inorgânico dissolvido (CID), utilizando a diferença média da concentração final de CID entre as réplicas dos tratamentos expostos e controles, sendo estas fixadas com HgCl_2 (concentração final 0,01%). Foi assumido que a fotodegradação efetiva ocorreu em um período de 6 horas diariamente (tempo de incubação utilizado no experimento). Vale ressaltar que essas taxas de fotodegradação diárias foram possivelmente subestimadas, uma vez

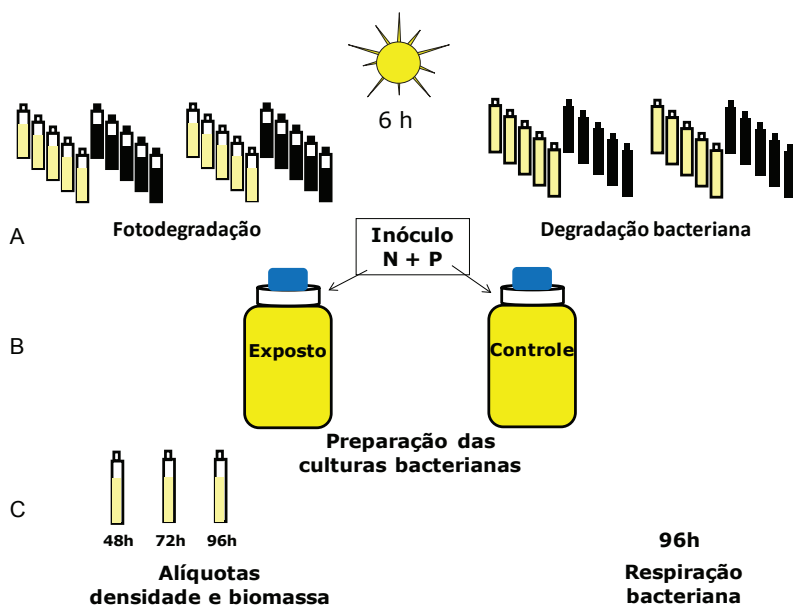


Figura 2: Esquema do experimento para avaliar a fotodegradação e a degradação bacteriana. A- Tabela descritiva sobre a montagem do experimento. Os tubos representam as réplicas dos tratamentos expostos (amarelo) e controles (pretos) expostos por 6h à luz solar. Após esse período, foram extraídas alíquotas das réplicas para determinar a fotodegradação. B- O restante das amostras de fotodegradação foi separado por tratamento claro e escuro e transferido para garrafas de borosilicato, onde também foram adicionadas as amostras dos tubos de degradação bacteriana. C- Preparação da cultura de bactérias. Adição de inóculo (filtrado 0,7 μm) de bactérias do ambiente e nutrientes (N e P). Foram extraídas, por tratamento, alíquotas iniciais para análises de COD, CID, densidades e biomassa bacteriana. Foram preparados frascos para determinar a respiração bacteriana nos tempos 72 h e 96 h e tubos para avaliar as densidades e biomassa bacterianas nos tempos 48, 72 e 96 h.

que as radiações solares incidem com alta energia por mais de 6 horas por dia, na região amazônica. Também foram extraídas alíquotas para análise de COD e cor. As amostras foram mantidas em frascos de vidro escuro, resfriados, para evitar consumo biológico do COD, até as análises (Amado *et al.*, 2006).

A absorvância medida a 430 nm é um indicador da coloração da água (Amado *et al.*, 2007) e foi medida como indicador de mudança na qualidade do COD com uma cubeta de quartzo de caminho óptico de 1 cm em um espectrofotômetro Beckman DU 80. O coeficiente de absorção foi expresso em (m^{-1}) e calculado segundo Hu *et al.* (2002). As concentrações de COD e CID foram medidas em um aparelho analisador de carbono total (TOC-5000 Shimadzu) com detector de CO_2 por infravermelho.

Para avaliar a degradação bacteriana, o restante das amostras do jogo de fotodegradação e as de degradação bacteriana foram agrupadas por tratamento (expostos e controles) em garrafas de borosilicato (Fig. 2 B). Nestas garrafas foram preparadas as culturas de diluição. Para isso, adicionou-se em cada garrafa, inóculo com bactérias do lago Tupé (água filtrada a $0,7 \mu m$) em proporção de 1:10 do volume total, e nutrientes (nitrogênio e fósforo, concentração final de $50 \mu M$ de NH_4NO_3 e $5 \mu M$ de KH_2PO_4). A adição de nutrientes é efetuada para evitar limitação ao crescimento das bactérias e para se ter certeza que as alterações nas culturas ocorreram exclusivamente por alterações no COD (Farjalla *et al.*, 2002).

Amostras iniciais de CID e COD ($n = 5$) para avaliar a respiração bacteriana foram extraídas das garrafas de borosilicato e acondicionadas conforme descrito acima. Alíquotas para determinação da densidade e biomassa bacteriana iniciais ($n = 5$) também foram extraídas das garrafas por tratamento e fixadas conforme descrito abaixo. Em seguida foram preparados frascos exclusivos (vials de 24 ml) para determinação da respiração bacteriana ($n = 5$). Estes foram preenchidos com amostras de cada tratamentos (exposto e controle), e fechados com cuidado para não aprisionarem bolhas de ar. Para determinação da densidade e biomassa bacterianas, também foram preparados frascos de cada tratamento ($n = 3$) (Fig. 2C). Todos os frascos foram incubados no escuro sob temperatura constante por 96 horas. Foram retiradas alíquotas ($n = 5$) de 4,5 ml para a determinação da densidade e biomassa bacterianas nos tempos 48, 72, e 96 h. Essas alíquotas foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e fixadas com formol tamponado com Borax (Tetraborato de Sódio, concentração final 3,7%). Nos tempos 72 e 96 horas, os vials para avaliação a respiração microbiana foram abertos e o conteúdo diretamente fixado como descrito anteriormente para análises de COD e CID.

Densidade e biomassa bacterianas

Foi utilizado o método proposto por Hobbie *et al.* (1977) e Fry (1988). Para as contagens e medições de bactérias,



foram confeccionadas lâminas fixadas com laranja de acridina (concentração final de 0.01%), as quais foram analisadas em um microscópio de epifluorescência (Olympus BX41) equipado com um analisador de imagens no Laboratório de Limnologia do NUPEM, Macaé-RJ. Foram fotografados 10 campos por réplica, definidos aleatoriamente na porção central dos filtros, e todas as bactérias dos 10 campos foram contadas para determinação da densidade bacteriana com auxílio do software Image Pro Plus®. Para as medidas de biovolume, padronizamos um método no qual, inicialmente, foram medidas 100 células bacterianas. Posteriormente, sub-amostragens de cinco células foram realizadas dentro do conjunto de 100 células medidas. Acrescentou-se em cada nova sub-amostragem as medidas de novas cinco células, e o coeficiente de variação foi anotado. Finalmente, plotamos uma curva com os coeficientes de variação em intervalos de cinco células medidas (cinco a 100 células). A partir da análise do nível limite de variação do erro padrão (ponto de estabilização da curva) foi definido o número de células a serem medidas; neste caso, definido em 50 células. De cada amostra foi fixado o quinto campo fotografado para a realização das medidas (software Image Pro Plus®). A partir das medidas realizadas, estimou-se o biovolume conforme Fry (1990). Um fator de conversão de 105 fg C m⁻³ foi utilizado para estimativas de biomassa, como proposto por Theil-Nielsen & Sondergaard (1998). Os cálculos de parâmetros bacterianos seguiram Farjalla et al. (2006).

Análises dos dados

Todas as análises para avaliação da fotodegradação foram realizadas comparando as amostras expostas e controles a partir de testes t não-pareados. Nas curvas de crescimento bacteriano foi observado o tempo em que a densidade bacteriana atingiu seu máximo no tratamento exposto. Nesse tempo a densidade foi comparada entre o tratamento exposto e controle por teste t não-pareado. Analisamos por meio de uma Anova fatorial tree-way os seguintes fatores: taxas de fotodegradação, produção bacteriana e as taxas de respiração bacteriana. Para cada fator consideramos o período como X, e o ambiente como Y. O período (X) foi considerado como medida repetida e vimos a interação entre X e Y. Todas as análises foram realizadas usando o software R adotando-se o nível de significância de 95%.

Resultados

A concentração de carbono orgânico dissolvido, cor da água (absorbância a 430 nm), absorbância específica do COD, radiação solar, fotoprodução de CID e a precipitação variaram sazonalmente, no lago Tupé (Tab. 1). A precipitação, foi maior na vazante de 2008, e a maior concentração de COD foi registrada no período de águas altas. Cor da água, absorbância específica do COD, fotoprodução de CID e radiação solar foram maiores na vazante, em 2009.

A fotoprodução de CID foi maior ($p < 0,05$) nas amostras expostas em relação as controles, em todos os períodos amostrados. As maiores taxas de fotodegradação foram registradas na vazante de 2009 e a menor no período de águas baixas em 2008 (Tab. 1).

Resposta bacteriana a Fotodegradação do COD

A luz solar estimulou o aumento da abundância bacteriana em todos os períodos amostrados (Tab. 2). Observamos aumento de 76% na abundância bacteriana máxima (ABM) nos tratamentos expostos em relação aos controles, no período de águas altas e 50% no período de águas baixas. A PB não foi estimulada em nenhum período, enquanto a RB foi estimulada em todos os períodos de amostragem, exceto para o período de águas altas (Tab. 2). A ECB só foi estimulada pela fotodegradação do COD no período de águas altas, onde observamos 17% de aumento.

A remoção do COD (COD_{REM}) e sua disponibilidade (COD_D) foram positivamente favorecidas pelo

processo de fotodegradação em todos os períodos amostrados (Tab. 2). Os maiores incrementos em remoção do COD pelas bactérias em amostras que sofreram ação do processo de fotodegradação ocorreram nos períodos de vazante; 2008 e 2009. Observou-se 44% de aumento na vazante de 2008 e 45% na de 2009 (Tab. 2). A mesma relação foi observada para a disponibilidade do COD (COD_D); 48% de aumento nas amostras fotodegradadas na vazante de 2009. É importante ressaltar que o período de águas foi o único em que não foram observadas diferenças na respiração bacteriana entre tratamentos para o lago Tupé.

Remoção do COD: Interação entre o processo de fotodegradação e o metabolismo bacteriano

A fim de se estimar a participação do processo de fotodegradação e do metabolismo bacteriano sobre a remoção do COD, consideramos: 4 dias de fotodegradação (6h por dia) e respiração total em 4 dias (24 h por dia); medidas nas amostras

Tabela 1- Carbono orgânico dissolvido (COD), cor da água (a_{430}), absorção específica COD, foto-produção CID, radiação solar e precipitação (mensal) nos períodos amostrados no lago Tupé.

Lago Tupé Período	COD (μM C.L ⁻¹)	Cor da água (a_{430})	Absorção específica do COD (a_{λ} a_{λ} a_{430} :[COD])	Foto-produção de CID ($\mu\text{M C d}^{-1}$)	Radiação (W. m^{-2})	Precipitação (mm. mês^{-1})
Vazante 08	ND	7,4	ND	14	196	59,4
Águas Baixas 08	451	1,8	0,004	10	177	34,4
Águas altas 08	816	10,8	0,013	44	187	40,9
Vazante 09	563	20,6	0,037	106	257	3,1



Tabela 2- Parâmetros bacterianos calculados para as culturas do lago Tupé (expostas e controles) realizadas nos quatro períodos amostrados (setembro 2008/ vazante, dezembro 2008/seca, abril 2009/cheia, setembro 2009 /vazante). As diferenças estatísticas estão marcadas por diferentes letras (A,B). Taxa de produção bacteriana (PB), Taxa de respiração bacteriana (RB), Taxa de remoção do carbono orgânico dissolvido (COD)REM e Eficiência de crescimento bacteriano (ECB) calculadas por hora. * Disponibilidade do COD em 96h.

Tupé	Abundância bacteriana máxima bact ¹⁺ (±DP) 10 ¹⁰	Taxa de produção bacteriana $\mu\text{M C h}^{-1}$ (±DP)	Taxa de respiração bacteriana $\mu\text{M C h}^{-1}$ (±DP)	Taxa de remoção de COD $\mu\text{M C (96 h}^{-1})$	Disponibilidade de COD 96 h (%)	ECB (%)
set/2008						
Vazante						
Controle	0,53 (0,01) ^A	0,27 (0,30)	0,19 (0,05) ^A	44,6	ND	59
Exposto	1,24 (0,29) ^B	0,40 (0,24)	0,44 (0,05) ^B	80,2		47
Dez/2008						
Águas baixas						
Controle	0,37 (0,12) ^A	0,18 (0,09)	0,12 (0,02) ^A	29,3	7	60
Exposto	0,73 (0,09) ^B	0,21 (0,07)	0,21 (0,03) ^B	40,8	9	50
Abril/2009						
Águas altas						
Controle	1,97 (0,27) ^A	1,31 (0,42)	1,44 (0,05)	263,7	29	48
Exposto	2,58 (0,86) ^B	1,76 (1,06)	1,28 (0,03)	292	36	58
set/ 2009						
Vazante						
Controle	0,56 (0,08) ^A	0,27 (0,07)	0,78 (0,50) ^A	100,3	17	26
Exposto	0,64 (0,10) ^B	0,48 (0,18)	1,49 (1,25) ^B	184,3	33	22

expostas e controles. A respiração bacteriana medida no tratamento controle é especificada como BR, a respiração nas amostras fotodegradadas é BR_p e a remoção pelo processo de fotodegradação denominamos de DOC_p. Portanto, a potencial remoção total de carbono nos sistemas estudados é expressa pelo somatório entre BR+BR_p+DOC_p, o qual variou sazonalmente no lago Tupé (Fig. 3). A maior produção de CO₂ foi registrada em setembro, na vazante de 2009, seguida pela cheia, do mesmo ano.

Para o lago Tupé, a fotodegradação foi responsável por

75% da produção total de CO₂ no período de vazante em 2009 e por 67% nas águas baixas em 2008 (Fig. 3). Em contrapartida, a respiração bacteriana total (RB+RB_p) teve contribuição similar a DOC_p para produção de CO₂ nos períodos de águas altas e na vazante de 2008.

Para o cálculo da remoção total de carbono para o lago Tupé, consideramos DOC_p, e remoção microbiana; respiração bacteriana somada a produção bacteriana no tratamento controle (RB+PB) e o quanto desse total aumentou no tratamento exposto a radiação solar (RB+PB)_p (Fig.

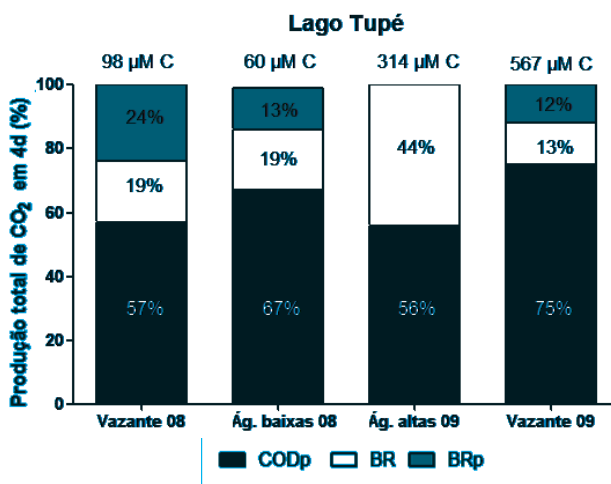


Figura 3: Produção potencial de CO₂ pela fotodegradação (COD)_p, respiração bacteriana (RB) e respiração bacteriana estimulada pela fotodegradação (RB)_p no lago Tupé nos quatro períodos amostrados (vazante 2008, águas baixas 2008, águas altas 2009, vazante 2009). Todos os valores foram estimados por quatro dias, 24 horas por dia para a respiração bacteriana e 6 horas por dia para a fotodegradação (COD)_p. Para esse cálculo apenas consideramos as águas superficiais, onde a fotodegradação não é alterada pela atenuação da luz solar incidente. Valores nos topos das barras indicam a produção total de CO₂ (μMC) por período.



5) Somente na vazante de 2009 DOC_p foi o principal responsável pela remoção do COD no lago Tupé, cerca de 70% de remoção. Os processos microbianos são as principais vias de remoção do COD no lago Tupé, sendo a maior participação desses processos registrada nas águas

altas (62%) (Fig. 5).

A fotodegradação estimulou a remoção bacteriana do COD em todos períodos amostrados. Na vazante de 2008 foi registrada a maior porcentagem de estímulo à remoção bacteriana para o lago Tupé (26%)

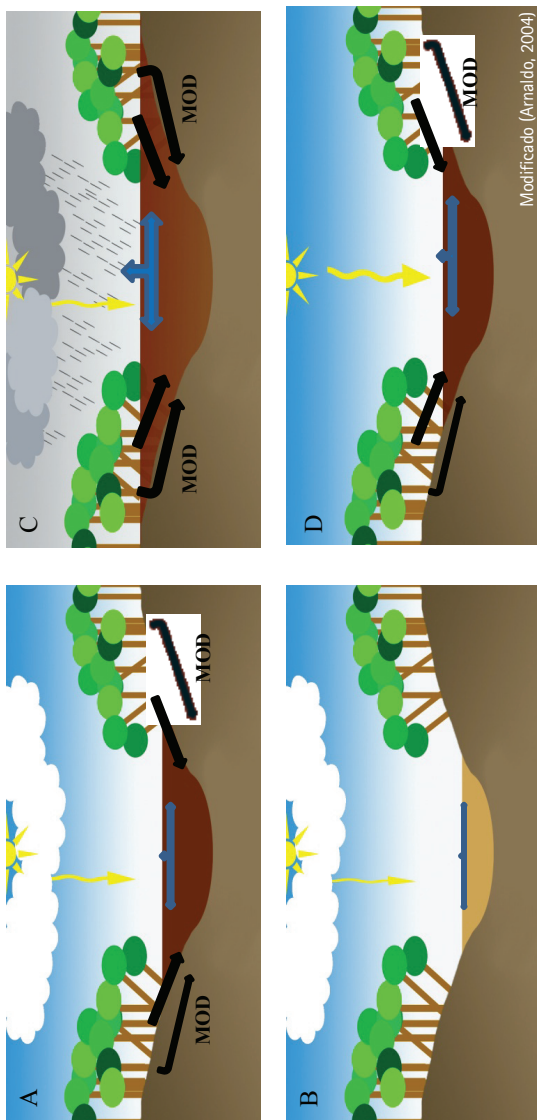


Figura 4: Modelo esquemático do comportamento dos processos estudados de degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) no lago Tupé (A-D) em um ciclo anual de variação do nível d'água. "A" representa a vazante de 2008 e "D" a vazante de 2009. Nesse período do ciclo, há maior coloração d'água, devido à redução do nível d'água e concentração da MOD advinda do igapó inundado na cheia. Mudanças na cobertura de nuvens influenciam os processos de fotodegradação, representado pela seta amarela, e degradação bacteriana, pela seta azul. Diferenças na espessura das setas representam a intensidade dos processos. "B" representa o período de seca, em que os dois processos atuam com menor intensidade e a cor d'água é mais clara. "C" representa as águas altas, onde há a maior entrada de MOD, do igapó e dos solos inundados e os processos bacterianos são mais intensos.

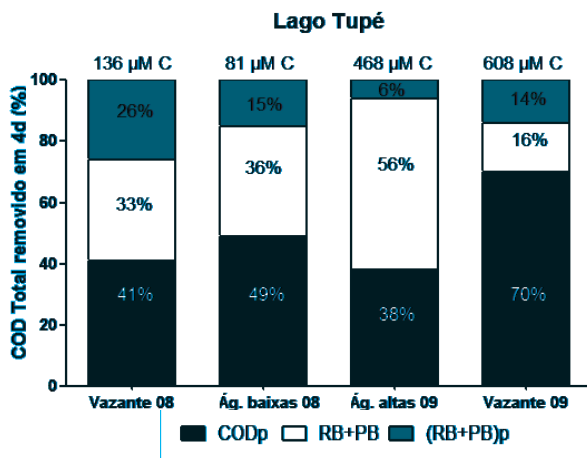


Figura 5: Remoção total do COD pela fotodegradação (COD)p e degradação bacteriana; respiração bacteriana somada a produção bacteriana nos tratamentos controles (RB+PB) e esses parâmetros estimulados pela fotodegradação (RB+PB)p no lago Tupé nos quatro períodos amostrados (vazante 2008, águas baixas 2008, águas altas 2009, vazante 2009). Todos valores foram estimados por quatro dias, 24 horas por dia pra respiração bacteriana e 6 horas por dia para a fotodegradação (COD)p. Para esse cálculo apenas consideramos as águas superficiais, onde a fotodegradação não é alterada pela atenuação da luz solar incidente. Valores nos topos das barras indicam a produção total de COD ($\mu\text{M C}$) por período.

(Fig. 5). A proporção de estímulo foi similar entre os períodos de águas baixas e vazante de 2009, 15% e 14% respectivamente. Enquanto no período de águas altas registramos a menor proporção de estímulo (6%) (Fig. 5).

Discussão

A fotodegradação no Lago Tupé

A intensidade da radiação solar e a qualidade do COD apresentaram ampla variação em um ciclo anual de variação da água e sugerimos que foram estas as principais variáveis a explicar as taxas de fotodegradação medidas. O processo de fotodegradação

estimulou, no geral, o metabolismo bacteriano, uma vez que registramos maior abundância bacteriana máxima no tratamento exposto à radiação solar, em todos períodos amostrados.

As maiores taxas ocorreram no período de vazante em 2009 e as menores na seca, em dezembro de 2008 (Tab. 1). No período de vazante, foram também registradas as maiores incidências de radiação solar e os maiores valores de cor do estudo, enquanto os menores valores ocorreram na seca em 2008. Bertilsson & Tranvik (2000) relataram uma forte relação entre as taxas de fotodegradação e a intensidade da radiação incidente. Nesse mesmo estudo, a alta



absorção do COD no espectro UV foi diretamente correlacionada às taxas de fotodegradação, indicando que propriedades inerentes ao COD influenciam diretamente as reações fotoquímicas sobre ele. Foi reportado para ambientes tropicais que a entrada de COD foto-reativo somado a altas incidências de radiação solar, produzem elevadas e atípicas taxas de fotodegradação (Suhett et al., 2007), como observado na vazante em 2009. O possível sinergismo entre a incidência da radiação solar e a absorção específica do COD, em decorrência de sua qualidade, parece influenciar as variações nas taxas de fotodegradação registradas para o lago Tupé (Fig. 4).

A dinâmica do pulso de inundação governa a maioria dos processos ecológicos em ecossistemas de planícies alagáveis (Junk 1980; Junk et al., 1989), como os da bacia do rio Negro. Foi documentado que o rio Negro é a principal fonte de COD para o lago Tupé e ainda regula sua variação, em concentração, no ciclo anual de variação do nível da água (Rai & Hill 1981). Registramos maiores concentrações de COD para o lago Tupé no período de águas altas, e sua redução é evidente ao longo de um ciclo anual de variação do nível da água até o período de águas baixas, onde registramos as menores concentrações. Observamos ainda, que durante o período de águas altas, a cor da água, as taxas de fotodegradação e a concentração do COD apresentam valores similares entre o rio Negro e

lago Tupé (dados não publicados). Isso demonstra que ambos apresentam características de suas águas similares e, portanto mesmo potencial para o processo de fotodegradação.

As menores taxas de fotodegradação foram registradas no período de águas baixas. Nesse período também foram observadas os menores valores de cor e incidência de radiação solar. O baixo nível d'água do rio Negro desfavorece a conexão com a floresta alagada e conseqüentemente as trocas de carbono colorido (Fig. 4). No lago Tupé as maiores concentrações de clorofila ocorrem nesse período devido ao aumento na transparência da água (Rai & Hill 1981). A redução na coloração da água (Tab. 1, Fig. 4) corrobora essa dinâmica. Sugerimos que ocorre foto-branqueamento ao longo do ciclo devido ao consumo do COD colorido que entra no período de águas altas. Somada a esse fator, no período de águas baixas o lago sofre maior influência das águas provenientes dos igarapés de sua bacia de drenagem. Tal variação pode influenciar a dinâmica do plâncton no lago Tupé, uma vez que interfere na transparência da água, o que afeta a dinâmica das comunidades fitoplanctônicas e zooplânctônicas.

Resposta biológica à degradação do COD

Geralmente, para ambientes húmicos, existe uma relação positiva entre a resposta das bactérias às alterações do COD causadas pelo processo

de fotodegradação (Tranvik & Bertilson 2000; Farjalla et al., 2009). No presente estudo, essa relação é suportada, devido ao aumento da abundância bacteriana máxima ($p > 0,05$) e da remoção do COD pelas bactérias (COD_{REM}) observado nas amostras expostas à radiação solar. As reações fotoquímicas agem sobre o COD, podendo promover sua mineralização e afetar indiretamente o ciclo do carbono, por mudar os caminhos pelo metabolismo bacteriano; produção ou respiração bacteriana, e consequentemente a eficiência de crescimento bacteriano (ECB) (Anésio et al., 2000; Farjalla et al., 2009). Foi reportado que a exposição do COD húmico à radiação solar causa um aumento, tanto na respiração quanto na produção bacteriana, mas em maior proporção á produção bacteriana, o que resulta em um aumento médio na ECB (Anésio et al., 2005). Somente no período de águas altas observamos aumento na ECB. O período de águas altas, representa a máxima interação entre o lago Tupé, rio Negro e a floresta alagada (Junk et al., 1989; Benner et al., 1995), o que favorece uma grande troca de COD recente e diverso em qualidade. Em experimentos com cultura bacteriana em glicose, um substrato muito bio-disponível às bactérias, no rio Negro, Amon & Benner (1996) não observaram diferenças entre tratamentos no período de águas altas. Esse resultado demonstra que não há limitação por fonte de carbono ao metabolismo bacteriano, concordando com uma oferta abundante de carbono

lábil ao seu metabolismo. A maior oferta de substrato lábil é corroborada pelos maiores valores de COD_L no período de águas altas (Tab. 2). Também foram observados os maiores valores para PB, RB e COD_{REM} , o que demonstra maior disponibilidade de substratos ao metabolismo bacteriano nesse período, favorecendo o fluxo de energia pelo bacterioplâncton representado no aumento da ECB observado.

Registramos redução na ECB em todos os demais períodos investigados. Nesse ambiente a fotodegradação do COD resulta em aumento da respiração bacteriana ($p > 0,05$) em maior proporção que a produção bacteriana.

Nossos resultados são comparáveis aos resultados encontrados por Farjalla et al. (2009), que reportou baixos valores de ECB e altas taxas de respiração para o bacterioplâncton em lagoas húmicas costeiras tropicais. Essa dinâmica pode representar uma via principal de mineralização do COD no lago Tupé, o que pode ter implicação sobre a disponibilização de nutrientes ao fitoplâncton do lago. Os períodos de vazante de 2008 e 2009, foram aqueles em que observamos maior incremento nas taxas de RB e PB no tratamento exposto à radiação solar. Esses resultados evidenciam que o COD é intensamente removido nos períodos de vazante (Fig. 4). Esse período representa o verão (estação sem chuvas) na porção central da bacia amazônica, que é caracterizado por



uma alta incidência de radiação solar e por concentrar o material que entra no período de águas altas, uma vez que há diminuição no volume e nível de água. Moreira-Turq et al. (2003) reportaram o maior fluxo de COD no período de vazante no rio Negro e Amado et al. (2006) registraram maior incidência de radiação solar nesse período, corroborando as evidências citadas acima. Por fim, registramos considerável aumento no COD_{REM} e COD_L no tratamento exposto para os dois períodos de vazante amostrados, confirmando a importância do período sobre a dinâmica do COD em ecossistemas de águas pretas.

Remoção do COD: Interação entre a Fotodegradação e o Metabolismo bacteriano

Registramos diferenças sazonais na produção total de CO₂ pelos processos de fotodegradação e respiração bacteriana. Esses resultados ilustram a importância de considerar a sazonalidade nos estudos que avaliam a produção de gases de efeito estufa e os processos responsáveis por sua produção em ecossistemas aquáticos amazônicos, especialmente para estudos que visam elaborar modelos e previsões sobre o papel dos ecossistemas amazônicos, como fonte ou sumidouro de carbono a atmosfera.

O período em que houve produção mais expressiva de CO₂ para o lago Tupé foi o de vazante de

2009, seguido pelo de águas altas do mesmo ano. Já nas águas baixas registramos a menor produção de CO₂ pelos dois processos investigados, cerca de nove vezes menos, quando comparado à vazante de 2009. Nesse período, o processo de fotodegradação foi responsável por cerca de 75% da produção total de CO₂ no lago Tupé. Comparado à vazante de 2008, onde coletamos no mesmo valor de cota do rio Negro (Fig. 1), os valores de cor foram similares e os mais altos do estudo, a produção total de CO₂ foi cinco vezes mais alta na vazante de 2009. Possivelmente isso foi decorrência da maior incidência de radiação solar registrada nesse período. Em um estudo climático na porção leste da bacia amazônica, a mudança na cobertura de nuvens foi o principal fator a influenciar a variação na radiação solar incidente observada (Rocha et al., 2004). A maior média de precipitação mensal observada ocorreu na vazante de 2008 em setembro, mês em que foram registradas chuvas acima da média histórica (Boletim-Infoclima, CPTEC-INPE 2008). Apesar dos experimentos terem sido realizados em dias ensolarados, a presença de nuvens durante a incubação, na vazante de 2008, pode ter atenuado a incidência da radiação solar e afetado o processo de fotodegradação. Vale a pena registrar que a partir do segundo semestre de 2008 houve influência do fenômeno La Niña que causou a grande inundação registrada no

período de águas altas em 2009 (Fig. 1) em decorrência de chuvas acima das médias históricas (Boletim-Infoclima CPTEC-INPE 2009), e no segundo semestre desse ano houve influência de um evento de El Niño, que gerou uma forte seca (Síntese climática, CPTEC-INPE 2010), o que pode ter alterado a cobertura de nuvens nos períodos amostrados (Fig. 4).

Nossos resultados apontam o processo de fotodegradação como o principal responsável pela produção de CO_2 no lago Tupé (Fig. 3). No entanto, temos que ressaltar que as medidas que realizamos são potenciais, uma vez que não integramos as medidas a toda a coluna d'água, considerando somente águas superficiais. Apesar desse fato, podemos concluir que o COD do lago Tupé é muito foto-reativo.

Foi observado para ecossistemas amazônicos de águas claras que a degradação bacteriana e a fotodegradação do COD apresentam papéis complementares na remoção total do COD (Amado *et al.*, 2006). Expandimos essa relação para ecossistemas amazônicos de águas pretas, uma vez que registramos para o lago Tupé estímulo sobre a remoção bacteriana do COD a partir de sua fotodegradação, como visto pelo aumento na RB e PB em todos períodos amostrados (Fig. 5).

Registramos os processos microbianos (RB+PB) como a principal via de remoção do COD nos períodos de águas altas e na vazante de 2008 (Fig. 5). Essas medidas extrapoladas

para toda a coluna d'água podem representar o principal processo de remoção do COD em ecossistemas amazônicos de águas pretas. A matéria orgânica recente, de cerca de 5 anos, é rapidamente removida e transformada em CO_2 e esse componente de ciclagem rápida é responsável pela característica supersaturada das águas dos ecossistemas amazônicos (Richey *et al.*, 2002; Mayorga *et al.*, 2005). A alta incidência de radiação solar atípica registrada em setembro de 2009, em decorrência de um evento de El Niño, evidencia a variação climática existente sobre a bacia amazônica e sua influência sobre os processos aqui investigados, o que afeta a participação dos diferentes processos envolvidos na remoção do carbono como observamos na vazante de 2009, em que a fotodegradação foi responsável por 70% da remoção total no Lago Tupé.

Concluimos que há diferenças sazonais na qualidade dos substratos à ação dos processos de fotodegradação e degradação bacteriana. A intensidade do pulso regula a disponibilidade dos substratos lábeis aos processos estudados. Há diminuição na oferta de substratos lábeis entre os períodos de cheia e seca. Eventos climáticos extremos influenciam o pulso de inundação que interfere nos processos investigados.

Referências bibliográficas

AMADO, A. M.; FARJALLA, V. F.; ESTEVES, F. A.; BOZELLI, R. L.; ROLAND, F.; ENRICH-



- PRAST, A. 2006. Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake. *FEMS Microbial Ecology* 56(1); 8-17.
- AMADO, A. M.; COTNER, J. B.; SUHETT, A. L.; ESTEVES, F. A.; BOZELLI, R. L. & FARJALLA, V. F. 2007. Contrasting interactions mediate dissolved organic matter decomposition in tropical aquatic ecosystems. *Aquatic Microbial Ecology*, 49(1): 25-34.
- AMON, R. M. W. & BENNER, R. 1996. Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system. *Geochimica Cosmochimica Acta*, 60(10): 1783-1792.
- ANESIO, A., THEIL-NIELSEN, J., & GRANALI, W. 2000. Bacterial growth on photochemically transformed leachates from aquatic and terrestrial primary producers. *Microbial Ecology*, 40(3), 200-208.
- ANESIO, A. M., GRANALI, W., AIKEN, G. R., KIEBER, D. J., & MOPPER, K. 2005. Effect of humic substance photodegradation on bacterial growth and respiration in lake water. *Applied and environmental microbiology*, 71(10), 6267-6263.
- BENNER, R.; OPSAHL, S.; CHIN-LEO, G.; RICHEY, J. E. & FORSBERG, B. R. 1995. Bacterial carbon metabolism in the Amazon River system. *Limnology and Oceanography*, 40(7): 1262-1270.
- BERTILSSON, S. & TRANVIK, L. J. 2000. Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnology and Oceanography*, 45(4), 753-762.
- BISINOTI, M.C. & JARDIM, W.F. 2004. O comportamento do metilmercúrio (metilHg) no ambiente. *Quimica Nova*, 27: 593-600.
- CPTEC, 2008. INFOCLIMA, 15 (10) : 1-3 (http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200810.pdf).
- CPTEC, 2009. INFOCLIMA, 16 (01) : 1-3 (http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200901.pdf).
- CPTEC, 2009. INFOCLIMA, 16 (10) : 1-3 (http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200910.pdf).
- CPTEC, 2010. SÍNTESE CLIMÁTICA, 1 : 1 - 13 (http://clima1.cptec.inpe.br/~rclima1/pdf/Sintese_Climatica_2009.pdf).
- DEVOI, A. H., A. DOS SANTOS, B. R. FORSBERG, & T. M. ZARET. 1984. Nutrient addition experiments in Lago Jacaretinga, central Amazon, Brazil: 2. The effect of humic and fulvic acids. *Hydrobiologia*, 109: 97-103.
- ENGLE, D., & MELACK, J. M. 2000. Methane emissions from an Amazon

floodplain lake: Enhanced release during episodic mixing and during falling water. *Biogeochemistry*, 51(1): 71–90.

FARJALLA, V. F.; ANESIO, A. M.; BERTILSSON, S. & GRANÉLI, W. 2001. Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response. *Aquatic Microbial Ecology*, 24(2): 187–195.

FARJALLA, V. F.; FARIA, B. M. & ESTEVES, F. A. 2002. The relationship between DOC and planktonic bacteria in tropical coastal lagoons. *Archiv fur Hydrobiologie.*, 156(1): 97–119.

FARJALLA, V. F.; AZEVEDO, D. A.; ESTEVES, F. A.; BOZELLI, R. L.; ROLAND, F. & ENRICH-PRAST, A. 2006. Influence of hydrological pulse on bacterial growth and DOC uptake in a clear-water Amazonian lake. *Microbial Ecology*, 52(2): 334–344.

FARJALLA, V. F.; AMADO, A. M.; SUHETT, A. L. & MEIRELLES-PEREIRA, F. 2009. DOC removal paradigms in highly humic aquatic ecosystems. *Environmental Science And Pollution Research*, 16(5): 531–538.

FEARNSIDE, P. M. 1997. Greenhouse gases from deforestation in Brazilian Amazonia: net committed emissions. *Climatic Change*, 35(3): 321–360.

FRY, J. C. & AUSTIN, B. 1988. Methods in Aquatic Bacteriology. Determination

of biomass. John Wiley Sons Ltd., New York, USA, pp. 27–72.

FRY, J. C. 1990. Direct methods and biomass estimation. In: Grigorova, R., e Norris, J. R. 1990. *Techniques in microbial ecology*. Academic Press. pp. 41–85.

GRANÉLI, W., LINDELL, M., & TRANVIK, L. 1996. Photo-oxidative production of dissolved inorganic carbon in lakes of different humic content. *Limnology and Oceanography*, pp. 698–706.

HOBBIE, J. E.; DALEY, R. J. & JASPER, S. 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and environmental microbiology*, 33(5): 1225–1228.

HOUGHTON, R., M. GLOOR, J. LLOYD, & C. POTTER 2009, The regional carbon budget, in Amazonia and Global Change, Geophysical Monograph Series, vol. 186, edited by M. Keller et al., AGU, Washington, D. C. pp. 409–428

HU, C.; MULLER-KARGER, F. E.; ZEPP, R. G. 2002. Absorbance, absorption coefficient, and apparent quantum yield: A comment on common ambiguity in the use of these optical concepts. *Limnology and Oceanography*, 47(4): 1261–1267.

HUETE, A. R., DIDAN, K., SHIMABUKURO, Y. E., RATANA, P., SALESKA, S. R., HUTYRA, L. R., YANG, W., NEMANI, R. R. & MVNENI, R. 2006. Amazon rainforests green-up with sunlight in dry season. *Geophysical Research Letters*, 33(4).



- JARDIM, W. F.; BISINOTI, M. C.; FADINI, P. S. & SILVA, G. S. 2010. Mercury Redox Chemistry in the Negro River Basin, Amazon: The Role of Organic Matter and Solar Light. *Aquatic Geochemistry*, ([s.d.]) 1–12.
- JONSSON, A., MEILI, M., BERGSTRÖM, A. K., & JANSSON, M. 2001. Whole-lake mineralization of allochthonous and autochthonous organic carbon in a large humic lake (Örträsket, N. Sweden). *Limnology and Oceanography*, pp. 1691–1700.
- JUNK, W. J. 1980. Áreas inundáveis um desafio para a limnologia. *Acta amazônica*, 10 (4):775-96.
- JUNK, W. J.; BAYLEY, P. B.; SPARKS, R. E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences* 106: 110–127.
- KEMENES, A., FORSBERG, B. R., & MELACK, J. M. 2007. Methane release below a tropical hydroelectric dam. *Geophysical Research Letters*, 34(12): L12809.
- MAYORGA, E.; AUFDENKAMPE, A. K.; MASIELLO, C. A.; KRUSCHE, A. V.; HEDGES, J. I.; QUAY, P. D.; RICHEY, J. E. 2005. Young organic matter as a source of carbon dioxide outgassing from Amazonian rivers. *Nature*, 436(7050), 538–541.
- MOREIRA-TURCO, P.; SEYLER, P.; GUYOT, J. L.; ETCHEBER, H. 2003. Exportation of organic carbon from the Amazon River and its main tributaries. *Hydrological Processes*, 17(7): 1329–1344.
- NEPSTAD, D. C., DE CARVALHO, C. R., DAVIDSON, E. A., JIPP, P. H., LEFEBVRE, P. A., NEGREIROS, G. H., da SILVA, E. D., et al. 1994. The role of deep roots in the hydrological and carbon cycles of Amazonian forests and pastures. *Nature*, 372(6507): 666–669.
- PÉREZ, M. T.; SOMMARUGA, R. 2007. Interactive effects of solar radiation and dissolved organic matter on bacterial activity and community structure. *Environmental Microbiology*, 9(9): 2200.
- RAI, H.; HILL, G. 1981. Bacterial biodynamics in Lago Tupé, a central Amazonian water Ria Lake. *Archiv fur Hydrobiologie*, 58, 420–468.
- REMLINGTON, S., KRUSCHE, A., & RICHEY, J. 2011. Effects of DOM photochemistry on bacterial metabolism and CO₂ evasion during falling water in a humic and a whitewater river in the Brazilian Amazon. *Biogeochemistry*, 1–16.
- RICHEY, J. E.; BROCK, J. T.; NAIMAN, R. J.; WISSMAR, R. C.; STALLARD, R. F. 1980. Organic carbon: oxidation and transport in the Amazon River. *Science*, 207: 1348–1351.
- RICHEY, J. E.; HEDGES, J. I.; DEVOL, A. H.; QUAY, P. D.; VICTORIA, R.; MARTINELLI, L.; Forsberg, B. R. 1990. Biogeochemistry of carbon in the Amazon River. *Limnology and Oceanography*, 35(2): 352–371.

- RICHEY, J. E.; MELACK, J. M.; AUFDENKAMPE, A. K.; BALLESTER, V. M. & HESS, L. L. 2002. Outgassing from Amazonian rivers and wetlands as a large tropical source of atmospheric CO₂. *Nature*, 416(6881): 617–620.
- ROCHA, H. R.; GOULDEN M. L.; MILLER, S. D.; MENTON, M. C.; PINTO, L. & FREITAS H. C. 2004. Seasonality of Water and Heat Fluxes over a Tropical Forest in Eastern Amazonia. *Ecological Applications*. 22–32.
- RODRÍGUEZ-ZÚÑIGA, U. F.; MILORI, D. M. B. P.; SILVA, W. T. L.; MARTIN-NETO, L.; OLIVEIRA, L. C. & ROCHA, J. C. 2008. Changes in Optical Properties Caused by UV-Irradiation of Aquatic Humic Substances from the Amazon River Basin: Seasonal Variability Evaluation. *Environmental science & technology*, 42(6): 1948–1953.
- SUHETT, A. L.; AMADO, A. M.; ENRICH-PRAST, A.; ESTEVES, F. A. & FARJALLA, V. F. 2007. Seasonal changes of dissolved organic carbon photo-oxidation rates in a tropical humic lagoon: the role of rainfall as a major regulator. *Canadian Journal Of Fisheries And Aquatic Sciences* , 64(9): 1266–1272.
- THEIL-NIELSEN, J.; SONDERGAARD, M. 1998. Bacterial carbon biomass calculated from biovolumes. *Archiv fur Hydrobiologie*, 141(2): 195–207.
- TRANVIK, L. J. & BERTILSSON, S. 2001. Contrasting effects of solar UV radiation on dissolved organic sources for bacterial growth. *Ecology Letters*, 4(5): 458–463.
- VALENTINE, R. L., & ZEPP, R. G. 1993. Formation of carbon monoxide from the photodegradation of terrestrial dissolved organic carbon in natural waters. *Environmental science & technology*, 27(2): 409–412.