INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE ÁGUA DOCE E PESCA INTERIOR – BADPI

Fotodegradação e degradação microbiana da matéria orgânica dissolvida no baixo Rio Negro, Amazônia Central

JOÃO HENRIQUE FERNANDES AMARAL

Manaus – Amazonas

Junho, 2010

JOÃO HENRIQUE FERNANDES AMARAL

Fotodegradação e degradação microbiana da matéria orgânica dissolvida no baixo Rio Negro, Amazônia Central

Orientador: Dr. Sérgio de Melo

Co-Orientador: Dr. Vinícius Fortes Farjalla

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Biologia de Água Doce e Pesca Interior do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, área de concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

Manaus – Amazonas

Junho, 2010

Ficha Catalográfica

A485 Amaral, João Henrique Fernandes Fotodegradação e degradação microbiana da matéria orgânica dissolvida no baixo Rio Negro, Amazônia Central / João Henrique Fernandes Amaral. ---Manaus : [s.n.], 2010. xii, 67 f. : il. color.
Dissertação (mestrado)-- INPA, Manaus, 2010 Orientador : Sérgio de Melo Co-orientador : Vinícius Fortes Farjalla Área de concentração : Ecologia
1. Ecossistemas aquáticos – Amazônia. 2. Fotodegardação. 3. Bactétias. 4. Substâncias húmicas. I. Título.

Sinopse:

Foram investigados dois dos principais processos envolvidos na remoção da matéria orgânica dissolvida (MOD) em ecossistemas aquáticos, no lago Tupé, um lago de Ria de água preta, e no Rio Negro, em sua porção baixa. A variação temporal, em um ciclo hidrológico, da qualidade da MOD e a intensidade da radiação solar foi estudada. A influência de tais variações foram exploradas sobre os processos de fotodegradação e degradação bacteriana da MOD, quando se buscou entender a participação desses importantes processos na remoção da MOD, bem como a interação entre eles.

Palavras- chave: Remoção, vazante, qualidade, radiação solar, respiração

Agradecimentos:

Esta seção para mim é a mais importante da dissertação. Estou muito feliz por ter tido a oportunidade de desenvolver esse trabalho com a colaboração de diversas instituições, bem como de diferentes pesquisadores, funcionários e laboratórios dentro de uma mesma instituição. A colaboração e multidisciplinaridade são fundamentais ao fazer científico e quando ocorrem há intercâmbio de idéias, importantes discussões, troca de experiências culminando em um rico aprendizado! Agradeço a todos que puderam me ajudar, de alguma maneira, na construção desse documento e a aqueles com quem convivi nesse tempo inesquecível de mestrado.

Agradeço ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) pela estrutura e apoio. Ao programa de pós graduação em Biologia de Água doce e Pesca Interior (PPG-BADPI) pelo curso de mestrado, infra-estrutura, corpo docente e apoio no que precisei. Ao CNPq pelo apoio financeiro, por meio da bolsa de mestrado, e pelo recurso do edital universal que me auxiliou nas coletas de campo pelo período de mestrado. A CAPES pela iniciativa do programa PROCAD-NOVAS FRONTEIRAS permitindo o custeio das passagens aéreas e uma ajuda de custo durante minha estadia no estado do Rio de Janeiro. Ainda ao PROCAD pelo intercâmbio de professores, que nos proporcionou excelentes disciplinas durante o curso de mestrado. Ao projeto Biotupé pelos recursos e infra-estrutura nas coletas.

Agradeço ao meu orientador Sérgio Melo, pela amizade e as inúmeras conversas que tivemos. Pela confiança depositada em mim e por estar sempre disponível quando eu precisei. Obrigado por ter permitido que eu "voasse", ao fomentar minhas idéias, indicando importantes leituras que me levaram a trabalhar com o tema dessa dissertação. Agradeço ainda, por ter mediado a co-orientação e ter acreditado na proposta da dissertação.

Agradeço ao meu co-orientador, Vinicius Farjalla, pela preciosa orientação, ao apoio financeiro em minha estadia em Macaé e pelo empréstimo de grande parte do material utilizado nos experimentos do mestrado. Obrigado pela amizade desenvolvida, as inúmeras conversas e reflexões, que me levaram a um enorme amadurecimento científico e pessoal; hoje enxergo a academia com outros olhos! Agradeço, enormemente, a confiança depositada e a oportunidade de trabalharmos juntos. Ao aluno de doutorado Albert Suhett, por ter me ensinado, sempre com calma e dedicação, o protocolo de realização dos experimentos e por,

também, ter me orientado durante o mestrado. Agradeço a confiança e a amizade que desenvolvemos, além da paciência e disponibilidade em me ajudar, sempre que precisei!

Aos professores Efrem Ferreira, Jansen Zuanon e Ângela Varella, membros do conselho do PPG-BADPI, pelo empenho, responsabilidade e lucidez em suas atividades e iniciativas em melhorar nosso curso de pós graduação. A Elany pelo apoio na secretária e a Carminha, por ser uma segunda mãe em Manaus, sempre alegre e disposta a ajudar sempre no que precisei. Obrigado pela amizade e as divertidas conversas nos inúmeros cafés. A Cidinha, pela ajuda e o empréstimo da mangueira utilizada nas incubações, e pelos sorrisos de todos os dias, logo cedo!

A toda equipe do laboratório de Planctôn, pela companhia, apoio e momentos vividos nesses dois anos. Ao Ednaldo Nelson pelas ricas conversas, troca de idéias, orientação e apoio. Ao seu Jaomi e aos barqueiros da Marina do David pelo transporte ao Tupé. Ao Professor Assad por ter permitido a utilização da estutura de seu laboratório (Quimica da água) e a toda sua equipe, em especial para o Dedé! Que me ajudou muito na preparação e esterilização da vidraria para realização dos experimentos. Ao professor Rosseval (Rossi) e a toda sua equipe, por ter permitido a utilização da estrutura do laboratório de ovos e larvas de peixe, sempre que eu precisasse. Ao professor Antônio Ocimar Manzzi, pelas inúmeras conversas, pela orientação sobre os aspectos climáticos e pela colaboração. Ao professor Flavio Luizão por ter autorizado que eu fizesse as análises de carbono no aparelho sobre sua responsabilidade, pertencente ao projeto LBA. Ao Alexandre Kemenes, que sempre esteve disponível e me indicou importantes contatos que colaboraram com a execução dessa dissertação. A Claudia Wanzeler, do LBA, pela ajuda e orientação com os dados de radiação.

Aos professores Bruce Forsberg e André Amado Megali pelas correções e sugestões na correção do plano de dissertação bem como pela participação junto com o professor Flávio Luizão na banca de avaliação desta dissertação, aos quais agradeço pelas contribuições que somaram à qualidade deste trabalho. Aos professores Falvio Luizão, Maria Tereza Piedade e Bruce Forsberg pela participação, como banca, em minha aula de qualificação. Ao amigo Pedro Caraballo pelos comentários e sugestões sobre a aula de qualificação, além da amizade e disponibilidade em me ajudar, no que precisei, durante o mestrado.

A professora Hillândia Brandão, da coordenação de pesquisas em clima em recursos hídricos do (CPCRH-INPA) pelo uso de seu laboratório de química ambiental, onde foram realizadas as analises de carbono, e de onde utilizei a água milli-Q para lavagem da vidraria

Agradeço ainda a concessão dos dados de concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) dos anos de 2008 e 2009. Agradeço a toda equipe dessa coordenação: Professora Soraia, Professora Socorro, Antonia, Val, Carmendes, Waltinho, Luis, Andréia e em especial ao Jonis, que sempre esteve disponível a me ajudar no que precisei nas analises de carbono e em relação ao uso do laboratório.

Ao Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (CPTEC-INPE). Em especial ao aluno Marcos e ao professor Juan Ceballos pelo empenho em atender minha solicitação dos dados quantitativos de radiação, e pela orientação sobre os doados, sempre que precisei. Agradeço a esse instituto pelas informações disponibilizadas em seu sitio virtual e a toda equipe responsável pela elaboração dessas informações. Ao Serviço geológico do Brasil (CPRM-AM) pelos dados de precipitação utilizados no trabalho. A Sociedade de Navegação, Portos e Hidrovias do Estado do Amazonas (SNPH-AM) por disponibilizar as informações sobre a cota hidrológica. Ao Sistema de proteção da Amazônia (SIPAM) por disponibilizar os boletins climáticos mensais de 2008 e 2009.

Agradeço a toda equipe dos laboratórios de limnologia da UFRJ, na ilha do fundão e do núcleo UFRJ-NUPEM, em Macaé. Aos professores Francisco de Assis Esteves, Reinaldo Bozelli, João Leal, Vinícius Farjalla, e Marcos Paulo por me receberem de braços abertos nesses laboratórios. Ao professor Alexandre do núcleo em Macaé, por me ter confiado às chaves de seu laboratório, onde pude realizar as contagens de bactérias também nos fins de semana e por várias madrugadas! A todos funcionários do NUPEM, que me auxiliaram e me ajudaram no que precisei nos 2 meses em Macaé. Aos motoristas, João, Pedro e Damião pelas caronas, amizade e saudáveis brincadeiras! As meninas das bactérias; Aliny pelos comentários e sugestões em suas correções dos métodos e resultados. A Fer, Ellen, e Thaís, pelo inestimável aprendizado, companhia e amizade, além da ajuda com a organização e interpretação dos resultados. Ao Marquinhos, Aliny e Raquel pelos cafés com bate papo e pela amizade. Aos amigos Taff, Mario e Léo pela amizade e companhia. Ao professor Rodrigo pelo dia a dia no NUPEM, amizade e as valiosas conversas. Aos amigos, integrantes dos laboratórios de limnologia (NUPEM/MACAÉ), obrigado pelo enorme aprendizado e por terem feito minha estadia no estado do Rio de janeiro mais feliz.

A minha prima Carolina e seu esposo Gustavo por me abrigarem no Rio de Janeiro e por terem me ajudado no que precisei nesse período. Ao Léo Feliz, Pablo, e a grande amiga

Juliana por terem me abrigando em sua república na LAPA, onde vivi momentos muito ricos e felizes. A Ju e o Léo por terem me mostrado um outro Rio de Janeiro!

Agradeço a todos amigos que de alguma forma me incentivaram nessa jornada acadêmica até o período de mestrado. Os amigos do colégio: Ladera, Leleo, Giggio, Neyzao, cotô, Torto, Tchola, Rala; obrigado pelas caronas a BH!!,Galera do CAUS, toda turma da PUC-MG (Met&Zoa) especial a Maria Jimena que me apoiou e me incentivou muito nessa enorme mudança a Manaus! Aos amigos da UFMG; Manjuba, Gigante, Perilo, Gordo, Santana, Toshiba, Cajuru e Zé. Ao meu orientador da graduação, Francisco Barbosa, e a Paulina pelos ensinamentos e formação como pessoa e pesquisador. A todos do laboratório de limnologia da UFMG em especial a Cris, uma grande amiga, que me orientou em boa parte de minha iniciação científica. Aos arregaçados; Dinho, Titio Felipe, Pedrão, Nelsão, Erikita, Raul, Maíra, Fábio e Simone!

Aos amigos da enorme família Manaus! Grandes momentos e alegrias, que fizeram com que a vida, nessa nova cidade, fosse mais trangüila e feliz, diante de tantas mudanças! Primeiramente, agradeço aos meus amigos-irmãos de nossa republica Casa-Verde! Túlião, obrigado pela convivência nesses dois anos e meio, você sabe que hoje é meu irmão! Cara, muito obrigado pelas infinitas conversas e pelo apoio por esses anos. Valeu pela companhia sempre! Aprendemos muito juntos e onde um estava o outro também estava, e se faltava um...o povo sentia falta! Por que fazemos barulho né não!? Obrigado irmão vou te levar para a vida! Muito obrigado pelo enorme aprendizado e pelos momentos inesquecíveis nessa etapa de minha vida! José Wagner, Xuleta, ou Vô! Outro irmão que ganhei em Manaus. Assim como o Túlio, no primeiro dia já nos conhecemos e fomos morar na mesma casa. Veião, muito obrigado pelo apoio, amizade, convivência e por ter tido paciência em ouvir minhas diversas filosofadas. Obrigado pelas conversas, aprendi muito contigo em suas atitudes e pode ter certeza que estarei contigo no que você precisar, sempre! Mestre Paulo Massoca, pouco mais de um ano de convivência, em casa, agradeço enormemente pela amizade, os diversos galhos quebrados e os diversos momentos, tamo ae meu velho para o que você precisar. Mestre Marcelo Augusto, o Brasa! Muito obrigado pela amizade, que só fortalece! A companhia no dia-a-dia e as sábias palavras nos momentos certos. Valeu por ter tido paciência e entender bem os deslizes nessa difícil fase da redação. Mais um irmão que já levo para a vida.

A toda minha turma de mestrado com a qual vivi ótimos momentos, sou iluminado por ter conhecido todos vocês! A Luciana assakawa (Lut) pela infinita amizade, por me apoiar, me ouvir e estar sempre comigo no que eu precisar. De pessoas maravilhosas como você é que o mundo precisa! Irmã te amo! As amigas: Alice Leite (Dunha) e Ariana Cella (lurinha), pelos momentos inesquecíveis! A enorme amizade que criamos e logo de cara! Muito obrigado por tudo, nunca me esquecerei de vocês! Alice, muito obrigado pelas várias "castanhas" que você quebrou para mim durante o período de mestrado, estarei com você no que você precisar! Lurinha, obrigado pela ajuda nos experimentos e pelo inestimável aprendizado; Arianona você vai longe! Fernanda (nanda), Mariel e Marla pela amizade, companherismo e os momentos, muito felizes, vividos, vocês são 10! Marcela Magalhães (pititinha) pela amizade, conselhos, desabafos e companherismo! Robertinha,, Daia, Michele, Pedraza, China, Poli Euri Obrigado por tudo! Ao amigo Bruno Morales (Burnz) pela amizade e ajuda nos experimentos. Ao amigo Felipe Rossoni (ximbinha), pelas diversas conversas, momentos, e a amizade desenvolvida. A todos amigos da pelada de segunda feira e a loira do Bar do ET pelas várias sextas feiras do samba!

A minha família, tios e primos, que sempre me apoiaram em minhas decisões e por me incentivarem a vir para Manaus. Aos meus irmão; Thiago, como o mais velho me espelhei muito em você! Já é mestre, e sempre me incentivou em minha jornada acadêmica. Muito obrigado pelo apoio incondicional e pelo amor demonstrado a sua maneira! Arthur, meu irmão mais novo! Obrigado por sempre me mostrar a pureza do ser humano, sempre um companheiro, aprendo todos os dias com você! Ao meu pai José Carlos, e a minha mãe Maria José, pela criação exemplar e o exemplo de vida que vocês me dão. Agradeço pelo apoio incondicional, em meio a tantas dificuldades. Podem ter certeza que hoje sou esse homem, por que tenho muito de vocês. Obrigado pelo amor e carinho por todos esses anos e ofereço a vocês, minha razão de viver, essa importante etapa que se fecha em minha vida. Do contador de piadas, quando menino, a um futuro mestre em biologia de água doce e pesca interior! Amo vocês

Obrigado!

Resumo em português

x ser mineralizada na degradação, ou ainda, a trófica A interação

A matéria orgânica dissolvida (MOD) pode, dentre outros processos, ser mineralizada na coluna d'água pela respiração dos organismos ou pelo processo de fotodegradação, ou ainda, ser incorporada à biomassa dos microorganismos e transferida pela cadeia trófica. A interação entre os raios solares e a MOD promove sua quebra, gerando carbono inorgânico e moléculas orgânicas menores. Essa interação é mais forte em ecossistemas húmicos, onde a MOD é predominantemente refratária, como os ecossistemas aqui investigados. A fotodegradação pode resultar em estímulo ao crescimento bacteriano, uma vez que pode gerar substrato mais lábil ao consumo destes organismos. A interação entre radiações-MOD-bactérias é influenciada diretamente pela qualidade do substrato (MOD). Apesar de representar uma das maiores bacias de drenagem do planeta, poucos estudos acerca da degradação e/ou fotodegradação da MOD foram realizados na bacia do Rio Amazonas mais carente ainda, de estudos desta natureza explorando a variação temporal em um ciclo hidrológico. O presente trabalho de dissertação teve por objetivos: (1) estimar a produção potencial de carbono inorgânico dissolvido (CID) pela fotodegradação, a partir da incidência dos raios solares em ecossistemas aquáticos amazônicos de águas pretas; (2) avaliar o papel da dinâmica do pulso de inundação na entrada de MOD em ambientes aquáticos amazônicos de águas pretas, e as influências de sua qualidade para o processo de degradação abiótica (foto-oxidação) e biótica; (3) avaliar os efeitos da foto-degradação da MOD para o seu subseqüente consumo e mineralização pelas bactérias planctônicas em ecossistemas amazônicos de águas pretas. O estudo foi realizado com amostras coletadas do lago Tupé e no Rio Negro em sua porção baixa, próximo a cidade de Manaus, Amazonas – Brasil. Para atingir os objetivos 1 e parte do 2 foram expostas ao sol, amostras de dois ecossistemas amazônicos de águas pretas, sem a presença de bactérias, nas quais eram medias a foto-produção de CID, bem como alterações nas características de absorvâncias das mesmas (430 nm). Para atingir os objetivos 3 e parte do 2, foram realizadas quatro coletas em três períodos distintos do pulso hidrológico (setembro e dezembro de 2008 e abril e setembro de 2009). Essas amostras, sem bactérias, eram expostas ao sol e posteriormente inoculadas com bactérias para avaliar os efeitos da degradação foto-química da MOD para as bactérias planctônicas. A intensidade da luz solar e a coloração da MOD apresentaram ampla variação em um ciclo hidrológico causando efeitos significativos nos processos aqui estudados. A fotodegradação estimulou o crescimento bacteriano nos quatro períodos amostrados para os dois ambientes. A MOD foi mais fotoreativa no período de cheia e na vazante, onde foram registradas as maiores taxas de produção de CID e as maiores taxas de respiração, indicando ação complementar dos processos de fotodegradação e degradação bacteriana na remoção do carbono em ecossistemas amazônicos de águas pretas. Houve ocorrência de dois fenômenos climáticos, La Niña e El Niño no período do estudo. O fenômeno La Niña causou aumento de precipitação na bacia amazônica, em 2008, o que resultou em expressivo aumento do nível do Rio Negro em 2009 e atenuação da radiação na vazante de 2008. Em 2009 o El Niño passa a atuar causando uma grande seca na região com incremento da incidência solar (menor cobertura de nuvens). Como consequência foram registradas as maiores taxas de produção bacteriana no período de cheia devido a maior oferta de substratos de qualidade ao metabolismo bacteriano, proveniente da inundação dos igapós. As maiores taxas de foto-degradação ocorreram na vazante de 2009, devido à maior incidência de radiação solar e a maior quantidade de MOD resultante da cheia de 2009. Podemos concluir que o processo de foto-degradação nos ecossistemas estudados resultaram na aceleração da mineralização da MOD, uma vez que é capaz de gerar moléculas inorgânicas e aumentar as taxas de remoção da MOD, além de, maneira geral, reduzir a eficiência de crescimento bacteriano (ECB). Podemos concluir ainda que há diferenças sazonais na fotoreatividade da MOD e em sua qualidade que também variam em um ciclo hidrológico.

Abstract

xi

The dissolved organic matter (DOM) can, among other processes, be mineralized in the water column by respiration or by photo-degradation, or be consumed by microorganisms and transferred through the food web. The interaction between sunlight and DOM promotes its break, producing inorganic carbon and smaller organic molecules. This interaction is stronger in humic ecosystems, where DOM is predominantly refractory, as the characteristic of the environments investigated here. The photo-degradation process may enhance bacterial growth, since it can generate more labile substrate to be consumed for these organisms. The interactions between radiation-DOM-bacteria are directly influenced by the substrate quality (DOM). Despite the fact, that Amazon basin is the largest watershed on the planet, few studies about the degradation and / or photo-degradation of DOM were made in this basin, furthermore, studies exploring the temporal variation in a hydrological cycle are even more scarce. This thesis had the following objectives: (1) estimate the potential production of dissolved inorganic carbon (DIC) by photodegradation, from the incidence of solar radiation in Amazonian black water ecosystems, (2) evaluate the role of the flood pulse dynamics in the input of DOM to Amazonian black water ecosystems, and its influences on DOM quality, and their changes to the process of abiotic (photo-oxidation) and biotic degradation, (3) evaluate the effects of photo-degradation on DOM mineralization and consumption by planktonic bacteria in Amazonian black-water ecosystems. The study was conducted on samples collected from Lake Tupé and Rio Negro in its lower portion, near the city of Manaus, Amazonas - Brazil. To achieve the objectives 1 and part of the 2, samples were exposed without bacteria, under natural solar radiation for 6h, were photo-production of DIC was measured, as well as changes in absorbance characteristics (430 nm). To achieve the objectives 3 and part of 2, four experiments were made in three distinct periods of the hydrological pulse (September and December 2008 and April-September 2009). These samples, without bacteria, were exposed under sunlight, and then, inoculated with bacteria from the respective study sites to assess the effects of photo-chemical degradation of DOM on planktonic bacteria degradation. The intensity of sunlight and the color of DOM showed a wide variation in a hydrological cycle, causing significant effects in the intensity of the process studied here. The photodegradation of DOM stimulated bacterial growth in the four sampling periods for in two environments. The DOM was more photo-reactive during the flooding and in the falling-waters, which showed the highest production rates of DIC and the highest rates of respiration, indicating complementary action of the processes of photodegradation and microbial degradation in DOM removal in black-water Amazonian ecosystems. During our study period we report two weather phenomena, La Niña and El Niño. In 2008 La Niña increased precipitation in Amazon basin, resulting in a abnormal increase of the river water level, which reached, in 2009, the highest water level value ever recorded. In 2009 El Niño caused a severe drought increasing solar radiation. As a consequence of the two phenomenons we recorded the highest rates of bacterial production due to increased supply of high quality substrates to bacterial metabolism, resulting from the inundation of the low land forest. The highest rates of photodegradation occurred at fallingwater of 2009 due to higher incidence of solar radiation and the highest amount of DOM, resulted from the flooded period of 2009. We can conclude that the process of photodegradation in these ecosystems results in acceleration of DOM mineralization since it is able to generate inorganic molecules and stimulating bacterial respiration, reducing bacterial growth efficiency (BGE). We can conclude that, there are seasonal differences in DOM photo-reactivity and DOM quality also varies in a hydrological cycle.

SUMÁRIO

1.	In	trodu	ção	1
2.	O	bjetiv	OS	9
	2.1.	Obj	jetivo Geral	9
	2.2.	Obj	jetivos específicos	9
3.	Hi	ipótes	es Erro! Indicador não def	inido.
4.	Μ	lateria	l e métodos	9
	4.1.	Áre	a de estudo	9
	4.2.	Rac	liação, Precipitação, Cota hidrológica	11
	4.3.	Am	ostragens	11
	4.4.	Pre	paração das amostras	12
	4.5.	Del	ineamento Amostral	12
	4.6.	Pro	cedimentos experimentais	13
	4.7.	Mé	todos analíticos	16
	4.	7.1.	Carbono inorgânico dissolvido (CID) e carbono orgânico dissolvido (COD)16
	4.	7.2.	Taxa de fotodegradação	17
	4.	7.3.	O índice de foto-reatividade do COD (IFC)	17
	4.	7.4.	Análise de cor	17
	4.	7.5.	Absorção específica do COD	18
	4.	7.6.	Densidade e biomassa bacterianas	18
	4.	7.7.	Curva de crescimento bacteriano	19
	4.	7.8.	Taxas de foto-remoção do COD	20
	4.8.	Ana	álise dos resultados	21
5.	Re	esulta	dos	21
	5.1.	Rac	liação, Precipitação, Cota hidrológica	21
	5.2.	Fot	odegradação da Matéria orgânica dissolvida	22
	5.3.	Deg	gradação bacteriana	26
6.	Di	iscuss	ão	32
	Impl	licaçõ	es dos processos para os ecossistemas e desdobramentos	40

Lista de figuras:

Figura 1- A - Localização da RDS Tupé. B - Foto aérea do Lago do Tupé. (extraída de http://biotupé. inpa.gov.br) C - Pontos de amostragens do lago Tupé (amarelo) e Rio Negro (vermelho) (Imagem extraída do software Google Earth)......11

1. INTRODUÇÃO

Sistemas de rios são fundamentais por integrar ambientes terrestres a marinhos e influenciar o ciclo global do carbono, pois recebem, produzem, transportam e transformam matéria orgânica (Meybeck, 1982; Kaiser e Sulzberger, 2004). O ciclo de elementos bioativos, dentre eles o carbono, em rios, é mediado por componentes físicos e biológicos, tais como hidrologia, dinâmica de sedimentos, luz solar e metabolismo bacteriano (Mayorga e Aufdenkampe, 2002).

O Rio Amazonas é o maior rio do mundo e contribui com 20% da vazão de todos os rios do mundo aos oceanos (Richey *et al.*, 1990). Esse rio recebe contribuições de inúmeros tributários e inunda planícies alagáveis, anualmente, trocando elementos e água com essas planícies denominadas várzeas. Diversas pesquisas sobre a biogeoquímica do Rio Amazonas e seus principais tributários, dentre eles o Rio Negro, foram realizadas por diferentes grupos, envolvendo pesquisadores brasileiros e estrangeiros. Fazemos aqui um apanhado geral sobre os principais trabalhos realizados nesse sistema, direcionando as informações existentes para o tema trabalhado na presente dissertação; os processos de fotodegradação e degradação bacteriana da MOD em ecossistemas do Rio Negro.

As primeiras observações sobre os três tipos de águas, baseado na cor dos rios da bacia amazônica foram realizadas por Wallace em 1853, e mais tarde aprimoradas e extensamente classificadas por Harold Sioli (Mayorga e Aufdenkampe, 2002). De maneira geral, os rios de água branca da bacia, como o Madeira e o Solimões, apresentam altas concentrações de sólidos em suspensão, pH neutro a básico, e seus sedimentos são oriundos dos Andes ou regiões aluviais. Os rios de águas pretas, como o Rio Negro, predominantemente drenam áreas de solo espodossolo (podzol) arenosos. Estes apresentam coloração escura, pH ácido, inexpressívas concentrações de sedimentos em suspensão, altas concentrações de matéria orgânica dissolvida (MOD), e poucos íons em solução. Por fim os rios de águas claras apresentam alta transparência e sua cor é clara ou verde oliva. O pH pode variar de ácido a básico e apresentam poucos sedimentos em suspensão. Como exemplos de rios de águas claras, há os rios Tapajós e Xingu (Sioli, 1984; Mayorga e Aufdenkampe, 2002). Além da classificação das águas, Sioli e pesquisadores do Instituto Max Planck de Limnologia e do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) realizaram grandes contribuições sobre a biogeoquímica e os processos hidrológicos na bacia (Ver Sioli, 1984), como o conceito do pulso de inundação, introduzido por Junk *et al.* (1989). A produção primária e a dinâmica do bacterioplâncton foram investigadas em lagos de Ria na Amazônia central (Rai e Hill, 1980; Rai e Hill, 1981a; Rai e Hill, 1981b; Rai e Hill, 1982). Dentre eles, o lago Tupé, ambiente amostrado no presente estudo, teve as primeiras informações sobre a MOD e o metabolismo planctônico neste período.

No final da década de 70 foram realizadas expedições do Atlântico até Iquitos em um projeto denominado *Alpha Helix*. Essas expedições uniram pesquisadores de diversas nacionalidades e linhas de pesquisas gerando importantes publicações sobre a dinâmica de sedimentação (Meade *et al.*, 1979; Nordin Jr *et al.*, 1980), biogeoquímica (Fisher e Parsley, 1979; Richey *et al.*, 1980; Stallard e Edmond, 1983) e biologia de organismos (Wissmar *et al.*, 1981) nas águas do Rio Amazonas e alguns de seus principais tributários.

O Alpha Helix estimulou a criação de um novo projeto multidisciplinar na década de 1980 com o objetivo de investigar os processos que controlam a distribuição de bioelementos (N, P, O, C) no Rio Amazonas e seus principais tributários, denominado *Carbon in the Amazon River Experiment (CAMREX)* (Mayorga e Afudenkampe, 2002). Foram realizadas 13 excursões entre 1982 e 1991 em diferentes períodos do ciclo hidrológico, que geraram mais de 100 publicações. Temas como o transporte de carbono, suas características químicas e origem, (Ertel *et al.*, 1986; Hedges *et al.*, 1986a; Richey *et al.*, 1990; Hedges *et al.*, 1994) bem como o transporte de nutrientes e outros elementos bioativos (Forsberg *et al.*, 1988; Martinelli *et al.*, 1992; Mayorga e Aufdenkampe, 2002) entre os ecossistemas terrestres e aquáticos foram investigados.

Duas das principais perguntas que motivaram a elaboração do CAMREX a partir dos resultados do *Alpha Helix* foram: 1) Qual o fluxo de carbono da Bacia Amazônica para os oceanos? e 2) De que forma o carbono é degradado no curso dos rios até o Atlântico? (Richey *et al.*, 1980). Inicialmente foram medidas taxas de oxidação e calculados o efluxo de C no período de enchente e cheia que apontou maior oxidação do C na enchente, demonstrando diferenças na disponibilidade do carbono e intensidades do processo de respiração entre períodos do ciclo hidrológico. A partir desses resultados foi proposta a hipótese de que existiriam dois picos anuais de respiração e a exportação líquida de carbono orgânico total ao atlântico seria constante durante todo o ciclo hidrológico (Richey *et al.*, 1980). Dessa forma, no âmbito do CAMREX, foi investigada a origem do carbono transportado pelos rios

amazônicos, bem como suas características químicas e o fluxo entre diferentes compartimentos envolvidos no ciclo desse elemento.

Visando compreender a origem do carbono transportado pelos Rios Amazônicos, Hedges *et al.* (1986a; 1986b) introduziram o modelo de cromatografia dos solos da bacia amazônica, onde diferentes frações do carbono transportado pelos rios da bacia apresentam diferentes idades e tempos de retenção na bacia de drenagem, apesar de apresentarem a mesma origem - a floresta. De maneira geral, os compostos mais hidrofóbicos (maior conteúdo de nitrogênio) são fortemente adsorvidos pelos minerais do solo e permanecem por mais tempo na bacia de drenagem. Estes, quando erodidos, são transportados sob a forma particulada ou de sedimentos finos. Os compostos mais hidrofílicos (menor conteúdo de nitrogênio) são separados dos hidrofóbicos como em uma coluna cromatográfica, pois são fracamente adsorvidos e percolam mais facilmente pelos solos da bacia; daí, tem-se uma idade mais recente desses compostos quando comparados a outros de mesma origem. Essa dinâmica embasou o entendimento sobre a natureza refratária da matéria orgânica do Rio Amazonas e seus principais tributários, onde se concluiu que o material transportado permanece por tempos consideráveis na bacia de drenagem, onde sofre degradação.

Foram definidas, no CAMREX, três frações distintas da matéria orgânica, classificadas por processos operacionais de filtração em: material particulado grosso, particulado fino e matéria orgânica dissolvida. Mayorga e Afundenkampe (2002) publicaram uma síntese dos resultados obtidos com o CAMREX sobre o transporte de elementos bioativos e a dinâmica do transporte de matéria orgânica pelos rios investigados. Foi observado que essas frações apresentam composição e idades distintas e interagem entre si através de processos de degradação e adsorção. Em relação ao metabolismo dos rios, essas três porções devem ser consideradas, uma vez que diferentes substratos orgânicos e nutrientes podem estar preferencialmente associados a uma delas.

Richey *et al.* (1990), analisando espaço-temporalmente a dinâmica das frações particuladas e dissolvidas do carbono orgânico bem como do oxigênio e carbono inorgânico dissolvido, revisaram a hipótese levantada por Richey *et al.* (1980). Com base em outros trabalhos sobre a composição (Ertel *et al.*, 1986; Hedges *et al.*, 1986*a*) e idade (Hedges *et al.*, 1986*b*) das frações orgânicas transportadas pelo Rio Amazonas e principais tributários, os autores concluíram que, devido à idade antiga e natureza refratária das frações particuladas e

dissolvidas (substâncias húmicas) transportadas, haveria um déficit de compostos orgânicos para sustentar as altas taxas de oxidação do carbono medidas no estudo. Estes sugeriram que a respiração no canal principal dos rios é alimentada por outros substratos, diferente dos medidos nos trabalhos, e que, assim, deve coexistir uma porção relativamente pequena de substrato lábil, que é rapidamente ciclada com uma maior porção de compostos refratários ao metabolismo bacteriano. Além disso, concluiu-se que a exportação líquida de carbono orgânico total ao Atlântico não é constante durante o ciclo hidrológico, estando os fluxos relacionados com a vazão; maior fluxo nas águas altas, e menor no período de águas baixas (Richey *et al.*, 1990).

Diante dessas evidências, ficou a pergunta sobre qual a natureza e origem dos substratos que alimentam as altas taxas de respiração no sistema do Rio Amazonas. Hedges *et al.* (1994), usando uma técnica de ultra-filtração, investigaram a origem das frações particuladas grossa (MOPG), particulada fina (MOPF) e dissolvidas (MOD), com vista a identificar os carboidratos e aminoácidos constituintes dessas frações, possíveis fontes lábeis à respiração. Esse estudo complementa os de: Ertel *et al.* (1986); Hedges *et al.* (1986) e Hedges *et al.* (1986b), onde esses elementos não foram caracterizados. Como resultado, os autores confirmaram que a origem da matéria orgânica transportada no sistema Amazonas é proveniente da floresta, e apontam diferenças na composição das frações estudadas. A porção MOPG seria mais recente, proveniente de plantas vasculares; a particulada fina (MOPF) seria mais degradada que a primeira; e, por último, a fração dissolvida (MOD) compreenderia compostos dissolvidos de diferentes pesos moleculares, sendo esta a mais antiga e degradada de todas as frações. De maneira geral, a maior parte da matéria orgânica transportada é de origem refratária e suas características são dependentes dos processos que ocorrem na bacia de drenagem.

Nesse contexto, surgiu um importante modelo conceitual de utilização da matéria orgânica em águas naturais, denominado *Size-reactivity continuum model* (Amon e Benner 1996a). Basicamente, a reatividade biológica da MOD estaria positivamente relacionada ao tamanho e peso molecular de seus diferentes compostos, sob a prerrogativa que compostos maiores são diageneticamente mais novos e, portanto, possuem menores estágios de degradação e maior bioreatividade. Em solução, as bio-macromoléculas são facilmente hidrolizadas (ao menos parcialmente) por exoenzimas e posteriormente assimiladas pelas bactérias. Como resultado, a degradação tende a reduzir, tanto o tamanho quanto a

biodisponibilidade das moléculas de alto peso molecular e, assim, formar uma nova fração de moléculas com menor peso molecular (Amon e Benner, 1996a). No entanto, é importante ressaltar que alguns compostos podem fugir desse modelo geral, onde a sua reatividade estaria associada principalmente à sua estrutura e não ao peso molecular, ou ao tamanho das moléculas (Suhett *et al.*, 2006). São exemplos disto alguns compostos menores, mas muito biodisponíveis, tais como: aminoácidos e açúcares livres, ácidos orgânicos, como citrato e acetato (Amon e Benner, 1996b).

Os compostos com alta biodisponibilidade podem ser produzidos tanto por degradação bacteriana, quanto por reações fotoquímicas. A energia solar decompõe as moléculas da MOD, podendo produzir carbono inorgânico dissolvido (CID), compostos orgânicos labéis de baixo peso molecular, ou compostos tóxicos como o peróxido de hidrogênio, além de outras substâncias (Scully *et al.*, 1996; Kieber *et al.*, 1997; Moran e Zepp, 1997; Amado *et al.*, 2006). De maneira geral os processos de transformações foto-químicas podem tanto estimular quanto inibir o metabolismo bacteriano, através de mudanças na biodisponibilidade da MOD (ver revisão em Tranvik e Bertilsson, 2001). Logo, o fluxo de energia que passa pelas comunidades bacterianas tem estreita relação com as reações foto-químicas às quais a MOD está sujeita (Lindell *et al.*, 1995). Dessa forma, a degradação foto-química e bacteriana da MOD apresenta interações complementares, desempenhando importante papel, tanto na mineralização do carbono quanto no fluxo de energia das cadeias tróficas aquáticas (Amado *et al.*, 2007).

Devido a importância do processo de fotodegradação da MOD na produção de substratos bio-disponiveis à degradação bacteriana da MOD, Amon e Benner (1996b), no âmbito do CAMREX, investigaram as relações entre os dois processos e a contribuição relativa do processo de fotodegradação na remoção do carbono no período de águas altas. Os autores tinham como hipótese que o processo de fotodegradação degradaria parcialmente a MOD natural, predominantemente refratária, em compostos biologicamente lábeis, que por sua vez, poderiam ser respirados pelas bactérias. Tal hipótese baseou-se em evidências apontadas por outros trabalhos, sobre a característica heterotrófica do Rio Amazonas e seus principais tributários, bem como a natureza da MOD, dominada por compostos refratários (Richey *et al.*, 1990; Quay *et all.*, 1995; Hedges *et al.*, 1994). No entanto, os autores não

encontraram relações evidentes de que a atividade bacteriana é estimulada pela produção de compostos lábeis pela fotodegradação da MOD.

A pergunta sobre qual a natureza e origem dos substratos que alimentam as altas taxas de respiração no sistema do Rio Amazonas permanecia em aberto; até que Mayorga *et al.* (2005) investigaram as fontes responsáveis pela característica heterotrófica dos principais tributários da bacia amazônica usando isótopos estáveis de carbono (¹³C e ¹⁴C). Foram investigadas as três frações definidas no CAMREX (MOPG, MOPF e MOD), além do carbono inorgânico dissolvido. Os autores atribuíram à MOD recente, com menos de 5 anos, o papel de principal combustível à respiração. Sugeriram ainda que essa é uma pequena porção do carbono orgânico transportado, cuja ciclagem é muito rápida e é a responsável pelo grande fluxo de carbono a atmosfera (Richey *et al.*, 2002) no sistema do Rio Amazonas.

Os maiores esforços do CAMREX se deram no canal principal do Rio Amazonas e seus principais tributários, além de lagos de várzea. Os tributários de água preta são minoria dentre os ambientes investigados no projeto, sendo o Rio Negro o principal tributário dessa natureza. Nos diversos trabalhos do CAMREX, e na literatura, não há, uma caracterização espaço-temporal detalhada sobre a composição da MOD e os processos envolvidos em sua remoção, como os de degradação bacteriana e fotodegradação no sistema do Rio Negro. No entanto, importantes constatações sobre esse sistema, em sua maioria em um único período do ciclo hidrológico, apontam particularidades dos processos de degradação bacteriana e fotodegradação da MOD, que precisam ser melhor entendidas.

Ertel *et al.* (1986) caracterizaram as substâncias húmicas do Rio Amazonas e seus principais tributários, dentre eles o Rio Negro, no período de águas altas. Os autores apontam o Rio Negro como o tributário cuja composição elementar das substâncias húmicas é a mais diferente dentre todos os ambientes investigados. Essa evidência aponta diferenças quanto a qualidade da MOD do Rio Negro, podendo influenciar os processos de fotodegradação e degradação bacteriana. Rodríguez-Zúñiga *et al.* (2008) estudaram a fotodegradação de substâncias húmicas aquáticas (SHA), extraídas de amostras coletadas no Rio Negro, nos períodos de águas altas e águas baixas. As SHA no período de cheia apresentaram maior reatividade à luz, em virtude de maiores proporções de compostos alifáticos em sua constituição. Esse resultado sugere uma melhor qualidade ao processo de fotodegradação no período de águas altas, e aponta diferenças sazonais na composição das SHA.

Amon e Benner (1996b), também no período de águas altas, compararam as taxas de fotodegradação da MOD do Rio Negro (águas pretas) e do Solimões (águas brancas), onde o primeiro apresentou taxas três vezes mais altas, devido às maiores concentrações da MOD e substâncias húmicas que possui. A concentração da MOD é um importante fator que influencia o processo de fotodegradação: maiores concentrações indicam maior oferta de substratos a esse processo. Ainda nesse estudo, 15% da MOD do Rio Negro foi removida, por um período de 72h de exposição a radiação solar, pelo processo de fotodegradação, indicando que ao menos essa percentagem é muito foto-reativa.

A foto-reatividade da MOD está relacionada a origem e ao histórico de exposição a luz solar (Farjalla *et al.*, 2009). De maneira geral, a MOD de origem alóctone, predominantemente húmica, é mais foto-reativa que a MOD de origem autóctone, algal (Bertilsson e Tranvik, 2000). A MOD que apresenta pouco histórico de exposição à luz solar, é mais foto-reativa (Farjalla *et al.*, 2009), como observado para igarapés amazônicos (Amado *et al.*, 2003).

O bacterioplâncton e a luz solar promovem a degradação da MOD e são responsáveis por dois dos mais relevantes processos de remoção da MOD em ecossistemas aquáticos (Farjalla *et al.*, 2009). No Brasil, os trabalhos que contemplam as relações entre MOD, fotodegradação e suas interações com as bactérias estão, em sua maioria, restritos a ambientes húmicos costeiros (Farjalla *et al.*, 2001; Farjalla *et al.*, 2002; Amado *et al.*, 2007). Para a Amazônia destacam-se dois trabalhos sobre as transformações foto-químicas e bacterianas da MOD, o de Amon e Benner (1996b), no Rio Negro, Rio Solimões e em dois lagos de várzea, e o trabalho de Amado *et al.* (2006), em ecossistemas de água clara.

Amon e Benner (1996b) não detectaram efeitos diretos das transformações fotoquímicas sobre a atividade heterotrófica da comunidade de bactérias. Como citado anteriormente, esses autores realizaram o estudo somente no período de águas altas. Em contrapartida, Amado *et al.* (2006) amostraram ecossistemas de águas claras nas quatro fases do ciclo hidrológico às quais os ecossistemas amazônicos estão submetidos. O estudo demonstrou que as diferentes origens da MOD, nos períodos amostrados, implicam em diferenças no processo de degradação por luz e bactérias, sendo a MOD de origem húmica mais suscetível à degradação por luz do que a MOD de origem algal. Foi encontrada, ainda, relação entre transformações foto-químicas e o aumento da respiração bacteriana, o que sugere efeitos complementares de mineralização por luz e bactérias da MOD em ecossistemas de água clara.

Do carbono total transportado pelo Rio Negro, 91% se encontra na forma dissolvida (Moreira-Turq et al., 2003), onde mais de 80% dessa fração é composta por substâncias humicas (Hedges et al., 1994). Do total de carbono orgânico transportado pelo Rio Amazonas, aproximadamente 50% se encontra na forma dissolvida (COD), e o Rio Negro contribui com cerca de 30% desse COD. A considerável quantidade de substâncias húmicas e a baixa concentração de material em suspensão nas águas do Rio Negro permitem uma alta penetração de luz UV-Visivel (Mounier et al., 1999a). Devido à sua localização geográfica e máxima exposição à radiação solar, o sistema do Rio Negro merece destaque na investigação dos mecanismos de degradação e mineralização da MOD. Este ambiente apresenta típicos regimes de inundação, com variação anual média de nível da água de 15 metros (Latrubesse e Franzinelli, 2005), o que pode causar mudanças quanto à origem da MOD, bem como sua reatividade à luz e biodisponibilidade para as bactérias. Assim, o conhecimento e entendimento das interações entre radiações solares e bactérias na degradação e remineralização da MOD deste sistema é extremamente relevante. Mais relevante ainda é o fato de não haver nenhum estudo em ecossistemas do sistema do Rio Negro, contemplando tais interações nas quatro fases do ciclo hidrológico, o que confere caráter pioneiro ao presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a fotodegradação e sua influência na degradação microbiana da matéria orgânica dissolvida nas quatro fases do ciclo hidrológico em um lago de água preta e em um trecho do baixo Rio Negro na Amazônia Central.

2.2. Objetivos específicos

1- Estimar a produção potencial de carbono inorgânico dissolvido (CID) pela fotodegradação, a partir da incidência de luz solar em ecossistemas aquáticos amazônicos de águas pretas;

2- Avaliar a degradação microbiana da MOD em ecossistemas amazônicos de águas pretas e sua interação com o processo de fotodegradação.

3- Avaliar a influência da sazonalidade na qualidade da MOD e suas implicações para os processos de degradação abiótica (foto-oxidação) e biótica (bacteriana) da mesma.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Área de estudo

O trabalho foi realizado com amostras coletadas em dois ecossistemas de águas pretas da bacia do Rio Negro, localizados cerca de 25 km a oeste da cidade de Manaus: o lago Tupé, situado na Reserva de Desenvolvimento Sustentável do Tupé (RDS Tupé) e o Rio Negro, em seu curso baixo, próximo à RDS Tupé (Figura 1A). A bacia de drenagem desses ambientes é composta, principalmente, por terrenos hidromórficos, arenosos ou espodossolos (podzois), que apresentam uma camada de húmus, espesso horizonte A composto de quartzo branco e uma camada subjacente de argila e alumínio, cimentada por material húmico (Ertel *et al.*, 1986). Esses solos são geralmente úmidos, muito ácidos e anaeróbicos. Essas características propiciam uma baixa taxa de decomposição da matéria orgânica, resultando em constante entrada de material húmico, que caracteriza os típicos riachos de água preta da bacia (Leenheer, 1980).

O clima da região é do tipo quente e úmido, com precipitação média de 2.500 mm.ano⁻¹, mais intensa de outubro a maio (Scudeller *et al.*, 2005).

O Rio Negro é um dos maiores rios do mundo – sua área de superfície total representa 11% da bacia do Rio Amazonas e 13% de seu fluxo hídrico. O máximo pluviométrico é observado de maio a julho em sua porção norte e de dezembro a março em sua porção sul (Molinier *et al.*, 1995). Nasce na serra do Junaí, na Colômbia e, por todo seu curso, até formar o Rio Amazonas, drena áreas de baixo relevo e terrenos consolidados, o que reflete na sua velocidade e erosão (Cunha e Pascoaloto, 2006). Sua cor negra é, em parte, devido à drenagem dos solos ricos em solutos húmicos, provenientes da matéria orgânica em decomposição da floresta (Leenheer, 1980). A natureza geológica da área de drenagem conferiu às águas, além da cor, características físicas e químicas peculiares, entre elas uma baixa condutividade (entre 6,0 e 12,0 μ S cm⁻¹), pH ácido (entre 4,0 e 5,5) e baixo teor de sais minerais, entre eles potássio, sódio, cálcio e magnésio (Leenheer e Santos, 1980). Em seu curso, o Rio Negro tem comunicação com inúmeros lagos de inundação; dentre esses, destacam-se os lagos de rias, como o lago Tupé.

O lago Tupé (3°2'36"S e 60°15'18"W) está encaixado em um vale bloqueado na margem esquerda do Rio Negro (Figura 1B). O lago possui uma área de 75 ha, volume de água de aproximadamente 2.570.000 m³ durante a cheia e 3 km de extensão (Rai e Hill, 1981a; Aprile e Darwick, 2005). Suas águas têm como característica baixas concentrações de minerais, pH ácido com valores médios de 4,0 e concentração média de oxigênio dissolvido de 6 mg L⁻¹ (Rai e Hill, 1981a). As variações em volume e profundidade da coluna d'água que ocorrem no lago Tupé entre os períodos de seca e cheia são reguladas pela dinâmica do pulso de inundação (Junk *et al.*, 1989), podendo variar de 4,5 metros na seca até 15 metros de profundidade no ponto central do lago, onde se observa a maior profundidade. Assim pode haver oscilações no estado trófico do lago, que varia desde distrófico, passando por oligotrófico, até meso-eutrófico nos períodos de seca (Rai e Hill, 1981a).



Figura 1- A - Localização da RDS Tupé. B - Foto aérea do Lago do Tupé. (extraída de http://biotupé. inpa.gov.br) C - Pontos de amostragens do lago Tupé (amarelo) e Rio Negro (vermelho) (Imagem extraída do software Google Earth).

3.2. RADIAÇÃO, PRECIPITAÇÃO, COTA HIDROLÓGICA

Os valores de radiação UV+Visível utilizados foram extraídos de dados quantitativos, provenientes do satélite Radar GOES (03 05' 45.7" S e 59 59' 20.7" W), fornecidos pelo Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (CPTEC-INPE). Os dados foram disponibilizados em intervalos de meia hora pelo período total das incubações em cada dia que foram realizados os experimentos (ver abaixo). Os dados de precipitação foram fornecidos pelo Serviço Geológico do Brasil (CPRM-AM), extraídos de pluviômetros instalados na comunidade São João, às margens do lago Tupé. Os valores de cota hidrológica do Rio Negro foram consultados no sítio virtual da Sociedade de Navegação, Portos e Hidrovias do Estado do Amazonas (SNPH-AM).

3.3. Amostragens

Foram realizadas quatro coletas com o intuito de amostrar um ciclo hidrológico completo. No entanto, em 2009 houve antecipação do período de cheia devido a ocorrência de muita precipitação no inicio de 2009 e nossas amostragens não contemplaram precisamente o período de enchente do ciclo hidrológico, visto que ao tentar amostrar esse período os ambientes se encontravam com características de águas altas. As amostragens foram realizadas em: setembro (vazante) e dezembro (seca) de 2008 e abril (cheia) e setembro (vazante) de 2009. As amostras de água foram coletadas no canal principal do Rio Negro, próximo à RDS Tupé e em um ponto central do lago Tupé (Figura 1C), a aproximadamente 10 cm de profundidade da coluna d'água, com garrafas de polietileno, previamente lavadas com HCl 10%, água destilada e com água do ambiente no momento da coleta. Posteriormente foram armazenadas no escuro, resfriadas e transportadas para o laboratório de Plâncton no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

3.4. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Em Manaus, as amostras foram filtradas em filtros de fibra de vidro, com retenção de partículas a 0,7 μ m (GF 75 – Advantec), pré-queimados em mufla (450-500° C) por uma hora, e estocadas a 4° C, no escuro de 12 a 24 horas até a realização dos experimentos. No dia de realização dos experimentos, a fim de remover as bactérias e outros microorganismos, todas as amostras foram filtradas em membranas estéreis de porosidade 0,2 μ m (VacuCap®, Gelman Sciences).

3.5. Delineamento Amostral

Foram realizados experimentos para avaliar a fotodegradação e a degradação bacteriana no Rio Negro e lago Tupé, nos diferentes períodos do ciclo hidrológico. Em cada período amostrado, foram utilizados dois jogos de tubos, por ambiente: 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 pra isolar o efeito da radiação). Logo, por período, foram incubados 40 tubos, 20 referentes a cada ambiente (ver esquema do delineamento amostral na Figura 2).

3.6. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Tubos de quartzo de 100 ml foram utilizados, pois permitem a penetração da radiação UV, principal radiação responsável pelo processo da fotodegradação. Estes tubos foram previamente esterilizados por lavagem prévia com HCl 10%, água deionizada e Milli-Q e autoclavados por 30 minutos (120° C, 1 atm).

Os tubos foram preenchidos com as amostras filtradas em 0,2 µm (VacuCap®, Gelman Sciences), sendo os controles envoltos em papel alumínio para bloquear a entrada da luz. A filtragem das amostras de água a 0,2 µm elimina os microorganismos e, consequentemente, qualquer efeito destes durante a incubação. Os tubos foram preenchidos cuidadosamente e selados para evitar a formação de bolhas e espaço atmosférico interno. O mesmo procedimento foi realizado para todos os tubos.

Todos os tubos foram expostos à luz solar por 6 horas (das 9:00 até as 15:00 horas, período de maior insolação) (Figura 2A) em uma piscina plástica imersos em poucos centímetros de água corrente. A temperatura foi controlada ($29 \pm 1^{\circ}$ C) pelo fluxo de água corrente com o uso de uma mangueira.

Alíquotas iniciais para a determinação das concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), carbono inorgânico dissolvido (CID) e análises de cor (absorvância em 430 nm) foram coletadas e preservadas em frascos de vidro (20 ml) (lavados com HCl 10% e água Milli-Q) envoltos em papel alumínio, e estocadas em geladeira (4° C) para evitar consumo biológico do COD. Comparações das concentrações finais de COD e CID e da coloração da água com as medidas iniciais foram utilizadas como indicadoras do processo de fotodegradação.

Ao final das incubações, das réplicas para determinação das taxas de fotodegradação (Figura 2A), foram extraídas amostras para análise de CID, sendo estas fixadas com HgCl₂ (concentração final 0,01%). A extração das alíquotas foi feita com auxílio de uma seringa

conectada a um tubo de silicone, para se evitar perdas de CO_2 por difusão; o tubo foi colocado no fundo do frasco, e este foi vagarosamente preenchido (Suhett *et al.*, 2007). 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).

Para a preparação das culturas bacterianas foi necessário um volume de amostras superior ao do jogo de tubos separados previamente para determinar a degradação bacteriana. Assim, o volume restante dos tubos para avaliação da fotodegradação foi estocado em geladeira junto com o jogo de tubos para degradação bacteriana, para posterior uso, no dia seguinte às incubações (Figura 2B).



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.

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 (Figura 2 B). Nestas garrafas foram preparadas as culturas de diluição. Para isso, adicionou-se em cada garrafa, inóculo com bactérias dos respectivos ambientes (água filtrada a 0,7 μ m) em proporção de 1:10 do volume total, e nutrientes (nitrogênio e fósforo, concentração final de 50 μ M de NH₄NO₃ e 5 μ M de KH₂PO₄). 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 20 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) (Figura 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 aberto e o conteúdo diretamente fixado como descrito anteriormente para análises de COD e CID.

3.7. Métodos analíticos

3.7.1. Carbono inorgânico dissolvido (CID) e carbono orgânico dissolvido (COD)

Em setembro de 2008, o CID e o COD foram quantificados em um aparelho analisador de carbono total (TOC-5000 Shimadzu) com detector de CO_2 por infravermelho.

Para as amostras de CID, a detecção é feita na forma de CO₂ após acidificação e aquecimento da amostras. Para a medição de COD, o carbono total é medido por combustão a alta temperatura, seguida da detecção do CO₂ resultante, sendo o CID da amostra subtraído do carbono total para determinação do COD. Nos outros três experimentos (dezembro de 2008, abril e setembro de 2009), as análises foram feitas em um analisador de carbono total (TOC-VPN Shimadzu) equipado com um amostrador automático. Tanto para CID, quanto para o COD, foram feitas no mínimo três injeções por amostra e adotados coeficientes de variação menores que 2%.

3.7.2. Taxa de fotodegradação

As taxas de fotodegradação foram calculadas pela produção de CID, utilizando a diferença média da concentração final de CID entre as réplicas dos tratamentos expostos e controles. 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 que as radiações solares incidem com alta energia por mais de 6 horas por dia, na região amazônica.

3.7.3. O índice de foto-reatividade do COD (IFC)

Este índice reflete a capacidade do COD reagir com a luz solar tendo como produto o CID. Foi adaptado de Suhett *et al.* (2007) e calculado pela fórmula:

$$IFC = \frac{FX_i}{COD_i} \left(\frac{RAD_{Max}}{RAD_i}\right)$$

Onde IFC é o índice de foto-reatividade do COD; FX_i é a taxa de fotodegradação calculada no período *i*; COD_i é a concentração de carbono orgânico dissolvido no período *i*; RAD_{Max} é o valor de radiação máximo ocorrido no estudo; e RAD_i é o valor de radiação no período *i*.

Os valores de radiação foram estimados integrando os valores oriundos dos dados do RADAR-GOES durante o tempo de incubação (6h) por período amostrado.

3.7.4. Análise de cor

A absorvância medida a 430 nm é um indicador da coloração da água (Amado *et al.,* 2007), que, por sua vez, indica a capacidade do COD de absorver luz, e está relacionada às

concentrações de compostos húmicos. A alteração dessa medida entre as amostras expostas e controles pode indicar degradação de estruturas cromofóricas do COD ("Photo-bleaching") (Amado *et al.*, 2006). As absorvâncias em 430 nm foram medidas 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):

$$a_{\lambda} = 2.303 \left(\frac{A_{\lambda}}{L}\right)$$

Onde a_{λ} é o coeficiente de absorção; A_{λ} é a absorvância medida no comprimento de onda λ ; e *L* é o comprimento da cubeta em metros

3.7.5. Absorção específica do COD

A absorção específica do COD representa a porção do COD que interage com a luz solar. É calculada pela razão entre a coloração da água e a concentração do COD em um mesmo período pela fórmula:

Absorção específica do COD = $a_{430} i / [COD i]$

Onde a_{430} é o coeficiente de absorção no período *i*; e [COD] é a concentração de carbono orgânico dissolvido no período *i*.

3.7.6. 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 e Sondergaard (1998).

3.7.7. Curva de crescimento bacteriano

Foi estabelecida a curva de crescimento das bactérias em cada cultura, relacionando a densidade bacteriana com o tempo de incubação. As densidades foram representadas em log N em que N é a densidade bacteriana em cada tempo. A partir dos resultados das curvas de crescimento e dos dados de CID em 96 horas de incubação, foram calculados os seguintes parâmetros, seguindo Farjalla *et al.* (2006):

- Abundância bacteriana máxima em ambos os tratamentos (exposto e controle);

- Taxa de produção bacteriana ao final da fase de crescimento exponencial de cada curva, como:

PB = Bf - Bi

Onde PB é a produção bacteriana; Bf é a biomassa ao fim da fase exponencial; e Bi é a biomassa no início da fase exponencial.

- Taxa de respiração bacteriana em 96 horas de incubação medida por incremento na concentração de CID em 96 horas, como:

$\mathbf{RB} = [\mathbf{CID}]\mathbf{96} - [\mathbf{CID}]\mathbf{0}$

Onde RB é a respiração bacteriana em 96 horas; [CID]96 é a concentração de carbono inorgânico dissolvido em 96 horas, e [CID]0 é a concentração de carbono inorgânico dissolvido no início da incubação.

 Taxa de bioremoção de COD em 96 horas (produção + respiração), calculada durante a fase exponencial de crescimento durante toda a incubação, como:

$COD_{REM} = COD_B + COD_R$

Onde COD_{REM} é o carbono orgânico dissolvido removido pela comunidade bacteriana; COD_{B} é o COD convertido em biomassa bacteriana; e COD_{R} é o COD respirado pela comunidade bacteriana.

- Biodisponibilidade do COD, calculada como:

$COD_L = (COD_{REM}) / COD_T$

Onde COD_L é a fração do COD disponível para o crescimento bacteriano; COD_{REM} é o COD removido pela comunidade bacteriana; e COD_T é a concentração inicial de COD.

- Eficiência de crescimento bacteriano (ECB), que é um bom indicativo da atividade metabólica das células bacterianas e do papel desses organismos nos ecossistemas aquáticos (del Giorgio e Cole, 1998). Neste caso, quanto maior a ECB maior é a produção bacteriana, ou seja, a fração do COD que é convertida em biomassa. Ela foi calculada a partir dos valores de biomassa e respiração em 96 horas, como:

ECB = PB/(PB+RB)

Onde ECB é a eficiência de crescimento bacteriano; PB é a produção bacteriana em 96 horas; e RB é a respiração bacteriana em 96 horas.

3.7.8. Taxas de foto-remoção do COD

As taxas de foto-remoção do COD foram calculadas para melhor compreensão das interações entre as radiações solares e as bactérias na mineralização do COD no ambiente. As taxas foram estimadas para um período de 4 dias para serem comparáveis aos dados de bioremoção do COD (cálculos apresentados acima).

As taxas de foto-remoção foram estimadas da seguinte forma:

$$Frem = (FCID) \ge 4$$

Onde Frem é a taxa de foto-remoção; e FCID é a taxa de fotodegradação (diária).

3.8. Análise dos resultados

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 por tratamento. Nesse tempo a densidade foi comparada entre o tratamento exposto e controle por teste t não pareado. A abundância bacteriana máxima, as taxas de produção bacteriana e as taxas de respiração bacteriana foram comparadas (exposto e controle) por teste t não pareado. Todas as análises foram realizadas usando o software Graph Pad Prisma 5.0 onde foi adotado nível de significância de 5% (p < 0.05).

4. RESULTADOS

4.1. RADIAÇÃO, PRECIPITAÇÃO, COTA HIDROLÓGICA

O menor valor de cota hidrológica do rio foi registrado no período de seca em dezembro de 2008, enquanto o maior valor ocorreu na cheia de abril de 2009 (Tabela 1). A maior incidência de radiação solar foi registrada no período de vazante em 2009 e a menor no período de seca (Tabela 1). Dentre os períodos amostrados o maior registro de precipitação ocorreu em setembro de 2008 e o menor em setembro de 2009 (Tabela 1).

Tabela 1-	Valores	de radiação,	cota hidrológica	do rio e	precipitação	mensal	nos quatr	o períodos	amostrad	os no
Rio Negro	o e lago T	Гupé.								

	Radiação	Cota hidrológica	Precipitação	
	$(W. m^{-2})$	do Rio (m)	$(mm. mes^{-1})$	
Rio Negro e lago Tupé				
Vazante (setembro 2008)	196	23,0	59,4	
Seca (dezembro 2008)	177	19,8	34,4	
Cheia (abril 2009)	187	28,0	40,9	
Vazante (setembro 2009)	257	22,9	3,1	

4.2. FOTODEGRADAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA

As concentrações de COD variaram sazonalmente para o lago Tupé, com valor mínimo de 563 µM C no período de seca de 2008 e máxima de 816 µM C na cheia em 2009. O Rio Negro apresentou pequena variação nos valores de concentração de COD 737-826 µM C com mínimo na vazante de 2008 e máximo na vazante de 2009. Os maiores valores de cor para os dois ambientes foram registrados na vazante de 2009 e os menores no período de seca em 2008 (Tabela 2).

Tabela 2– Características do carbono orgânico dissolvido:Concentração do COD e cor (a_{430}) e Absorção específica do COD $(a_{430}: [COD])$ nos quatro períodos amostrados e taxas de fotodegradação (μ M C d⁻¹). ND (não disponível)

	Concentração	Coloração	Absorção	Taxa de
	de COD	da água	específica do	Fotodegradação
	$(\mu M \ C.L^{-1})$	(a_{430})	COD	$(\mu M C d^{-1})$
			(<i>a</i> ₄₃₀ :[COD])	
Rio Negro				
Vazante (setembro2008)	737	20,0	0,027	29
Seca (dezembro 2008)	757	8,8	0,012	19
Cheia (abril 2009)	815	11,8	0,015	42
Vazante (setembro 2009)	826	22,8	0,028	151
lago Tupé				
Vazante (setembro2008)	ND	7,4	ND	14
Seca (dezembro 2008)	451	1,8	0,004	10
Cheia (abril 2009)	816	10,8	0,013	44
Vazante (setembro 2009)	563	20,6	0,037	106

A luz solar estimulou a fotodegradação (p < 0.05) nos quatro períodos amostrados no Rio Negro (Figura 3A) e lago Tupé (Figura 3B). As taxas de foto degradação foram maiores no Rio Negro em todos os períodos, exceto para o período de cheia, em que os dois ambientes apresentaram praticamente os mesmos valores (tabela 2). As maiores taxas de fotodegradação ocorreram na vazante (setembro de 2009) com valores de 106 μ M C d⁻¹ para o lago Tupé e 155 μ M C d⁻¹ para o Rio Negro (Figura 4).

Figura 3- Concentrações de CID (μ M C) para o Rio Negro (A) e lago Tupé (B) nos tratamentos expostos e controles, nos quatro períodos amostrados. Asteriscos representam diferenças significativas entre os tratamentos (p < 0.05). Barras de erro representam desvio padrão da média.

O índice de foto reatividade do COD (IFC) foi semelhante para os dois ambientes, em todos os períodos amostrados, sendo o carbono mais foto-reativo em setembro de 2009 (IFC igual a 0.19 para o lago Tupé e 0.18 para o Rio Negro (Figura 4).

Figura 4 – Taxas de fotodegradação (μ M C dia⁻¹) para o Rio Negro e lago Tupé (barras). Índice de fotoreatividade (IFC) do COD para o Rio Negro e lago Tupé (círculos). Barras de erro representam o desvio padrão da média.

No Rio Negro, a exposição à luz solar reduziu significativamente a coloração somente no período de seca (Figura 5A). Para o lago Tupé, a perda de coloração também foi significativa no mesmo período, e na vazante de 2009 (Figura 5.B).

Figura 5– Medidas de cor para o rio Negro (A) e lago Tupé (B) nos tratamentos controles e expostos. Asteriscos representam diferenças estatísticas entre tratamentos (p < 0.05). Barras de erro representam desvio padrão da média.

Os maiores valores de absorção específica do COD ocorreram nos períodos de vazante de 2008 e de 2009 e os menores na seca em 2008 (Tabela 2).

4.3. DEGRADAÇÃO BACTERIANA

•

A exposição à luz solar estimulou o crescimento bacteriano, representado pelo aumento na densidade bacteriana (p < 0.05), para o Rio Negro (Figura 6) e lago Tupé (Figura 7).

Figura 6- Curvas de crescimento densidade bacteriana (10^x células por litro) nos tratamentos Expostos e Controles para o Rio Negro nos períodos (A) setembro/vazante 2008 ;(B) dezembro/seca de 2008; (C) abril/cheia de 2009; e (D) setembro/vazante de 2009. As barras de erro representam o desvio padrão da média.

Figura 7- Curvas de crescimento da densidade bacteriana (10^x células por litro) nos tratamentos Expostos e Controles, para o lago Tupé, nos períodos: (A) setembro/vazante 2008; (B) dezembro/seca de 2008; (C) abril/cheia de 2009; e (D) setembro/vazante de 2009. As barras de erro representam o desvio padrão da média.

Os valores de abundância bacteriana máxima foram maiores nos tratamentos expostos, tanto no Rio Negro (Tabela 3) quanto no lago Tupé (Tabela 4). No entanto no período de cheia (abril 2009) não ocorreu diferença significativa (p<0.05) para a abundância bacteriana máxima entre o tratamento exposto e o controle no Rio Negro (Tabela 3).

Tabela 3- Parâmetros bacterianos calculados para as culturas do rio Negro (expostas e controles), realizadas nos quatro períodos amostrados (setembro 2008/vazante, dezembro 2008/seca, abril 2009/cheia, setembro 2009 /vazante). As diferenças estatísticas entre tratamentos estão marcadas por diferentes letras. Taxa de produção bacteriana, Taxa de remoção do carbono orgânico dissolvido (COD) e Eficiência de crescimento bacteriano (ECB) calculadas por hora. * Disponibilidade do COD em 96h.

	Rio Negro	Abundância bacteriana máxima cels l. ⁻¹ (±DP) 10 ¹⁰	Taxa de produção bacteriana μM C h ⁻¹ (±DP)	Taxa de respiração bacteriana μM C h ⁻¹ (±DP)	Taxa de remoção de COD μM C h ⁻¹	Disponibilidade* do COD (%)	ECB (%)
	Set/2008						
Vazante	Controle	0,58 (0,28) ^A	0,25 (0,05) ^A	0,58 (0,42) ^A	0,82	11	30
	Exposto	1,13 (0,23) ^B	0,44 (0,14) ^B	0,81 (0,46) ^B	1,27	17	36
	Dez/2008						
Seca	Controle	0,68 (0,11) ^A	0,33 (0,24)	0,10 (0,01) ^A	0,42	5	76
	Exposto	2,07 (0,31) ^B	0,09 (0,12)	0,27 (0,01) ^B	0,35	5	25
	Abril/2009						
Cheia	Controle	1,03 (0,27)	0,67 (0,30)	1,48 (0,03)	2,15	26	31
	Exposto	1,23 (0,13)	0,89 (0,20)	1,56 (0,01)	2,45	30	36
	Set/ 2009						
Vazante	Controle	0,74 (0,07) ^A	0,64 (0,45)	2,06 (1,50)	2,71	33	24
	Exposto	1,55 (0,25) ^B	1,04 (0,49)	3,04 (1,50)	4,08	54	26

Tabela 4- 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, Taxa de respiração bacteriana, Taxa de remoção do carbono orgânico dissolvido (COD) e Eficiência de crescimento bacteriano (ECB) calculadas por hora. * Disponibilidade do COD em 96h.

				Taxa de			
	Turcí	Abundância	Taxa de produção	respiração	Taxa de remoção	Disponibilidade	
	Tupe	bacteriana máxima	bacteriana	bacteriana	de COD	do COD 96 h	ECB
		bacts 1. ⁻¹ (±DP) 10^{10}	$\mu M \ C \ h^{\text{-1}} \ (\pm DP)$	$\mu M \ C \ h^{-1} \ (\pm DP)$	$\mu M C h^{-1}$	(%)	(%)
	set/2008						
Vazante	Controle	0,53 (0,01) ^A	0,27 (0,30)	0,19 (0,05) ^A	0,46	-	59
	Exposto	1,24 (0,29) ^B	0,40 (0,24)	0,44 (0,05) ^B	0,83		47
	Dez/2008						
Seca	Controle	0,37 (0,12) ^A	0,18 (0,09)	0,12 (0,02) ^A	0,31	7	60
	Exposto	0,73 (0,09) ^B	0,21 (0,07)	0,21 (0,03) ^B	0,43	9	50
	Abril/2009						
Cheia	Controle	1,97 (0,27) ^A	1,31 (0,42)	1,44 (0,05)	2,75	29	48
	Exposto	2,58 (0,86)	1,76 (1,06)	1,28 (0,03)	3,04	36	58
	set/ 2009						
Vazante	Controle	0,56 (0,08)	0,27 (0,07)	0,78 (0,50) ^A	1,04	17	26
	Exposto	0,64 (0,10) ^B	0,48 (0,18)	1,49 (1,25) ^B	1,92	33	22

A taxa de produção bacteriana (PB) no Rio Negro foi significativamente (p < 0,05) maior no tratamento exposto somente no período de vazante em 2008 (Tabela 3). As taxas de respiração bacteriana (RB) no Rio Negro apresentaram maiores e menores valores nos mesmos períodos que a PB, sendo maiores nos tratamentos expostos, com diferenças significativas apenas no período de seca (Tabela 3). No Rio Negro, as taxas de remoção do COD e a disponibilidade do COD foram maiores no tratamento exposto, exceto para o período de seca (dezembro 2008) (Tabela 3).

No lago Tupé, as taxas de produção bacteriana, remoção de COD e a disponibilidade do COD apresentaram valores mais altos no tratamento exposto em relação ao controle, sendo os maiores valores registrados no período de cheia (abril 2009) (Tabela 4). A taxa de respiração bacteriana (RB), exclusivamente no período de cheia, foi mais alta no tratamento controle do que no exposto. As diferenças significativas (p<0.05) ocorreram nos períodos de vazante (setembro 2008) e seca (dezembro 2008), e o maior valor registrado para a RB ocorreu no tratamento exposto na vazante (setembro 2009).

A fotodegradação, de maneira geral, estimulou o fluxo de energia pela alça microbiana no Rio Negro. Observamos maiores ECB no tratamento exposto do que no controle em três períodos amostrados. Somente no período de seca (dezembro de 2008) a fotodegradação estimulou a mineralização da MOD pelas bactérias, onde observamos uma redução na ECB no tratamento exposto (Tabela 3). Para o Lago Tupé, a fotodegradação estimulou a mineralização da MOD pelas bactérias em três períodos, nos quais registramos diminuição da ECB no tratamento exposto. O período de cheia foi o único em que houve um aumento na ECB e conseqüentemente, estimulo a alça microbiana (Tabela 4).

Em setembro de 2009 (vazante) a fotodegradação foi responsável pela remoção de cerca de 70% da MOD no lago Tupé e Rio Negro. Em dezembro de 2008, no período de seca, a fotodegradação removeu cerca de 10% da MOD nos dois ambientes, enquanto que no período de cheia, cerca de 20% da MOD foi removida pela fotodegradação. Na vazante de 2008 (setembro) registramos 16% de remoção da MOD pela fotodegradação no Rio Negro;

não temos valores para o Tupé, pois não medimos concentração de COD nesse período, devido a problemas ocorridos com o aparelho utilizado para análise (Tabela 5).

	% de remoção do COD	% de bio-remoção do COD
	pela luz solar	(µM C em 96h)
	(µM C em 96 h)	exposto/controle
Rio Negro		
Vazante (setembro 2008)	16	17 / 11
Seca (dezembro 2008)	10	6 / 5
Cheia (abril 2009)	21	29 / 26
Vazante (setembro 2009)	73	54 / 33
Lago Tupé		
Vazante (setembro 2008)	ND	ND
Seca (dezembro 2008)	9	9 / 7
Cheia (abril 2009)	22	36 / 29
Vazante (setembro 2009)	75	33 / 17

Tabela 5- Porcentagem de remoção do COD total (μ M C) por processos abióticos (fotodegradação) e bióticos (ação bacteriana) por período amostrado no Rio Negro e lago Tupé.

A fotodegradação estimulou a bio-remoção do COD em todos os períodos amostrados e nos dois ambientes, com exceção da seca no Rio Negro em 2008 (Tabela 5). No período de cheia (abril 2009), a porcentagem de remoção do COD pelas bactérias, nas amostras expostas à luz solar, foram superiores as de foto-remoção, para os dois ambientes. O mesmo resultado foi observado na vazante de 2008 para o Rio Negro. Nesse período, não medimos as concentrações de COD para o lago Tupé, devido a problemas ocorridos com o equipamento utilizado para essa análise (Tabela 5).

.

5. DISCUSSÃO

A intensidade da radiação solar e a qualidade do COD apresentaram ampla variação em um ciclo hidrológico e sugerimos que foram estas as principais variáveis para explicar as taxas de fotodegradação medidas. O processo de fotodegradação estimulou, no geral, o metabolismo bacteriano nos quatro períodos do ciclo hidrológico, para os dois ambientes, sendo que a abundância bacteriana máxima foi maior no tratamento exposto à radiação solar.

A variação nas taxas de fotodegradação entre períodos do ciclo hidrológico foi similar para o Rio Negro e lago Tupé, com as maiores taxas ocorrendo no período de vazante em 2009 e as menores na seca, em dezembro de 2008 (Figura 4). No período de vazante, foram também registradas as maiores incidências de radiação solar e os maiores valores de cor do estudo, emquanto os menores valores ocorreram na seca em 2008. Bertilsson e 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. O índice de foto-reatividade do COD (IFC) no lago Tupé e Rio Negro acompanharam a variação nas taxas de fotodegradação entre períodos, e os valores foram próximos entre ambientes, o que indica fotoreatividade do COD similar entre eles. O possível sinergismo entre a incidência da radiação solar e a absorção especifica do COD, em decorrência de sua qualidade, parece influenciar as variações nas taxas de fotodegradação registradas para o lago Tupé e Rio Negro no ciclo hidrológico estudado (Figura 8).

Rodríguez-Zúñiga *et al.* (2008) estudaram a fotodegradação (fonte luminosa artificial) de substâncias húmicas aquáticas (SHA) extraídas do Rio Negro nos períodos de cheia (junho-julho) e seca (dezembro-janeiro). Os autores registraram maiores taxas de degradação fotoquímica no período de cheia, e atribuíram esse resultado ao maior conteúdo alifático das SHA, demonstrando a influência da qualidade das SHA no processo de fotodegradação. O maior conteúdo de compostos alifáticos nas substâncias húmicas do Rio Negro foi registrado nos períodos de cheia e vazante (junho a outubro), enquanto as porções mais aromáticas

Figura 8 - Modelo esquemático do comportamento dos processos estudados de degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) no Lago Tupé (A-C,H) e Rio Negro (D-G) em um ciclo hidrológico. A e D representam a vazante de 2008 e G e H, 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 e E representam o período de seca, em que os dois processos atuam com menor intensidade e a cor d'água é mais clara. C e F representam as águas altas, onde há a maior entrada de MOD, do igapó e dos solos inundados. A cor d'água é semelhante entre os dois ambientes, assim como o processo de fotodegradação, enquanto a degradação bacteriana é maior no Lago.

(hidrofóbicas) predominaram nos períodos de seca e enchente (dezembro a fevereiro) (Rodríguez-Zúñiga,, 2006), o que indica diferenças sazonais na qualidade das SHA do Rio Negro. As duas maiores taxas de fotodegradação do nosso estudo ocorreram, respectivamente, na vazante de 2009 e na cheia do mesmo ano e, embora não tenhamos caracterizado quimicamente a MOD, esses resultados corroboram aqueles relatados por Rodríguez-Zúñiga, (2006), visto que as maiores taxas estão relacionadas aos períodos em que o autor observou a MOD com maior teor de porções alifáticas.

Hedges *et al.* (1986b), utilizando isótopo de C_{14} , investigaram as idades das frações dissolvidas e particuladas da matéria orgânica para o Rio Amazonas e seus principais tributários, dentre eles o Rio Negro. Para esse tributário quase toda matéria orgânica se encontra na fração dissolvida, dividida no estudo em ácidos húmicos e ácidos fúlvicos (30 e 45% respectivamente). Os autores encontraram uma idade mais recente nos ácidos fúlvicos em relação aos ácidos húmicos, sugerindo que esses compostos são mais hidrofílicos e percolariam mais rápido pelos solos do que os ácidos húmicos, que são adsorvidos pelos minerais do solo. Ainda nesse estudo, os autores relatam a existência de uma porção mais hidrofílica, incapaz de ser caracterizada por limitação do método utilizado (adsorção por resinas sintéticas- XAD 8), que deve ser ainda mais recente que os ácidos fúlvicos caracterizados. O período de cheia é marcado por inundação da floresta de igapó, que é rica em matéria orgânica (Figura 8). Essa característica favorece a constante entrada de MOD recente, proveniente da decomposição da matéria orgânica, em que, possivelmente, as porções mais hidrofílicas da MOD têm maior entrada nesse período. Segundo Bertilsson e Bergh (1999), a degradação fotoquímica da MOD pode ser influenciada pelas proporções entre as porções hidrofílicas e hidrofóbicas da MOD, e demonstraram que as frações mais hidrofílicas são uma porção muito foto reativa em sistemas húmicos de água doce. O IFC evidencia a maior reatividade da MOD nos períodos de vazante e cheia de 2009 (Figura 4), apontando uma MOD com alta qualidade ao processo de fotodegradação nesses períodos, possivelmente devido à sua qualidade mais alifática e, conseqüentemente, mais hidrofílica.

Num trabalho em ecossistemas amazônicos de águas claras (Amado et al.,2006), houve variação na radiação incidente, com maior valor registrado no período de vazante.

Entretanto, mudanças sazonais na qualidade do COD, relacionadas à origem, foram as principais responsáveis pelas variações nas taxas de fotodegradação naquele estudo. No Rio Negro, ao comparar os mesmos períodos do ciclo hidrológico, vazante 2008 e vazante de 2009, temos MOD com alta absorção específica nos dois períodos, o que sugere alta foto-reatividade da MOD. No entanto, há variação nos valores de radiação incidente, ocasionada por diferenças na cobertura de nuvens (Figura 8). Mudanças sazonais na cobertura de nuvens constituíram o principal fator a influenciar a incidência de radiação solar, em um estudo climático em floresta primária na porção leste da Amazônia (Rocha *et al.,* 2004). Nos períodos de maior precipitação, geralmente tem-se menor incidência de radiação solar em função da atenuação desta pelas nuvens (Louis e Sunday, 2003). Possivelmente ocorreu uma atenuação da radiação incidente na vazante de 2008, pois nesse período foi registrada a maior precipitação mensal do estudo, acima da média histórica para o mês de setembro (Boletim-Infoclima, CPTEC-INPE 2008).

Ao final do ano de 2008, houve a influência do fenômeno climático *La Niña*, que se intensificou no inicio de 2009, acarretando um aumento de precipitação em grande porção da Bacia Amazônica (Boletim-Infoclima CPTEC-INPE 2009). Em virtude desse fenômeno foi registrada a maior cheia da história, e a antecipação do ciclo hidrológico no Rio Negro. Em sentido oposto, o ano de 2009 foi influenciado pelo fenômeno *El Niño*, que provocou uma grande seca na Amazônia, a partir do segundo semestre desse ano, onde foram registradas altas temperaturas em virtude da baixa umidade e conseqüente maior incidência de radiação solar (Síntese climática, CPTEC-INPE 2009). A influência dos diferentes fenômenos climáticos se refletiu nas taxas de foto-remoção e de bio-remoção da MOD, ao se comparar os períodos de vazante de 2008 e 2009, para os dois ambientes. As porcentagens de foto-remoção da MOD foram cerca de cinco vezes maiores no período sob influência do *El Niño* (vazante de 2009), e mais de três vezes maiores para a bio-remoção, quando comparadas ao mesmo período em 2008 (Tabela 5).

Em abril de 2009, o Rio Negro apresentava cota hidrológica em 28,1 m, nível característico do período de cheia (Bittencourt e Amadio, 2005) que geralmente ocorre em junho. Nesse período há inundação máxima da floresta de igapó adjacente, bem como dos lagos em comunicação com o rio (Rai e Hill, 1981a). Os valores de cor e concentração de

COD (Tabela 2), medidas nesse período, evidenciam características similares entre as águas do Rio Negro e do lago Tupé, o que reflete em valores similares das taxas de fotodegradação medidas em abril de 2009 (Figura 8). As taxas de fotodegradação no Rio Negro são superiores às medidas no lago Tupé em todos os períodos, exceto para o de cheia, quando o lago e o rio tornam-se, aparentemente, um único sistema (Figura 4). Segundo Rai e Hill (1981b), a dinâmica de inundação exerce influência direta sobre o lago Tupé, sendo o Rio Negro sua principal fonte renovadora de MOD, o que de fato foi constatado no presente estudo, onde observamos progressiva diminuição das concentrações de carbono no lago entre os períodos de cheia e seca (Tabela 2).

As taxas de fotodegradação aqui apresentadas são comparáveis a outros trabalhos em ambientes húmicos de água doce, em regiões temperadas e tropicais, em que o tempo de exposição à radiação solar foi inferior ao período total de incidência de radiação solar por um dia. Farjalla et al. (2009), em uma revisão sobre os paradigmas de remoção do COD em ambientes húmicos, compararam as taxas de fotodegradação entre ambientes húmicos tropicais e temperados. Nesse estudo, o valor limite de 1,0 mg C.l⁻¹.d⁻¹ para a taxa de fotodegradação foi registrado para os resultados publicados em ambientes temperados. As taxas de fotodegradação registradas na vazante de 2009 são superiores a esse limite, e comparáveis às taxas medidas em outros estudos em ambientes tropicais, como as lagoas costeiras no estado do Rio de Janeiro (Suhett et al., 2007) e igarapés amazônicos em ecossistemas de águas claras (Amado et al., 2003). Por outro lado, as menores taxas de fotodegradação, medidas na vazante de 2008 e na seca do mesmo ano, são comparáveis a maioria das medidas reportadas para os ambientes temperados no estudo de Farjalla et al. (2009). Conforme sugerido por esses autores, as atípicas e elevadas taxas de fotodegradação, parecem estar associadas à dinâmica sazonal de foto-reatividade do COD em interação com altas incidências de radiação solar em ambientes tropicais, o que foi observado no período de vazante em 2009, quando esses fatores interagiram e produziram as maiores taxas de fotodegradação do presente estudo.

Amon e Benner (1996b) estudaram a fotodegradação e a degradação bacteriana da MOD, nos períodos de águas altas, no Rio Negro e em outros dois ambientes. Os valores de fotodegradação medidos neste estudo para o Rio Negro são comparáveis aos medidos por nós

em abril de 2009, também no período de águas altas. Esses autores não encontraram relações diretas entre os processos de fotodegradação e degradação bacteriana. Ao contrário, em nosso estudo, o processo de fotodegradação estimulou o metabolismo bacteriano em todos os períodos, para o lago Tupé e Rio Negro, onde a abundancia bacteriana foi maior nos tratamentos expostos à radiação. Em ambientes húmicos, em que a produção alóctone é predominante, o processo de fotodegradação estimula a atividade bacteriana a partir da produção de compostos mais lábeis ao metabolismo desses microorganismos, como documentado em diversos trabalhos (Tranvik e Bertilsson, 2001; Amado *et al.*, 2006; Farjalla *et al.*, 2009). No estudo de Amon e Benner (1996b) foram utilizadas garrafas de pyrex nos experimentos de fotodegradação; estas garrafas atenuam a radiação incidente (50% UVB e 20% UVA), podendo comprometer o processo e a produção de compostos mais lábeis as bactérias, o que, segundo os autores, pode ter contribuído para a não detecção de estímulo ao metabolismo bacteriano.

No Rio Negro, somente no período de seca (dezembro 2008), a taxa de remoção bacteriana do COD foi maior no tratamento controle; neste período, observamos diminuição expressiva na taxa de produção e um aumento na taxa de respiração no tratamento exposto a radiação solar. Essa variação reflete a alta ECB registrada no tratamento controle, e deve-se ao fato da taxa de produção bacteriana ser superior à taxa de respiração. Possivelmente a MOD é mais lábil à produção bacteriana e, ao ser foto-degradada, há produção de compostos recalcitrantes ou tóxicos. O processo de fotodegradação pode transformar compostos, inicialmente lábeis, em compostos resistentes à degradação bacteriana, ou mesmo compostos tóxicos ao metabolismo bacteriano, como o oxigênio singleto e o peróxido de hidrogênio (Farjalla et al., 2001; Perez e Sommaruga, 2007; Cory et al., 2010). Jardim et al. (2010), estudando a foto-reação do mercúrio na bacia do Rio Negro, registraram uma relação positiva entre a oferta de MOD lábil, recente, e o consumo de peróxido de hidrogênio (H₂O₂). Os autores sugerem que, devido à menor oferta de substrato lábil, que tem maior reatividade com o peróxido de oxigênio, no período de seca, haveria uma maior disponibilidade desse composto na coluna d'água. A maior disponibilidade de H₂O₂ pode influenciar negativamente o metabolismo bacteriano. No período de seca, para o Rio Negro, o processo de fotodegradação agiu diminuindo a remoção de carbono pela ação das bactérias.

A maior ECB registrada para o lago Tupé também ocorreu no período de seca no tratamento controle, em que a PB foi 30 % maior que a RB. Ao contrário do Rio Negro, o processo de fotodegradação estimula a remoção da MOD pelas bactérias, como observado no aumento da taxa de remoção no tratamento exposto à radiação solar. Esse aumento deve-se a um incremento nas taxas de respiração nesse tratamento. Nesse período foi registrado o menor valor de cor, indicando uma maior transparência nesse período. Essa condição favorece a maior entrada de luz e pode estimular o crescimento de algas. Rai e Hill (1981b) encontraram relação direta entre a atividade bacteriana e as concentrações de clorofila no período de seca para o lago Tupé, indicando uma interação entre o metabolismo bacteriano e a oferta de substrato lábil algal. O processo de fotodegradação no tratamento exposto, na seca, estimulou a respiração bacteriana da MOD diminuindo a ECB em relação ao tratamento controle, causando aumento na mineralização da MOD. Amado et al. (2006) encontraram essa mesma relação em ecossistemas amazônicos de águas claras e sugeriram ação complementar de remoção do carbono entre os dois processos. O processo de fotodegradação disponibiliza substrato, inicialmente refratário ao metabolismo bacteriano, estimulando a respiração, e apresenta pouca ação sobre os compostos lábeis a produção bacteriana (ou seja, COD algal). Esses teriam menor complexidade e sofreriam pouca ação pelas reações fotoquímicas (Amado *et al.*, 2006).

No período de cheia no Rio Negro e lago Tupé, a disponibilidade do COD e a ECB apresentaram altos valores nos tratamentos expostos e controles, com poucas diferenças entre eles, o que sugere abundância de substratos lábeis aos dois processos aqui investigados (Tabelas 3 e 4). Esses resultados podem ser responsáveis pela ausência de relação direta entre os processos de fotodegradação e degradação bacteriana apontada no trabalho de Amon e Benner (1996b), ao invés de uma limitação do método, como proposto por eles, visto que o trabalho também foi realizado no período de águas altas. Foram registradas ECB de 36% no tratamento exposto e 31% no controle para o Rio Negro e de 58 % e 48% para o lago Tupé. Esses valores estão de acordo com os medidos por Rai e Hill (1981b), em um estudo no lago Tupé (ECB = 48%), e por Benner *et al.*(1995), no período de águas altas (ECB: 35% - 58%), em sete tributários principais do Rio Amazonas, incluindo o Rio Negro. No período de cheia, devido à inundação máxima da floresta de igapó, há troca e entrada de substratos mais bio-disponíveis, que determinam altos valores de ECB (Benner *et al.*, 1995). As maiores ECB 38

registradas no lago Tupé, nesse período, estão associadas às maiores taxas de PB quando comparadas as do Rio Negro, possivelmente devido a uma maior oferta de nutrientes; estes são trazidos com o rio e carreados pela inundação da floresta de igapó na bacia de drenagem do lago.

As maiores taxas de remoção e disponibilidade do COD foram registradas no período de vazante de 2009 para o Rio Negro. Nesse período, foram registradas as menores eficiências de crescimento bacteriano para os dois ambientes. Esse parâmetro foi influenciado pelas altas taxas de respiração bacteriana registradas no período. Os baixos valores de ECB indicam que o carbono foi preferencialmente mineralizado, ao invés de favorecer o fluxo de energia pela alça microbiana.

Mayorga *et al.* (2005) investigaram as fontes responsáveis pela característica heterotrófica dos principais tributários da bacia amazônica e atribuíram à MOD recente, até 7 anos, o principal combustível à respiração. A oferta desse substrato varia com a intensidade do pulso de inundação e os períodos de cheia e vazante, possivelmente, comportam maiores concentrações desse substrato recente. Moreira-Turcq *et al.* (2003) relataram o maior fluxo de COD no Rio Negro no período de vazante (setembro), com medições realizadas em 1996 em um ponto em frente ao lago Tupé. Com a diminuição do nível d'água, detritos orgânicos, lixiviados de macrófitas e plâncton são carreados ao canal do rio (Junk, 2005). No período de vazante, o rio diminui seu volume de água, o que pode acarretar na concentração da MOD. As maiores medidas de cor no período de vazante e as altas concentrações de COD parecem corroborar esses efeitos.

As altas taxas de remoção bacteriana do COD e as maiores taxas de respiração bacteriana (tratamento exposto) registradas na vazante de 2009 refletem os efeitos dos fenômenos climáticos *El Niño* e *La Niña* sobre a dinâmica do carbono em ecossistemas de águas pretas amazônicos. O *La Niña* foi responsável por um aumento na intensidade do pulso de inundação, que causou carreamento de grande quantidade de MOD adjacente aos dois ambientes estudados (Figura 8). Esse fato é evidenciado pela maior disponibilidade do COD na vazante de 2009, quando comparado ao mesmo período de 2008, em que coletamos na mesma cota hidrológica do Rio Negro (23 m). O *El Niño*, em seqüência, incrementou a incidência de radiação solar e a ação do processo de fotodegradação. Esse efeito estimulou o 39

metabolismo bacteriano, principalmente a RB, aumentando a taxa de remoção bacteriana do COD, na vazante de 2009 em relação ao mesmo período em 2008.

IMPLICAÇÕES DOS PROCESSOS PARA OS ECOSSISTEMAS E DESDOBRAMENTOS

A fotodegradação e a degradação bacteriana promovem a degradação da matéria orgânica dissolvida e são responsáveis por dois dos principais processos envolvidos na remoção (mineralização) da MOD em ecossistemas aquáticos (Farjalla *et al.*, 2009). Nossos resultados apontam diferenças sazonais na contribuição desses processos sobre a biogeoquímica do carbono em ecossistemas de águas pretas amazônicas.

Para representar a mineralização da MOD nas águas pretas do sistema do Rio Negro faremos analogia a uma reação química, onde os reagentes seriam a MOD e seus diversos compostos, os produtos seriam compostos inorgânicos (CO_2 e CO) e outros compostos orgânicos menores e, por fim, os processos seriam os catalisadores da reação. Nos diferentes períodos do ciclo hidrológico, os catalisadores, em virtude de alterações nos reagentes, interagem em diferentes proporções, afetando assim a formação dos produtos da reação. No período de águas altas, há interação máxima entre os ecossistemas aquáticos e a floresta alagada, o que acarreta um aumento na abundância e diversidade da MOD e, assim, favorece a ação de ambos os catalisadores. Em paralelo ao que ocorre em uma reação química o aumento de concentração nos reagentes favorece a formação dos produtos da reação. Nesse período, cerca de 50% do carbono é removido pela fotodegradação em conjunto com a degradação bacteriana, onde há formação de carbono inorgânico (CO e CO₂).

Uma reação química pode sofrer interferências externas, como o aumento de pressão e temperatura e afetar a formação dos produtos,. Além disso, reações químicas podem ocorrer em mais de uma etapa, e cada uma dessas ser mediada por diferentes catalisadores. A reação representativa da mineralização da MOD também pode ser influenciada por fatores externos e ocorrer em mais de uma etapa. Um aumento na intensidade das radiações solares, como um evento externo, pode aumentar a ação de um catalisador (fotodegradação) e, assim, gerar produtos que sofrerão ação de outro catalisador (degradação bacteriana). Ao fim, em uma reação global, haverá formação de compostos orgânicos menores e maior quantidade de compostos inorgânicos (CO CO₂), quando comparado às reações isoladas sob ação de um

único catalisador. De maneira geral, a interação entre os processos de fotodegradação e degradação bacteriana na mineralização do carbono é positiva, onde a ação do primeiro processo leva a um incremento da ação do segundo, o que aumenta a remoção de carbono nesses ecossistemas (Figura 8). O carbono removido pode passar à atmosfera e sofrer outras transformações, ou até mesmo, por processo fotossintético, ser novamente fixado pela floresta. Essa que é a principal fonte de MOD para os ecossistemas de águas pretas do Rio Negro (Ertel *et al.*, 1986).

Os resultados obtidos por Mayorga *et al.* (2005) demonstram que uma pequena fração da MOD, no entanto, é muito lábil e alimenta as altas taxas de respiração e a característica heterotrófica dos principais rios da Bacia Amazônica. Possivelmente essa fração possui maiores entradas no período de inundação, e deve haver diminuição nas suas concentrações em um gradiente de cheia-seca. Quando um novo período de inundação se inicia, deve haver um aumento no aporte desses substratos. A porcentagem de remoção de carbono pelos processos de fotodegradação e degradação bacteriana, no sistema do Rio Negro, diminui no gradiente cheia-seca em um ciclo hidrológico. Sugerimos que ambos os processos atuam preferencialmente sobre essa pequena fração da MOD, levando a uma rápida ciclagem desse material. No entanto, uma investigação sazonal sobre a origem e utilização desses substratos deve ser realizada para comprovar essa suposição.

O balanço geral do carbono deve ser melhor investigado, para compreender as entradas de carbono ao sistema do Rio Negro, bem como realizar medidas dos processos de fotodegradação e degradação bacteriana, integradas a coluna d'água, com vista a estimar a participação desses processos no ciclo global do carbono nesse sistema. Ainda, a investigação em outros ecossistemas da bacia, como os igarapés, e o estudo de outros processos, como os que ocorrem nos sedimentos dos ecossistemas da bacia, são fundamentais para obtenção desse balanço geral do carbono. Finalmente, por se tratar de um ambiente húmico em que cerca de 70 a 80 % do material transportado pelo Rio Negro se encontra sob a forma dissolvida em substâncias húmicas (Hedges *et al.*, 1986b), variações na química dessas substâncias em um ciclo hidrológico influenciam a ação de diferentes processos envolvidos no ciclo do C. Além disso, tais alterações podem afetar a biogeoquímica de outros elementos, como o mercúrio, em que seu ciclo apresenta relação com o do carbono.

6. CONCLUSÕES:

- O pulso de inundação é determinante à dinâmica da MOD no lago Tupé, onde o período de águas altas atua como um renovador de substratos para os processos de fotodegradação e degradação bacteriana. Nesse período, observa-se alta atividade bacteriana nos tratamentos expostos e controles, possivelmente, devido à presença de um carbono de alta qualidade disponível aos dois processos.

- A intensidade do pulso é variável entre ciclos hidrológicos e em interação com alterações sazonais climáticas, determina as intensidades dos processos aqui estudados.

- Nosso estudo foi pioneiro em investigar os processos de fotodegradação e degradação bacteriana da MOD, em um ciclo hidrológico, completo em ecossistemas amazônicos de águas pretas. De maneira geral, esses processos têm ação complementar na remoção da MOD.

- Nossos resultados apontam alto potencial para o processo de fotodegradação no período de vazante em que a MOD tem a maior absorção especifica.

 As variações sazonais da absorção específica da MOD e das intensidades da radiação solar interagem e produzem altas taxas de fotodegradação.

 Os processos hidrológicos e pedológicos da bacia do Rio Negro devem ser melhor investigados com vista aos processos de fotodegradação e degradação bacteriana, principalmente em relação à composição química da MOD e sua variação sazonal.

 Os dois processos em estudo responderam às variações causadas por fenômenos climáticos - *La Niña* e *El Niño*. O aumento na freqüência desses fenômenos pode ter implicação sobre a ciclagem da MOD e as emissões de gases de efeito estufa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amado, A. M.; Farjalla, V. F.; Esteves, F. A.; Bozelli, R. L. 2003. DOC photo-oxidation in clear water Amazonian aquatic ecosystems. *Amazoniana*, 17(3), 513-523.
- Amado, A. M. 2004. Foto-Degradação e Degradação Microbiana da Matérias Orgânica Dissolvida em Ecossistemas Aquáticos Amazônicos de Águas Claras. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 78pp.
- 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 Microb. Ecol.* 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. *Aquat. Microb. Ecol.*, 49(1), 25.
- Amon, R. M. W.; Benner, R. 1996a. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 41(1), 41-51.
- Amon, R. M. W.; Benner, R. 1996b. Photochemical and microbial consumption of dissolved organic carbon and dissolved oxygen in the Amazon River system. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 60(10), 1783-1792.
- Aprile, F. M.; Darwich, A. J. 2005. Modelos geomorfológicos para o lago Tupé. In: Santos-Silva, E. N.; Aprile F. M.; Scudeller V. V.; Melo, S. (Eds). Biotupé: meio físico, diversidade biológica e socio-cultural do baixo Rio Negro, Amazônia Central. INPA, pp. 3-18.
- Benner, R.; Opsahl, S.; Chin-Leo, G.; Richey, J. E.; Forsberg, B. R. 1995. Bacterial carbon metabolism in the Amazon River system. *Limnol. Oceanogr.*, 40(7), 1262–1270.
- Bertilsson, S.; Bergh, S. 1999. Photochemical reactivity of XAD-4 and XAD-8 adsorbable dissolved organic compounds from humic waters. *Chemosphere.*, 39(13), 2289–2300.
- Bertilsson, S.; Tranvik, L. J. 2000. Photochemical transformation of dissolved organic matter in lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 45(4), 753-762.

- Bittencourt, M. M.; Amadio, S. A. 2005. Proposta para identificação rápida dos períodos hidrológicos em áreas de várzea do rio Solimões-Amazonas nas proximidades de Manaus. *Acta amaz*, 37(2), 303–308.
- Cory, R. M.; McNeill, K.; Cotner, J. P.; Amado, A.; Purcell, J. M.; Marshall, A. G. 2010. Singlet Oxygen in the Coupled Photochemical and Biochemical Oxidation of Dissolved Organic Matter. *Env. Sci. Techno.*, ([s.d.]). 95–100
- CPTEC, 2008. Infoclima, 15 (10) : 1-3 (http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200810.pdf)
- CPTEC, 2009. Infoclima, 16 (01) : 1-3 (<u>http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200901.pdf</u>)
- CPTEC, 2009. Infoclima, 16 (10) : 1-3 (http://infoclima.cptec.inpe.br/~rinfo/pdf_infoclima/200910.pdf)
- CPTEC, 2010. Síntese Climática, 1 : 1-13 (<u>http://clima1.cptec.inpe.br/~rclima1/pdf/Sintese_Climatica_2009.pdf</u>)
- Cunha, H. E.; Pascoaloto, D. 2006. *Hidroquímica dos Rios da Amazônia*. Centro Cultural dos Povos da Amazônia–CCPA. Manaus–Amazonas.
- Ertel, J. R.; Hedges, J. I.; Devol, A. H.; Richey, J. E.; Nazare Goes Ribeiro, M.; Ribeiro, G. 1986. Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnol. Oceanogr.*, 31(4), 739-754.
- Farjalla, V. F.; Anesio, A. M.; Bertilsson, S.; Graneli, W. 2001. Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response. *Aquat. Microb. Ecol.*, 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. *Arch. Hydrobiol.*, 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. *Microb. Ecol.*, 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. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 16(5), 531–538.
- Fisher Jr, T. R., Parsley, P. E. 1979. Amazon lakes: Water storage and nutrient stripping by algae. *Limnol. Oceanogr.*, 24(3), 547–553.

- Forsberg, B. R., Devol, A. H., Richey, J. E., Martinelli, L. A., & Santos, H. 1988. Factors controlling nutrient concentrations in Amazon floodplain lakes. *Limnol. Oceanogr.*, 33(1), 41–56.
- Fry, J. C.; Austin, B. 1988. Methods in Aquatic Bacteriology. Determination of biomass. John Wiley Sons Ltd., New York, USA, 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. 41–85.
- del Giorgio, P. A.; Cole, J. J. 1998. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 29(1), 503–541.
- Hedges, J. I.; Clark, W. A.; Quay, P. D.; Richey, J. E.; Devol, A. H.; Santos, U. M. 1986a. Compositions and fluxes of particulate organic material in the Amazon River. *Limnol. Oceanogr.*, 31(4), 717–738.
- Hedges, J. I.; Ertel, J. R.; Quay, P. D.; Grootes, P. M.; Richey, J. E.; Devol, A. H.; Farwell, G. W. 1986b. Organic carbon-14 in the Amazon River system. *Science*, *231*(4742), 1129–1129.
- Hedges, J. I.; Cowie, G. L.; Richey, J. E.; Quay, P. D.; Benner, R.; Strom, M.; Forsberg, B. R. 1994. Origins and processing of organic matter in the Amazon River as indicated by carbohydrates and amino acids. *Limnol. Oceanogr.*, 39(4), 743–761.
- Hobbie, J. E.; Daley, R. J. e Jasper, S. 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33(5), 1225-1228.
- 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. *Limnol. Oceanogr.*, 47(4), 1261–1267.
- 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 Geochem.*, ([s.d.]) 1–12.
- Junk, W. J.; Bayley, P. B.; Sparks, R. E. 1989. The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Can. S. Public. Fish. Aquat. Sci*, 106, 110–127.
- Junk, W. J. 2005. Flood pulsing and the linkages between terrestrial, aquatic, and wetland systems. In *Proc Int Assoc Theor Appl Limnol*., 29, 11–38.
- Kaiser, E.; Sulzberger, B. 2004. Phototransformation of riverine dissolved organic matter (DOM) in the presence of abundant iron: effect on DOM bioavailability. *Limnol. Oceanogr.*, 49(2), 540-554.

- Kieber, R. J.; Hydro, L. H.; Seaton, P. J. 1997. Photooxidation of triglycerides and fatty acids in seawater: Implication toward the formation of marine humic substances. *Limnol. Oceanogr.*, 42, 1454-1462.
- Latrubesse, E. M.; Franzinelli, E. 2005. The late Quaternary evolution of the Negro River, Amazon, Brazil: Implications for island and floodplain formation in large anabranching tropical systems. *Geomorphology*, 70(3-4), 372-397.
- Leenheer, J. A. 1980. Origin and nature of humic substances in the waters of the Amazon river basin. *Acta Amazonica*, 10(3), 513.
- Leenheer, J. A.; Santos, U. M. 1980. Considerações sobre os processos de sedimentação na água preta ácida do rio Negro (Amazônia Central). *Acta Amazonica*, 10(2), 343.
- Lindell, M.; Graneli, W.; Tranvik, L. 1995. Enhanced bacterial growth in response to photochemical transformation of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 40(1), 195-199.
- Louis, E. A.; Sunday, E. 2003. Relationship Between Global Solar Radiation and Sunshine Duration for Onne, Nigeria. *Turk. J. Phys*, 27, 161–167.
- Martinelli, L. A.; Victoria, R. L.; Trivelin, P. C. O.; Devol, A. H.; Richey, J. E. 1992. ¹⁵N natural abundance in plants of the Amazon river floodplain and potential atmospheric N₂ fixation. *Oecologia*, 90(4), 591–596.
- Mayorga, E.; Aufdenkampe, A. 2002. Processing of bioactive elements in the Amazon River system. In: McClain, M. E. The Ecohydrology of South American Rivers and Wetlands, IAHS Press 1–24.
- 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.
- Meade, R. H.; Nordin, C. F.; Curtis, W. F.; Costa Rodrigues, F. M.; Vale, C. M.; Edmond, J. M. 1979. Sediment loads in the Amazon River. *Nature*, 278(5700), 161-163.
- Meybeck, M. 1982. Carbon, nitrogen, and phosphorus transport by world rivers. Am. J. Sci., 282(4), 401.
- Molinier, M.; Guyot, J. L.; Oliveira, E.; Guimarães, V.; Chaves, A.1995. Hidrologia da bacia do rio Amazonas. A Água em Revista, Rio de Janeiro, 2(3), 31.
- Moran, M.; Zepp, R. 1997. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 42(6), 1307-1316.

- Moreira-Turcq, 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.
- Mounier, S., Braucher, R.,; Benaim, J. Y. 1999. Differentiation of organic matter's properties of the Rio Negro basin by cross-flow ultra-filtration and UV-spectrofluorescence. *Wat. Res.*, 33 (10), 2363–2373
- Nordin, C. F.; Meade, R. H.; Curtis W. F.; Bosio, N. J.; Landim P. M. B. 1980. Size distribution of Amazon River bed sediment. *Nature*, 286(5768), 52-53.
- Pérez, M. T.; Sommaruga, R. 2007. Interactive effects of solar radiation and dissolved organic matter on bacterial activity and community structure. *Environ. microb.*, 9(9), 2200.
- Quay, P. D.; Wilbur, D. O.; Richey, J. E.; Devol, A. H.; Benner, R.; Forsberg, B. R. 1995. The ¹⁸O:¹⁶O of Dissolved Oxygen in Rivers and Lakes in the Amazon Basin: Determining the Ratio of Respiration to Photosynthesis Rates in Freshwaters. *Limnol. Oceanogr.*, 718–729.
- Rai, H.; Hill, G. 1980. Classification of central Amazon lakes on the basis of their microbiological and physico-chemical characteristics. *Hydrobiol*. 72(1), 85–99.
- Rai, H.; Hill, G. 1981a. Bacterial biodynamics in Lago Tupé, a central Amazonian water" Ria Lake. *Arch. Hydrobiol*, 58, 420–468.
- Rai, H.; Hill, G. 1981b. Physical and Chemical Studies of Lago Tupe; A Central Amazonian Black Water' Ria Lake. *Int. Rev. Gesamte Hydrobiol.*, 66(1).
- Rai, H.; Hill, G. 1982. Establishing the pattern of heterotrophic bacterial activity in three Central Amazonian lakes. *Hydrobiol*, 86(1), 121–126.
- 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. *Limnol. Oceanogr.*, 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 CO 2. *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. *Ecol. Appl.* 22–32
- Rodríguez-Zúñiga, U. F. 2006. Avaliação da Influência de fatores ambientais na estrutura, dinâmica e propriedades ópticas das substâncias humicas aquáticas do Rio Negro. Dissertação de

Mestrado, Instituto de Química de São Carlos/Universidade de São Paulo. São Carlos, São Paulo. 160pp.

- 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. *Environ. Sci. Technol.*, 42(6), 1948-1953.
- Scudeller, V. V.; Aprile, F.M.; Melo, S.; Santos-Silva, E.N. 2005. Reserva de desenvolvimento sustentável do Tupé: características gerais. *In*: Santos-Silva, E. N.; Aprile F. M.; Scudeller V. V.; Melo, S. (Eds). *Biotupé: meio físico, diversidade biológica e socio-cultural do baixo Rio Negro, Amazônia Central*. INPA, pp. XI-XXI.
- Scully, N.; Mcqueen, D.; Lean, D.; Cooper, W. 1996. Hydrogen peroxide formation: The interaction of ultraviolet radiation and dissolved organic carbon in lake waters along a 43-75 °N gradient. *Limnol. Oceanogr.*, 41(3), 540-548.
- Sioli, H. (1984) The Amazon and its main affluents: hydrography, morphology of the river courses, and river types. In: The Amazon: Limnology and Landscape Ecology of a Mighty Tropical River and its Basin (ed. by H. Sioli), 127–165. W. Junk Publishers.
- Stallard, R. F.; Edmond, J. M. 1983. Geochemistry of the Amazon 2. The influence of geology and weathering environment on the dissolved load. *J. Geophy. Res*, 88(C14), 9671–9688.
- Suhett, A. L.; Amado, A. M.; Bozelli, R. L.; Esteves, F.A.; Farjalla, V. F. 2006. O papel da fotodegradação do carbono orgânico dissolvido (COD) nos ecossistemas aquáticos. *Oecol. Bras.*, 10(2).
- 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. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 64(9), 1266-1272.
- Theil-Nielsen, J.; Sondergaard, M. 1998. Bacterial carbon biomass calculated from biovolumes. *Arch. Hydrobiol*, 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.

Wissmar, R. C.; Richey, J. E.; Stallard, R. F.; Edmond, J. M. 1981. Plankton metabolism and carbon processes in the Amazon River, its tributaries, and floodplain waters, Peru-Brazil, May-June 1977. *Ecology*, 62(6), 1622–1633.