

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA BIOLÓGICA**

**DINÂMICA E COMPOSIÇÃO DAS
COMUNIDADES BACTERIANAS EM
FUNÇÃO DA DISPONIBILIDADE DE
OXIGÊNIO NA LAGOA DA CONCEIÇÃO
(SANTA CATARINA, BRASIL)**

MARIA LUIZA SCHMITZ FONTES

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oceanografia Biológica da Universidade Federal do Rio Grande, como requisito parcial à obtenção do título de DOUTOR.

Orientador: Dr. Paulo César Abreu

**RIO GRANDE
Junho de 2009**

Dedico este trabalho aos meus **ANJOS**
Luana e Jasmim

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Paulo C. Abreu por ter sido o principal responsável pelo meu amadurecimento profissional. Gostaria de agradecê-lo pela sua confiança, suporte e apoio durante todas as etapas da tese.

À Clarisse Odebrecht pelo incentivo, entusiasmo e pelos ensinamentos sobre a ecologia dos protistas. Aos membros da banca Felipe Niencheski, Luiz Felipe Marins por terem acompanhamento o desenvolvimento desta tese através dos relatórios de atividades durante pelo menos 3 anos, ao Danilo Giroldo e ao Baastian Knoppers pelas sugestões e comentários que contribuíram com a apresentação final da tese.

À CAPES por ter me fornecido a bolsa de estudos por 42 meses e pela bolsa de estágio sanduíche PDEE por 4 meses.

Gostaria de agradecer especialmente o meu amigo e “irmão” Carlos Fujita pela sua amizade, consolo e super ajuda com problemas que sempre aparecem no computador. Muito obrigada por escutar os meus desabafos, e te prometo, vou voltar a ter o brilho!

À Bia Caldeira que é o anjo que temos no laboratório! Te amo! Ao Valnei Rodrigues que para mim faz falta no laboratório!

Agradeço aos amigos Lisa Meinerz, Amábile Ferreira, Bianca Cappelletti, Érica Silveira, Vanessa Britto, Amália Detoni, Lucélia Borges, Lise Maria Ferreira, Márcio Souza, Arnaldo Russo por todos os momentos compartilhados juntos, alimento para a alma!

Agradeço muito, muito, muito ao Tiago Gandra que sempre muito pacientemente me ensinou a utilizar o ArcGIS e a sair dos inúmeros problemas em que me deparava... além da sua amizade e capacidade de ver o lado bom de tudo! Muito obrigada!

Agradeço à Virgínia Garcia pela disposição em ajudar os alunos e por tornar a relação professor – aluno mais próxima. Obrigada pela sua amizade, te admiro muito!

Ao Carlos Garcia pelos ensinamentos sobre o que é a radiação fotossinteticamente ativa, cálculos, e principalmente pela sua amizade e incentivo.

Todo o pessoal que me acolheu um pouquinho cada vez que vinha para Rio Grande: Lisa Meinerz, Manu e Mineiro, Sônia Kaminsky, Érica, Amália e Maria Fernanda, e em especial ao casal Tiago e Liane, que me fizeram me sentir como que entre meus irmãos!

Ao pessoal de Floripa: Alan da Silva, pela ajuda em campo e pela ótima comida no restaurante da costa da Lagoa, o Costa Leste, além da boa música! Ao professor Bruno Spoganicz por disponibilizar o seu laboratório para eu poder processar as amostras assim que saía do campo e além de me apresentar dois de seus alunos de iniciação científica que acabaram me ajudando muito: Ângela Shu e Thiago que se mostraram sempre dispostos a ajudar mesmo em baixo de chuva e vento Sul. Ao Grupo de Busca e Salvamento do Corpo de Bombeiros e a Polícia Ambiental pelo apoio em campo na fase inicial do doutorado.

Gostaria de agradecer o pessoal de Lewes, Delaware, U.S.: Matthew Cottrel, David Kirchman, Barbara Campbell, Raphael Lami, e em especial, Ana Dittel e Li Yu. Gostaria de agradecer a minha companheira de casa e grande amiga Maella Drean, a ao pessoal do CMES pelos 4 meses de acolhimento e aprendizado.

E finalmente, à minha grande família (pai, mãe, irmãos, tias, avós, sogros, cunhados) e à minha pequena e feliz família que me acompanhou em cada passo durante 4 anos (Rafael, Luana e Jasmim).

Sou eternamente grata ao amor das minhas filhas que já nos seus primeiros anos de vida conheceram esse tal de Doutorado, quero dizer “Pingo Jojô Bolinha” (como elas o chamavam)!

SUMÁRIO	página
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XI
RESUMO	1
PALAVRAS-CHAVE	3
ABSTRACT	4
KEY WORDS	6
1. INTRODUÇÃO GERAL	7
HIPÓTESES DE TRABALHO	14
2. OBJETIVOS	15
Geral	15
Específicos	15
3. CAPÍTULO 1	16
Variação espaço-temporal das assembléias bacterianas em uma lagoa costeira subtropical rasa no sul do Brasil	16
RESUMO	16
INTRODUÇÃO	17
MÉTODOS	19
Área de estudo	19
Desenho amostral, medidas dos parâmetros abióticos e coleta de água	20
Análise de nutrientes e clorofila-a	22
Análise do bacterioplâncton	23
Interpolação dos dados e análises estatísticas	24
RESULTADOS	25

Variáveis físico-químicas e clorofila-a	25
Abundância e biovolume do bacterioplâncton.....	28
Análises estatísticas.....	33
DISCUSSÃO.....	35
Variabilidade do bacterioplâncton no espaço e no tempo.....	35
A função de bactérias em águas estratificadas.....	38
REFERÊNCIAS.....	40
4. CAPÍTULO 2.....	45
O papel das bactérias fototróficas anoxigênicas na produção primária de uma lagoa costeira estratificada no sul do Brasil*	45
RESUMO	45
INTRODUÇÃO	46
MÉTODOS.....	49
Área de estudo.....	49
Desenho amostral e parâmetros abióticos.....	50
Pigmentos fotossintéticos e nutrientes inorgânicos.....	52
Produção primária	52
Composição da comunidade bacteriana.....	54
Análises estatísticas.....	56
RESULTADOS	56
Caracterização físico-química do ecossistema.....	56
Variabilidade espaço-temporal da produção primária	60
Produção primária total (PPT) - método do ¹⁴ C.....	62
Produção primária oxigênica (PPO) – método do O ₂	62

Variabilidade espaço-temporal da respiração da comunidade planctônica (RC).....	64
Análises estatísticas - Análise de componentes principais - ACP	65
Análise da composição da comunidade bacteriana.....	68
DISCUSSÃO.....	70
CONSIDERAÇÕES FINAIS	78
REFERÊNCIAS	78
5. CAPÍTULO 3	85
Cadeia alimentar microbiana na "zona morta" da Lagoa da Conceição - uma fonte significativa de carbono	85
RESUMO	85
INTRODUÇÃO	86
MÉTODOS.....	88
RESULTADOS	93
Variação temporal da assembléia microbiana na água de fundo da estação 33 ..	93
Fatores abióticos.....	93
Procariotas.....	94
Flagelados	96
Ciliados	98
Comparação entre as estações 33 (estratificada e com anoxia no fundo) e 82 (homogênea e oxigenada)	99
Fatores abióticos.....	99
Procariotas.....	100
Flagelados	102
Ciliados	104

DISCUSSÃO.....	107
REFERÊNCIAS.....	118
6. DISCUSSÕES GERAIS.....	123
7. CONCLUSÕES GERAIS.....	130
8. LITERATURA CITADA NA INTRODUÇÃO, DISCUSSÕES GERAIS E CONCLUSÃO GERAL.....	133
ANEXOS.....	137
Fotos de alguns dos protozoários mais abundantes dentro de cada classe de tamanho.....	137
fotos das <i>cf.</i> sulfobactérias presentes na água hipóxica e subóxica.....	141

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Médias (mínimo e máximo) de temperatura (T) ($^{\circ}\text{C}$), salinidade, k (coeficiente de atenuação) (m^{-1}) e radiação fotossinteticamente ativa na água de fundo (PAR_b) ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nos setores S (Sul), CS (Centro-Sul), CN (Centro-Norte) e N (Norte) em julho (Jul) e janeiro (Jan). Veja os detalhes no texto.....26

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Transparência da coluna d'água (profundidade do disco de Secchi), temperatura, salinidade, amônio, nitrato + nitrito, fosfato e silicato medidas nas águas superficiais e de fundo da Lagoa da Conceição no verão e no outono. Média e desvio padrão (DP) apresentados para cada variável medida no período.....58

Tabela 2. Valores de “carga” das variáveis utilizadas na ACP para os eixos 1 e 2. A porcentagem de variação explicada pelos 2 eixos é mostrada em itálico e as letras A, B e C estão relacionadas aos painéis correspondentes na figura 6. Os valores mais significativos estão apresentados em negrito.....67

CAPÍTULO 3

Tabela 1. Valores das variáveis: PAR₁₀, e PAR no fundo (PAR_b), em $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, temperatura (T), em $^{\circ}\text{C}$, salinidade (Sal), oxigênio dissolvido (OD), em mg L^{-1} , amônio (NH_4^+), nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$), fosfato (PO_4^{3-}), em μM , clorofila a (Chl *a*) e bacterioclorofila a (Bchl *a*), em $\mu\text{g L}^{-1}$, produção primária total (PPT), em $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$ (medida pelo método do ^{14}C), produção primária líquida (PPL), em $\text{mg O}_2 \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$, (medida pelo método do O_2) medidas na água de fundo da estação estratificada 33. Médias, desvio padrão, mínimo e máximo apresentados somente para OD, PPT e PPO.....94

Tabela 2. Valores das variáveis: PAR, em $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, coeficiente de atenuação da luz (k), em m^{-1} , T, em $^{\circ}\text{C}$, salinidade (Sal), oxigênio dissolvido (OD), em mg L^{-1} , nutrientes inorgânicos dissolvidos, em μM , amônio (NH_4^+), nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$), fosfato (PO_4^{3-}), razão N:P, clorofila *a* (Chl *a*) e bacterioclorofila *a* (Bchl *a*), em $\mu\text{g L}^{-1}$, produção primária total (PPT), em $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$, medida pelo método do ^{14}C , produção primária líquida (PPL), em $\text{mg O}_2 \text{m}^{-3} \text{h}^{-1}$, medida pelo método do O_2 avaliadas nas estações 33 e 82, a 0.5 m da superfície (sup) e a 0.5 m do fundo (fun),

nos dias 29 de janeiro e 7 de maio de 2007. Médias, desvio padrão, mínimo e máximo apresentados somente para OD (n=3), PPT e PPL (n=2)..... 101

Tabela 3. Matriz de correlação entre a biomassa ($\mu\text{g C mL}^{-1}$) de bactérias (filamentosas heterotróficas, HF; cianobactérias, CCY; cocos e bastonetes heterotróficos totais, CB; sulfobactérias, sulfo), flagelados (<7,5; 7,5-25; 25-50; >50 μm) e ciliados (7,5-25; 25-50; >50 μm); oxigênio dissolvido (OD, mg L^{-1}), silicato (SiO_4 , μM), produção primária total (PPT, $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), bacterioclorofila *a* e clorofila *a* (BChl *a*, Chl *a*, $\mu\text{g L}^{-1}$) e transparência (Tran., em m) na Lagoa da Conceição. Valores em negrito correspondem a $p < 0.05$; n=12. 106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 (INTRODUÇÃO GERAL). Localização da Lagoa da Conceição (SC) e sua divisão em 4 setores de acordo com sua característica morfológica. Pontos em preto correspondem às estações amostrais referentes ao segundo capítulo da tese. N= setor Norte; CN = setor Centro-Norte; CS = setor Centro-Sul e S = setor Sul. 13

CAPÍTULO 1

Figura 1. Transectos e estações amostrais nos setores Sul (S), Centro-Sul (CS), Centro-Norte (CN) e Norte (N) da Lagoa da Conceição, Santa Catarina. Medidas *in situ* (pontos pretos) e estações amostrais (pontos em cinza claro). N= setor Norte; CN = setor Centro-Norte; CS = setor Centro-Sul e S = setor Sul. 20

Figura 2. Regressão linear entre o índice de estratificação e oxigênio dissolvido na água de fundo dos setores Sul (S), Centro-Sul (CS), Centro-Norte (CN) e Norte (N) no inverno (julho de 2005) (A) e no verão (janeiro de 2006) (B). 27

Figura 3. Média + erro padrão das concentrações de nutrientes (μM) (amônio (A), nitrato ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) (B), fosfato (C) e (D) Cloro-a nos setores S, CS, CN, N em julho de 2005 (Jul) e janeiro de 2006 (Jan). As barras de erro representam o erro padrão; * $p < 0,05$. 28

Figura 4. Distribuição horizontal do oxigênio dissolvido na água de fundo em julho de 2005 (A) e em janeiro de 2006 (B). As listras pretas representam áreas $< 1,5$ m de profundidade não amostradas. 29

Figura 5. Média + erro padrão das abundâncias de bactérias filamentosas heterotróficas (HF), cianobactérias cocóides (CCY), cocóides+bastonetes heterotróficas (HCR) (A, B) e seus respectivos biovolumes (C, D) nos setores S, CS, CN, N em julho de 2005 (Jul) e janeiro de 2006 (Jan). O eixo Y da esquerda refere-se às bactérias filamentosas e o eixo Y da direita refere-se às bactérias cocóides+bastonetes (CCY e HCR). As barras de erro representam o erro padrão; * significa diferença estatística entre os grupos de bactérias por setor ($p < 0,05$). 31

Figura 6. Distribuição horizontal da abundância de cianobactérias cocóides (CCY) em julho (A), de bactérias heterotróficas totais (filamentosas + cocóides+bastonetes) em julho (B), de cianobactérias cocóides (CCY) (C) e de bactérias heterotróficas totais (D) em janeiro. Os pontos são estações amostrais e as cores representam a variação na abundância. As listras pretas representam áreas $< 1,5$ m de profundidade não amostradas. 32

Figura 7. Resultados da ACP realizada com as amostras de água coletadas nos setores S, CS, CN e N em ambas as campanhas amostrais (A), em julho (Jul) (B) e em janeiro (Jan) (C) com os parâmetros bacterianos e variáveis ambientais. As concentrações receberam a transformação de *log*. sf = superfície, md = meio, bt = fundo, HFA abundância de bactérias filamentosas heterotróficas, CCYA abundância de cianobactérias cocóides, HCRA abundância de bactérias heterotróficas (cocóides+bastonetes), HFB biovolume de bactérias filamentosas heterotróficas, CCYB biovolume de cianobactérias cocóides, HCRB biovolume de bactérias heterotróficas (cocóides+bastonetes). 34

CAPÍTULO 2

Figura 1. Localização e estações de amostragem na Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. Os números representam as estações de coleta. South = setor Sul, CS = setor Centro-Sul, CN = setor Centro-Norte e North = setor Norte. 51

Figura 2. Variabilidade espacial de PAR_b, índice de estratificação (stratification index) e oxigênio dissolvido (DO) em janeiro/fevereiro (A, C, E) e em abril/maio de 2007 (B, D, F). As barras de erro representam o desvio padrão, a linha pontilhada indica [OD] = 3 mg L⁻¹ usada para definir o limite de hipoxia. 60

Figura 3. Variabilidade espacial de pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* (Chl *a*) em janeiro/fevereiro (A) e em abril/maio (B), bacteriochlorophyll *a* (Bchl *a*) em janeiro/fevereiro (C) e em abril/maio (D). Surface = água coletada a 0,5 m abaixo da superfície e bottom = água coletada a 0,5 m acima da superfície do sedimento. 61

Figura 4. Variabilidade espacial da produção primária total calculada pelo método do ¹⁴C (PPT), da produção primária líquida oxigênica calculada pelo método do O₂ (PPO) e da respiração da comunidade (RC) em janeiro/fevereiro (A, C, E) e em abril/maio (B, D, F). As barras de erro representam o desvio padrão. Surface = água coletada a 0,5 m abaixo da superfície e bottom = para aquela coletada a 0,5 m acima do sedimento. 63

Figura 5. Análise de componentes principais (ACP) dos das variáveis ambientais e biológicas nas estações amostrais nos períodos de janeiro/fevereiro (J/F) e abril/maio (A/M) (A), somente em janeiro/fevereiro (B) e somente em abril/maio (C). SEC (transparência = profundidade do disco de Secchi), PAR_z (PAR na coluna d'água), T (temperatura da água), SAL (salinidade), DO (oxigênio dissolvido), NH₄⁺ (amônio), NO₃⁻ (nitrato+nitrito), PO₄³⁻ (fosfato), SIL (silicato), CHL (clorofila *a*), Bchl (bacterioclorofila *a*), PPT (produção primária total), RC (respiração da comunidade planctônica), PPO (produção primária oxigênica). 66

Figura 6. Imagem no gel de DGGE mostrando os padrões de bandas. Os números 12, 33 e 82 representam as estações de amostragem em cada setor (12 = S, 33 = CS, 82 = NC + N); as letras minúsculas indicam a profundidade coletada: s = água de superfície; b = água de fundo. As letras maiúsculas indicam o período de amostragem: J = janeiro/fevereiro, M = abril/maio de 2007. 68

Figura 7. Dendograma construído a partir da análise de cluster dos padrões de bandas observados no DGGE baseados em uma matriz binária (presença/ausência - equação de Jaccard). Os números 12, 33 e 82 representam as estações de amostragem em cada setor (12 = S, 33 = CS, 82 = NC + N); as letras minúsculas indicam a profundidade de coleta: s = água de superfície; b = água de fundo. As letras maiúsculas indicam o período de amostragem: J/F = janeiro/fevereiro, A/M = abril/maio de 2007. 69

CAPÍTULO 3

Figura 1. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de procariontes: cianobactérias (CCY) (A), bactérias cocóides+bastonetes (CB) (B), bactérias filamentosas heterotróficas (HF) (C) e *cf.* sulfobactéria (D) da água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. n = 50 – 70 campos. 96

Figura 2. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de flagelados agrupados em classes de tamanho na água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. n = 30. 97

Figura 3. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de ciliados agrupados em classes de tamanho na água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. n = 30. 98

Figura 4. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de procariontes na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Cianobactérias (CCY) (A), bactérias cocóides+bastonetes (CB) (B), filamentosas heterotróficas (HF) (C) e *cf.* sulfobactérias (D). Os asteriscos representam valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA. 102

Figura 5. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa das 4 classes de tamanho de flagelados na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Os asteriscos representam

valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA. 104

Figura 6. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa das 3 classes de tamanho de ciliados na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Os asteriscos representam valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA. 105

Figura 7. Análise de correspondência canônica (CCA) entre variáveis ambientais e biomassa de bactérias, flagelados e ciliados nas estações 33 e 82, superfície x fundo, em 29 de janeiro (Jan), 10 de abril (Ab1), 17 de abril (Ab2) e 7 de maio (Maio) de 2007. BCCY = biomassa de cianobactérias, BCB = biomassa de bactérias heterotróficas totais, BHF = biomassa de bactérias filamentosas, Sulfo = biomassa de sulfobactéria cf.; Ci = ciliado (1= 7,5-25 μm ; 2= 25-50 μm ; 3 = >50 μm), Fl = flagelado (1= <7,5 μm ; 2= 7,5-25 μm ; 3= 25-50 μm ; 4 = > 50 μm). As amostras são representadas por círculos preenchidos, as variáveis ambientais por vetores e a biomassa de bactérias e protozoários por triângulos. 108

RESUMO

O aumento na ocorrência e severidade das zonas hipóxicas ou “zonas mortas” nas águas costeiras tem recebido uma grande atenção. Estas “zonas mortas” são conhecidas por não abrigarem qualquer tipo de vida aquática de interesse comercial (e.g. peixes e invertebrados). Entretanto, microorganismos podem sobreviver sob hipoxia. A Lagoa da Conceição em Florianópolis (SC) apresenta em sua região central condições de hipoxia/anoxia em função da estratificação da coluna de água. Estas condições se estabeleceram a partir de 1982, quando o canal de acesso a Lagoa foi dragado, permitindo a intrusão ao longo do ano de água salgada que se desloca ao fundo, causando a estratificação da coluna d’água. Este trabalho, organizado em 3 capítulos, teve como objetivos: 1. Avaliar a distribuição do bacterioplâncton e a sua relação com o oxigênio da água de fundo, 2. Avaliar a contribuição de bactérias anoxigênicas para a produção primária total do sistema e 3. Verificar a existência de uma cadeia alimentar microbiana que possa canalizar a matéria orgânica produzida nas regiões com baixos níveis de oxigênio. No primeiro capítulo foi caracterizada a distribuição espaço-temporal do bacterioplâncton, com a abundância de cianobactérias e bactérias filamentosas heterotróficas aumentando em direção ao sul, mas com o biovolume aumentando em direção oposta, i.e., de sul para norte. Esta distribuição foi relacionada à concentração de amônio e fosfato. Entretanto, tanto a abundância quanto o biovolume foram significativamente maiores no verão. Nas águas de fundo da região estratificada, foi observado que a predominância das bactérias heterotróficas esteve relacionada às águas hipóxicas no inverno e que as bactérias fotoautotróficas estiveram relacionadas às

águas ricas em oxigênio no verão. Sugere-se que a luz e a estagnação da coluna d'água atuem como fatores reguladores do consumo ou produção de oxigênio nas águas de fundo de região estratificada. Os resultados do segundo capítulo mostraram que a produção de oxigênio (PPO) e a assimilação de dióxido de carbono (PPT) estiveram relacionadas positivamente no verão indicando uma maior produção primária oxigênica neste período. No outono, entretanto, foi verificado um “desacoplamento” entre PPT e PPO, com elevada incorporação de dióxido de carbono, mas sem produção de oxigênio. Neste período a razão entre Bchl *a*/Chl *a* alcançou 47% na água subóxica de fundo, o que indica uma maior contribuição de bactérias anoxigênicas para a produção primária total. A similaridade entre as assembléias bacterianas nas águas óxicas de superfície do setor Sul e as das águas subóxicas de fundo do setor Centro Sul sugerem que as bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP) podem estar contribuindo para a PPT em águas oxigenadas e subóxicas na Lagoa, sobrevivendo no interior de partículas suspensas nas águas de superfície (microhabitats). No terceiro capítulo foram quantificadas a densidade e a biomassa de bactérias e protozoários na água de fundo de uma estação estratificada com baixo teor de oxigênio dissolvido e comparadas a uma estação localizada em região homogênea e oxigenada. Cada grupo funcional bacteriano esteve correlacionado com uma classe de tamanho do protozooplâncton, o que indica uma interação trófica entre esses grupos, com a transferência da matéria orgânica produzida pelas bactérias para o protozooplâncton. A biomassa de bacterioplâncton ($0,32 \mu\text{g C mL}^{-1}$) e de protozooplâncton (flagelados, $0,26 \mu\text{g C mL}^{-1}$ e ciliados, $0,18 \mu\text{g C mL}^{-1}$) na água de fundo subóxica da estação 33 (estratificada) foi cerca de cinco vezes maior do que àquela medida na estação 82 (homogênea) que apresentou somente

0,065, 0,054 e 0,006 $\mu\text{g C mL}^{-1}$ de biomassa de bactérias, flagelados e ciliados, respectivamente. Com isso, as “zonas mortas” observadas na Lagoa da Conceição consistem em regiões com produção de matéria orgânica significativa pelas bactérias anoxigênicas que representam a base da cadeia trófica nesta região. É provável que processos semelhantes aconteçam em outras regiões com baixos níveis de oxigênio em regiões costeiras ao redor do mundo. Se isto acontecer, o conceito de “zonas mortas” precisará ser revisto.

PALAVRAS-CHAVE

Lagoa da Conceição, produção primária, bactérias, zonas mortas, hipoxia, bactérias anoxigênicas

ABSTRACT

The increasing occurrence and severity of the hypoxic or “dead zones” in the coastal waters has received great attention lately. These “dead zones” are known by not harboring any type of aquatic life of commercial interest (e.g fish and invertebrates). However, microorganisms can survive under hypoxia. The Conceição Lagoon in Florianópolis (SC) presents hypoxia/anoxia conditions in its central region where the water column is stratified. These conditions have established in the Lagoon since 1982, when the channel that connects the Lagoon to the Ocean was dredged, which allowed the intrusion of seawater and caused the stratification of the water column. This work, organized in three chapters, had as objectives: 1. To evaluate the distribution of bacterioplankton and its relation with the bottom water oxygen, 2. To evaluate the contribution of anoxygenic bacteria to total primary production of the system and 3. To verify the existence of a microbial food chain that may transfer the produced organic matter in these low oxygen regions. In the first chapter, the spatial-temporal distribution of bacterioplâncton was characterized, with increasing abundance of cyanobacteria and heterotrophic filamentous bacteria towards the south, but with the biovolume increasing in opposite direction, i.e., from south to north. This distribution was related to the concentration of ammonium and phosphate. However, either the abundance or the biovolume were significantly higher during summer. In the bottom waters of the stratified region, the predominance of heterotrophic bacteria was related to hypoxic waters in winter, while in summer photoautotrophic bacteria dominated in oxygen-rich waters. We suggested that light acts as the major regulating factor of the consumption or production of oxygen in deep waters of the stratified region. The results of the

second chapter showed that the oxygenic primary production (OPP) and the carbon dioxide assimilation (TPP) were positively related to each other in summer indicating a higher oxygenic primary production in this period. In autumn, however, an “uncoupled” relationship was observed between TPP and OPP, with higher carbon dioxide fixation, but no oxygen production. In autumn, BChl a/Chl a ratio was up to 47% in the suboxic waters, which indicates a higher contribution of anoxygenic bacteria to total primary production. The similarity among the bacterial assemblages of surface oxic waters from the southern sector and of bottom suboxic waters from the CS sector suggests that the AnAnP bacteria can be contributing with the TPP of suboxic and oxic waters in the Lagoon, surviving inside the suspended particles in surface waters. In the third chapter, the abundance and biomass of bacteria and protozoans were quantified from the low oxygen bottom waters of a stratified site and compared with a site located in a homogeneous and oxygenated region. Each functional group of bacteria was correlated with a size class of protozooplankton, indicating a trophic interaction between them, with a transfer of the organic material produced by different bacterial populations through protozooplankton predation. The biomass of bacterioplankton ($0.32 \mu\text{g C mL}^{-1}$) and of protozooplankton (flagellates, $0.26 \mu\text{g C mL}^{-1}$ and ciliates, $0.18 \mu\text{g C mL}^{-1}$) in the suboxic bottom waters of site #33 (stratified) was five-fold higher than that measured in site #82 (homogeneous) that only presented biomass of 0.065, 0.054 and $0.006 \mu\text{g C mL}^{-1}$ produced by bacteria, flagellates and ciliate, respectively. Therefore, it was shown that the “dead zones” observed in the Conceição Lagoon consist of regions with significant organic matter production by anoxygenic bacteria that represent the basis of the trophic food in this region. It is likely that similar processes may occur in

other coastal regions with low oxygen levels throughout the world. If this is the case, the concept of “dead zones” should be reevaluated.

KEY WORDS

Conceição Lagoon, primary production, bacteria, dead zones, hypoxia, anoxygenic bacteria

1. INTRODUÇÃO GERAL

A ocorrência de águas hipóxicas (concentração de oxigênio dissolvido inferior a 2-3 mg L⁻¹) (Renaud 1986; Bergondo *et al.* 2005; Vaquer-Sunyer & Duarte 2008) em ecossistemas marinhos costeiros tem aumentado exponencialmente nos últimos 40 anos, principalmente devido às atividades humanas como o uso de fertilizantes, produção de efluentes domésticos e industriais que estão associados ao incremento na densidade populacional humana. Soma-se a isso, o aumento da temperatura global causado pela queima de combustíveis fósseis que pode promover a formação de pycnoclinas mais acentuadas e freqüentes, além de alterar a pressão parcial dos gases nestes ambientes (Diaz 2001; Diaz & Rosenberg 2008; Stramma *et al.* 2008; Brewer & Peltzer 2009).

Existem dois fatores principais que levam ao desenvolvimento e manutenção da hipoxia: 1) a estratificação da coluna d'água que favorece o isolamento da água de fundo e impede a difusão do oxigênio da superfície para o fundo. Esta estrutura física é formada por massas d'água com características distintas de densidade, em função da temperatura, salinidade ou ambos; 2) a decomposição da matéria orgânica de origem tanto alóctone quanto autóctone que sedimenta até as águas de fundo estagnadas, levando ao consumo do oxigênio até a sua depleção, principalmente pela ação de microorganismos heterotróficos aeróbicos. A fonte de matéria orgânica é principalmente associada a florações ("blooms") de fitoplâncton, estimulados pela maior entrada de nutrientes e maiores temperaturas no verão. No Golfo do Mexico, a elevada descarga de nutrientes pelo Rio Mississippi estimula a produção primária nos

meses mais quentes e mais chuvosos do ano, levando o desenvolvimento da segunda maior “zona morta” no mundo (Rabalais *et al.* 2001; Rabalais *et al.* 2002).

As “zonas mortas” nada mais são do que camadas de água hipóxicas onde os níveis de oxigênio dissolvido (OD) são inferiores a 2-3 mg L⁻¹. Sob estas condições, a maioria dos animais aquáticos é eliminada, causando um forte impacto sobre os recursos pesqueiros litorâneos, principalmente sobre peixes, crustáceos e moluscos (Vaquer-Sunyer & Duarte 2008). Entretanto, o impacto é muito maior sobre organismos bentônicos sésseis e móveis, que não conseguem escapar das águas pobres em oxigênio, ocasionando sua morte. Já os peixes e os camarões podem nadar para fora destas zonas mortas, o que pode levar à queda na produção destes animais e o aumento nos preços dos frutos do mar (Rabalais *et al.* 2002). Recentemente, Brewer & Peltzer (2009) redefiniram as zonas mortas baseando-se no índice respiratório (estimado pela relação entre a pressão parcial de oxigênio e do dióxido de carbono - pO_2 e pCO_2) e apontam que a diminuição na concentração de oxigênio combinada ao aumento de CO₂ nos oceanos nos últimos anos pode provocar uma expansão ainda maior das zonas mortas, com efeitos mais severos sobre a biota marinha. Todavia, em sistemas costeiros rasos onde a luz penetra nestas “zonas mortas”, o aumento na concentração do CO₂ pode, por sua vez, favorecer um grupo especializado de bactérias capazes de fixar o CO₂, as quais são chamadas de bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP).

Apesar do efeito negativo da falta de oxigênio nos macroorganismos, as comunidades microbianas que habitam as “zonas mortas” constituem a base de cadeias alimentares únicas, em que os produtores primários são bactérias foto ou quimiolitótróficas, dependendo da intensidade luminosa (Fenchel & Finlay 1990; Behnke

et al. 2006; Imhoff 2008). Em geral, as “zonas mortas” são habitadas por microorganismos (bactérias e protozoários) que toleram baixas concentrações de oxigênio (Fenchel & Finlay 1990; Fenchel *et al.* 1990; Gomes & Godinho 2003; Gobler *et al.* 2008) e com a predominância do metabolismo heterotrófico aeróbico, normalmente levam à depleção total do OD. Processos anaeróbicos como a redução do sulfato levam à produção de sulfeto no meio aquático. Com sulfeto e luz disponível, as AnAnP (e.g. *Chromatiaceae*) utilizam este composto como doador de elétrons na fotossíntese, podendo formar uma densa biomassa (Imhoff 2006). Estas bactérias possuem somente o fotossistema I e, portanto, não são capazes de oxidar a água pela energia dos fótons, e assim, não liberam o oxigênio como observado nas bactérias oxigênicas, razão pela qual são chamadas de anoxigênicas.

A bacterivoria por flagelados e/ou ciliados é a principal via de transferência da matéria produzida nestas águas desprovidas de oxigênio (Gomes & Godinho 2003; Gobler *et al.* 2008). Muitos ciliados têm a capacidade de proliferar ativamente na coluna d’água quando esta se torna anóxica (Fenchel & Finlay 1990; Fenchel *et al.* 1990; Gomes & Godinho 2003; Hayward *et al.* 2003) e parecem ser os principais bacteriófagos de zonas anóxicas, ou na interface das zonas óxica e anóxica (Psenner & Schlott-Idl 1985; Fenchel 1990; Guhl *et al.* 1996; Taylor *et al.* 2006).

Alguns protozoários, entretanto, se especializaram na predação das sulfobactérias, principais procariotas de águas rasas anóxicas, o que lhes confere nichos alternativos e evitando a competição por recursos entre espécies de ciliados de tamanhos semelhantes (Guhl & Finlay 1993; Gomes & Godinho 2003). Além de sulfobactérias, cianobactérias também são encontradas em grande densidade na camada superior de águas anóxicas,

representando uma nova fonte alimentar aos protozoários (Detmer *et al.* 1993; Setälä & Kivi 2003).

Entretanto, o estudo de bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas que fixam CO₂ é restrito a lagos ou estuários rasos e estratificados visto que é necessária a disponibilidade de luz solar em profundidades onde não haja oxigênio (Overmann & Manske 2006). Assim, há uma ausência de estudos sobre o papel destas bactérias na produção primária planctônica de ambientes costeiros rasos.

No Brasil, entre os sistemas costeiros que apresentam hipoxia e/ou anoxia estão a Lagoa Rodrigo de Freitas (RJ), Lagoa de Imboassica (RJ), Baía Pina (PE), Baía de Guanabara (RJ) e a Lagoa da Conceição (SC) (Diaz & Rosenberg 2008).

A Lagoa da Conceição situa-se na ilha de Santa Catarina, Florianópolis (SC), entre as latitudes 27°30'17'' - 27°37'36'' Sul e as longitudes 48°25'30'' - 48°29'54'' Oeste. Ademais, na bacia hidrográfica da Lagoa da Conceição vive dezenas de famílias de pescadores artesanais que tem como principal fonte renda a pesca artesanal na laguna. Assim, o entendimento dos processos relacionados a estas zonas mortas é fundamental.

Assim como mundialmente, as “zonas mortas” na Lagoa da Conceição se formam devido à estratificação da coluna d’água e à elevada produção primária nas águas superficiais (Odebrecht & Caruso 1987; Sierra de Ledo & Soriano-Sierra 1994), pois antes da abertura permanente do canal em 1982, Assumpção *et al.* (1981) não reportaram desenvolvimento de haloclina no setor central no ano de 1979. Em 1983-1984 (1 a 2 anos após a abertura do canal), Odebrecht & Caruso (1987) verificaram que estas zonas ocorriam durante todo o ano no setor central, exceto nos meses de novembro e dezembro. Atualmente as “zonas mortas” desenvolvem-se sazonalmente na

laguna, entre o final do verão e início de inverno (Sierra de Ledo & Soriano-Sierra 1994; Fonseca 2004; Fontes 2004; Fonseca & Braga 2006). Assim, desde 1982 a anoxia nas águas de fundo do setor central vem sendo reportada (Odebrecht & Caruso 1987), observando-se também uma acentuada variação vertical na comunidade microbiana (fitoplâncton e protozooplâncton), com maiores densidades de microorganismos na água de fundo (anóxica) quando comparado à superficial (Odebrecht 1988).

As “zonas mortas” da Lagoa da Conceição igualmente mostraram as concentrações mais elevadas de biomassa fotossintética, como $1.604 \mu\text{g L}^{-1}$ de Chl *a* em maio de 1984, sendo atribuída provavelmente à elevada abundância de células $< 2 \mu\text{m}$ que pudessem estar relacionadas a cianobactérias e que pode ter conseqüências positivas para a cadeia alimentar (Odebrecht & Caruso 1987). Em março de 2003, Fontes (2004) reportou concentrações de Chl *a* de $32.5 \mu\text{g L}^{-1}$ concomitantemente a elevadas concentrações de H_2S ($34 \mu\text{mol L}^{-1}$) nas águas anóxicas e subóxicas, enquanto a Chl *a* média no restante da Lagoa variou entre $4\text{-}5 \mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações do sulfeto presentes nas águas anóxicas concomitante com a observação de águas com coloração rosada por Fonseca (2004) sugerem a presença de sulfobactérias róseas fotossintéticas nessas profundidades. Deve-se ressaltar que foi verificado em algumas regiões hipóxicas da Lagoa da Conceição em 2001, a presença de bactérias AnAnP do gênero *Chromatiacea* (Mosimann *com. pess.*), as quais crescem nestes ambientes devido à penetração de luz até o fundo.

Entretanto, a presença de tais bactérias foi sugerida primeiramente por Odebrecht & Caruso (1987), mas o seu papel na produção primária total da Lagoa da Conceição não foi estudado até o momento. Além disso, sabe-se que as bactérias AnAnP podem ser

responsáveis por altas taxas de produção primária em outros sistemas aquáticos na Espanha, e.g. contribuindo com até 47% da produção primária (PP) no lago Estanya, com 52% da PP total no lago Cisó (Casamayor *et al.* 2008) e 10% na interface óxica/anóxica do estuário do rio de Ebro (Casamayor *et al.* 2001). Assim, espera-se que as bactérias AnAnP contribuam com uma significativa parcela da produção primária na Lagoa da Conceição.

A distribuição espacial desigual dos parâmetros biológicos [biomassa e densidade de fitoplâncton e protozooplâncton e produção primária oxigênica (Knoppers *et al.* 1984; Odebrecht 1988; Fonseca 2004)] e do carbono orgânico acumulado nos sedimentos (Silva *et al.* 2008) da Lagoa da Conceição em função das características fisiográficas de cada setor (Fig. 1) indicam que a produção de matéria orgânica e a sua sedimentação ocorrem de forma diferenciada na Lagoa da Conceição. Conseqüentemente, considerando-se estas diferenças espaciais é provável que a disponibilidade de oxigênio na água de fundo influencie a estrutura e a composição de comunidades bacterianas neste ecossistema.

Assim, considerando-se a ocorrência e importância das zonas mortas na Lagoa da Conceição, reportadas desde a década de 80 (Odebrecht & Caruso 1987), decidiu-se realizar um estudo ecológico para se avaliar a biomassa, produção e o possível estabelecimento de uma cadeia trófica microbiana nesta região. É importante ressaltar que, até recentemente, não havia maiores estudos sobre o bacterioplâncton na Lagoa da Conceição. Esses fatos nos levaram a realizar um estudo para se conhecer a distribuição espaço-temporal do bacterioplâncton na Lagoa da Conceição, assim como as variáveis físico-químicas e biológicas que afetam estes microorganismos (clorofila *a*, fitoplâncton

e protozooplâncton). Além disso, segundo nosso conhecimento, inexitem no Brasil estudos que tenham analisado simultaneamente a abundância, biomassa e composição de bactérias em ambientes com diferentes níveis de oxigênio, abrangendo as “zonas mortas” costeiras, justificando-se um estudo sobre esses microorganismos, a produção primária das comunidades bacterianas e a biomassa microbiana na Lagoa da Conceição.

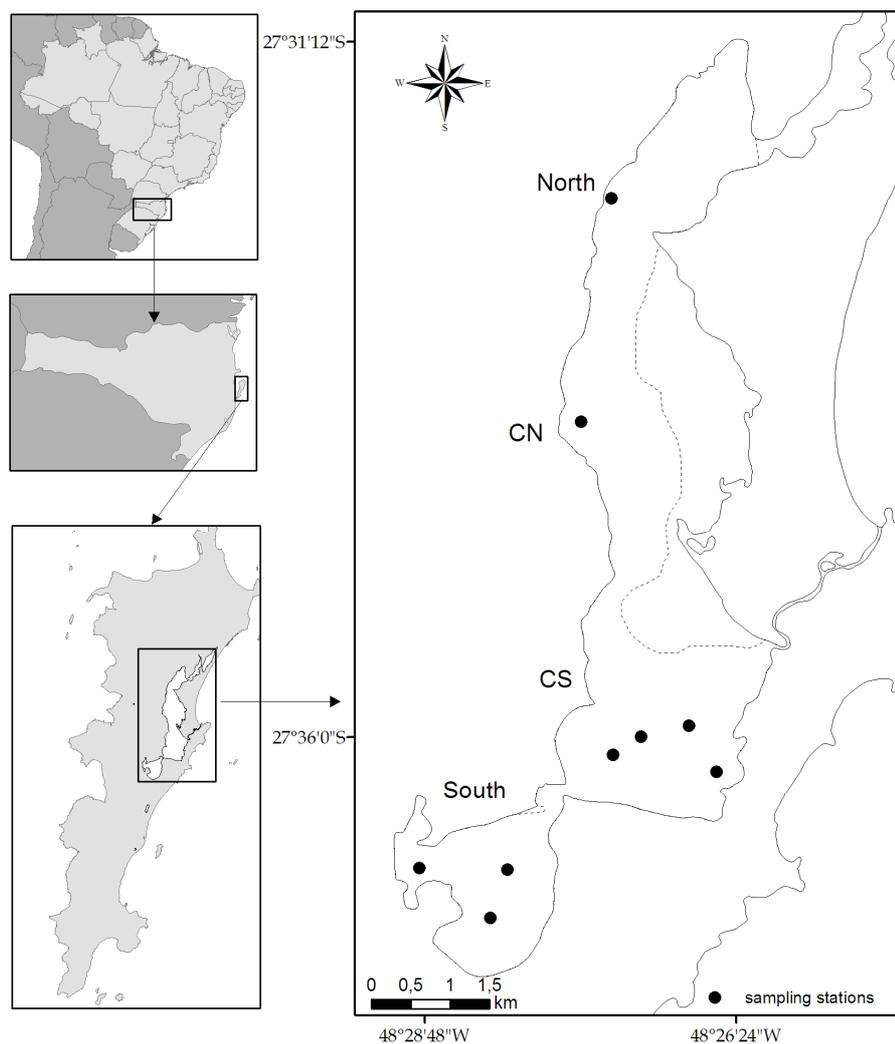


Figura 1. Localização da Lagoa da Conceição (SC) e sua divisão em 4 setores de acordo com sua característica morfológica. Pontos em preto correspondem às estações amostrais referentes ao segundo capítulo da tese. N= setor Norte; CN = setor Centro-Norte; CS = setor Centro-Sul e S = setor Sul.

HIPÓTESES DE TRABALHO

- 1) As zonas mortas são encontradas somente no setor centro-sul e no inverno **(capítulo 1);**
- 2) A abundância dos principais morfotipos bacterianos varia no tempo e no espaço **(capítulo 1);**
- 3) A concentração de oxigênio dissolvido na água de fundo da região estratificada é regulada pela comunidade bacteriana **(capítulo 1);**
- 4) A produção primária oxigênica é maior no verão e a anoxigênica no outono **(capítulo 2);**
- 5) A produção primária de bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP) na Lagoa da Conceição é significativa para a produção primária total pelágica do sistema **(capítulo 2);**
- 6) A biomassa e abundância dos principais morfotipos bacterianos é diferente sob condições óxicas e anóxicas **(capítulo 3);**
- 7) O carbono produzido por microorganismos nas zonas anóxicas e estratificadas é maior do que em águas óxicas e homogêneas **(capítulo 3).**

2. OBJETIVOS

GERAL

Avaliar a variação da estrutura da comunidade bacteriana em relação à concentração de oxigênio dissolvido.

ESPECÍFICOS

- 1) Verificar a distribuição espaço-temporal da abundância, tamanho e composição do bacterioplâncton e os fatores ambientais controladores;
- 2) Avaliar a distribuição espaço-temporal da produção primária e a contribuição de bactérias anoxigênicas fototróficas para a produção primária total;
- 3) Quantificar a abundância e biomassa microbiana produzida na zona subóxica;
- 4) Avaliar a existência de uma cadeia alimentar microbiana na região com condições de suboxia e estratificada em comparação com uma região oxigenada e homogênea.

3. CAPÍTULO 1

VARIAÇÃO ESPAÇO-TEMPORAL DAS ASSEMBLÉIAS BACTERIANAS EM UMA LAGOA COSTEIRA SUBTROPICAL RASA NO SUL DO BRASIL

Maria Luiza Schmitz Fontes & Paulo C. Abreu

Tradução do trabalho publicado na *Microbial Ecology* doi 10.1007/s00248-008-9454-z

RESUMO

Um estudo sobre o bacterioplâncton da Lagoa da Conceição (27°34' S–48°27' W), Sul do Brasil, foi conduzido em julho de 2005 (inverno austral) e janeiro de 2006 (verão austral) para caracterizar a distribuição espaço-temporal das bactérias e determinar a dominância bacteriana heterotrófica e autotrófica em águas estratificadas hipóxico-óxica. A abundância bacteriana aumentou ($p < 0,05$) no verão com médias de cianobactérias cocóides (CCY) variando de $1,02 \times 10^5$ (inverno) a $3,21 \times 10^6$ células mL^{-1} (verão), cocóides-bastontes heterotróficos (HCR) de $7,00 \times 10^4$ a $3,60 \times 10^6$ células mL^{-1} e bactérias filamentosas heterotróficas (HF) de $2,90 \times 10^3$ a $2,74 \times 10^5$ células mL^{-1} . Biovolumes bacterianos também aumentaram no verão com biovolumes médios de CCY variando de 0,38 a $1,37 \mu\text{m}^3$, células HCR de 0,31 a $1,12 \mu\text{m}^3$ e HF de 3,32 a $11,34 \mu\text{m}^3$. A análise de componentes principais mostrou que a salinidade, temperatura e luz foram os fatores abióticos que melhor explicaram a variabilidade temporal das assembléias bacterianas. Há uma dominância de bactérias heterotróficas

na laguna, com exceção da porção sul e central em janeiro de 2006, quando a comunidade bacteriana é dominada por células fotoautotróficas. No espaço, as assembléias bacterianas foram influenciadas pelo gradiente de nutrientes, oxigênio e salinidade, com uma relação positiva entre biovolume e nutrientes, e uma negativa entre abundância de CCY e nutrientes. As bactérias revelaram um comportamento temporal singular com as águas de fundo hipóxicas no inverno e águas ricas em oxigênio, aparecendo relacionadas com a disponibilidade de luz e predominância de procariotas no verão. Entretanto, o consumo-produção de oxigênio é regulado pela quantidade de luz disponível no fundo, estimulando a produção de oxigênio pelos microorganismos fotoautotróficos oxigênicos.

INTRODUÇÃO

Sistemas costeiros são áreas de transição entre ambientes terrestres e oceânicos, retendo, transportando e reciclando uma grande parte do material particulado e dissolvido [44]. As bactérias têm um papel importante nos processos biogeoquímicos destes ambientes, sendo fundamental na cadeia alimentar microbiana, reintegrando o carbono orgânico dissolvido (COD) através da alça microbiana [3]. Bactérias requerem tanto macro e micronutrientes para o crescimento sendo C, N e P os macronutrientes que usualmente regulam a sua atividade [9, 27]. Em sistemas costeiros que recebem grande quantidade de material orgânico alóctone, o carbono não limita o crescimento bacteriano, e sim os nutrientes dissolvidos inorgânicos como N e P [1–2]. A Lagoa da Conceição (SC) é um exemplo de sistema costeiro que recebe grande quantidade de material alóctone [17], assim como descrito para um sistema próximo [34]. Além da

entrada de material orgânico, a estabilidade da coluna d'água em função da intrusão de água salina tem levado a ocorrência de condições hipóxicas na água de fundo de algumas regiões da laguna.

Este evento foi descrito pela primeira vez na Lagoa da Conceição (hipoxia ou oxigênio dissolvido [DO] < 3 mg L⁻¹) em 1983, 1 ano após a abertura permanente do canal [31], demonstrando que a entrada da água do mar tem promovido a estabilização da coluna d'água no setor central (setor CS), através da formação de uma haloclina permanente entre 3-4 m de profundidade [15, 31, 46].

Ventos fortes podem quebrar esta estabilidade da coluna d'água em locais rasos e espalhar a água de fundo anóxica rica em gás sulfídrico para toda a coluna d'água, promovendo a crise distrófica e causando a morte de peixes na superfície. Um incidente de mortandade de peixes foi descrito com um forte cheiro de enxofre em junho de 2001 na lagoa da Conceição. Durante este evento foram encontradas sulfo-bactérias púrpuras do gênero *Chromatiacea* nas águas superficiais da região sul da lagoa imediatamente após a mortandade de peixes (R. Mosimann, comunicação pessoal). Eventos similares foram descritos para outras lagoas tropicais [19, 32], temperadas e estuários [10, 14, 23]. Este problema ecológico parece ter sido aumentado pelo constante despejo de efluentes domésticos *in natura* dentro da lagoa, os quais estão diretamente relacionados com a elevada densidade populacional humana ao redor da lagoa [16, 17].

Os nutrientes e as espécies de fitoplâncton têm demonstrado padrões específicos de distribuição espaço-temporal na lagoa da Conceição [15, 6]. As variações sazonais de nutrientes são controladas principalmente por processos de assimilação e remineralização, mais intensificados nas estações mais quentes e mais frias,

respectivamente, e por processos abióticos como sedimentação e fluxos na interface sedimento-água [15]. Entretanto, a distribuição temporal do fitoplâncton é fortemente influenciada pela temperatura e luz, enquanto que a variabilidade espacial é controlada pela morfologia e hidrologia da lagoa [31, 46].

Até agora nenhum estudo avaliou a distribuição espaço-temporal de bactérias heterotróficas e cianobactérias na Lagoa da Conceição e a sua influência sobre a dinâmica do oxigênio deste sistema estratificado tropical. Portanto, os principais objetivos do estudo foram: (1) determinar a variabilidade no espaço e no tempo do bacterioplâncton e (2) avaliar a dominância de bactérias heterotróficas e cianobactérias nas águas estratificadas com níveis diferentes de oxigênio.

MÉTODOS

Área de estudo

A Lagoa da Conceição é uma laguna “estrangulada” [30] e fisiograficamente é dividida em quatro setores: Sul (S), Central-Sul (CS), Central-Norte (NC) e Norte (N) [31] (Fig. 1). Ela está conectada à água do mar pelo canal de barra que tem 2-km de comprimento (permanentemente aberto desde 1982). A laguna possui 13,5 km de comprimento e larguras variando entre 0,5 e 2, 5 km, tendo uma área total lagunar de 20,09 km² e abrangendo uma bacia hidrográfica de 80.23 km². A profundidade média e máxima são 1,7 e 8,7 m, respectivamente [42].

Os principais fatores de entrada de água doce são: precipitação, riachos pequenos e água subterrânea [51]. Os nutrientes são geralmente observados em baixas concentrações com média de nitrato+nitrito inferior a 1 µM, fosfato de

aproximadamente $0,25 \mu\text{M}$, amônio em torno de $3 \mu\text{M}$ e clorofila-a média variando entre um intervalo de 1 a $6 \mu\text{gL}^{-1}$ [15–17].

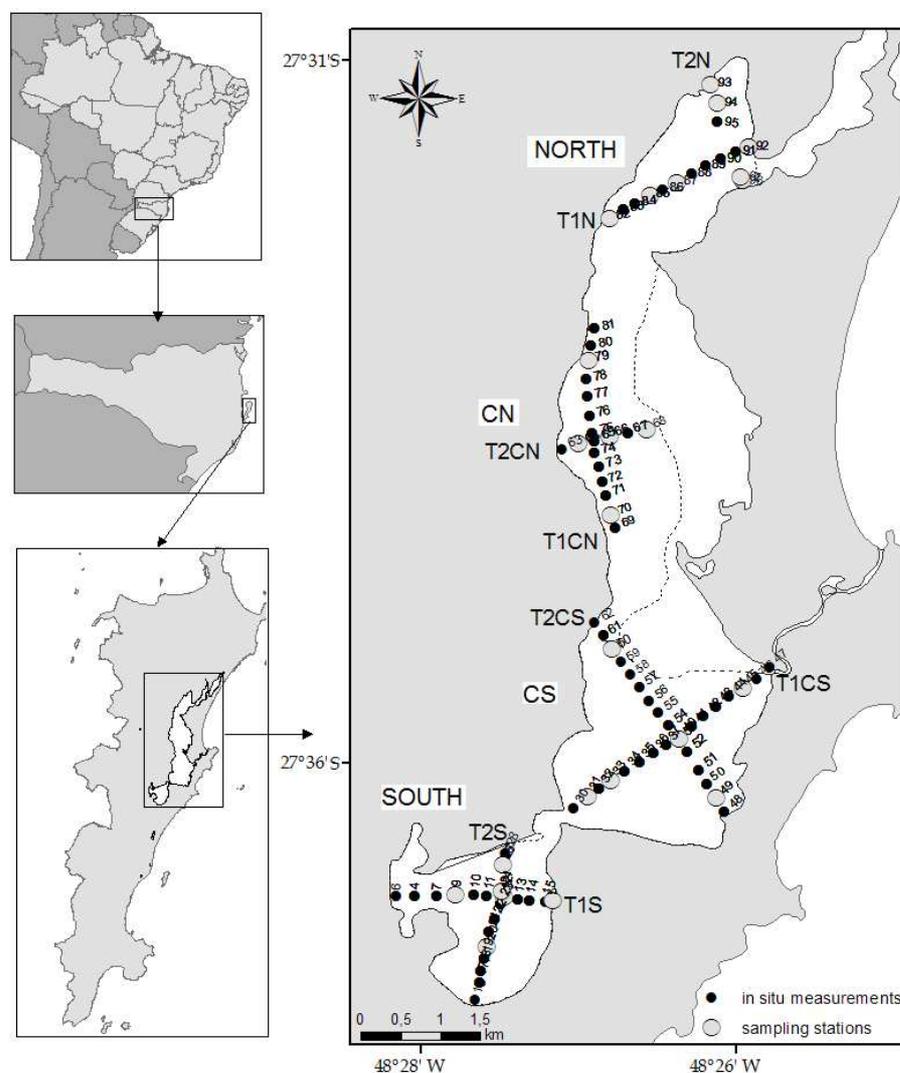


Figura 1. Transectos e estações amostrais nos setores Sul (S), Centro-Sul (CS), Centro-Norte (CN) e Norte (N) da Lagoa da Conceição, Santa Catarina. Medidas *in situ* (pontos pretos) e estações amostrais (pontos em cinza claro). N= setor Norte; CN = setor Centro-Norte; CS = setor Centro-Sul e S = setor Sul.

Desenho amostral, medidas dos parâmetros abióticos e coleta de água

As amostras (4 réplicas) foram coletadas em julho de 2005 (estação seca) e janeiro de 2006 (estação chuvosa), correspondente ao inverno e verão austrais,

respectivamente. Foram estabelecidos dois transectos por setor da Lagoa, cada um composto por 5-15 estações; o posicionamento das estações de coleta foi decidido com base na batimetria local e a distância entre as estações foi de aproximadamente 200 m. Os transectos abrangeram tanto regiões rasas (< 2 m de profundidade) quanto profundas (> 2 m de profundidade) dos setores (Fig. 1). A posição das estações foi determinada utilizando um GPS Garmin E-trex (Garmin).

Temperatura, oxigênio e salinidade foram medidos a cada 1 m de profundidade da superfície até 0,5 m acima do fundo em todas as estações, usando um sensor multipâmetro calibrado Yellow-Spring YSI DO 85 (YSI, Yellow Springs, H, EUA). O índice de estratificação foi determinado como a diferença entre a salinidade da superfície e fundo. O critério para hipoxia utilizado nesta investigação foi $DO \leq 3 \text{ mgL}^{-1}$ [4, 13, 40]. A profundidade do disco Secchi foi medida em cada estação e este utilizado para estimar o coeficiente de atenuação da luz através do algoritmo, $k = 1.44/Z_{SD}$, onde k é o coeficiente de atenuação da irradiância (por metro) e Z é a profundidade de disco Secchi (metros) [25]. A quantidade de luz disponível na água de fundo para fotossíntese em cada estação foi, em seguida, calculada usando o algoritmo de: $I_x = I_0 \times \exp^{-kd}$, onde k é o coeficiente de atenuação, d é a profundidade da água (metros) e I_0 é a luz incidente em águas de superfície (como radiação fotossinteticamente ativa [PAR]) em micromoles quanta por metro quadrado por segundo [29]. $PARI_0$ foi calculada supondo uma transmitância de 97 % da luz incidente (PAR) na interface ar-água [29]. A intensidade de PAR foi estimada multiplicando radiação global (obtida a partir do sensor de radiação automática na estação meteorológica do Instituto Nacional de Meteorologia, localizada próximo à Lagoa) pelo

fator de 0.4 [53]. As unidades obtidas pelo sensor (em kJ m^{-2}) foram convertidas em micromoles quanta por metro quadrado por segundo, supondo que $1 \text{ W} = 1 \text{ J s}^{-1}$ e $4.6 \text{ W m}^{-2} = 1 \text{ } \mu\text{mol quanta por metro quadrado por segundo}$ [35]. Fosfato, nitrato, amônio, abundância bacteriana, biovolume e clorofila-a foram analisados da água coletada com uma garrafa van Dorn de 3-L (previamente limpa por ácido) na superfície (0,3 m abaixo superfície) e no fundo (0,5 m acima do sedimento) de 4 estações (2 fundas e 2 rasas) por setor (Fig. 1). Após a coleta, estas foram transferidas para frascos de polietileno de 2-L e mantidas no escuro até análise.

Análise de nutrientes e clorofila-a

A filtração foi realizada no laboratório imediatamente após a coleta das amostras. Aliquotas de 500 mL foram filtradas em filtros Whatman GF/F (0,7 μm de porosidade) para determinar clorofila-a (Cloro-a) e nutrientes inorgânicos dissolvidos e tanto os filtrados quanto os filtros foram armazenados congelados a $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ no escuro até a análise.

Os pigmentos foram extraídos com acetona (90 % v/v). A determinação das concentrações de clorofila-a foi realizada usando um fluorímetro calibrado Turner TD 700 (design Turner, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) [60] para as amostras coletadas em julho de 2005. O espectrofômetro 600 FEMTO UV-Vis (fabricante FEMTO) foi empregado para as medições de clorofila-a das amostras coletadas em janeiro de 2006. Neste último caso, a absorvância da Chl-a foi medida em 665 e 750 nm (para correção de turbidez) [55].

Fosfato (PO_4^{3-}), nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) e amônio (NH_4^+) foram determinados de acordo com [20].

Análise do bacterioplâncton

Para estimar a abundância de cianobactérias cocóides, os filtros não receberam qualquer fluorocromo [36], enquanto que para as estimativas bacterianas totais, os filtros receberam o fluorocromo laranja de acridina [24]. Após a filtração, as lâminas foram mantidas congeladas a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ até a contagem.

As bactérias totais foram quantificadas e mensuradas manualmente em uma ampliação de $1.000\times$, utilizando um microscópio de epifluorescência Axioplan Zeiss equipado com um conjunto de filtro azul 487709 (BP 450–490; FT 510; 520 LP). Para as cianobactérias foi utilizado um conjunto de filtro verde 487715 (BP 546/12; FT 580; LP 590) a fim de medir a autofluorescência da ficoeritrina [36]. A abundância de bactérias heterotróficas foi calculada subtraindo-se a abundância de bactérias autotróficas (CCY) da total. Para as medições de biovolume, imagens dos filtros foram capturadas usando uma câmera CCD Watec (sensibilidade de 0.0003 lx) e software IC capture 2.0 (para Windows). As imagens foram processadas pelo software *Image Tool* da UTHSCSA (Universidade do centro da ciência da saúde de Texas, San Antonio, TX, EUA; disponível para download em <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>). As células bacterianas foram observadas melhor usando a seqüência de filtros de imagem: Laplacian, Gaussian e Mean ($3\times$) [38]. Os biovolumes de, pelo menos, 300 células foram calculados usando o algoritmo proposto em [38]. As bactérias filamentosas heterotróficas (HF) foram enumeradas diretamente em 30-50 campos de visão devido

ao seu grande volume e à dificuldade na delimitação de cantos nas células das imagens, utilizando-se o mesmo algoritmo [38].

Interpolação dos dados e análises estatísticas

Para uma melhor visualização da distribuição espacial de bactérias e oxigênio, os dados obtidos nos transectos foram interpolados, mas antes estes foram convertidos em arquivos *raster*. O melhor método de interpolação dos dados foi o método de *krigagem* comum, o qual foi escolhido após a análise do modelo de semivariograma esférico usando ArcGIS 9, ArcMap 9.1 [54]. Para avaliar a variabilidade espacial e temporal de variáveis ambientais mais importantes, foram geradas matrizes de correlação. Análises de variância (ANOVAs) foram utilizadas para testar a hipótese nula de homogeneidade das variáveis no espaço em 2 períodos de tempo: verão e inverno [57] e a correlação de Pearson [52] foi calculada entre o índice de estratificação e o oxigênio das águas de fundo nos 2 períodos de estudo. As variáveis foram normalizadas pela transformação \log_e [57]. A análise multivariada de componentes principais (PCA) foi realizada com as médias dos dados transformados [37] para mostrar a relação espacial e temporal entre os 8 fatores ambientais (NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{3-} , Chl-a, I_0 , T, salinidade, DO) e os 6 parâmetros bacterianos (abundância de CCY, HCR e HF e biovolume de CCY, HCR e HF). Dois componentes (PC1 \times PC2) foram utilizados para explicar a variação dos dados. O software usado para ANOVA foi Statistica 7.0 (Statsoft, Tulsa, OK, EUA) e para PCA foi MVSP (Kovach Computing Services, Anglesey, Wales, Reino Unido).

RESULTADOS

Variáveis físico-químicas e clorofila-a

A temperatura da água não apresentou variação vertical significativa, mantendo uma diferença $< 1,4$ °C entre as águas de superfície e de fundo em ambos os períodos. A temperatura média foi de $11,5$ °C mais elevada no verão de 2006 do que no inverno de 2005 (tabela 1). A variabilidade espacial de temperatura da água demonstrou valores mais elevados nos setores S e CS no verão e nos setores CS e N no inverno (tabela 1). A salinidade apresentou uma variabilidade vertical significativa ($p < 0,01$) principalmente no setor CS (Fig. 2), sendo que o índice de estratificação indicou a localização de estações verticalmente misturadas e estratificadas na Lagoa. O índice de estratificação vertical variou de 0 a 6,4 (Fig. 2), tendo o valor mais alto no setor CS durante o verão (Fig. 2B). No inverno, o índice de estratificação variou menos, de 0 a 4,3, novamente com o índice mais elevado encontrado no setor CS. Temporalmente, a salinidade diminuiu 10,3 unidades a partir de julho de 2005 a janeiro de 2006 (tabela 1). Espacialmente, a salinidade foi significativamente mais elevada no setor CS ($p < 0,01$; $n = 4$) do que a observada nos outros setores, sendo que o setor S apresentou os valores mais baixos em ambos os períodos (Tabela 1). O coeficiente de atenuação (k) foi calculado de modo a dar uma idéia da turbidez da coluna d'água, apresentando uma variação média entre 0,32 e 0,85, no setor CN em julho e no setor S em janeiro, respectivamente (tabela 1). A intensidade de PAR incidente na coluna d'água no momento da coleta variou de 295,24 a 700,37 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em julho. Em janeiro, a variação foi entre 1.104,30 e 1.659,51 $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ com, pelo menos,

uma variação temporal de 2x na energia solar entre julho e janeiro. Mesmo recebendo mais energia solar em janeiro (verão), a quantidade de PAR na água de fundo alcançou o valor mais baixo de todos, $18,0 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$, no setor Sul em janeiro (tabela 1).

Tabela 1. Médias (mínimo e máximo) de temperatura (T) ($^{\circ}\text{C}$), salinidade, k (coeficiente de atenuação) (m^{-1}) e radiação fotossinteticamente ativa na água de fundo (PAR_b) ($\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$) nos setores S (Sul), CS (Centro-Sul), CN (Centro-Norte) e N (Norte) em julho (Jul) e janeiro (Jan). Veja os detalhes no texto.

	S*	CS*	CN*	N*
k Jul	0,39 (0,35-0,45) ^a	0,39 (0,35-0,42) ^a	0,32 (0,28-0,40) ^a	0,33 (0,30-0,38) ^a
k Jan	0,85 (0,75-0,91) ^a	0,36 (0,33-0,40) ^b	0,38 (0,34-0,42) ^b	0,42 (0,37-0,50) ^b
PAR _b Jul	110,3(84,2-139,2) ^b	77,2(35,5-137,7) ^c	104 (97,8-116,2) ^b	159,7(112,1-192,4) ^a
PAR _b Jan	30,5 (18,0-42,0) ^b	298 (244,4-373,9) ^a	274(203,4-342,0) ^a	179,7(121,0-243,7) ^a

As mesmas letras após os parênteses indicam grupos homogêneos resultantes do teste *post-hoc* de Tukey obtido pela ANOVA de 1-via ($p < 0.05$; $n = 56$). Temperatura, salinidade e luz receberam a transformação de \log_e para tender aos pressupostos da ANOVA, entretanto, somente as médias dos dados não transformados são mostradas. Veja o texto para detalhes.

Os nutrientes não variaram verticalmente de forma significativa, portanto decidimos mostrar as médias \pm erro padrão para cada setor (Fig. 3). O amônio (NH_4^+) apresentou uma diminuição significativa de 4 vezes de julho de 2005 a janeiro de 2006, foi de 3,48 para $0,80 \mu\text{M}$ no setor S (Fig. 3A). O nitrato ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) e fosfato (PO_4^{3-}) diminuíram do inverno para o verão no setor S, embora não sendo uma diminuição estatisticamente significativa para o fosfato (Fig. 3B, C).

O valor médio tanto de nitrato quanto de fosfato foi de $0.6 \mu\text{M}$, enquanto que o de amônio foi de $2 \mu\text{M}$. Curiosamente, foi observado um gradiente espacial de todos os nutrientes, com aumento em direção ao norte em janeiro de 2006 (Fig. 3A–C). Por outro lado, a clorofila *a* (cloro *a*) apresentou um padrão oposto no verão com valores

mais elevados em direção a parte mais ao sul da laguna. Além disso, a cloro *a* aumentou significativamente no setor S, de 2,5 para 5,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 3D).

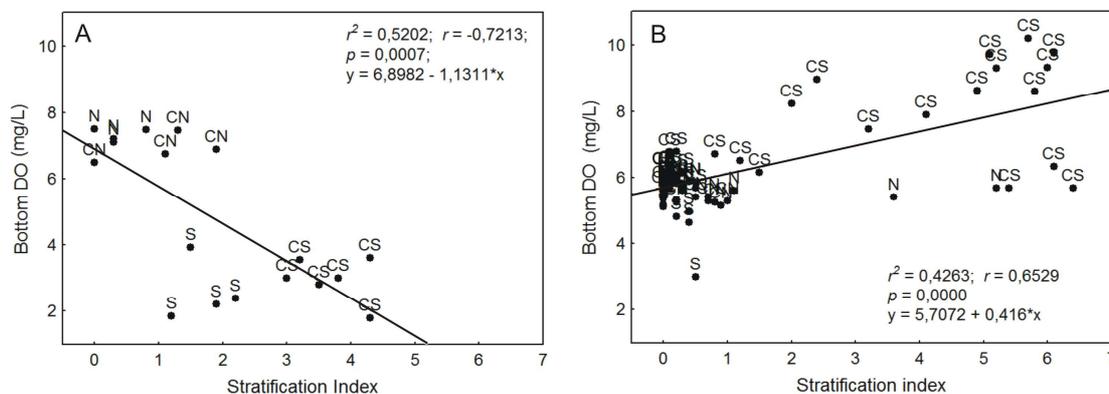


Figura 2. Regressão linear entre o índice de estratificação e oxigênio dissolvido na água de fundo dos setores Sul (S), Centro-Sul (CS), Centro-Norte (CN) e Norte (N) no inverno (julho de 2005) (A) e no verão (janeiro de 2006) (B).

A concentração média de DO nas águas de fundo (DO da água de fundo) oscilou entre 5,57 (em julho de 2004) e 6,23 mg L^{-1} (em janeiro). No entanto, valores extremos foram mostrados nas águas de fundo na figura 4, onde áreas onde DO da água de fundo $< 3 \text{ mg L}^{-1}$ ou hipoxia apareceram em 42 % e 16 % das amostras de água de fundo dos setores S e CS, respectivamente, em julho de 2005 (Fig. 4A), e águas superóxicas ou supersaturadas apareceram na água de fundo do setor CS em janeiro de 2006 com DO de até 9,04 mg L^{-1} (Fig. 4B). As estações do setor norte (setores CN e N) tiveram as concentrações de oxigênio semelhantes entre superfície e fundo, bem como salinidade, conforme indicado na Fig. 4. Foi demonstrada uma relação linear negativa entre o DO da água de fundo e o índice de estratificação (diferença entre salinidade das águas de superfície e de fundo) em julho ($r^2 = 0,52$, $p < 0,05$; Fig. 2A), enquanto que uma relação positiva mostrou-se em janeiro ($r^2 = 0,43$, $p < 0,05$; Fig. 2B).

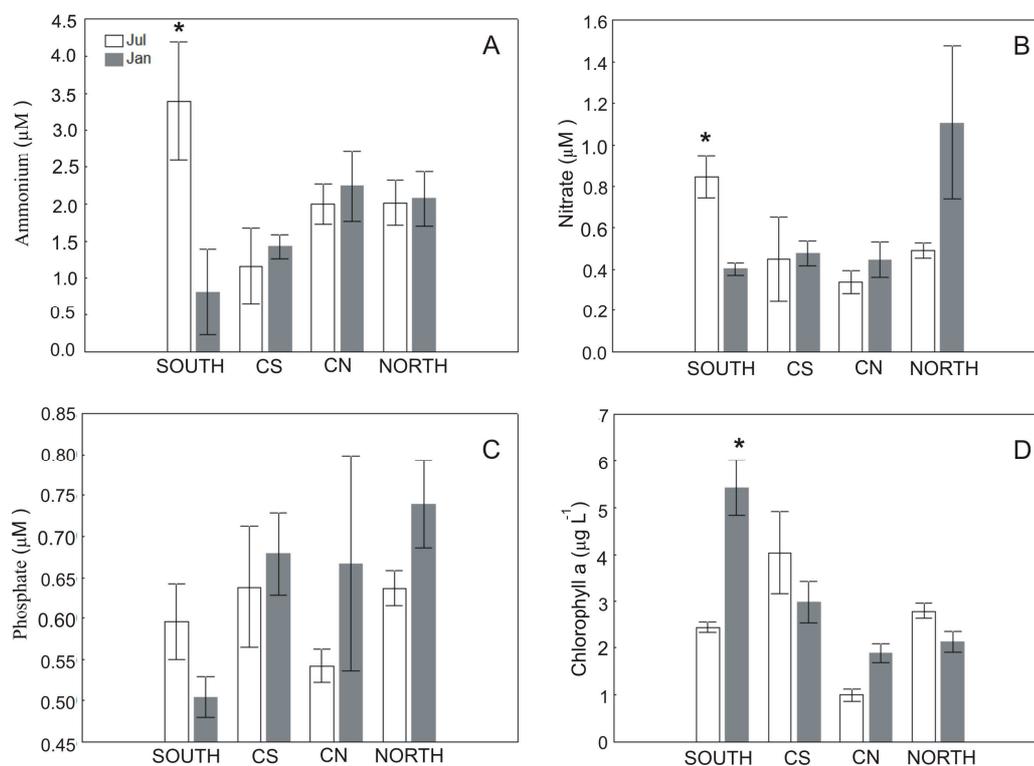


Figura 3. Média + erro padrão das concentrações de nutrientes (μM) (amônio (A), nitrato (NO₃⁻ + NO₂) (B), fosfato (C) e (D) Cloro-a nos setores S, CS, CN, N em julho de 2005 (Jul) e janeiro de 2006 (Jan). As barras de erro representam o erro padrão; * p < 0,05.

Abundância e biovolume do bacterioplâncton

A figura 5 apresenta a média (superfície e fundo) das medidas de abundância e biovolume dos três morfotipos bacterianos em ambos os períodos de coleta. A abundância média de cianobactérias cocóides (CCY) variou de $1,02 \times 10^5$ a $3,21 \times 10^6$ células mL⁻¹, com maior aumento (5,4 vezes) detectado no setor S. Ao comparar os valores médios de inverno com os de verão, foi observado que todos os setores apresentaram maior abundância de CCY no verão (Fig. 5A, B).

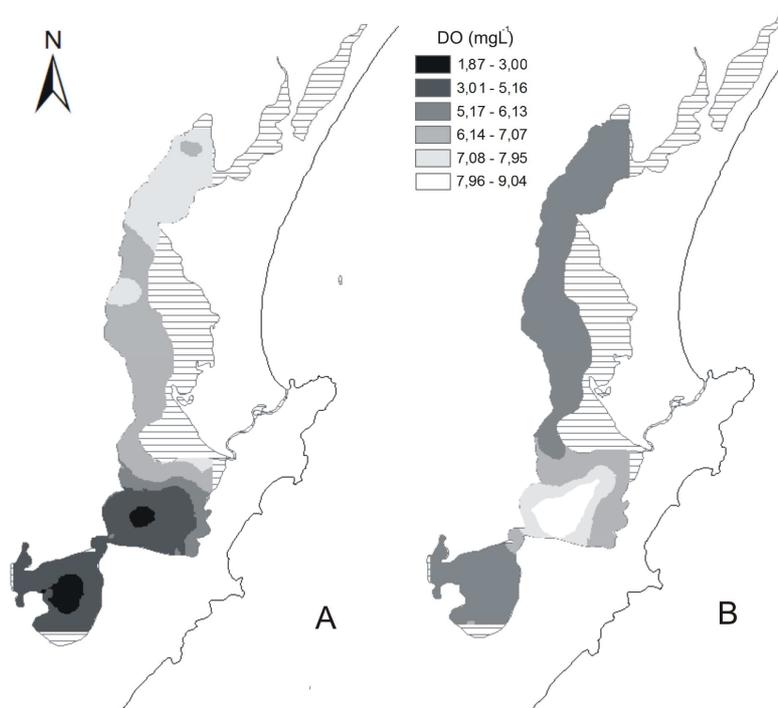


Figura 4. Distribuição horizontal do oxigênio dissolvido na água de fundo em julho de 2005 (A) e em janeiro de 2006 (B). As listras pretas representam áreas < 1,5 m de profundidade não amostradas.

A abundância relativa de CCY variou de 12 % a 65 % do total de células procarióticas com a maior contribuição detectada no sector S (Fig. 5). A abundância de bactérias filamentosas heterotróficas (HF) variou de $8,03 \times 10^3$ a $1,18 \times 10^5$ células mL⁻¹, tendo os maiores valores detectados no verão em todos os setores. Novamente, assim como para as CCY, o maior aumento na abundância de HF foi observado no setor S (4 vezes). A abundância relativa de HF variou de 0,3 % a 5,9 % do total de procariotas, sendo que a maior contribuição foi observada na água de fundo do setor CS. A abundância média de células cocóides+bastonetes heterotróficas (HCR) variou de $1,17 \times 10^6$ a $1,73 \times 10^6$ células mL⁻¹ (Fig. 5 A, B).

Os valores de abundância absoluta de HCR não variaram significativamente nem no tempo e nem no espaço. Entretanto, sua abundância relativa variou significativamente, de 35 para 88 % do total de bactérias. Em julho, as bactérias heterotróficas dominaram a comunidade bacteriana em todos os sectores (Figs. 5A e 6). Em janeiro, CCY dominou a comunidade procariota nos setores S e parte do setor CS (Fig. 6), enquanto que as bactérias heterotróficas foram as mais abundantes nos setores CN e N (Fig. 5B). As abundâncias das bactérias HF e CCY apresentaram uma distribuição espaço-temporal semelhante no mês de janeiro, ambas apresentando um gradiente crescente em direção ao sul (Fig. 5B). O biovolume dos três morfotipos de bactérias aumentou no verão (Fig. 5C–D) e o biovolume de CCY sempre foi significativamente superior ao biovolume das HCR (fig. 5 C-D). Os biovolumes médios variaram entre 0,38 e 1,37 μm^3 para CCY, 0,31 e 1,12 μm^3 para bactérias HCR e entre 3,32 e 11,34 μm^3 para bactérias HF.

Os biovolumes de CCY não variaram significativamente entre os 2 meses, mas os biovolumes de bactérias HF e HCR mostraram ser maiores no verão (fig. 5 D). A distribuição espacial do biovolume bacteriano diferenciou-se entre os períodos. Em julho, o biovolume das CCY aumentou dos setores centrais em direção os extremos (Sul e Norte) (Fig. 5 C), enquanto que o de bactérias HF aumentou em direção ao sul e o de bactérias HCR parece não variar. No verão, os biovolumes foram mais elevados em direção a porção norte da Lagoa, demonstrando uma correlação positiva com a concentração de nutrientes (Figs. 2 e 5 D).

A variação vertical da abundância bacteriana foi significativa nas estações estratificadas, tendo os maiores valores na água de fundo. Para melhor explicar a

relação espacial das bactérias com o oxigênio do fundo, apenas a abundância bacteriana da água de fundo foi mostrada na Fig. 6.

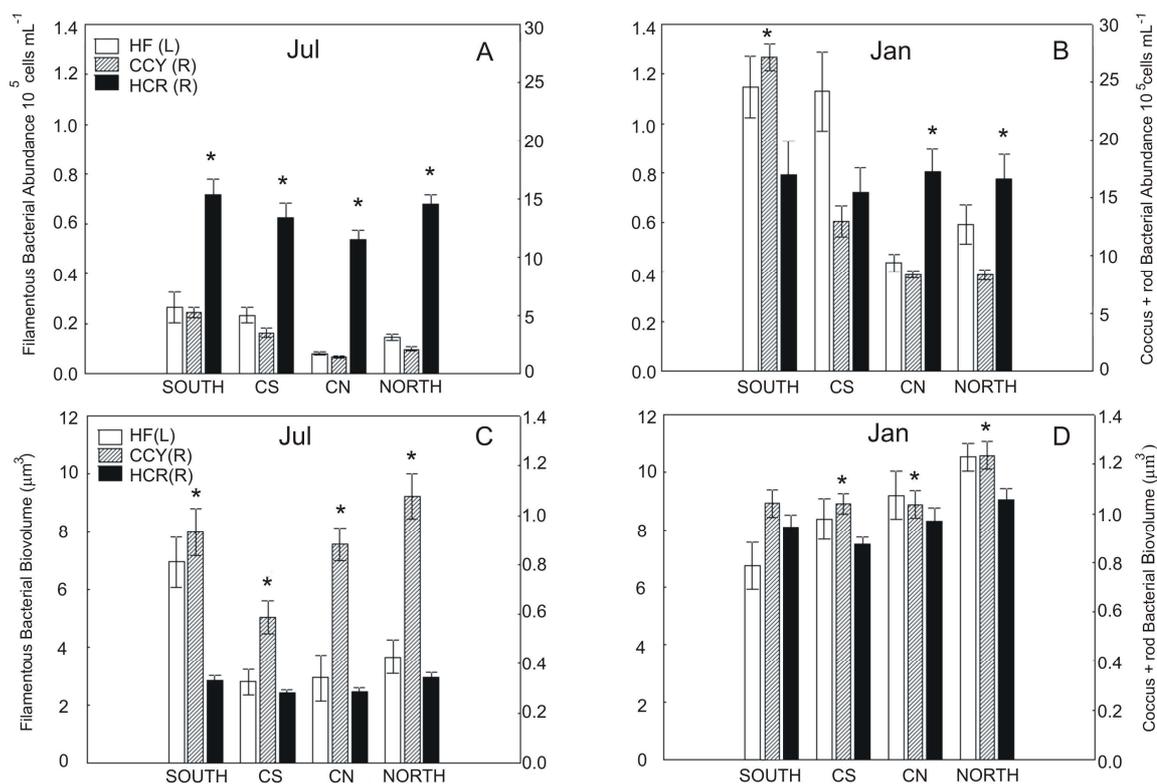


Figura 5. Média + erro padrão das abundâncias de bactérias filamentosas heterotróficas (HF), cianobactérias cocóides (CCY), cocóides+bastonetes heterotróficas (HCR) (A, B) e seus respectivos biovolumes (C, D) nos setores S, CS, CN, N em julho de 2005 (Jul) e janeiro de 2006 (Jan). O eixo Y da esquerda refere-se às bactérias filamentosas e o eixo Y da direita refere-se às bactérias cocóides+bastonetes (CCY e HCR). As barras de erro representam o erro padrão; * significa diferença estatística entre os grupos de bactérias por setor ($p < 0,05$).

Observou-se que a abundância de CCY foi mais elevada nos setores ao sul da laguna (Fig. 6). Como mostrado anteriormente, as bactérias heterotróficas dominaram a comunidade bacteriana em todos os setores em julho e a abundância mais alta foi encontrada na água de fundo do setor CS, onde o oxigênio foi baixo e a salinidade a

mais alta (Fig. 6B). Em janeiro (verão), a abundância de CCY mais alta foi detectada nos setores sul e CS (Fig. 6 C), enquanto que as bactérias heterotróficas não exibiram nenhuma tendência espacial, diferentemente daquela observada no inverno (Fig. 6 D).

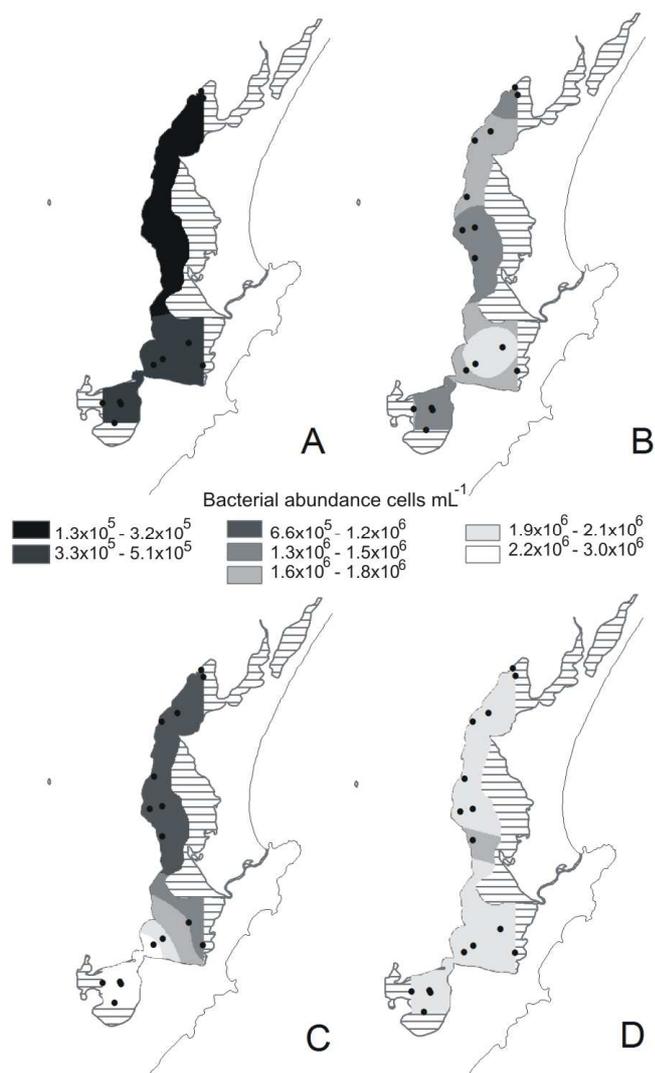


Figura 6. Distribuição horizontal da abundância de cianobactérias cocóides (CCY) em julho (A), de bactérias heterotróficas totais (filamentosas + cocóides+bastonetes) em julho (B), de cianobactérias cocóides (CCY) (C) e de bactérias heterotróficas totais (D) em janeiro. Os pontos são estações amostrais e as cores representam a variação na abundância. As listras pretas representam áreas < 1,5 m de profundidade não amostradas.

Análises estatísticas

As análises de PCA revelaram uma separação temporal clara entre amostras de verão e inverno através do eixo 1, o qual explicou 43 % do total da variação. A salinidade esteve positivamente relacionada com os dados de inverno, enquanto a luz e a temperatura influenciaram positivamente as bactérias no verão (Fig. 7A). As diferenças entre o bacterioplâncton dos setores Sul e Norte foram ocasionadas pela concentração de amônio e clorofila-a, em menor proporção, os quais foram as variáveis que mais influenciaram a distribuição dos dados no eixo 2 (Fig. 7A)

As figuras 7 B, C demonstraram os fatores que melhor explicaram a variabilidade espacial do bacterioplâncton em cada campanha. Em julho, amônio, I_0 e salinidade foram as variáveis abióticas que melhor explicaram a separação das amostras do setor central daquelas do sul através do eixo 1 (35 % da variação total). Entre os fatores bióticos, a abundância de cianobactérias e células filamentosas heterotróficas (HF) pareciam estar mais relacionadas com o grupo de amostras do setor sul. O eixo 2 explicou 26 % da variância total, sendo que o fosfato e a cloro-a foram inversamente relacionados com as amostras do setor sul (Fig. 7B).

Em janeiro (Fig. 7 C), 58 % da variância total foi explicada pelo eixo 1, sendo as amostras do sul separadas das do norte, principalmente devido à influência do amônio nos biovolumes de cianobactérias e bactérias heterotróficas cocóides+bastonetes (HCR), e I_0 regulando a abundância de cianobactérias e bactérias HF, agrupadas nos setores S e CS.

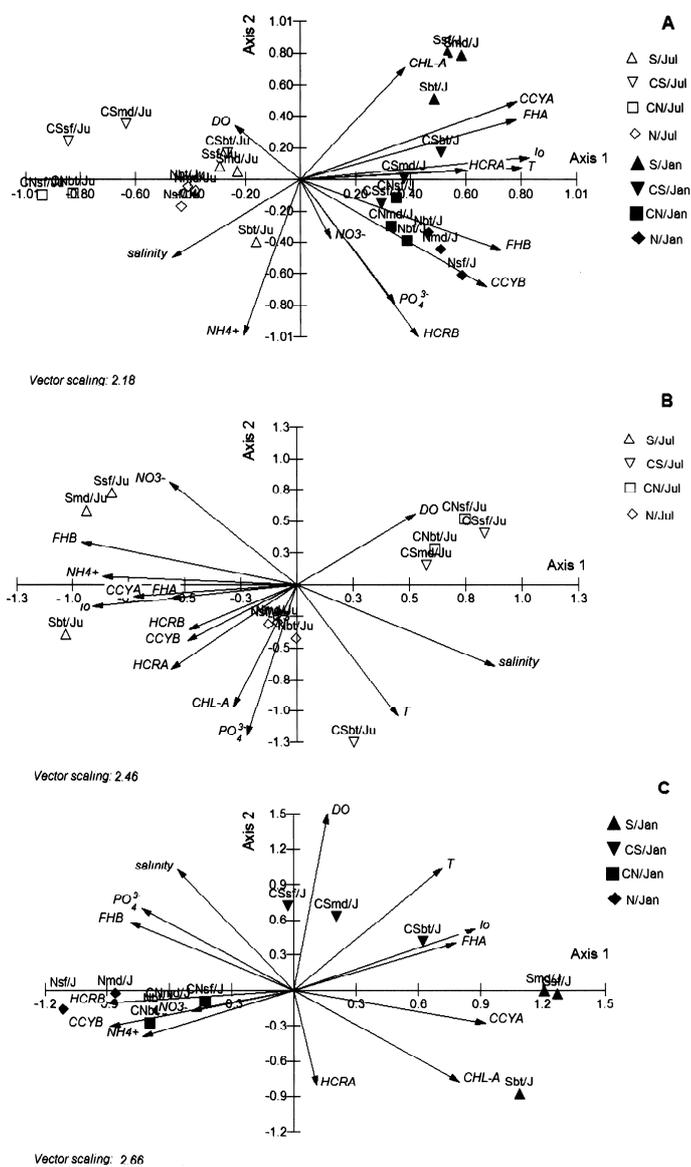


Figura 7. Resultados da ACP realizada com as amostras de água coletadas nos setores S, CS, CN e N em ambas as campanhas amostrais (A), em julho (Jul) (B) e em janeiro (Jan) (C) com os parâmetros bacterianos e variáveis ambientais. As concentrações receberam a transformação de \log . sf = superfície, md = meio, bt = fundo, HFA abundância de bactérias filamentosas heterotróficas, CCYA abundância de cianobactérias cocóides, HCRA abundância de bactérias heterotróficas (cocóides+bastonetes), HFB biovolume de bactérias filamentosas heterotróficas, CCYB biovolume de cianobactérias cocóides, HCRB biovolume de bactérias heterotróficas (cocóides+bastonetes).

DISCUSSÃO

Variabilidade do bacterioplâncton no espaço e no tempo

Os parâmetros abióticos e Chl *a* variaram tanto espacialmente quanto temporalmente na laguna, tal como anteriormente descrito em outros estudos [15, 16, 31, 46]. Além da morfologia da laguna, essas variáveis têm grande influência sobre a distribuição espaço-temporal do bacterioplâncton.

As assembléias bacterianas também variaram no espaço e no tempo. A variabilidade temporal foi principalmente regulada pela intensidade de luz, temperatura e salinidade.

A maior quantidade de luz incidente e, por conseguinte, maior temperatura da água no verão estimulou o crescimento bacteriano, como demonstrado pelo aumento na abundância bacteriana, principalmente das CCY. O elevado coeficiente de atenuação luz (k) das águas do sector S no verão e, conseqüentemente, a menor penetração de luz solar através da coluna d'água neste setor, poderia ter diminuído a produção biológica de oxigênio na água de fundo. Entretanto, a abundância de bactérias cocóides-bastonetes heterotróficas não aumentou significativamente com o tempo. Este fato sugere que as células bacterianas heterotróficas estejam sendo reguladas por outros fatores, podendo ser mecanismos de regulação *bottom-up* (nutrientes, matéria orgânica) ou *top-down* (vírus e pastadores). Muitos vírus marinhos são extremamente hospedeiro-específicos, o que pode ser uma possível resposta para o controle das células HCR [8, 41]. O efeito da infecção de populações bacterianas por viroses depende da abundância e da atividade, sugerindo que os grupos dominantes de bactérias são os mais

susceptíveis ao controle viral do que as populações raras, e assim removendo as populações mais numerosas. No entanto, o oposto pode ocorrer, ou seja, grupos de bactérias raras podem ser mais suscetíveis a infecções virais [7].

A diminuição da salinidade em janeiro foi uma indicação de uma maior entrada de água doce na laguna, como a maior precipitação que ocorre durante esse mês, e outras fontes de água doce, tais como as descargas de efluentes domésticos que aumenta durante as férias de verão [17]. A entrada de material terrígeno na Lagoa da Conceição e em outras lagoas aumenta os teores de nitrogênio inorgânico e de sílica [16], o que pode ter causado o aumento no número de cianobactérias e de cloro *a* [58].

As concentrações mais elevadas de nutrientes inorgânicos dissolvidos no inverno (estação seca) associadas à maior abundância relativa de bactérias heterotróficas indicam potencial mineralização de matéria orgânica durante esse período, uma vez que há pouca entrada de água doce no inverno. Foi observado na laguna que uma maior remineralização e re-suspensão de sedimentos ricos em nutrientes ocorreram no período de outono/inverno [15]. No verão (janeiro de 2006), um padrão inverso foi observado, com predominância de CCY e cloro *a* em locais com níveis baixos de nutrientes corroborando com a hipótese de que a assimilação de nutrientes ocorre preferencialmente durante esta estação [15]. No entanto, além das bactérias, outros microorganismos podem estar assimilando os nutrientes, tais como células fotoautotróficas eucariotas.

A acumulação de biomassa e de grande densidade de fitoplâncton já foi relatada no setor Sul devido ao grande tempo de residência da água em comparação com os outros locais [31, 45]. Normalmente, as taxas de renovação de água mais rápidas dos setores

norte e centrais promovem a advecção dos microrganismos planctônicos, complicando o estudo da dinâmica temporal para esses locais [31, 45].

As menores concentrações de DO de água de fundo foram encontradas quando as bactérias heterotróficas dominaram a comunidade de procariotas em julho de 2005 (Figs. 3A e 6A, B). Por outro lado, quando as CCY dominaram a comunidade procariótica do setor S em janeiro de 2006, o DO do fundo foi mais elevado do que aquele medido em julho de 2005, mas não tão elevados como os valores detectados nas águas de fundo da porção estratificada da Lagoa. Uma explicação possível para ausência de níveis elevados de DO na água de fundo do setor Sul pode ter sido a baixa disponibilidade de luz para a fotossíntese oxigênica, uma vez que o valor de k foi em média, 2.4-vezes superior do que aquele medido no setor CS.

Espacialmente, os biovolumes bacterianos foram positivamente correlacionados com os nutrientes inorgânicos dissolvidos no verão. As entradas de água doce do Rio João Gualberto no setor norte são as principais fontes de nutrientes para o sistema, principalmente de nitratos e fosfatos [31], criando um gradiente espacial de nutrientes na Lagoa. Sabe-se que células maiores, com uma menor razão superfície-volume celular, crescem preferencialmente em elevadas concentrações de nutrientes devido à sua maior K_s (constante de meia saturação), onde bactérias filamentosas, cianobactérias coloniais e células fitoplanctônicas eucariotas são favorecidas [11]. Os nutrientes podem regular (regulação *bottom-up*) as atividades bacterianas como produção, abundância [22, 27, 43, 48, 61] e tamanho [5, 47, 50], podendo ser considerados com um fator controlador do tamanho e da abundância do bacterioplâncton da Lagoa. Por outro lado, a regulação *top-down* pode ser importante no controle das características

morfológicas das bactérias. A relação negativa entre abundância e tamanho e a semelhante tendência espacial no número de células de CCY e HF demonstrada na Fig. 5B, D é semelhante ao que tem sido descrito em ecossistemas aquáticos [12, 26, 49], nos quais a composição da comunidade bacteriana é alterada por desencadear alterações morfológicas em direção as extremidades inferiores e superiores do intervalo de tamanho celular. Uma vez que os protozoários pastam preferencialmente células bacterianas dentro do intervalo de comprimento de 1 a 3 μm [21], bactérias filamentosas ($> 10 \mu\text{m}$ de comprimento) podem encontrar um nicho ecológico sob elevada pastagem por protozoários [49]. Além de predação por protozoários, vírus são considerados importantes reguladores da estrutura da comunidade bacteriana em sistemas aquáticos, especialmente naqueles produtivos [33, 56, 59, 62, 63]. Assim, a importância dos vírus na regulação das assembléias bacterianas na laguna precisa ser considerada.

A função de bactérias em águas estratificadas

Como a temperatura das águas superficiais e de fundo não variou significativamente, a estratificação vertical da coluna d'água se deu principalmente devido ao gradiente vertical salino, sobretudo no setor CS, o qual é localizado mais próximo do canal que conecta a laguna ao mar. A estratificação da água e a respiração microbiana são os principais fatores que levam a formação de hipoxia e anoxia, pois a estratificação não permite um intercâmbio vertical entre o fundo e as camadas superficiais da coluna d'água [4, 6]. Mais longe da conexão com o mar, as pequenas entradas de água doce nos setores CN, N e S também podem criar gradientes verticais

de densidade, mas fracos. Além disso, ventos moderado para fortes podem facilmente perturbar a estabilidade da coluna d'água e misturá-la totalmente [31]. Assim, a estabilidade da coluna d'água da Lagoa pode ser afetada principalmente por ventos e intercâmbio entre as águas da lagoa-oceano. Águas hipóxicas foram observadas apenas em julho de 2005, na água de fundo das estações estratificadas dos setores S e CS (Fig. 3 A), quando células bacterianas heterotróficas dominaram a comunidade bacteriana (até 85 % do total) e nutrientes, principalmente amônio, estiveram em concentrações mais elevadas. Estas conclusões sugerem que as bactérias heterotróficas dominantes possam estar mineralizando a matéria orgânica dissolvida (DOM) a amônio, tal como confirmado anteriormente [18, 28]. No entanto, o mais surpreendente foi a acumulação de águas supersaturadas em oxigênio no fundo das estações altamente estratificadas em janeiro de 2006 (Figs. 3B e 4B), o que não é comum [4]. Normalmente, em sistemas estuarinos rasos, o desenvolvimento de hipoxia na água de fundo ocorre sazonalmente e coincide, freqüentemente, com a estratificação salina durante o verão [13, 39]. No entanto, na Lagoa da Conceição, temos observado que, durante o verão, a luz pode chegar até o fundo e tendo luz disponível, microorganismos fotoautotróficos oxigênicos (cianobactérias e fitoplâncton eucariota) podem produzir oxigênio na água de fundo de locais estratificados, aumentando os níveis de oxigênio. Esta água de fundo rica em oxigênio foi observada no setor CS em dezembro de 1983, quando condições semelhantes de penetração de luz foram descritas [45].

Assim, os resultados do nosso estudo sugerem que a produção/consumo de oxigênio na água de fundo de águas altamente estratificadas pode estar associada não somente à predominância de uma comunidade bacteriana heterotrófica, mas também à

quantidade de luz disponível na água de fundo favorecendo o crescimento e a atividade de procariotas fotoautotróficos.

REFERÊNCIAS

1. Abreu PC, Biddanda BB, Odebrecht C (1992) Bacterial dynamics of the Patos Lagoon estuary, Southern Brazil (32° S; 52° W): relationship with phytoplankton production and suspended material. *Estuar Coast Shelf Sci* 35: 621-635.
2. Abreu PC, Granéli HW, Odebrecht C (1995) Produção fitoplanctônica e bacteriana na região da pluma estuarina da Lagoa dos Patos-RS, Brasil. *Atlântica* 17: 35-52.
3. Azam F, Fenchel T, Gray JG, Meyer-Reil LA, Thingstad T (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser* 10: 257-263.
4. Bergondo DL, Kester DR, Stoffel HE, Woods WL (2005) Time-series observations during the low sub-surface oxygen events in Narragansett Bay during summer 2001. *Mar Chem* 97: 90-103
5. Berman T, Parparov A, Yacobi YZ (2004) Planktonic community production and respiration and the impact of bacteria on carbon cycling in the photic zone of Lake Kinneret. *Aquat Microb Ecol* 34: 43-55.
6. Borsuk ME, Stow CA, Luettich RA, Paerl HW, Pinckney JL (2001) Modelling oxygen dynamics in an intermittently stratified estuary: estimation of process rates using field data. *Estuar Coast Shelf Sci* 52: 33-49.
7. Bouvier T, del Giorgio PA (2007) Key role of selective viral-induced mortality in determining marine bacterial community composition. *Environ Microbiol* 9: 287-297.
8. Breitbart M, Middelboe M, Rohwer F (2008) Marine viruses: community dynamics, diversity and impact on microbial processes. In: Kirchman DL (ed) *Microbial ecology of the oceans*. 2 ed. Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey, pp 443-481.
9. Caron DA (1994) Inorganic Nutrients, Bacteria, and the Microbial Loop. *Microb Ecol* 28: 295-298.
10. Castel J, Caumette P, Herbert R (1996) Eutrophication gradients in coastal lagoons as exemplified by the Bassin d' Arcachon and the Étang du Prévost. *Hydrobiologia* 329: 9-27.

11. Cotner J B, Biddanda BA (2002) Small players, large role: microbial influence on biogeochemical processes in pelagic aquatic ecosystems. *Ecosystems* 5: 105–121.
12. Cottrell MT, Kirchman DL (2004) Single-cell analysis of bacterial growth, cell size, and community structure in the Delaware estuary. *Aquat Microb Ecol* 34: 139–149.
13. Crump BC, Peranteau C, Beckingham B, Cornwel JC (2007) Respiratory succession and community succession of bacterioplankton in seasonally anoxic estuarine waters. *Appl Environ Microbiol* 73: 6802-6810.
14. Diaz RJ, Rosenberg R(1995) Marine benthic hypoxia: A review of its ecological effects and the behavioral responses of benthic macrofauna. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review* 33: 245–303.
15. Fonseca A L, Braga ES (2006) Temporal dynamic of the dissolved nutrients and the eutrophization processes in a Southern Brazilian coastal lagoon, Conceição Lagoon. *J Coast Res SI* 39: 1229-1233.
16. Fonseca AL (2006) Effects of urban drainage on the physico-chemical and biological characteristics of surface water in Conceição Lagoon (Florianópolis, SC, Brazil). *Biotemas* 19: 7-16.
17. Fontes MLS, Cavellucci R, Laurenti A, Machado EC, Camargo MG, Brandini N (2006) Detection of environmental impact on variations in dissolved nutrients and Chl-a in the Conceição Lagoon, Florianópolis, SC, Brazil. *J Coast Res SI* 39: 1407-1412.
18. Goldman JC, Caron DA, Dennett MR (1987) Regulation of gross growth efficiency and ammonium regeneration in bacteria by substrate C:N ratio. *Limnol Oceanogr* 32:1239–52.
19. Gonzalez AM, Paranhos R, Lutterbach MS (2006) Heterotrophic bacteria abundances in Rodrigo de Freitas Lagoon (Rio de Janeiro, Brazil). *Braz J Microbiol* 37: 428-433.
20. Grasshoff K, Ehrhardt M, Kremling K (1999) *Methods of seawater analysis*. 3 ed, Weinhein: Wiley-VCH, New York, pp 159-228.
21. Hahn MW, Hofle MG (2001) Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *FEMS Microbiol Ecol* 35: 113–121.
22. Harrison WG, Wood LJE (1988) Inorganic nitrogen uptake by marine picoplankton: Evidence for size partitioning. *Limnol Oceanog* 33: 468-475.
23. Heijs SK, Azzoni R, Giordani G, Jonkers HM, Nizzoli D, Viaroli P, van-Gemerden H (2000) Sulfide-induced release of phosphate from sediments of coastal lagoons and the possible relation to the disappearance of *Ruppia* sp. *Aquat Microb Ecol* 23: 85-95.

24. Hobbie JE, Daley RJ, Jasper J (1977) Use of Nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl Environ Microbiol* 33: 1225–1228.
25. Holmes RW (1970) The Secchi disk in turbid coastal waters. *Limnol Oceanog* 15: 688-694.
26. Jürgens K, Güde H (1994) The potential importance of grazing-resistant bacteria in planktonic systems. *Mar Ecol Prog Ser* 112: 169-188.
27. Kirchman DL (1994) The uptake of inorganic nutrients by heterotrophic bacteria. *Microb Ecol* 28: 255-271.
28. Kirchman DL (2000) Uptake and regeneration of inorganic nutrients by marine heterotrophic bacteria. In: Kirchman DL (ed) *Microbial ecology of the oceans*. Wiley-Liss Inc., New York, pp 261-288.
29. Kirk JTO (1983) *Light and photosynthesis in aquatic ecosystem*. University Press, Cambridge, pp 38-39.
30. Kjerfve B (1986) Comparative oceanography of coastal lagoons. In: Wolf DA (ed) *Estuarine variability*. Academic Press, New York, pp 63-81.
31. Knoppers BA, Opitz SS, Souza MP, Miguez CF (1984) The spatial distribution of particulate organic matter and some physical and chemical water properties in Conceição Lagoon; Santa Catarina, Brazil (July 19, 1982). *Braz Arch Biol Technol* 27: 59-77.
32. Lutterbach MTS, Vasquez JC, Pinet JA, Andretta JV, da Silva AC (2001) Monitoring and spatial distribution of heterotrophic bacteria and fecal coliforms in the Rodrigo de Freitas Lagoon, Rio de Janeiro. *Braz Arch Biol Technol* 44: 7-13.
33. Lymer D, Lindstro ES, Vrede K (2008) Variable importance of viral-induced bacterial mortality along gradients of trophic status and humic content in lakes. *Freshw Biol* 53, 1101–1113.
34. Kolm HE, Andretta L (2003) Bacterioplankton in different tides of the Pereque tidal creek, Pontal do Sul, Parana, Brazil. *Braz J Microbiol* 34: 97-103.
35. McCree KJ (1981) Photosynthetically active radiation. In: Lange OL, Nobel P, Osmond B, Ziegler H (eds) *Physiological plant ecology*, vol. 12A, *Encyclopedia of plant physiology (new series)* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and New York, pp 41–55.
36. Maclsaac EA, Stockner JG (1993) Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence. In: Kemp PF, Sherr BF, Sherr EB, Cole JJ (eds) *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida, pp 187–197.
37. Mainly BFJ (1995) *Multivariate statistical methods: a primer*. 2 ed. Chapman & Hall, London, pp 76-92.

38. Massana R, Gasol JM, Bjornsen PK, Blackburn N, Hagström A, Hietanen S, Hygum BH, Kuparinen J, Pedrós-Alió C (1997) Measurement of bacterial size via image analysis of epifluorescence preparations: description of an inexpensive system and solutions to some of the most common problems. *Sci Mar* 61: 397-407.
39. McCarthy MJ, McNeal KS, Morse JW, Gardner WS (2008) Bottom-water hypoxia effects on sediment–water interface nitrogen transformations in a seasonally hypoxic, shallow bay (Corpus Christi Bay, TX, USA) *Estuaries Coasts* 31:521–531.40. Miller DC, Poucher SL, Coiro L (2002) Determination of lethal dissolved oxygen levels for selected marine and estuarine fishes, crustaceans and a bivalve. *Mar Biol* 140: 287-296.
41. Moebus K (1992) Further investigations on the concentration of marine bacteriophages in the water around Helgoland, with reference to the phage-host systems encountered. *Helgo Meeresunters* 46: 275-292.
42. Muehe D, Gomes Jr. FC (1989) Batimetria e algumas considerações sobre a evolução geológica da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. *Geosul* 49 : 32-44.
43. Muylaert K, van der Gucht K, Vloemans N, de Meester L, Gillis M, Vyverman W (2002) Relationship between bacterial community composition and bottom-up versus top-down variables in four eutrophic shallow lakes. *Appl Environ Microbiol* 68: 4740-4750.
44. Nixon SW (1995) Coastal marine eutrophication: definition, social causes, and future concerns. *Ophelia* 41: 199-219.
45. Odebrecht C (1988) Variações espaciais e sazonais do fitoplâncton, protozooplâncton e metazooplâncton na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *Atlântica* 10: 21-40.
46. Odebrecht C, Gomes Jr. FC (1987) Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. *Atlântica* 9: 83-104.
47. Ovreas L, Bourne D, Sandaa RA, Casamayor EO, Benlloch S, Goddard V, Smerdon G, Heldal M, Thingstad TF (2003) Response of bacterial and viral communities to nutrient manipulations in seawater mesocosms. *Aquat Microb Ecol* 31: 109-121.
48. Pace ML, Cole JJ (1994) Comparative and experimental approaches to top-down and bottom-up regulation of bacteria. *Microb Ecol* 28: 181-193.
49. Pernthaler J, Zollner E, Warnecke F, Jurgens K (2004) Bloom of filamentous bacteria in a mesotrophic lake: identity and potential controlling mechanism. *Appl Environ Microbiol* 70: 6272–6281.

50. Psenner R, Sommaruga R (1992) Are rapid changes in bacterial biomass caused by shifts from top-down to bottom-up control? *Limnol Oceanog* 37: 1092-1100.
51. Sierra de Ledo B, Soriano-Sierra EJ (1994) Atributos e processos condicionantes da hidrodinâmica na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *ACIESP* 2: 113-121.
52. Sokal RR, Rohlf FJ (1995) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*, 3 ed, W. H. Freeman and Company, New York, pp 555-608.
53. Sokoletsky L (2003) *In situ* and remote sensing bio-optical methods for the estimation of phytoplankton concentration in the Gulf of Aqaba (Eilat), Bar-Ilan University, 240 pp.
54. Stein ML (1999) *Interpolation of spatial data: some theory for kriging*. Springer series in statistics. Springer-Verlag, New York, 243 pp.
55. Strickland JDH, Parsons TR (1972) *A practical handbook of seawater analysis*, 2 ed, bulletin 167, Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 310 pp.
56. Tijdens M, van de Waal DB, Slovackova H, Hoogveld HL, Gons HJ (2008) Estimates of bacterial and phytoplankton mortality caused by viral lysis and microzooplankton grazing in a shallow eutrophic lake. *Freshw Biol* 53: 1126-1141.
57. Underwood AJ (1997) *Experiments in ecology: their logic design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge University Press, United Kingdom, pp 140-197.
58. Vacelet E, Arnoux A, Thomassin BA, Travers M (1999) Influence of freshwater and terrigenous material on nutrients, bacteria and phytoplankton in a high island lagoon: Mayotte, Comoro Archipelago, Indian Ocean. *Hydrobiologia* 380: 165-178.
59. Weinbauer MG, Hornak K, Jezbera J, Nedoma J, Dolan JR, Simek K (2007) Synergistic and antagonistic effects of viral lysis and protistan grazing on bacterial biomass, production and diversity. *Environ Microbiol* 9: 777-788.
60. Welschmeyer NA (1994) Fluorometric analysis of chlorophyll a in the presence of chlorophyll b and phaeopigments. *Limnol Oceanog* 39: 1985-1992.
61. Wheeler PA, Kirchman D (1986) Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems. *Limnol Oceanog* 31: 998-1009.
62. Wommack K, Colwell R (2000) *Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems*. *Microbiol Mol Biol Rev* 64: 69-114.
63. Zhang R, Weinbauer MG, Qian PY (2007) Viruses and flagellates sustain apparent richness and reduce biomass accumulation of bacterioplankton in coastal marine waters. *Environ Microbiol* 9: 3008-3018.

4. CAPÍTULO 2

O PAPEL DAS BACTÉRIAS FOTOTRÓFICAS ANOXIGÊNICAS NA PRODUÇÃO PRIMÁRIA DE UMA LAGOA COSTEIRA ESTRATIFICADA NO SUL DO BRASIL*

Maria Luiza S. Fontes, Marcelino T. Suzuki, Matthew Cottrell & Paulo C. Abreu

*Tradução de artigo submetido para a revista *Limnology & Oceanography*

RESUMO

Nós investigamos a variabilidade espaço-temporal da produção primária total (oxigênica + anoxigênica) e os seus principais fatores reguladores em uma laguna estratificada, Lagoa da Conceição, localizada no sul do Brasil durante o verão e o outono Austral de 2007. Ademais, a contribuição de bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP) com relação à produção primária total pelágica foi estimada. Ambas as concentrações de clorofila *a* (Chl *a*) e a bacterioclorofila *a* (BChl *a*) variaram no espaço, enquanto somente a BChl *a* aumentou 3x do verão para o outono. No verão, a produção de oxigênio (PPO) e a assimilação de dióxido de carbono (PPT) estiveram acopladas, com as taxas mais elevadas e as maiores concentrações de Chl-*a* observadas na região sul da Lagoa. No outono, a maior taxa de PPT e a menor de PPO indicaram um desacoplamento entre ambas as estimativas da produção primária. A análise de Cluster da composição da comunidade bacteriana estimada por DGGE mostrou que a

composição da comunidade bacteriana das estações com PPO e PPT desacoplados foi similar. As razões médias entre Bchl *a*/Chl *a* de 0.15 e 0.28 indicam contribuições significativas de AnAnP à fotossíntese total, tendo a luz como o fator controlador principal da biomassa fotoautotrófica e das taxas de produção primária, sendo que os níveis de luz mais baixos ocasionaram um aumento na BChl *a* e na PPT durante o outono. A formação de “microhabitats” associados às partículas na coluna d’água do setor sul em ambos os períodos pareceu explicar a presença de AnAnP em águas oxigenadas. Assim, os resultados demonstraram uma contribuição significativa de AnAnP como produtores primários na Lagoa da Conceição.

INTRODUÇÃO

Os ecossistemas costeiros (lagunas e estuários) estão entre os sistemas aquáticos mais produtivos, exportando o carbono fixado, nitrogênio e fósforo para oceanos oligotróficos adjacentes (Nixon 1995). A produção primária (PP) nestes ecossistemas é afetada fortemente por processos físico-químicos e influenciada por fatores tais como a entrada de nutrientes pela água doce e pelos nutrientes reciclados nos sedimentos. Conseqüentemente, observa-se uma variabilidade espacial e temporal da produção primária, tornando-se necessária a caracterização físico-química simultânea da coluna de água para entender o funcionamento de tais sistemas (Abreu *et al.* 1992; Abreu *et al.* 1994; Medina-Gomez & Herrera-Silveira 2006). Embora a produtividade primária varie bastante nesses sistemas, sua média é muito mais elevada do que aquela de oceanos e comparável às zonas de ressurgência.

A produção primária nos estuários e nas lagoas costeiras de latitudes subtropicais varia de um máximo de $7,28 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ na Lagoa Chiku, Tailândia (Lin *et al.* 2001) a uma média de $2,19 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ na baía de Tapong, Tailândia (Lin *et al.* 2006), $0,42 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no mar da China Oriental (Gong *et al.* 2003), $0,34 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ em Estero de Punta Banda (Montes-Hugo *et al.* 2004) e $0,36 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ na Dzilam-lagoa, costa da península de Yucatan (Medina-Gomez & Herrera-Silveira 2006). Em estuários e lagoas costeiras brasileiras a PP varia similarmente, com $1,57 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ na Lagoa de Guarapina (RJ) (Knoppers *et al.* 1996), $0,62 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no estuário de Paranaguá (PR) (Brandini 2002) e até $159,5 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na Lagoa dos Patos (Abreu *et al.* 1994). Na Lagoa da Conceição (SC), a PP chegou a $1,59 \pm 0,80 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ (Knoppers & Kjerfve 1999) e a uma média de aproximadamente $0,54 \text{ g C m}^{-2} \text{ d}^{-1}$ no verão de 2002 (Fonseca 2004).

As taxas elevadas de PP promovem geralmente o acúmulo da biomassa do fitoplâncton e da matéria orgânica particulada produzida que não é consumida por predadores nem transportada horizontalmente, sedimentando no fundo. Se o oxigênio não for fornecido ao fundo por processos de advecção ou pela mistura vertical, a hipoxia se desenvolverá criando as chamadas “zonas mortas”. Peixes, crustáceos e organismos bentônicos são excluídos destas regiões devido ao nível do oxigênio ser inferior a $2\text{-}3 \text{ mg L}^{-1}$ (Diaz 2001; Bergondo *et al.* 2005; Vaquer-Sunyer & Duarte 2008). Recentemente, Diaz & Rosenberg (2008) mostraram que as “zonas mortas” estão associadas com os principais centros de população humana localizados próximos à costa e com as grandes quantidades de descarga de nutrientes por bacias hidrográficas em águas costeiras. Estes autores relataram que as “zonas mortas” foram reportadas em

mais de 400 sistemas no mundo inteiro, afetando uma área total de mais de 245.000 quilômetros quadrados. A Lagoa da Conceição (SC) no sul do Brasil é um destes sistemas.

Com a expansão exponencial de zonas mortas mundialmente, espera-se uma diminuição na biodiversidade e na produção secundária (Diaz & Rosenberg 2008; Vaquer-Sunyer & Duarte 2008). Ademais, Brewer and Peltzer (2009) reportaram que o efeito combinado entre a diminuição de oxigênio (expansão das zonas de oxigênio mínimo) e o aumento na concentração de CO₂ nos oceanos (acidificação dos oceanos) pode ser muito severo para os organismos aquáticos. Entretanto, em sistemas costeiros rasos onde a luz pode alcançar estas zonas hipóxicas, o aumento na concentração do CO₂ pode, por sua vez, favorecer um grupo especializado de bactérias, as bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP), as quais são divididas em 5 famílias: Rhodospirillaceae, Chromatiaceae, Ectothiorhodospiraceae, Chlorobiaceae e Chloroflexaceae (Overman & Garcia-Pichel 2006).

Como observado mundialmente, as águas hipóxicas (zonas mortas) na Lagoa da Conceição se formam devido à estratificação da coluna d'água e à elevada produção primária nas águas superficiais (Odebrecht & Caruso 1987; Sierra de Ledo & Soriano-Sierra 1994). Antes da abertura permanente do canal, em 1982, não havia nenhum desenvolvimento de haloclina no setor central (Assumpção *et al.* 1981). Entretanto, desde 1982, a anoxia nas águas de fundo do setor central tem sido descrita (Odebrecht & Caruso 1987). Estas águas anóxicas igualmente mostraram as concentrações mais elevadas de biomassa fotossintética, como 1.604 µg L⁻¹ de Chl *a* em maio de 1984 (Odebrecht & Caruso 1987) e 32.5 do µg L⁻¹ de Chl *a* concomitantemente às

concentrações de H_2S de $34 \mu\text{mol L}^{-1}$ em Março de 2003 (Fontes 2004), enquanto a Chl *a* média no restante da Lagoa foi de $4\text{-}5 \mu\text{g L}^{-1}$. As concentrações do sulfeto presentes nas águas anóxicas concomitante com a observação de águas com coloração rosada por Fonseca (2004) sugerem a presença de sulfobactérias róseas fotossintéticas (bactérias AnAnP) nestas profundidades. A presença de tais bactérias foi sugerida primeiramente por Odebrecht & Caruso (1987), mas o seu papel na produção primária total da Lagoa da Conceição não foi estudado até o momento. Sabe-se que as bactérias AnAnP são responsáveis por altas taxas de produção primária em outros sistemas aquáticos na Espanha, tais como até 47% no lago Estanya e 52% no lago Cisó (Casamayor *et al.* 2008) e 10% na interface óxica/anóxica do estuário do rio de Ebro (Casamayor *et al.* 2001). Assim, espera-se que as bactérias AnAnP possam contribuir com uma significativa parcela da produção primária na Lagoa.

Os objetivos deste estudo foram investigar: i) a variabilidade espacial e temporal da produção primária na Lagoa da Conceição medida por dois métodos diferentes (produção do oxigênio e incorporação ^{14}C) e ii) a possível contribuição da fotossíntese anoxigênica para a produção primária total (oxigênica + anoxigênica) neste sistema.

MÉTODOS

Área de estudo

A Lagoa da Conceição é uma lagoa litorânea rasa “estrangulada” (Kjerfve 1986), situada no sul do Brasil (Fig. 1). A conexão com o Oceano Atlântico Sul ocorre através de um canal meândrico, “Canal da Barra” que tem um papel significativo na renovação das águas da laguna (Fonseca 2006). A Lagoa (20 km^2) se insere em uma bacia

hidrográfica de aproximadamente 80,23 km² (Porto-Filho 1993). As profundidades média e máxima são de 1,7 m e 8,7 m, respectivamente. A luz chega frequentemente ao fundo de toda a laguna e as entradas de água doce são de pequena importância nos setores Sul e Norte (Muehe & Caruso Jr 1989).

Desenho amostral e parâmetros abióticos

As amostras de água foram coletadas nos setores Sul (S), Centro-Sul (CS), Centro-Norte (CN) e Norte (N) (Fig. 1) em duas estações do ano (verão Austral - janeiro/fevereiro de 2007; outono Austral - abril/maio de 2007) a fim de comparar a produção primária sob diferentes situações tróficas e ambientais. Os setores CN e N foram agrupados neste estudo devido a sua similaridade (Fonseca *et al.* 2002; Fontes & Abreu 2009). As amostras de água foram coletadas com uma garrafa de van Dorn de 3-L em duas profundidades, a 0,5 m abaixo da superfície (água de superfície) e a 0,5 m acima do sedimento (água de fundo), e transferidas para frascos de polietileno de 1,5 L (para as análises de pigmentos e nutrientes) e em frascos de DBO (para os experimentos *in situ* de produção primária).

A temperatura, o oxigênio dissolvido e a salinidade foram medidos *in situ* com um sensor calibrado DO 85 (YSI, Yellow Springs, Ohio).

As concentrações de oxigênio < 0,72 mg L⁻¹ (ou < 0.5 mL L⁻¹) são consideradas subóxicas (Helly & Levin 2004; Diaz & Rosenberg 2008) e 3 mg L⁻¹ como sendo o limite entre águas hipóxicas e óxicas (Bergondo *et al.* 2005; Crump *et al.* 2007). As medidas da alcalinidade foram também realizadas e a concentração de CO₂ total foi estimada através de algoritmos usando a alcalinidade, a salinidade, a temperatura e o

pH das amostras (Strickland & Parsons 1972) medidas com o pHmetro DMPH-3 (Digimed, SP, Brasil).

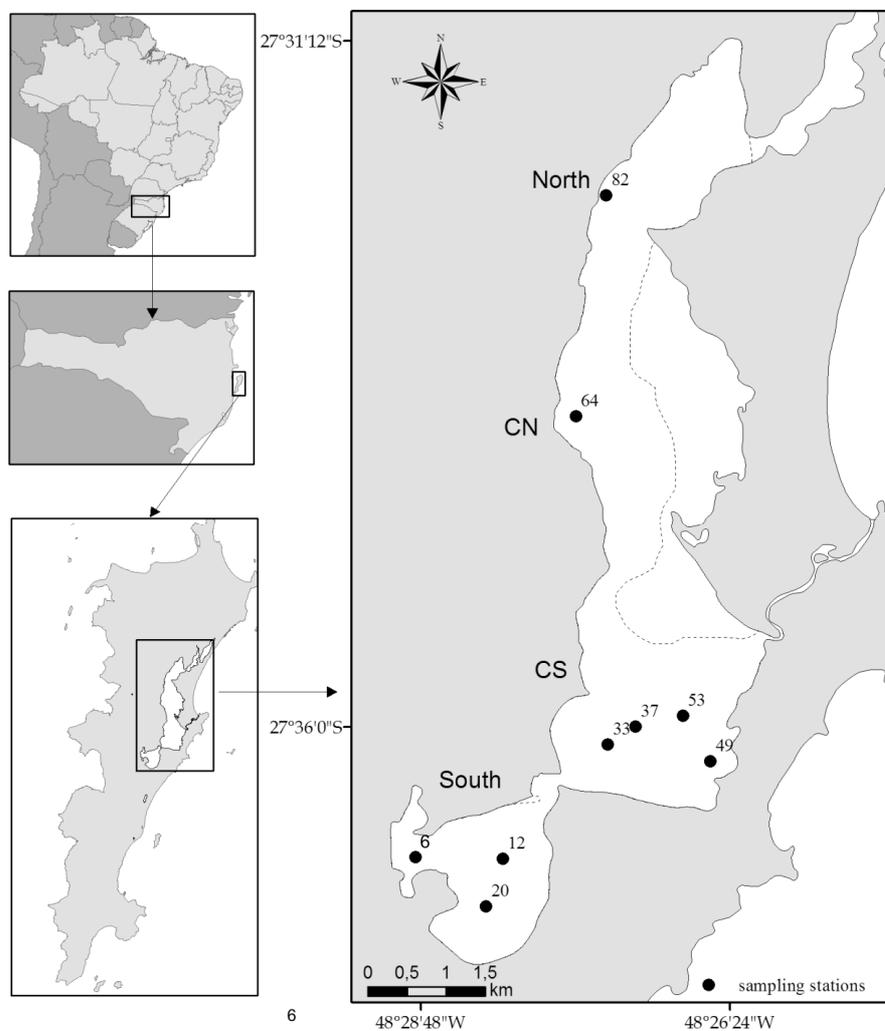


Figura 1. Localização e estações de amostragem na Lagoa da Conceição, Florianópolis, SC. Os números representam as estações de coleta. South = setor Sul, CS = setor Centro-Sul, CN = setor Centro-Norte e North = setor Norte.

O índice da estratificação foi determinado como o valor absoluto da diferença entre a salinidade da água de fundo e de superfície. A profundidade do disco de Secchi foi usada para estimar o coeficiente de atenuação da irradiação, k , e a radiação

fotossinteticamente ativa (PAR_{I_0}) que chega na interface ar-água para estimar a quantidade de energia luminosa disponível na superfície e fundo das estações amostrais (ver Fontes & Abreu (2009) para detalhes).

Pigmentos fotossintéticos e nutrientes inorgânicos

As alíquotas de água de aproximadamente 500 mL foram filtradas em filtros GF/F (Whatman, Maidstone, Reino Unido; 0,7 μm) imediatamente depois da coleta para determinar a clorofila *a* (Chl *a*) e bacterioclorofila *a* (Bchl *a*) retidos no filtro e nutrientes inorgânicos (amônio, nitrato + nitrito e fosfato) no filtrado. Os filtros e o filtrado foram armazenados em $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a análise. Os nutrientes inorgânicos foram analisados de acordo com Grasshoff *et al.* (1999). Chl *a* de fototróficos oxigênicos e Bchl *a* de fototróficos anoxigênicos foram extraídos dos filtros com acetona a 90% por 24 horas em 4°C no escuro. As concentrações dos pigmentos foram estimadas em 665 nm para Chl *a* e corrigidas para turbidez em 750 nm; e em 880 nm para Bchl *a* e corrigidas em 772 nm para turbidez usando um espectrofotômetro Uv-Vis FEMTO 600 S (SP, Brasil) (Strickland & Parsons 1972; Jones 1979). A razão entre Bchl *a* e Chl *a* ($\text{mol} \times \text{mol}^{-1}$) foi usada como uma estimativa da contribuição da Bchl *a* para o transporte fotossintético de elétrons (Kolber *et al.* 2001; Goericke 2002).

Produção primária

As incubações foram realizadas logo que as amostras foram coletadas e incubadas nas mesmas profundidades das coletas. Dois métodos de avaliação da produção primária foram aplicados: método do O_2 (produção e consumo do oxigênio) e o método

do ^{14}C (fixação de CO_2 total) a fim medir simultaneamente a respiração, a produção primária oxigênica e total (oxigênica + anoxigênica). As amostras de água foram transferidas com cuidado a frascos de DBO sempre deixando extravasar um excesso de 3 vezes o volume da garrafa para evitar a formação de bolhas de ar. Frascos de DBO de 300 ml foram usados para a variação do oxigênio (2 claros e 2 escuros) e de 120 mL para estimar a fixação de CO_2 (2 claros e 2 escuros). Antes da incubação, 3 subamostras foram analisadas – tempo zero ou controle - para o método do oxigênio. O OD foi medido com uma sonda DO 85 (YSI) calibrada pelo método de Winkler. Para as medidas da fixação de ^{14}C , foram adicionados 1 mL de $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ a $5 \mu\text{Ci mL}^{-1}$ em cada frasco. Antes da incubação, seis subamostras de 50 μL cada foram transferidas a tubos de cintilação de 20 mL e fixadas com formaldeído a 2% (concentração final). As amostras de água foram incubadas por 4 horas (8:30 a 12:30 h) sob a irradiação *in situ*. No final da incubação, todos os frascos de DBO usados para o cálculo de variação do OD foram analisados imediatamente a bordo. A produção primária líquida ou oxigênica (PPO) foi estimada como a produção de OD nos frascos claros enquanto a respiração da comunidade planctônica (RC) foi determinada como o consumo do OD nos frascos escuros.

Ainda à bordo foram transferidos 8 mL de cada frasco (em duplicata) contendo ^{14}C para frascos de cintilação os quais receberam uma solução de formaldeído até a concentração final de 2%. Em laboratório, estas subamostras foram acidificadas com 1 mL de HCl 6N, borbulhados por 20 minutos para eliminar $^{14}\text{CO}_2$ não incorporado e neutralizados com 1 mL de NaOH 6N. O volume foi completado para 20 mL com o líquido de cintilação (Schindler *et al.* 1972; Nielsen & Bresta 1984). A radioatividade

nas amostras foi estimada em um cintilômetro modelo LS 6500 (Beckman Coulter, Fullerton, CA). A produção primária total (anoxigênica + anoxigênica) (PPT) foi estimada através da fixação do carbono inorgânico (CO₂) nos frascos claros e corrigidos pela fixação de CO₂ no escuro (quimiossíntese). A produção primária e as taxas de respiração foram expressas em unidades volumétricas seguindo as recomendações de Smith (2007) para o monitoramento do estado trófico dos ecossistemas costeiros. O quociente fotossintético (QF = moles de O₂ x moles de CO₂⁻¹) foi calculado para cada local a fim fornecer uma melhor visão do balanço entre as duas medidas fotossintéticas (produção de O₂ e fixação de CO₂).

Composição da comunidade bacteriana

As amostras foram armazenadas a 4°C no escuro por até 2 h antes da filtração em laboratório. Cerca de 50 mL foram pré-filtrados em filtros GF/A (Whatman, retenção nominal de 1,6 µm) para remover os organismos maiores. Alíquotas de 10 mL das amostras pré-filtradas foram filtradas em filtros polissulfonados Supor 200 de 0.2 µm (Pall Co. East Hills, NY). Estes filtros foram armazenados em 130 µL em solução tampão para DNA e congelados em -20 °C. As amostras foram transportadas no gelo seco até os EUA onde a extração do DNA e a electroforese de gradiente de desnaturação em gel (DGGE) foram executadas. Os ácidos nucleicos celulares foram extraídos das amostras do picoplâncton usando o *kit* da Qiagen “DNeasy” (Qiagen, Chatsworth, CA) e o protocolo do fabricante com modificações pequenas (Suzuki *et al.* 2001). O DNA bacteriano foi quantificado em espectrofotômetro. Os genes do rRNA bacteriano foram amplificados do DNA genômico total através de PCR usando dois

“primers” amplamente utilizados para amplificação de genes da subunidade 16S ribossomal bacteriana (358F-GC e 517R) em um termociclador PTC-200 (MJ Research, Watertown, Mass.) (Muyzer *et al.* 1993), sob condições similares descritas em Castle & Kirchman (2004). Os produtos de amplificação foram verificados em um gel de agarose de 1% para verificar o sucesso da amplificação do gene.

A técnica de DGGE foi aplicada utilizando um gradiente de denaturação de uréia/formamida de 55% e 25% combinado ao gel de poliacrilamida de 8% (Muyzer *et al.* 1993). As condições da eletroforese foram sob 60 °C em solução tampão 1X TAE (40 mM de acetato de Tris, 1mM de EDTA a pH de 8.0) a 130 V por aproximadamente 4 ½ h. Foi utilizado brometo de etídio para corar o gel e possibilitar a visualização sob luz UV como em eletroforese comum usando o sistema da imagem “Kodak Molecular Imaging software 4.5” (Eastman Kodak Inc., Rochester, NY). A imagem do gel de DGGE foi digitalizada pelo mesmo programa através dos padrões de bandas no gel (presença/ausência), definindo as espécies bacterianas dentro de cada amostra (conjunto de bandas verticalmente. Como Crump *et al.* (2007) não encontraram diferença significativa entre os métodos de presença/ausência de bandas de intensidade de banda, foi definido utilizar o método de presença-ausência. A presença da banda foi considerada quando a sua intensidade era > 5% do que o pico máximo da banda mais escura na linha de bandas. As amostras representantes de 3 setores da Lagoa (estações 12, 33 e 82, Fig. 1) foram comparadas com base na presença e ausência de bandas das amostras de superfície e de fundo durante os dois períodos de tempo.

Análises estatísticas

A análise de variância (ANOVA) e a de componentes principais (ACP) foram aplicadas aos dados ambientais e bióticos (respiração da comunidade planctônica e produção primária). Para atingir os pressupostos de normalidade e homocedasticidade dos dados, estes foram logaritmizados, $\log(X)$ para as variáveis maiores do que 1 e $\log(X+1)$ para menores do que 1 (Zar 1999). Os grupos homogêneos foram testados com o teste post-hoc HSD para n desiguais (Underwood 1997). As análises de ANOVA e a ACP foram geradas com o programa STATISTICA 7.0 (Statsoft, Tulsa, OK).

As comunidades bacterianas da Lagoa foram comparadas entre os setores e período de amostragem através da análise da matriz da similaridade feita utilizando o método de Jaccard para dados binários. A diversidade de cada grupo resultante da análise de Cluster foi estimada a partir da comparação dos valores de centróides. A classificação das amostras em grupos baseada na composição das comunidades bacterianas a partir do padrão de bandas do DGGE foi realizada através da análise de *cluster* usando o método “complete linkage” (XLSTAT 2008).

RESULTADOS

Caracterização físico-química do ecossistema

A temperatura foi $27,2 \pm 0,8$ °C no verão e $23,6 \pm 2,8$ °C no outono, apresentando uma variação de $8,7$ °C durante o outono (Tabela1). A salinidade média foi de $27,9 \pm 2,5$ no verão e $29,9 \pm 2$ no outono, com os maiores valores no outono (t-test $p < 0,01$, $n = 70$). A salinidade mínima e máxima foi medida nos setores S e CS, respectivamente,

em ambos os períodos (Tabela 1). O índice da estratificação foi muito baixo no verão máximo de 2,5 no setor CS (Fig. 2C), enquanto no outono foi maior, máximo de 4,8 no setor CS (Figs. 2 C, D). Houve uma inversão pequena nos valores da salinidade de fundo e de superfície nos setores S e CN+N no verão. A inversão na salinidade significa que as águas mais salgadas estiveram na superfície em vez de estarem no fundo. A profundidade do disco de Secchi média foi de $2,7 \pm 0,7$ m em ambos os períodos, com os valores do setor S significativamente mais baixos do que aqueles medidos nos outros setores.

Temporalmente, as águas do setor sul tenderam a ser mais turvas no outono, enquanto as águas dos setores CS e da CN tenderam a águas mais limpas (Tabela 1). Conseqüentemente, a menor e a maior intensidade de PAR que atinge as águas de fundo (PAR_b) foi estimada nos setores correspondentes (médias de $132,1 \pm 144,7$ $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no verão e $33,7 \pm 41,8$ $\mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$ no outono). As águas de fundo do setor estratificado CS receberam intensidade luminosa oscilando em janeiro/fevereiro, de < 35 nas estações 33 e 37 a > 255 $\mu\text{mol quantum m}^{-2} \text{s}^{-1}$ nas estações 49 e 53. A estação 33 recebeu uma das mais baixas intensidades de PAR_b em abril/maio, somente 4 $\mu\text{mol quantum m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Figs. 2 A, B). O oxigênio dissolvido (OD) variou de 0,38 (águas de fundo - CS) a $7,7$ mg L^{-1} (as águas de superfície - S) (Figs. 2 E, F), com média de 6,21 no verão e $4,92$ mg L^{-1} no outono.

Tabela 1. Transparência da coluna d'água (profundidade do disco de Secchi), temperatura, salinidade, amônio, nitrato + nitrito, fosfato e silicato medidas nas águas superficiais e de fundo da Lagoa da Conceição no verão e no outono. Média e desvio padrão (DP) apresentados para cada variável medida no período.

Estação do ano	Amostra	Transp (m)	T	Salinidade	NH ₄ ⁺ μM	NO ₃ ⁻ + NO ₂ ⁻ μM	PO ₄ ³⁻ μM	SiO ₄ μM	
Verão	6 sup	1.58	28.20	25.50	7.34	0.43	2.19	58.92	
	6 fundo		27.70	25.70	6.00	0.55	1.85	66.00	
	12 sup	1.80	27.80	25.60	1.58	0.30	0.43	42.17	
	12 fundo		26.90	25.00	6.44	0.89	1.26	74.66	
	20 sup	2.00	27.60	25.70	0.01	2.93	0.09	49.64	
	20 fundo		27.00	25.10	4.62	0.35	1.02	34.50	
	33 sup	2.60	28.80	29.80	2.51	0.65	0.09	31.27	
	33 fundo		27.00	32.10	3.24	0.48	0.73	26.02	
	37 sup	3.20	28.50	30.00	4.68	4.73	2.00	10.08	
	37 fundo		27.20	31.50	2.31	1.02	0.39	10.08	
	49 sup	3.40	26.90	29.90	2.28	0.77	0.09	14.92	
	49 fundo		26.10	31.00	8.68	0.36	0.48	22.59	
	53 sup	3.70	26.80	30.40	2.03	1.04	0.82	5.04	
	53 fundo		26.00	32.50	2.86	1.08	0.78	19.36	
	64 sup	4.20	26.80	28.20	6.44	0.20	2.04	20.17	
	64 fundo		27.60	26.90	6.38	0.27	1.36	12.50	
	82 sup	3.00	26.40	27.50	1.71	0.63	0.09	13.11	
	82 fundo		26.10	27.20	4.30	0.21	0.96	18.76	
		média	2.8	27.2	28.3	4.1	0.9	0.9	29.4
		DP	0.9	0.8	2.6	2.4	1.1	0.7	20.7
Outono	6 sup	2.20	26.00	26.20	8.36	0.55	0.53	163.51	
	6 fundo		26.90	26.30	10.51	1.80	0.43	155.64	
	12 sup	1.76	23.60	26.70	1.19	0.66	1.02	3.27	
	12 fundo		23.60	27.10	2.44	0.58	1.22	18.81	
	20 sup	2.17	26.60	26.10	6.92	0.89	1.22	0.25	
	20 fundo		26.60	26.90	10.12	1.67	0.78	25.67	
	33 sup	2.72	23.30	30.90	0.62	3.19	0.39	46.26	
	33 fundo		23.60	33.80	17.93	0.63	0.53	95.30	
	37 sup	2.60	24.90	30.40	4.81	1.05	0.58	36.77	
	37 fundo		24.80	34.00	0.30	0.80	0.09	36.77	
	49 sup	2.72	25.10	30.10	2.83	0.77	0.43	30.92	
	49 fundo		25.30	33.40	7.75	0.52	0.39	51.10	
	53 sup	3.20	24.70	29.50	1.87	0.44	1.22	34.15	
	53 fundo		24.90	34.10	12.43	0.41	1.17	68.86	
	64 sup	2.80	18.90	30.60	21.77	0.84	0.04	36.98	
	64 fundo		18.90	30.40	53.71	0.53	0.14	27.89	
	82 sup	3.40	19.00	30.70	34.79	1.95	0.14	37.58	
	82 fundo		18.10	30.90	37.54	0.91	0.24	29.71	
		média	2.6	23.6	29.9	13.1	1.0	0.6	50.0
		DP	0.5	2.9	2.8	14.9	0.7	0.4	45.3

Verticalmente, DO diminuiu significativamente com a profundidade (Figs. 2 E, F), mas águas hipóxicas e subóxicas foram encontradas somente em abril/maio (Fig. 2 F). Dentre as formas de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID), o amônio (NH_4^+) foi predominante, consistindo em 89% do NID total. A concentração de NH_4^+ média foi menor no verão ($3,96 \pm 2,40 \mu\text{mol L}^{-1}$) do que no outono ($13,10 \pm 14,94 \mu\text{mol L}^{-1}$) (Tabela 1), com aumento significativo nas águas subóxicas da estação 33 e no setor Norte da Lagoa em abril/maio. Este foi o único nutriente que apresentou as concentrações mais elevadas nas águas de fundo ($p < 0,05$). As médias de nitrato + nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) e fosfato foram $0,99 \pm 0,94 \mu\text{mol L}^{-1}$ e $0,73 \pm 0,58 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente. O silicato teve uma média de $27,28 \pm 19,21 \mu\text{mol L}^{-1}$ em janeiro/fevereiro e $49,97 \pm 45,30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em abril/maio. Em janeiro/fevereiro, o silicato indicou um aumento em direção ao sul, enquanto em abril/maio os valores mais elevados foram medidos nas águas subóxicas do setor CS.

A razão N:P variou de 3,25 a 33,77 no verão (média de 11,72) e de 1,82 a 506,60 no outono (média de 82,62). Os maiores valores em abril/maio foram devido às concentrações crescentes de amônio assim como as baixas de fosfato nas amostras de CN+N, pois se considerássemos somente as razões estimadas para os setores S e CS, a razão média em abril/maio seria de 12,87. Por outro lado, a razão Si:P variou de 5,05 a 531,43 no verão (média de 92,15) e de 0,20 a 828,49 no outono (média de 145,26). Novamente, se retirarmos os valores estimados no setor CN+N, a média total cairia para 46. Isto demonstra um desequilíbrio na relação entre os nutrientes dissolvidos comparados à razão de Redfield de N: Si: P = 16:15:1.

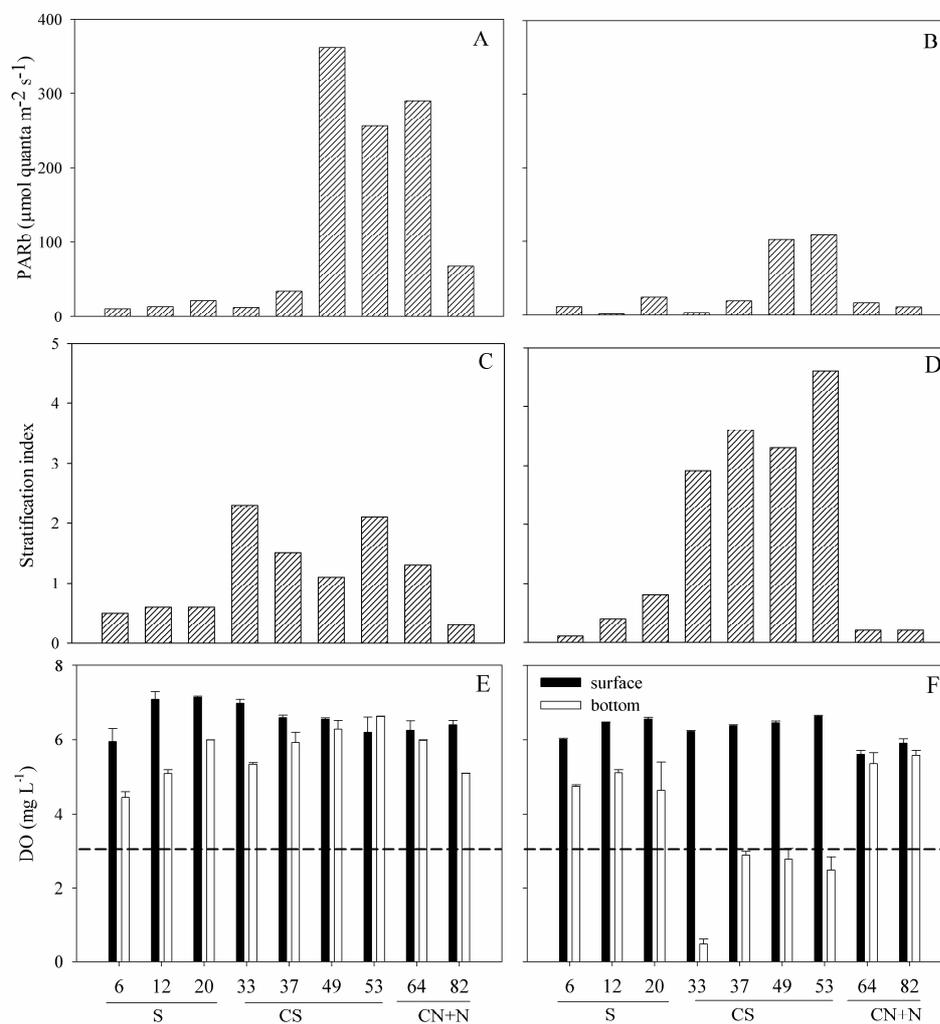


Figura 2. Variabilidade espacial de PARb, índice de estratificação (stratification index) e oxigênio dissolvido (DO) em janeiro/fevereiro (A, C, E) e em abril/maio de 2007 (B, D, F). As barras de erro representam o desvio padrão, a linha pontilhada indica $[OD] = 3 \text{ mg L}^{-1}$ usada para definir o limite de hipoxia.

Variabilidade espaço-temporal da produção primária

A Chl *a* apresentou uma variação sazonal relativamente pequena, com média de $4,28 \mu\text{g L}^{-1}$ (1,41 - 8,24) no verão (Fig. 3A) e $4,78 \mu\text{g L}^{-1}$ (2,28 - 11,46) no outono (Figs. 3A-B). No verão houve uma diferença notável entre valores na superfície e na

água de fundo, particularmente nos setores S e CS, o que não foi observado no outono, exceto por um pico Chl *a* na água de fundo da estação 33. Por outro lado, os níveis de Bchl *a* aumentaram significativamente (3-vezes) do verão para o outono. Bchl *a* teve uma média de $0,89 \mu\text{g L}^{-1}$ ($0 - 5,3 \mu\text{g L}^{-1}$) no verão e $2,60 \mu\text{g L}^{-1}$ no outono ($0 - 10,4 \mu\text{g L}^{-1}$).

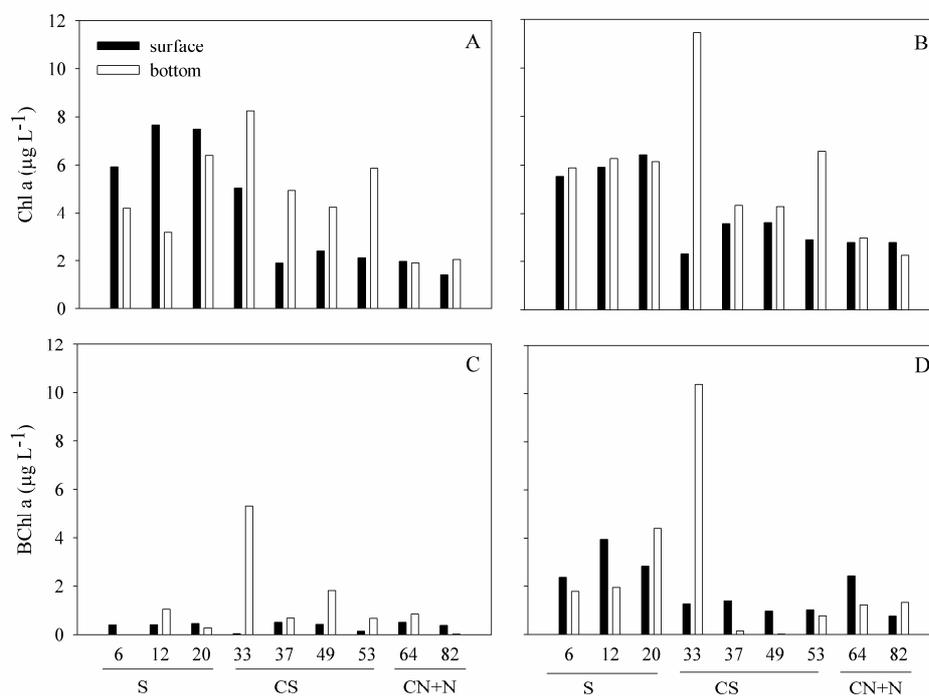


Figura 3. Variabilidade espacial de pigmentos fotossintéticos: clorofila *a* (Chl *a*) em janeiro/fevereiro (A) e em abril/maio (B), bacteriochlorophyll *a* (Bchl *a*) em janeiro/fevereiro (C) e em abril/maio (D). Surface = água coletada a 0,5 m abaixo da superfície e bottom = água coletada a 0,5 m acima da superfície do sedimento.

Em ambos os períodos, um pico pronunciado ocorreu na água de fundo da estação 33. Estes picos de Bchl *a* juntamente ao notável pico de Chl *a* na estação 33 no outono parece estar associado às condições subóxicas (Figs. 2 F e 3 B, D). A razão Bchl *a*: Chl *a* média foi de $0,15 \pm 0,12$ no verão e $0,28 \pm 0,13$ no outono, com a razão máxima encontrada na água de fundo da estação 33 ($0,47$), o que indica que as bactérias

fototróficas anoxigênicas contribuem com uma média de 15% e 28% do transporte de elétrons total através da fotossíntese pelágica no verão e no outono, respectivamente.

Produção primária total (PPT) - método do ^{14}C

A produção primária total (PPT) (incorporação de ^{14}C por microorganismos fototróficos oxigênicos e anoxigênicos) média foi de $52,5 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ no verão ($4,2 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na estação 82 a $232,3 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na estação 6) (Fig. 4 A) e o dobro, $108,5 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ no outono ($10,1 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na estação 82 a $381,0 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na estação 6) (Fig. 4 B). Geralmente, a PPT das águas superficiais foi significativamente mais elevada do que aquela das águas de fundo (Figs. 4 A-B). As taxas mais elevadas de PPT foram estimadas nas águas superficiais do setor sul (Figs. 4 A, B). A água de fundo da estação 33 quando esteve subóxica apresentou o valor máximo de Bchl *a*, assim como elevada PPT ($220 \text{ mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$) (Fig. 4 B) e consumo de oxigênio (PPO negativa). Interessantemente, as águas superficiais óxicas das estações 6 e 12 no setor S igualmente apresentaram a taxa de fixação de CO_2 (PPT) mais elevada concomitantemente à baixa produção primária de oxigênio (PPO) e elevada concentração de Bchl *a* (Figs. 4 B, D). Este fato indica a presença de bactérias anoxigênicas ativas em águas óxicas e subóxicas.

Produção primária oxigênica (PPO) – método do O_2

A produção primária oxigênica (PPO) média foi de $334,9 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ no verão, variando de $12,8$ (estação 82) a $944,1 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (estação 6) (Fig. 4 C), e de $61,3 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ no outono, variando e de $-124,70$ (estação 33) a $228 \text{ mg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (estação

49) (Fig. 4 D). Geralmente, a PPO foi mais elevada em superfície (Figs. 4 C-D) e 5,5 vezes maior no verão se comparado ao outono. No verão, a PPO mais elevada foi medida no setor sul assim como a maior PPT.

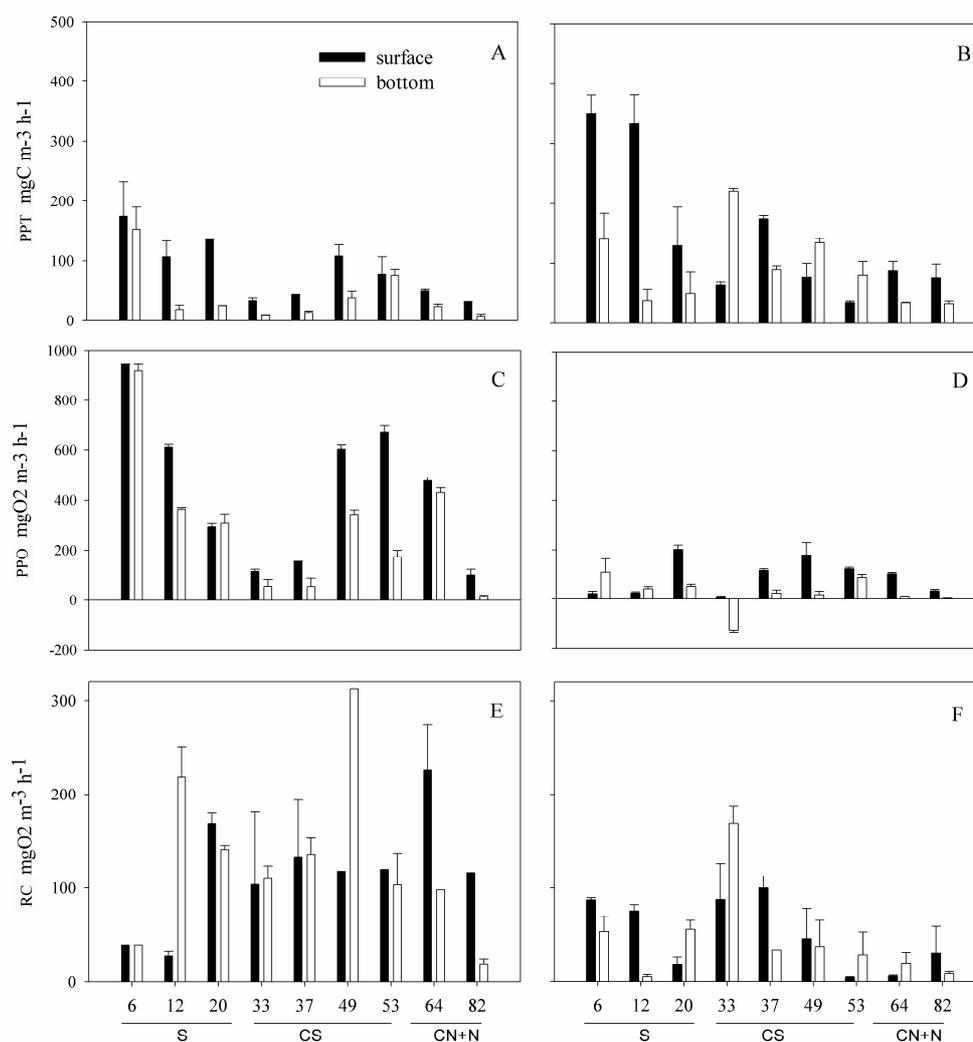


Figura 4. Variabilidade espacial da produção primária total calculada pelo método do ^{14}C (PPT), da produção primária líquida oxigênica calculada pelo método do O_2 (PPO) e da respiração da comunidade (RC) em janeiro/fevereiro (A, C, E) e em abril/maio (B, D F). As barras de erro representam o desvio padrão. Surface = água coletada a 0,5 m abaixo da superfície e bottom = para aquela coletada a 0,5 m acima do sedimento.

No outono, a PPT e a PPO não estiveram acopladas. É notável que as maiores discrepâncias entre os dois métodos (assimilação de ^{14}C e produção de oxigênio) foram

detectadas nas águas superficiais das estações 6 e 12 e nas águas de fundo da estação 33 (Figs. 4 B, D). O quociente fotossintético (QF; moles de O₂ produzidos x moles de CO₂ fixados⁻¹) médio no verão foi de $2,91 \pm 2,03$, ou seja, nove vezes mais alto do que no outono ($0,32 \pm 0,33$). O QF foi calculado a fim mostrar a grande variabilidade temporal entre a produção O₂ e a fixação de CO₂ na Lagoa. O QF mínimo (0,78) e o máximo (7,28) foram registrados nas águas de fundo das estações 82 (setor N) e 12 (setor S), em janeiro/fevereiro; enquanto em abril/maio, a variação entre o mínimo e o máximo foi menor, variando de 0,02 [#12 (superfície) e #33 (fundo)] a 1,33 [#52 (superfície)].

Variabilidade espaço-temporal da respiração da comunidade planctônica (RC)

A respiração da comunidade planctônica (RC= consumo do oxigênio) média foi de 128,74 mg O₂ m⁻³ h⁻¹ no verão e 51,4 mg O₂ m⁻³ h⁻¹ no outono, com uma variação espacial de 12,9 (estação 82) a 312,4 mg O₂ m⁻³ h⁻¹ (estação 49) no verão (Fig. 4 E), e de 3,7 (estação 12) a 169,06 mg O₂ m⁻³ h⁻¹ (estação 33) no outono (Fig. 4 F). O quociente respiratório (QR) de 1,0 foi utilizado para converter a RC, de consumo de O₂ para carbono produzido. Assim, obteve-se uma variação de 6,84 a 117,16 mg C m⁻³ h⁻¹ em janeiro/fevereiro, e de 3,09 a 50,72 a mg C m⁻³ h⁻¹ em abril/maio, com uma média de $44,68 \pm 29,15$ mg C m⁻³ h⁻¹ e $21,43 \pm 15,44$ mg C m⁻³ h⁻¹, respectivamente. Uma variação espacial similar foi observada entre a RC e a PPT em abril/maio (Fig. 4 B, F), o que foi confirmado pela correlação positiva entre estas medidas ($r = 0,68$, $n = 18$, $p = 0,002$).

Análises estatísticas - Análise de componentes principais - ACP

O painel A da figura 5 mostra um gráfico resultante da análise de ACP feito com a média dos parâmetros quantificados em ambos os períodos. Assim temos que temperatura, salinidade, PARz, profundidade do disco de Secchi (SEC), DO, amônio, silicato, Chl *a*, Bchl *a*, PPO, RC e PPT explicaram 44.1% da variação total (tabela 2). O eixo principal 1 esteve relacionado principalmente à variabilidade temporal dos dados (Fig. 5A). O eixo principal 2 esteve relacionado à variabilidade espacial, separando as amostras representantes do sul daquelas dos outros setores. A temperatura, PARz, DO, e PPO apresentaram os valores positivos mais elevados no eixo 1, estando relacionados ao grupo do verão (janeiro/fevereiro); enquanto Bchl *a*, e, a um grau menor, o amônio mostraram os valores negativos mais elevados (que explicam o grupo do outono). No eixo 2 (variabilidade espacial), a Chl *a*, temperatura e PPT tiveram os valores de carga positivos mais elevados; enquanto a profundidade do disco de Secchi e a salinidade, apresentaram os valores negativos mais elevados (Tabela 2). Os painéis B e C mostraram a ordenação espacial das amostras e das variáveis no verão (Fig. 5B) e no outono (Fig. 5C) a fim facilitar a interpretação da variabilidade espacial dentro dos períodos.

No verão, 47 % da variação total foi explicada pelos 2 eixos. PPT, PPO, DO, T e PAR tiveram os valores positivos mais elevados, agrupando amostras do setor S no lado positivo do eixo principal 1 (Tabela 2). SEC e amônio foram as variáveis com os valores mais baixos no eixo 1 e estiveram relacionadas às amostras dos setores CS e CN+N. No eixo 2, SEC, PAR, salinidade e DO igualmente estiveram relacionadas às

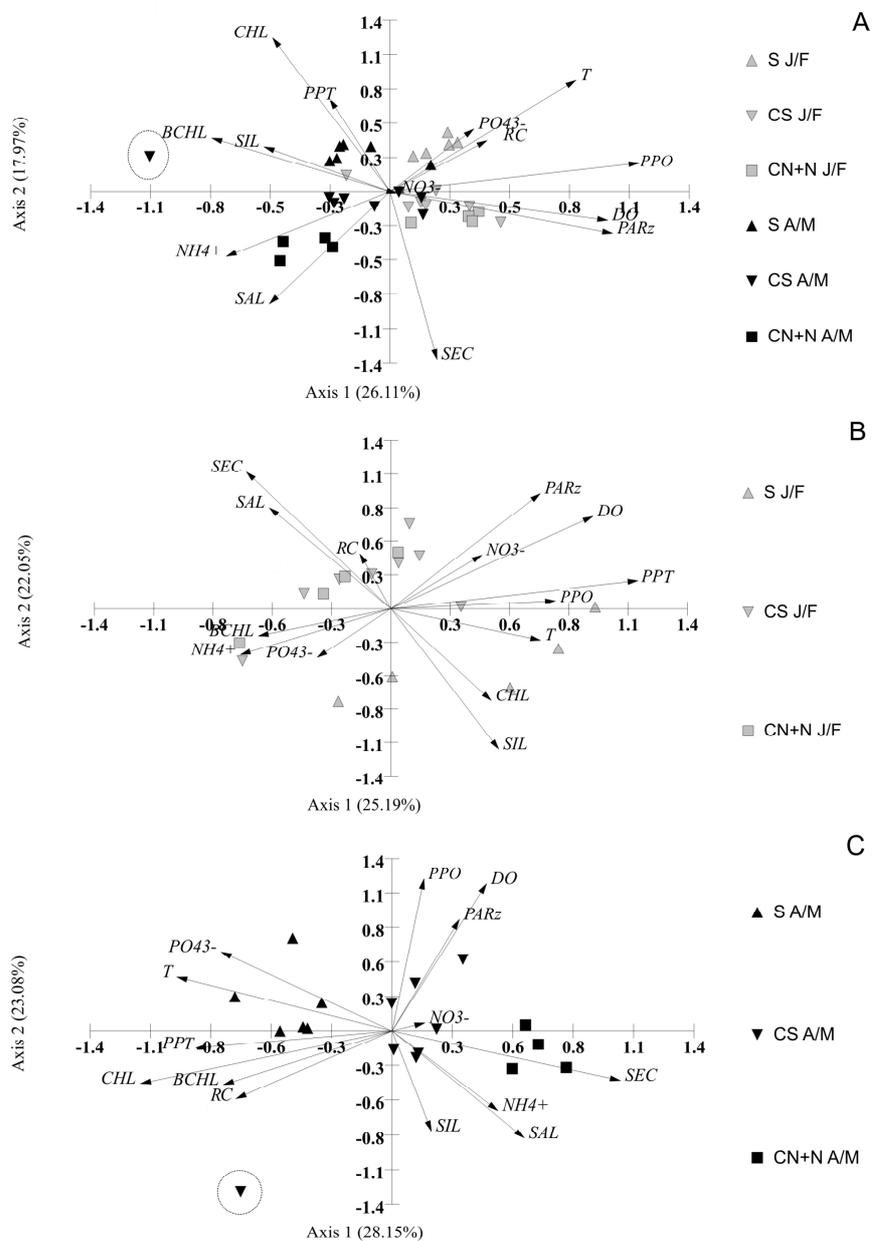


Figura 5. Análise de componentes principais (ACP) das das variáveis ambientais e biológicas nas estações amostrais nos períodos de janeiro/fevereiro (J/F) e abril/maio (A/M) (A), somente em janeiro/fevereiro (B) e somente em abril/maio (C). SEC (transparência = profundidade do disco de Secchi), PARz (PAR na coluna d'água), T (temperatura da água), SAL (salinidade), DO (oxigênio dissolvido), NH_4^+ (amônio), NO_3^- (nitrato+nitrato), PO_4^{3-} (fosfato), SIL (silicato), CHL (clorofila *a*), BCHL (bacterioclorofila *a*), PPT (produção primária total), RC (respiração da comunidade planctônica), PPO (produção primária oxigênica).

amostras dos setores CS e CN+N (valores positivos mais elevados), enquanto silicato e Chl *a* tiveram os valores mais baixos no eixo 2 e relacionados às amostras do setor S.

Tabela 2. Valores de “carga” das variáveis utilizadas na ACP para os eixos 1 e 2. A porcentagem de variação explicada pelos 2 eixos é mostrada em itálico e as letras A, B e C estão relacionadas aos painéis correspondentes na figura 6. Os valores mais significativos estão apresentados em negrito.

	Axis 1 <i>26.11%</i>	Axis 2 <i>17.97%</i>	Axis 1 <i>25.19%</i>	Axis 2 <i>22.05%</i>	Axis 1 <i>28.15%</i>	Axis 2 <i>23.08%</i>
	A	A	B	B	C	C
SEC	0.083	-0.519	-0.270	0.451	0.399	-0.152
PAR	0.394	-0.130	0.279	0.379	0.118	0.341
T	0.329	0.344	0.280	-0.104	-0.376	0.165
SAL	-0.214	-0.349	-0.227	0.333	0.231	-0.325
DO	0.386	-0.090	0.378	0.303	0.165	0.450
NH ₄ ⁺	-0.290	-0.202	-0.282	-0.152	0.185	-0.243
NO ₃ ⁻	0.013	-0.005	0.170	0.175	0.058	0.025
PO ₄ ³⁻	0.149	0.194	-0.138	-0.162	-0.298	0.242
SIL	-0.223	0.139	0.202	-0.466	0.069	-0.304
CHLA	-0.208	0.474	0.188	-0.305	-0.439	-0.161
BCHL	-0.316	0.166	-0.248	-0.090	-0.294	-0.165
OPP	0.441	0.088	0.307	0.026	0.056	0.465
CR	0.172	0.158	-0.058	0.180	-0.273	-0.207
TPP	-0.107	0.288	0.462	0.092	-0.343	-0.053

No outono, 51.2% da variação total nos dados foi explicada pelos 2 eixos (Fig. 5C). O SEC teve o maior valor negativo no eixo 1, sendo responsável pela separação das amostras coletadas em CN+N das demais. Chl *a*, PPT, T, PO₄³⁻, BChl *a* e RC mostraram os valores negativos mais elevados no eixo 1, explicando o agrupamento das amostras do setor S. A salinidade e o silicato apresentaram os valores mais baixos no eixo 2 (Fig. 5C, tabela 2). O símbolo de triângulo invertido circulado nos painéis A e C representa as águas de fundo subóxicas da estação 33 que no painel C se relacionou

negativamente a PPO, DO e PAR, devido a seus valores mais elevados no lado positivo do eixo 2 e no lado positivo do eixo 1.

Análise da composição da comunidade bacteriana

A figura 6 mostra a disposição das bandas no gel de DGGE. O padrão de bandas é semelhante nas amostras coletadas em diferentes períodos, locais e concentrações de oxigênio.

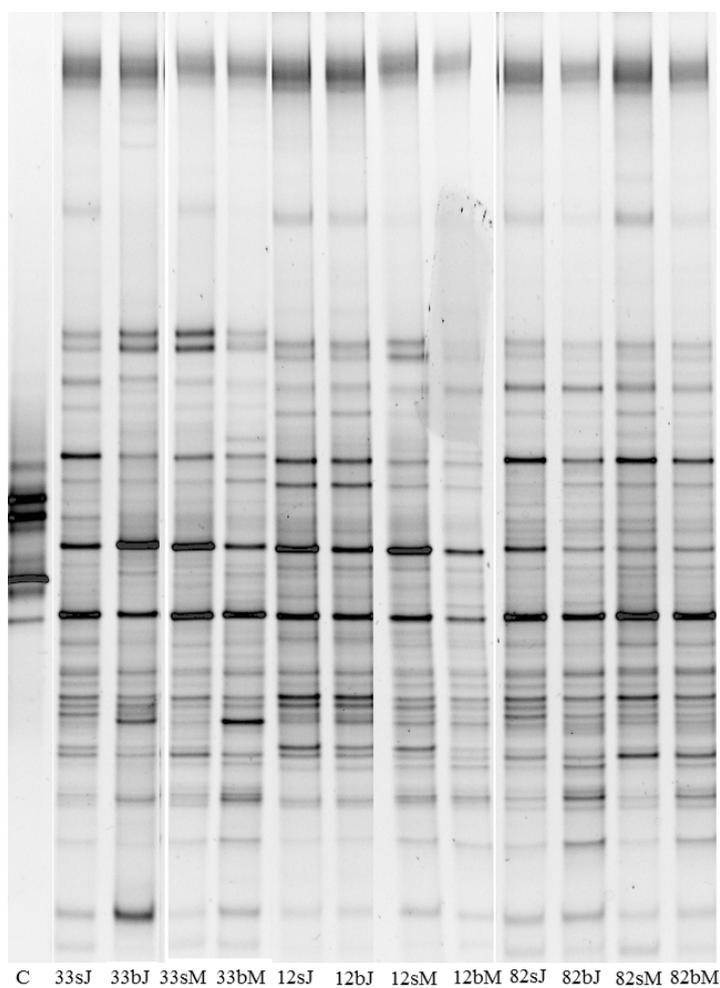


Figura 6. Imagem no gel de DGGE mostrando os padrões de bandas. Os números 12, 33 e 82 representam as estações de amostragem em cada setor (12 = S, 33 = CS, 82 = NC + N); as letras minúsculas indicam a profundidade coletada: s = água de superfície; b = água de fundo. As letras maiúsculas indicam o período de amostragem: J = janeiro/fevereiro, M = abril/maio de 2007.

A análise de Cluster dos padrões das bandas no gel de DGGE mostrou que as 12 comunidades bacterianas estiveram divididas em 2 grupos principais: as águas superficiais/de fundo da estação 12 e a água de fundo da estação 33 em maio (Grupo 1) foram separadas das amostras restantes (Grupo 2) (Fig. 7).

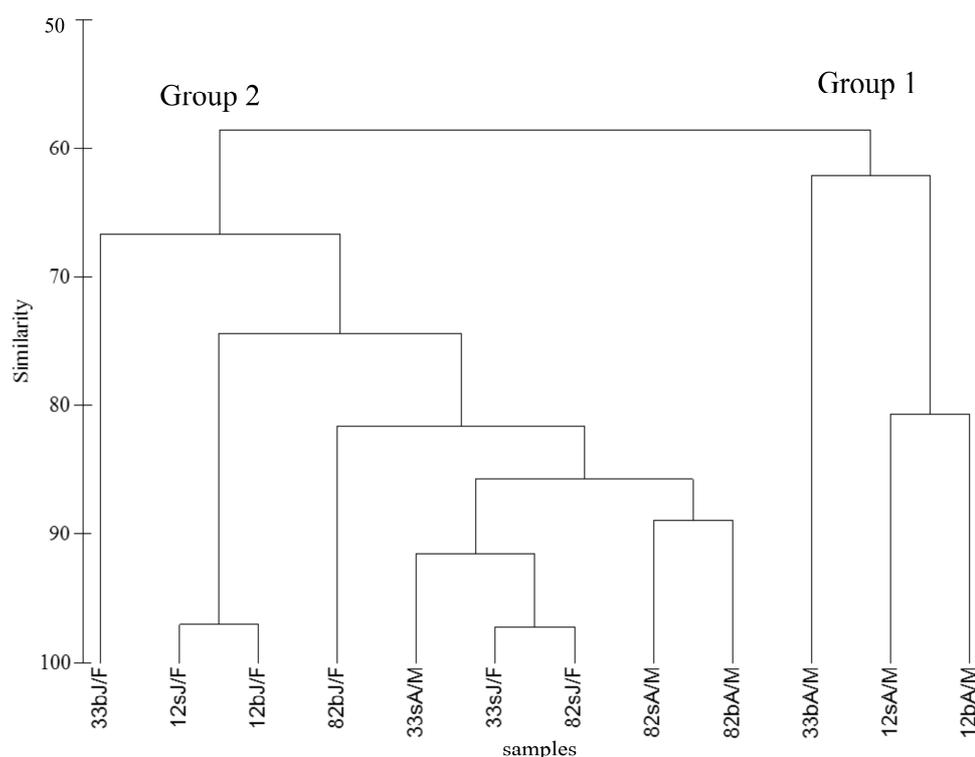


Figura 7. Dendrograma construído a partir da análise de cluster dos padrões de bandas observados no DGGE baseados em uma matriz binária (presença/ausência - equação de Jaccard). Os números 12, 33 e 82 representam as estações de amostragem em cada setor (12 = S, 33 = CS, 82 = NC + N); as letras minúsculas indicam a profundidade de coleta: s = água de superfície; b = água de fundo. As letras maiúsculas indicam o período de amostragem: J/F = janeiro/fevereiro, A/M = abril/maio de 2007.

Este agrupamento indica que as águas de fundo da estação 33 foram mais similares às águas superficiais e de fundo da estação 12 em maio do que às águas de superfície da mesma estação. O outro grupo, entretanto, foi mais diverso, embora as estações 12

(superfície e fundo no verão) e 82 (superfície e fundo no outono) tenham agrupado. A amostra da água de fundo da #33 foi sempre a que esteve mais diferente das demais presentes no mesmo grupo. A mais baixa diversidade, estimada dos valores do centróide de cada classe, foi encontrada no grupo 1 e representado pela estação 12 em abril/maio. As comunidades bacterianas da estação 12 variaram temporalmente, de janeiro/fevereiro a abril/maio, semelhante ao observado para as águas de fundo da estação 33. Um total de 48 ribotipos foi representado no gel de DGGE, sendo que 20 estiveram presentes em todas as amostras.

DISCUSSÃO

Em geral, a Chl *a* neste estudo apresentou uma distribuição espacial similar à descrita anteriormente para a Lagoa da Conceição, onde os valores mais elevados foram observados no setor sul e na água de fundo do setor CS (Odebrecht & Caruso 1987; Fonseca 2004; Fontes & Abreu 2009). As características morfológicas e as diferenças físico-químicas do corpo d'água conduziram à divisão da Lagoa em setores desde os primeiros estudos ecológicos neste ecossistema (Knoppers *et al.* 1984), pois a hidrodinâmica e a entrada de nutrientes em cada setor influencia a distribuição diferenciada de Chl *a*.

Entretanto, valores extremamente elevados deste pigmento (e.g. 1.604 $\mu\text{g L}^{-1}$) foram observados nas águas de fundo do setor central estratificado em maio de 1984 (Odebrecht & Caruso 1987). Os autores atribuíram estes elevados valores de biomassa fitoplanctônica a células autotróficas < 2 μm , possivelmente cianobactérias. Picocianobactérias e bactérias anaeróbicas fotoautotróficas anoxigênicas (AnAnP) são

encontradas freqüentemente na mesma profundidade em ambientes subóxicos e anóxicos de lagos e fjords estratificados e rasos (Steenbergen 1982; Detmer *et al.* 1993; Setälä & Kivi 2003; Garcia-Cantizano *et al.* 2005; Casamayor *et al.* 2008). Assim, o pico de Chl *a* observado na água de fundo anóxica do setor CS em 1984 (Odebrecht & Caruso 1987) indica ser proveniente de uma grande densidade de picocianobactérias e que devem estar associadas a bactérias AnAnP.

O maior tempo de residência da água justificaria a acumulação de Chl *a* no setor S e igualmente na água de fundo da região CS. A respeito do setor CS, Odebrecht & Caruso (1987) observaram que esta região deve funcionar como uma armadilha de sedimentos, acumulando a matéria orgânica produzida na Lagoa, assim como aquela de origem alóctone. É provável que a sedimentação nesta região seja acelerada pelas diferenças na salinidade de superfície e fundo, promovendo a agregação de partículas finas. A estabilização da coluna d'água e a acumulação de matéria orgânica conduziriam às condições anóxicas e à mineralização dos nutrientes na Lagoa, como indicado pela concentração elevada de silicato nas águas de fundo das estações do CS em abril/maio (Tabela 1).

A estratificação da coluna d'água devido à intrusão da água salgada transformou-se em uma característica comum na região central da Lagoa da Conceição desde a abertura permanente do canal que conecta a Lagoa ao Oceano em 1982. Entretanto, uma “inversão” na estratificação, isto é, com águas menos salinas no fundo foi observada no sul e no CN+N, o que indica a intrusão da água subterrânea ou transporte de água superficial do setor central (mais salino) aos setores de CN+N, como sugerido por Fonseca (2004). Este fenômeno foi registrado primeiramente, mas não discutido, por

Assumpção e outros (1981). Odebrecht & Caruso (1987) e Fonseca *et al.* (2002) igualmente observaram esta característica e apontaram como sendo resultante de entrada de água doce subterrânea. Baseado em nossos resultados, a intrusão da água subterrânea na coluna de água não parece representar nenhuma fonte significativa de nutrientes inorgânicos dissolvidos, pois os principais aumentos no nitrogênio ou fósforo não foram observados na água de fundo dos setores S e CN+N.

O desequilíbrio na disponibilidade dos nutrientes na Lagoa demonstrado pela razão N: P < 16:1 indica que o nitrogênio está provavelmente limitando o crescimento fitoplanctônico, pelo menos durante o estudo, pois o fósforo havia sido sugerido como o fator limitante nos anos anteriores (Fonseca *et al.* 2002; Fonseca 2004; Fontes *et al.* 2006). Na análise de componentes principais, Chl *a* e silicato estiveram positivamente relacionados em janeiro/fevereiro (Fig. 5), e a BChl *a* apareceu relacionada ao fosfato e amônio. Os níveis de BChl *a* reportados nas águas anóxicas e interface óxica/anóxica de lagos temperados estratificados de água doce são muito mais elevados do que os encontrados neste trabalho, chegando a 500 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Folt *et al.* 1989; Casamayor *et al.* 2008), embora valores medidos na Lagoa de Massona (Espanha) (BChl *a* superficial de 1,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e de águas subóxicas de 7,6 $\mu\text{g L}^{-1}$) (Casamayor *et al.* 2008) estejam dentro de escala semelhante à encontrada na Lagoa da Conceição. Baixas concentrações de BChl *a* são reportadas para sistemas costeiros oxigenados, tais como a Lagoa de Lapalme (França) (Lami *et al.* 2009), águas sobre a quebra de plataforma no “Mid-Atlantic Bight” (Cottrell *et al.* 2006), superfície do mar Báltico (Koblizek *et al.* 2005a) e a costa sul da Califórnia (Goericke 2002), indicando uma possível tendência na

distribuição de BChl *a* com valores crescentes do ambiente óxico para o anóxico e do oceano aberto para a costa.

A relação entre as bactérias que contêm Bchl *a* e as concentrações de amônio (nitrogênio inorgânico) foi observada primeiramente nos estuários de Delaware e Chesapeake (U.S.) (Waidner & Kirchman 2007). É notável que a luz parece ter sido o principal fator regulador da variação temporal deste pigmento na Lagoa da Conceição e nos estuários de Delaware e Chesapeake. Enquanto a Chl *a* não variou significativamente entre os períodos de amostragem, a BChl *a* variou consideravelmente, com os valores mínimos e máximos registrados no verão e outono, respectivamente. O aumento na Bchl *a* na maioria das estações de amostragem coincidiu com o declínio na penetração da luz na água de fundo da Lagoa, de $132,1 \pm 144,7 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no verão para $33,7 \pm 41,8 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ no outono. Sabe-se que a máxima síntese de Bchl *a* pelas bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP) ocorre sob baixa intensidade luminosa (Bauer *et al.* 1993; Yurkov & Beatty 1998). Por outro lado, as bactérias aeróbicas anoxigênicas fototróficas (AAAnP) têm a síntese do seu pigmento inibida pela luz (Koblizek *et al.* 2005b; Koblizek *et al.* 2007).

A produção fototrófica das bactérias que contêm BChl *a* parece ter conseqüências importantes para a produção primária da Lagoa da Conceição. Durante o outono, as taxas mais elevadas na fixação de dióxido de carbono (PPT) e a baixa produção de oxigênio (PPO) caracterizaram um desacoplamento entre ambos os processos e geraram quocientes fotossintéticos (QF) (moles de O₂ produzidos x moles de CO₂ fixados⁻¹) contrastantes em ambos os períodos. Por exemplo, no verão, o QF (média = $2,91 \pm$

2,03; 0,78 - 7,28) demonstrou uma elevada variabilidade espacial e geralmente, houve mais oxigênio produzido comparado ao carbono assimilado. Ao contrário, no outono, o QF médio de $0,32 \pm 0,33$ e a pequena variação espacial (de 0,02 a 1,33) mostraram a predominância da fixação do CO₂ sobre a produção de oxigênio. Assim, diferente de outros ecossistemas onde os baixos valores de PQ são associados com um aumento na respiração da comunidade (Irwin 1991; Taddei *et al.* 2008), a diminuição desta relação na Lagoa da Conceição no outono pode ter sido gerada por taxas elevadas na fixação de dióxido de carbono pelas bactérias AnAnP.

A respiração da comunidade planctônica mais elevada medida no verão não levou ao desenvolvimento de águas de fundo hipóxicas/subóxicas, enquanto menores taxas de respiração no outono coincidiram com águas de fundo hipóxicas/subóxicas no CS, o que foi principalmente atribuído à diminuição na PPO. Isto explicaria o fenômeno observado por Fontes & Abreu (2009) que relataram águas de fundo ricas em oxigênio no verão (janeiro) e hipóxicas no inverno (julho), ambos medidos na coluna d'água altamente estratificada do setor CS. Os autores concluíram que a produção e/ou o consumo de oxigênio estariam regulados pela quantidade de luz disponível aos microorganismos fotoautotróficos (cianobactérias) abaixo da haloclina.

A Chl *a* é o pigmento fotossintético sintetizado por todos os organismos fototróficos oxigênicos (cianobactérias, algas e plantas), permitindo que fixem CO₂ através do ciclo de Calvin-Benson. A Bchl *a* é sintetizada por uma assembléia mais diversa de bactérias, a qual inclui bactérias aeróbias anoxigênicas fototróficas (AAnP), conhecidas como fotoheterotróficas, e as bactérias anaeróbicas anoxigênicas fototróficas (AnAnP). As primeiras não fixam CO₂, pois não possuem a enzima

Ribulose-1,5-bisfosfato carboxylase/oxygenase (RuBisCO) e além disso, a síntese do pigmento fotossintético somente é possível na presença de oxigênio (Yurkov & Beatty 1998; Kolber *et al.* 2000; Goericke 2002). Além das bactérias AAnP, *Synechococcus*, *Prochlorococcus* e aquelas que contêm proteorodopsina constituem o grupo das bactérias fotoheterotróficas, pois obtêm sua energia química de fótons e o carbono das substâncias orgânicas (Cottrell & Kirchman 2009). Entretanto, Kolber *et al.* (2001) reportaram baixa fixação de CO₂ por AAnP em culturas isoladas em laboratório, equivalente a somente 1% do anabolismo total do carbono. Por outro lado, as bactérias AAnP habitam ambientes com baixos níveis ou ausência de oxigênio possuem a RuBisCO, e portanto, são capazes de fixar CO₂ (Overmann *et al.* 1992; Yurkov & Beatty 1998). Estas bactérias são encontradas abundantemente logo abaixo da oxiclina e nas águas subóxicas de lagos estratificados rasos, estuários e lagoas costeiras (Pedrós-Alió *et al.* 1999; Garcia-Cantizano *et al.* 2005; Casamayor *et al.* 2008).

Assim, o aumento na fixação do dióxido de carbono durante abril/maio na Lagoa da Conceição possivelmente derivou do crescimento de bactérias AAnP, beneficiadas das condições hipóxicas/anóxicas e da diminuição de luz na água de fundo das estações do setor CS. Entretanto, é notável o fato de que as maiores taxas de PPT e baixas taxas de PPO foram medidas em águas superficiais das estações 6 e 12 no setor sul, durante o mesmo período. Em ambos os períodos de amostragem, estas estações apresentaram níveis elevados de oxigênio e uma coluna d'água homogênea. Esta observação levantou duas perguntas importantes: 1) as comunidades bacterianas fotoautotróficas dos setores S e CS são similares? e 2) como as bactérias anaeróbicas fotoautotróficas anoxigênicas sobreviveriam sob condições aeróbicas?

A análise de Cluster dos padrões observados pelo DGGE mostrou que as comunidades bacterianas de águas de fundo subóxicas da estação 33 e de águas superficiais óxicas da estação 12 em abril/maio mostraram um nível de similaridade relativamente alto (Fig. 6), da mesma forma como foi observado na baía de Chesapeake durante o início do desenvolvimento de anoxia no verão (Crump *et al.* 2007). Estes resultados sugerem que as mesmas espécies ou bactérias estreitamente relacionadas às que contêm *Bchl a* estejam presentes em ambas as estações e são responsáveis pelo aumento significativo na fixação de dióxido de carbono observado durante o outono. Na estação 33, como ao invés de produção de oxigênio nos frascos claros houve consumo de O₂ (valores negativos de PPO) durante o outono, foi possível estimar a contribuição de PP anoxigênica para a PPT através da utilização de um QF médio de 1,2 (Asmus 1982). Assim, subtraindo a respiração na luz da respiração no escuro chegamos ao valor real de produção oxigênica convertida em carbono de 11,8 mg C m⁻³ h⁻¹. Subtraindo este valor da PPT (220,8 mg C m⁻³ h⁻¹), nós estimamos a PP anoxigênica de 209 mg C m⁻³ h⁻¹, que significa que 94,7% da fixação total de CO₂ poderia ser atribuída à fotossíntese anoxigênica nestas águas subóxicas da estação 33.

A respeito da segunda pergunta, é provável que a elevada concentração de partículas presentes durante todo o ano no setor S, como indicado pela baixa transparência da coluna d'água, tenha fornecido condições adequadas para a atividade de bactérias AnAnP aderidas ao material particulado. Como partículas permitem a formação de um gradiente de oxigênio e de luz do exterior à parte interna, a anoxia pode desenvolver-se no interior das mesmas, dependendo do seu tamanho (> 500 µm) e formando, assim, o nicho de baixo oxigênio e luz em águas oxigenadas superficiais

(Ploug *et al.* 1997). Em sistemas costeiros como os estuários de Delaware, de Chesapeake (U.S.) e a laguna de Lapalme (França), as bactérias aeróbicas fototróficas anoxigênicas (AAnP) estiveram preferencialmente aderidas às partículas (Waidner & Kirchman 2007, 2008; Lami *et al.* 2009), o que também pode estar acontecendo com as bactérias de AnAnP na Lagoa da Conceição.

A contribuição das bactérias anoxigênicas fototróficas para a produção primária total planctônica da Lagoa foi estimada através da razão Bchl *a* /Chl *a* que tem sido utilizada como estimativa da produção de energia em um sistema (Goericke 2002). Desde o trabalho de Kolber *et al.* (2001), sabe-se que bactérias contendo Bchl *a* apresentam uma eficiência de utilização de luz por unidade de cromóforo semelhante à observada para as fototróficas oxigênicas e que, desta forma, as taxas de fotossíntese podem ser relacionadas às concentrações de Chl *a* e Bchl *a*. A razão média Bchl *a*/Chl *a* na Lagoa da Conceição (0,15 em janeiro/fevereiro e 0,28 em abril/maio) foi muito mais elevada do que aquelas razões de 0,008 e 0,01 estimadas por Goericke (2002) e Cottrell *et al.* (2006), respectivamente e mais semelhante à razão entre 0,05 e 0,10, estimada por Kolber *et al.* (2001). As razões mencionadas pelos autores foram calculadas para águas oxigenadas e muito provavelmente baseadas na concentração de Bchl *a* de bactérias aeróbicas fototróficas anoxigênicas (AAnP). Na Lagoa da Conceição, as razões foram baseadas na Bchl *a* de ambas as bactérias anoxigênicas (AAnP e AnAnP), o que explica provavelmente a contribuição mais elevada das bactérias que contêm Bchl *a* para a fotossíntese total, especialmente em abril/maio (28%).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados deste estudo demonstram a importância das bactérias anaeróbicas fotoautotróficas anoxigênicas (AnAnP) como produtores primários na Lagoa da Conceição, reforçando os trabalhos anteriores. A estratificação e a disponibilidade de luz parecem ser os principais responsáveis pela elevada fotossíntese nas águas de fundo da Lagoa, entretanto, estudos futuros devem centrar-se sobre o destino da produção desta matéria orgânica. A produção de biomassa nas águas subóxicas de sistemas costeiros rasos deve ser considerada em modelos de fluxo de carbono e de dinâmica da energia nestes sistemas, por representar até 47% da fotossíntese total planctônica.

REFERÊNCIAS

- ABREU, PC, BB BIDDANDA & C ODEBRECHT. 1992. Bacterial dynamics of the Patos Lagoon estuary, southern Brazil (32-degrees-S, 52-degrees-W) - relationship with phytoplankton and suspended material. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 35(6): 621-635.
- ABREU, PC, C ODEBRECHT & A GONZÁLEZ. 1994. Particulate and dissolved phytoplankton production of the Patos Lagoon estuary, southern Brazil: comparison of methods and influencing factors. *J. Plankton Res.*, 16(7): 737-753.
- ASMUS, R. 1982. Field measurements on seasonal variation of the activity of primary producers on a sandy tidal flat in the northern Wadden Sea. *Netherlands Journal of Sea Research*, 16: 389-402.
- ASSUMPÇÃO, DTG, APP TOLEDO & VA D'AQUINO. 1981. Levantamento ecológico da Lagoa da Conceição (Florianópolis, Santa Catarina) I: Caracterização-parâmetros ambientais. *Ciência e Cultura*, 33 (8): 1096-1101.
- BAUER, CE, J. J. BUGGY & C MOSLEY. 1993. Control of photosystem genes in *Rhodobacter capsulatus*. *Trends in Genetics* 9(2): 56-60.

- BERGONDO, DL, DR KESTER, HE STOFFEL & WL WOODS. 2005. Time-series observations during the low sub-surface oxygen events in Narragansett Bay during summer 2001. *Marine Chemistry*, 97(1-2): 90-103.
- BRANDINI, N. 2002. Variação espacial e sazonal da produção primária do fitoplâncton em relação às propriedades físicas e químicas na Baía das Laranjeiras e áreas adjacentes (complexo estuarino da Baía de Paranaguá-PR/BR). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 85 p.
- BREWER, PG & ET PELTZER. 2009. Limits to Marine Life. *Science*, 324(5925): 347-348.
- CASAMAYOR, EO, J GARCIA-CANTIZANO, J MAS & C PEDRÓS-ALIÓ. 2001. Primary production in estuarine oxic/anoxic interfaces: contribution of microbial dark CO₂ fixation in the Ebro River Salt Wedge Estuary. *Marine Ecology-Progress Series*, 215: 49-56.
- CASAMAYOR, EO, J GARCIA-CANTIZANO & C PEDRÓS-ALIÓ. 2008. Carbon dioxide fixation in the dark by photosynthetic bacteria in sulfide-rich stratified lakes with oxic-anoxic interfaces. *Limnology and Oceanography*, 53(4): 1193-1203.
- CASTLE, D & DL KIRCHMAN. 2004. Composition of estuarine bacterial communities assessed by denaturing gradient gel electrophoresis and fluorescence in situ hybridization. *Limnology and Oceanography-Methods*, 2: 303-314.
- COTTRELL, MT & DL KIRCHMAN. 2009. Photoheterotrophic microbes in the Arctic Ocean in summer and winter. *Applied and Environmental Microbiology*: 00117-00109.
- COTTRELL, MT, A MANNINO & DL KIRCHMAN. 2006. Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria in the Mid-Atlantic Bight and the North Pacific Gyre. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(1): 557-564.
- CRUMP, BC, C PERANTEAU, B BECKINGHAM & JC CORNWELL. 2007. Respiratory succession and community succession of bacterioplankton in seasonally anoxic estuarine waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21): 6802-6810.
- DETMER, AE, GIESENHAGEN, H. C, TRENKEL, V. M., AUF DEM VENNE, H., JOCHEM, F. J. 1993. Phototrophic and heterotrophic pico- and nanoplankton in anoxic depths of the central Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 99: 197-204.
- DIAZ, RJ. 2001. Overview of hypoxia around the world. *Journal of Environmental Quality*, 30: 275-281.
- DIAZ, RJ & R ROSENBERG. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891): 926-929.

- FOLT, CL, MJ WEVERS, MP YODER-WILLIAMS & RP HOWMILLER. 1989. Field Study Comparing Growth and Viability of a Population of Phototrophic Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(1): 78-85.
- FONSECA, AL. 2004. Variação Sazonal e Espacial das Características Hidroquímicas, dos Fluxos de Nutrientes e do Metabolismo na Interface Água-Sedimento da Lagoa da Conceição (SC, Brasil). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Paulo, Brasil, 180 p.
- FONSECA, AL. 2006. Efeito da drenagem urbana nas características físico-químicas e biológicas da água superficial na Lagoa da Conceição (Florianópolis, SC, Brasil). *Biotemas*, 19(2): 7-16.
- FONSECA, AL, E BRAGA & B EICHLER. 2002. Distribuição espacial dos nutrientes inorgânicos dissolvidos e da biomassa fitoplanctônica no sistema pelágico da Lagoa da Conceição, Santa Catarina, Brasil (Setembro, 2000). *Atlântica*, 24(2): 69-83.
- FONTES, ML. 2004. Breve Estudo Espaço-Temporal e de Impacto do Feriado de Carnaval e de Corpus Christi sobre Variáveis Ambientais nas Águas da Lagoa da Conceição, Florianópolis. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 133 p.
- FONTES, ML, R CAVELLUCCI, A LAURENTI, E MACHADO, M CAMARGO & N BRANDINI. 2006. Detection of environmental impact on variations in dissolved nutrients and Chl-a in the Conceição Lagoon, Florianópolis, SC, Brazil. *J Coast Res SI 39*: 1407-1412.
- FONTES, MLS & PA ABREU. 2009. Spatiotemporal Variation of Bacterial Assemblages in a Shallow Subtropical Coastal Lagoon in Southern Brazil. *Microbial Ecology*: 58(1): 140-153. doi: 10.1007/s00248-00008-09454-z.
- GARCIA-CANTIZANO, J, EO CASAMAYOR, JM GASOL, R GUERRERO & C PEDRÓS-ALIÓ. 2005. Partitioning of CO₂ incorporation among planktonic microbial guilds and estimation of in situ specific growth rates. *Microbial Ecology*, 50(2): 230-241.
- GOERICKE, R. 2002. Bacteriochlorophyll a in the ocean: Is anoxygenic bacterial photosynthesis important? *Limnology and Oceanography*, 47(1): 290-295.
- GONG, G-C, Y-H WEN, B-W WANG & G-J LIU. 2003. Seasonal variation of chlorophyll a concentration, primary production and environmental conditions in the subtropical East China Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 50(6-7): 1219-1236.

- GRASSHOFF, K, M EHRHARDT & K KREMLING. 1999 Methods of seawater analysis. 3rd edition 3 ed. New York: Weinheim: Wiley-VCH. 159-228 p.
- HELLY, JJ & LA LEVIN. 2004. Global distribution of naturally occurring marine hypoxia on continental margins. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 51(9): 1159-1168.
- IRWIN, B. 1991. Coulometric measurement of primary production, with comparison against dissolved oxygen and ¹⁴C methods in a seasonal study. *Marine Ecology Progress Series* 71: 97 - 102.
- JONES, JG. 1979. A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in freshwater: Scientific Publication. 62-88 p.
- KJERFVE, B. 1986. Comparative oceanography of coastal lagoons. In: Wolf, D (ed.). Estuarine variability. Academic Press, New York 63-81.
- KNOPPERS, B & B KJERFVE. 1999. Coastal Lagoons of southeastern Brazil: Physical and Biogeochemical characteristics In: PERILLO, G, M PICCOLO & M PINO-QUIVIRA (eds.). Estuaries of South America, their geomorphology and dynamics. Springer-Verlag Berlin, 3: 35-66.
- KNOPPERS, B, S OPITZ, M SOUZA & C MIGUEZ. 1984. The spatial distribution of particulate organic matter and some physical and chemical water properties in Conceição Lagoon, Santa Catarina, Brazil (July 19, 1982). *Braz Arch Biol Technol*, 27: 59-77.
- KNOPPERS, B, WFL SOUZA, MFL SOUZA, EG RODRIGUEZ, EFCV LANDIM & AR VIEIRA. 1996. In situ measurements of benthic primary production, respiration and nutrients fluxes in a hypersaline coastal lagoon of SE Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography*, 44(2): 155-165.
- KOBLIZEK, M, M MASIN, J RAS, AJ POULTON & O PRASIL. 2007. Rapid growth rates of aerobic anoxygenic phototrophs in the ocean. *Environmental Microbiology*, 9(10): 2401-2406.
- KOBLIZEK, M, JD SHIH, SI BREITBART, EC RATCLIFFE, ZS KOLBER, CN HUNTER & RA NIEDERMAN. 2005a. Sequential assembly of photosynthetic units in *Rhodobacter sphaeroides* as revealed by fast repetition rate analysis of variable bacteriochlorophyll a fluorescence. *Biochimica Et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1706(3): 220-231.
- KOBLIZEK, M, J STON-EGIERT, S SAGAN & ZS KOLBER. 2005b. Diel changes in bacteriochlorophyll a concentration suggest rapid bacterioplankton cycling in the Baltic Sea. *Fems Microbiology Ecology*, 51(3): 353-361.

- KOLBER, ZS, FG PLUMLEY, AS LANG, JT BEATTY, RE BLANKENSHIP, CL VANDOVER, C VETRIANI, M KOBLIZEK, C RATHGEBER & PG FALKOWSKI. 2001. Contribution of aerobic photoheterotrophic bacteria to the carbon cycle in the ocean. *Science*, 292(5526): 2492-2495.
- KOLBER, ZS, CL VAN DOVER, RA NIEDERMAN & PG FALKOWSKI. 2000. Bacterial photosynthesis in surface waters of the open ocean. *Nature*, 407(6801): 177-179.
- LAMI, R, Z CUPEROVÁ, J RAS, P LEBARON & M KOBLIZEK. 2009. Distribution of free-living and particle-attached aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in marine environments. *Aquatic Microbial Ecology*, 55(1): 31-38.
- LIN, H-J, X-X DAI, K-T SHAO, H-M SU, W-T LO, H-L HSIEH, L-S FANG & J-J HUNG. 2006. Trophic structure and functioning in a eutrophic and poorly flushed lagoon in southwestern Taiwan. *Marine Environmental Research*, 62(1): 61-82.
- LIN, H-J, J-J HUNG, K-T SHAO & F KUO. 2001. Trophic functioning and nutrient flux in a highly productive tropical lagoon. *Oecologia*, 129(3): 395-406.
- MEDINA-GOMEZ, I & JA HERRERA-SILVEIRA. 2006. Primary production dynamics in a pristine groundwater influenced coastal lagoon of the Yucatan Peninsula. *Continental Shelf Research*, 26(8): 971-986.
- MONTES-HUGO, MA, S ALVAREZ-BORREGO & G GAXIOLA-CASTRO. 2004. Annual phytoplankton production in a coastal lagoon of the southern California Current System. *Marine Ecology-Progress Series*, 277: 51-60.
- MUEHE, D & F CARUSO JR. 1989. Batimetria e algumas considerações sobre a evolução geológica da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. *Geosul*, 49 32-44.
- MUYZER, G, EC DEWAAL & AG UITTERLINDEN. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel-electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes-coding for 16S ribosomal-RNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(3): 695-700.
- NIELSEN, GE & A-M BRESTA. 1984. Guidelines for the measurement of phytoplankton primary production. *Baltic Marine Biologists*(1): 23.
- NIXON, SW. 1995. Coastal marine eutrophication: A definition, social causes, and future concerns. *Ophelia*, 41: 199-219.
- ODEBRECHT, C. 1988. Variações espaciais e sazonais do fitoplâncton, protozooplâncton e metazooplâncton na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, Brasil. *Atlântica*, 10(1): 21-40.

- ODEBRECHT, C & F CARUSO. 1987. Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. *Atlântica*, 9(1): 83-104.
- OVERMANN, J, U FISCHER & N PFENNIG. 1992. A new purple sulfur bacterium from saline littoral sediments, *Thiorhodovibrio-winogradskyi* gen-nov and sp-nov. *Archives of Microbiology*, 157(4): 329-335.
- OVERMANN, J & F GARCIA-PICHEL. 2006. The Phototrophic Way of Life. In: Martin Dworkin, SF, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer and Erko Stackebrandt (ed.). Prokaryotes. Vol. 2: Ecophysiology and Biochemistry, Springer New York, 1.3: 32-85.
- PEDRÓS-ALIÓ, C, JUAN-ISIDRO CALDERON-PAZ, N GUIXA-BOIXEREU, M ESTRADA & JM GASOL. 1999. Bacterioplankton and phytoplankton biomass and production during summer stratification in the northwestern Mediterranean Sea. *Deep-Sea Research I*, 46: 985-1019.
- PLOUG, H, M KUHL, B BUCHHOLZ-CLEVEN & BB JORGENSEN. 1997. Anoxic aggregates - an ephemeral phenomenon in the pelagic environment? *Aquatic Microbial Ecology*, 13(3): 285-294.
- PORTO-FILHO, E. 1993. Sedimentometria e algumas considerações sobre a biogeoquímica dos sedimentos de fundo da Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 346 p.
- SCHINDLER, DW, RV SCHMIDT & RA REID. 1972. Acidification and bubbling as an alternative to filtration in determining phytoplankton production by the ¹⁴C method. *Journal Fisheries Research Board of Canada*, 29(11): 1627-1631.
- SETALA, O & K KIVI. 2003. Planktonic ciliates in the Baltic Sea in summer: distribution, species association and estimated grazing impact. *Aquatic Microbial Ecology*, 32(3): 287-297.
- SIERRA DE LEDO, B & E SORIANO-SIERRA. 1994. Atributos e processos condicionantes da hidrodinâmica na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *ACIESP*, 2: 113-121.
- SMITH, VH. 2007. Using primary productivity as an index of coastal eutrophication: the units of measurement matter. *Journal of Plankton Research*, 29(1): 1-6.
- STEENBERGEN, CLM. 1982. Contribution of photosynthetic sulphur bacteria to primary production in Lake Vechten. *Hydrobiologia*, 95: 59-64.
- STRICKLAND, J & T PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2 edition. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada. 310 p.

- SUZUKI, M, T. , MP CHRISTINA, PC FRANCISCO & FD EDWARD. 2001. Quantitative mapping of bacterioplankton populations in seawater: field tests across an upwelling plume in Monterey Bay. *Aquatic Microbial Ecology*, 24(2): 117-127.
- TADDEI, D, P CUET, P FROUIN, C ESBELIN & J CLAVIER. 2008. Low community photosynthetic quotient in coral reef sediments. *Comptes Rendus Biologies*, 331(9): 668-677.
- UNDERWOOD, AL. 1997. Experiments in ecology : their logical design and interpretation using analysis of variance: Cambridge University. 504 p.
- VAQUER-SUNYER, R & CM DUARTE. 2008. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40): 15452-15457.
- WAIDNER, LA & DL KIRCHMAN. 2007. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria attached to particles in turbid waters of the Delaware and Chesapeake estuaries. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(12): 3936-3944.
- WAIDNER, LA & DL KIRCHMAN. 2008. Diversity and distribution of ecotypes of the aerobic anoxygenic phototrophy gene *pufM* in the Delaware estuary. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(13): 4012-4021.
- YURKOV, VV & JT BEATTY. 1998. Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(3): 695–724.
- ZAR, JH. 1999. Biostatistical Analysis 4th ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. 664 p.

5. CAPÍTULO 3

CADEIA ALIMENTAR MICROBIANA NA "ZONA MORTA" DA LAGOA DA CONCEIÇÃO - UMA FONTE SIGNIFICATIVA DE CARBONO

RESUMO

Para examinar a transferência da produção bacteriana em região com baixo nível de oxigênio dissolvido (OD) na Lagoa da Conceição foram quantificadas a densidade e a biomassa de bactérias e protozoários na água de fundo da estação estratificada (#33) em quatro ocasiões entre janeiro e maio de 2007. Além disso, amostras da água superficial e de fundo desta mesma estação foram comparadas com outra localizada em região homogênea e oxigenada (#82) no verão e outono de 2007. Foi dada atenção especial a 4 grupos funcionais do bacterioplâncton (cianobactérias - CCY, filamentosas heterotróficas - HF, cocóides e bastonetes heterotróficas - CB e *cf.* sulfobactéria - SB), a 4 classes de tamanho de flagelados (<7,5, 7,5-25, 25-50 e >50 μm) e a 3 classes de ciliados (7,5-25, 25-50 e >50 μm). A estrutura da assembléia bacteriana da região estratificada sofreu alterações com a redução na concentração de OD, apresentando uma diminuição na contribuição de cianobactérias e um aumento na contribuição de células heterotróficas cocóides e bastonetes (CB) para a biomassa total de procariotas. A biomassa dos 3 grupos bacterianos (CCY, CB e HF) diminuiu em abril, quando a queda de oxigênio foi brusca, passando de condição hipóxica para subóxica, o que favoreceu as sulfobactérias. Esta alteração na composição do bacterioplâncton pode ter sido promovida pela seleção de populações de espécies adaptadas a baixo OD ou pela ação de predação do protozooplâncton sobre as populações bacterianas, pois foi observada

uma correlação positiva entre a biomassa de CCY, HF e a biomassa de flagelados entre 25-50 μm , e entre a densidade de bactérias CB e a biomassa de flagelados menores, 7,5-25 μm . As sulfobactérias (com o maior biovolume, 19,2 μm^3) mostraram-se correlacionadas com ciliados $> 50 \mu\text{m}$ que ocorreram na água de fundo somente sob $\text{OD} < 3\text{mg/L}$. A biomassa de bacterioplâncton ($0.32 \mu\text{g C mL}^{-1}$) e de protozooplâncton (flagelados, $0.26 \mu\text{g C mL}^{-1}$ e ciliados, $0.18 \mu\text{g C mL}^{-1}$) na água de fundo subóxica da #33 foi muito superior àquela da #82 que apresentou somente 0.065, 0.054 e $0.006 \mu\text{g C mL}^{-1}$ de biomassa de bactérias, flagelados e ciliados, respectivamente, o que demonstra a importância da produtividade bacteriana e como esta matéria formada pode ser transferida através de uma cadeia alimentar microbiana estabelecida em região hipóxica/subóxica, erroneamente considerada “zona morta”.

INTRODUÇÃO

Diaz e Rosenberg (2008) mostraram que a expansão de “zonas mortas”, isto é, zonas onde há a eliminação de peixes e crustáceos, devido à hipoxia (oxigênio dissolvido $< 3 \text{mg L}^{-1}$), tem aumentado exponencialmente em várias regiões do planeta desde 1960. Isto tem trazido sérias conseqüências para o funcionamento e exploração dos sistemas costeiros. Os autores apontam o oxigênio dissolvido (DO) como uma variável de grande importância ecológica que apresentou a mudança mais dramática em um período de tempo tão curto, sendo que condições de hipoxia e anoxia estão entre as influências antropogênicas deletérias mais difundidas em ambientes marinhos estuarinos, especialmente devido à eutrofização cultural. Além disso, estima-se que

metade das zonas mortas se formam sazonalmente, entre o verão e o outono, quando a estratificação da coluna d'água é mais forte devido ao aumento da temperatura da água superficial, sendo persistente por vários meses.

Desta forma, o efeito do aquecimento global que leva a um aumento na temperatura da água superficial do oceano, somado ao crescimento populacional e incremento de esgotos domésticos e industriais ao longo das costas em todo o mundo pode fazer com que as zonas mortas dobrem sua área até o final do século (Vaquer-Sunyer & Duarte 2008).

Entretanto, alguns microorganismos que habitam tais zonas como as bactérias são tolerantes a baixos níveis de oxigênio, podendo constituir a base da cadeia alimentar em “zonas mortas” (Fenchel *et al.* 1990; Gomes & Godinho 2003; Gobler *et al.* 2008). Sabe-se que os principais consumidores do bacterioplâncton são nanoflagelados e ciliados (Sherr *et al.* 1992; Hahn & Höfle 2001), pois o mesozooplâncton não consome eficientemente células pequenas como o picoplâncton (0.2 a 2 μm) (bactérias e cianobactérias cocóides). Além disso, algumas espécies de flagelados e ciliados têm a capacidade de proliferar ativamente na coluna d'água quando esta se torna anóxica (Fenchel & Finlay 1990; Fenchel 2002; Hayward *et al.* 2003). Assim, a bacterivoria exercida por protozoários (ciliados e flagelados heterotróficos e mixotróficos) pode ser o principal mecanismo de transferência da energia e carbono produzidos nas zonas mortas.

No Brasil, entre os sistemas costeiros que apresentam hipoxia e/ou anoxia estão: a Lagoa da Conceição, SC, Lagoa Rodrigo de Freitas, RJ, Lagoa de Imboassica, RJ, Baía Pina, PE e Baía de Guanabara, RJ (Diaz & Rosenberg 2008). A formação das zonas mortas na Lagoa da Conceição entre o final do verão e outono (Fonseca 2004; Fontes 2004) não se dá apenas em função do aumento da temperatura superficial no verão, mas também pela variação na intensidade luminosa, que influencia na produção primária (Fonseca 2004; Fontes & Abreu 2009). Entretanto, durante o outono a região estratificada central da Lagoa da Conceição apresenta elevados níveis de incorporação de carbono, sem haver produção de oxigênio, demonstrando a importância de microorganismos fototróficos anoxigênicos como principais produtores primários em condições de hipoxia/anoxia (ver capítulo 2). O objetivo do nosso estudo foi: i. determinar a existência de microorganismos que se beneficiem da alta produção primária na zona subóxica e ii. comparar a assembléia microbiana desta zona subóxica com a de um ambiente óxico.

MÉTODOS

As amostras de água foram coletadas a 0.5 m acima do sedimento (água de fundo) na estação 33 (localizada no setor CS estratificado) ao longo de 4 períodos: 29 de janeiro, no verão, quando o oxigênio de fundo é máximo (ver Fontes & Abreu 2009) e nos dias 10 de abril, 17 de abril e 7 de maio de 2007, durante o outono, quando o OD decresce a valores inferiores a 3 mg L⁻¹ (hipoxia, Bergondo *et al.* 2005; Crump *et al.* 2007). Além disso, foram coletadas amostras em superfície (0.5 m abaixo da superfície) e no fundo (0,5 m do sedimento) na estação 33 e 82 (estação homogênea e com

concentração de OD semelhante a da superfície), ambas tendo a mesma profundidade de 6 m, nos dias 29 de janeiro (verão) e 7 de maio (outono) de 2007 na Lagoa da Conceição (27°34'S e 48°27'W) (ver Fig. 1 do capítulo 2) para comparar a assembléia microbiana de uma região estratificada com outra homogênea. Salinidade, oxigênio dissolvido (O₂) e temperatura (T) foram medidos *in situ* com o uso de termosalinômetro YSI 33 SCT e oxímetro Metler Toledo MO128 calibrado pelo método de Winkler.

As amostras de água para análise dos nutrientes e pigmentos foram coletadas com garrafa de van Dorn de 3 L. Após a coleta, as amostras (500 mL) foram filtradas em filtros Whatman GF/F (47 mm de porosidade) em campo. Os filtrados (nutrientes) e os filtros (pigmentos – clorofila *a* e bacterioclorofila *a*) foram armazenados em gelo, levados ao laboratório e congelados -20 °C para posterior análise (no máximo 45 dias).

As concentrações de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID – amônio, nitrato + nitrito), fósforo inorgânico dissolvido (PID - fosfato), silicato foram determinadas de acordo com os seus respectivos métodos padrões, e.g. UNESCO (1983) para determinação de amônio e Grasshoff *et al.* (1999) para o restante dos nutrientes. A biomassa de microorganismos fotossintetizantes oxigênicos (fitoplâncton) e anoxigênicos (bactérias fotossintetizantes) foi estimada usando o pigmento fotossintético predominante: Chl *a* (oxigênicos) e BChl *a* (anoxigênicos). O material retido no filtro foi extraído com acetona a 90% por 24 horas a 4°C no escuro. A concentração dos pigmentos foi estimada a partir das medidas da absorvância em 665 e 750 nm para Chl *a*; e em 880 e 772 nm para Bchl *a*, usando um espectrofotômetro UV-Vis FEMTO 600 S, de acordo com Strickland & Parsons (1972) para Chl *a*, e Jones (1979) para BChl *a*.

Para a enumeração das bactérias, alíquotas de 1 mL de água foram filtradas imediatamente ainda a bordo ao abrigo da luz, em filtros de policarbonato *Nucleopore* de 0.2 µm escurecidos e corados com Laranja de Acridina (Hobbie *et al.* 1977). Para as cianobactérias, as membranas não foram coradas com o fluorocromo, pois este mascara a autofluorescência da ficoeritrina (PE) de cianobactérias (Maclsaac & Stockner 1993). Na Lagoa, as bactérias que contêm ficoeritrina são predominantemente cocóides com uma variação no tamanho entre 1 e 2 µm, e estas são consideradas, neste estudo, como sendo cianobactérias cocóides (CCY) (Fontes & Abreu 2009). Os filtros foram montados entre lâmina e lamínula e armazenados em -20 °C até contagem em microscópio. As células bacterianas foram separadas em 2 grupos: cianobactérias e bactérias heterotróficas totais. O número de cianobactérias foi subtraído da contagem das bactérias totais, determinando-se a abundância de bactérias heterotróficas e fotoheterotróficas. As bactérias foram divididas em 2 morfotipos (cocóides+bastonetes e filamentosas) de acordo com seu fator de alongação: cocóides+bastonetes < 3 > filamentosas. A contagem das bactérias foi realizada diretamente em microscópio de epifluorescência Zeiss Axioplan em aumento final de 1000x usando o conjunto de filtros azuis (487709 – BP 450-490, FT 510, LT 520) para bactérias totais e o conjunto de filtros verdes (487715 - BP 546/12 FT 580 LP 590) para as cianobactérias (Maclsaac & Stockner 1993) e equipado com uma câmera CCD Watec (sensibilidade de 0.0003 lux).

As imagens foram processadas pelo software “UTHSCSA Image Tool” (University of Texas Health Science Center, San Antonio – Texas/US) (Massana *et al.* 1997), <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>, a partir das imagens analisadas pelo

programa Capture X (X'treme 98 para Windows 98). As bordas das células foram detectadas usando uma seqüência de filtros: filtros de Laplacian, Gaussian e média (Massana *et al.* 1997). A enumeração das células foi realizada até atingir um coeficiente de variação $< 30\%$ e a medição em um mínimo de 200 células. O biovolume das bactérias, em μm^3 , foi calculado a partir do algoritmo de Massana *et al.* (1997) e a biomassa bacteriana (em fg C cell^{-1}) foi estimada a partir das medidas de biovolume pelo algoritmo: $B = 120 \times V^{0.7}$, onde: B = biomassa, V = biovolume e 120 = fator de conversão em carbono ($\text{fgC } \mu\text{m}^{-3}$) (Norland 1993). As bactérias filamentosas foram enumeradas diretamente das imagens brutas, sem receber a aplicação de filtros, evitando bordas falsas dos filamentos. Um mínimo de 30 filamentos foi medido, e os mesmos algoritmos foram usados para estimar seus biovolume e biomassa.

Para a análise do protozooplâncton (flagelados e ciliados), amostras foram preservadas em solução de formalina, concentração final de 4% (v/v) em frascos de vidro de cor âmbar, logo após a coleta. Alíquotas de 10 mL foram deixadas para sedimentar em câmaras de sedimentação por 24h e contadas em microscópio invertido ZEISS-Axiovert 135, este equipado com contraste de fase, seguindo metodologia de Utermöhl (1958). O protozooplâncton foi dividido segundo 4 classes de tamanho, $<7,5$; 7,5-25; 25-50 e $> 50 \mu\text{m}$. Estas classes foram agrupadas em: nanoprotozooplâncton ($< 25 \mu\text{m}$) e microzooplâncton ($> 25 \mu\text{m}$). Além da escala de tamanho, foi realizada a classificação em grupos de flagelados e ciliados. Pelo menos 4 faixas foram analisadas primeiramente sob a ampliação 100x a fim contar os protozoários dominantes $> 25 \mu\text{m}$. A abundância e o tamanho das células $< 25 \mu\text{m}$ foram estimadas sob o aumento de

400x, pelo menos 30 campos foram contados até atingir o coeficiente de variação < 30%.

Os biovolumes foram calculados de acordo com morfotipo das células por algoritmos propostos por Hillebrand *et al.* (1999) que consideram cada célula semelhante a uma forma geométrica. O biovolume celular de flagelados foi convertido em biomassa de carbono de flagelados através do algoritmo de $\text{pg C cell}^{-1} = 0,216 \times V^{0,939}$, onde V = biovolume (Menden-Deuer & Lessard 2000). Para ciliados, foi utilizado o fator de conversão de $0,14 \text{ pg C } \mu\text{m}^{-3}$ (Putt & Stoecker 1989) para quantificar o carbono celular de amostras fixadas em formalina.

Foram realizadas análise de variância (ANOVA de 1 via) para comparar a biomassa dos microorganismos nos diferentes tempos e foi utilizado o teste-t para a comparação entre a biomassa de água de superfície e fundo. As variáveis foram transformadas para atender aos pressupostos da ANOVA e da correlação (normalidade e homocedasticidade) quando necessário (Zar 1999). Em todos os casos, um nível *p* de 0.05 foi aplicado para identificar as diferenças estatísticas ou correlações significativas. A análise de correspondência canônica foi usada para determinar a extensão em que as variáveis ambientais explicaram os padrões de similaridade na composição da assembléia microbiana (biomassa de protozooplâncton e de bacterioplâncton). As assembléias microbianas (bacteriana e de protozoários) das 2 estações amostrais (33 e 82) foram comparadas ao longo de 4 tempos seguindo a variação na concentração de oxigênio na água de fundo. Para tanto, foi usado o teste de Monte Carlo com 999 permutações para testar a significância de cada eixo (CANOCO for Windows, versão 4, Center for Biometry, Wageningen, the Netherlands). Os vetores no gráfico indicam a

direção da variação máxima daquela variável ambiental e o comprimento do vetor é proporcional a sua taxa de variação.

RESULTADOS

Variação temporal da assembléia microbiana na água de fundo da estação 33

Fatores abióticos

A temperatura sofreu um decréscimo de 3,4 °C do verão para o outono e a salinidade manteve uma variação pequena, de 2 unidades. A quantidade de luz que chega ao fundo foi menor em janeiro e maio, 12 e 3,92 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Tabela 1) e maior nos dias 10 e 17 de abril de 2007 em função da maior quantidade de luz incidente, 1.124 e 789 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente. O amônio foi o nutriente que apresentou a maior variação no tempo, variando entre um mínimo de 3,24 μM e um máximo de 41,07 μM na segunda quinzena de abril, quando o oxigênio atingiu o mínimo valor de 0,26 mg L^{-1} . O nitrato e o fosfato estiveram baixos, com valores inferiores a 0,86 μM . A clorofila *a* (Chl *a*) apresentou a menor concentração no dia 10 de abril (4,13 $\mu\text{g L}^{-1}$) e a maior na última coleta em maio (11,46 $\mu\text{g L}^{-1}$).

Este padrão foi similar para a bacterioclorofila *a* (Bchl *a* = 1,43 $\mu\text{g L}^{-1}$ em 10 de abril e 10,41 $\mu\text{g L}^{-1}$ em 7 de maio), em condições distintas de oxigênio dissolvido na água de fundo. A produção primária total (PPT) teve uma relação inversa com o oxigênio dissolvido, aumentando significativamente com a diminuição do OD, e atingindo os valores mais altos (221 e 265 $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$) sob condição subóxica (< 0.5 mg L^{-1}) nos dias 17 de abril e 7 de maio. A produção primária líquida, produção oxigênica (PPO), apresentou uma diminuição significativa com o tempo, inversamente

ao observado para a PPT, chegando ao valor negativo médio de $-124 \text{ mg O m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ na água subóxica de maio (Tabela 1).

Tabela 1. Valores das variáveis: PAR_{10} , e PAR no fundo (PAR_b), em $\mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, temperatura (T), em $^{\circ}\text{C}$, salinidade (Sal), oxigênio dissolvido (OD), em mg L^{-1} , amônio (NH_4^+), nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$), fosfato (PO_4^{3-}), em μM , clorofila a (Chl *a*) e bacterioclorofila a (Bchl *a*), em $\mu\text{g L}^{-1}$, produção primária total (PPT), em $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$ (medida pelo método do ^{14}C), produção primária líquida (PPL), em $\text{mg O}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$, (medida pelo método do O_2) medidas na água de fundo da estação estratificada 33. Médias, desvio padrão, mínimo e máximo apresentados somente para OD, PPT e PPO.

Variáveis e Parâmetros	33 fun			
	29 jan 2007	10 abril 2007	17 abril 2007	7 maio 2007
PAR_{10}	214,67	1336,12	911,24	61,48
PAR_b	12,74	70,80	78,79	3,92
T	27,00	24,50	24,60	23,60
Sal	32,10	34,10	33,90	33,80
$\text{NH}_4^+ \mu\text{M}$	3,24	7,02	41,07	17,93
$\text{NO}_3^- \mu\text{M}$	0,48	0,86	0,24	0,63
$\text{PO}_4^{3-} \mu\text{M}$	0,73	0,63	0,24	0,53
Chl <i>a</i> $\mu\text{g/L}$	8,24	4,13	6,83	11,46
BChl <i>a</i> $\mu\text{g/L}$	5,32	1,43	6,27	10,41
OD mg L^{-1}	5,34±0,05 (5,31-5,40)	2,5±0,70 (2,00-3,00)	0,38±0,17 (0,26-0,50)	0,43±0,16 (0,30-0,55)
PPt $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$	9,76±0,34 (9,51-10,00)	64,19±36,50 (38,38-90,00)	265,45±75,64 (211,96-318,94)	220,80±6,82 (215,98-225,63)
PPO $\text{mgO}_2 \text{ m}^{-3} \text{ h}^{-1}$	56,03±37,62 (29,43-82,64)	48,75±7,07 (43,75-53,75)	35,98±27,67 (16,41-55,55)	-124,7±11,9 (-116,3- -133,1)

Procariotas

A densidade de cianobactérias (CCY) variou de $1,63 \times 10^5$ a $3,02 \times 10^6$ células mL^{-1} e a biomassa de 0,02 a $0,51 \mu\text{g C mL}^{-1}$. As maiores densidade e biomassa médias, $1,83 \pm 0,69 \times 10^6$ células mL^{-1} e $0,31 \pm 0,12 \mu\text{g C mL}^{-1}$, respectivamente, observadas em 29 de janeiro e a menor biomassa foi observada no dia 10 de abril ($0,075 \mu\text{g C mL}^{-1}$), coincidindo com a redução do OD (Tabela 1; Fig. 1A). Entretanto, em maio, quando a água estava praticamente anóxica, foi observado uma densidade elevada de CCY ($9,75$

$\pm 5,42 \times 10^5$ células mL^{-1}) equivalente a $0,16 \pm 0,09 \mu\text{g C mL}^{-1}$ (Fig. 1A) e um biovolume celular médio de $1,67 \mu\text{m}^3$.

A densidade e a biomassa de bactérias CB (cocus e bastonetes marcados com laranja de acridina, abrangendo bactérias heterotróficas e bactérias contendo Bchl *a*) variaram respectivamente entre $1,95 \times 10^5$ e $6,30 \times 10^6$ células mL^{-1} e $0,001$ e $0,20 \mu\text{g C mL}^{-1}$, com máximo e maior média na água subóxica de 7 de maio ($3,06 \pm 1,43 \times 10^6$ células mL^{-1} ; $0,09 \pm 0,04 \mu\text{g C mL}^{-1}$), quando contribuíram com 72 % da densidade total e 28,5% da biomassa total. A biomassa de CCY foi sempre maior do que a de CB (Fig. 1A-B) em função do seu maior biovolume. Entretanto, no dia 7 de maio, o volume celular médio de CB ($0,18 \mu\text{m}^3$) foi 9,3 vezes menor do que o de CCY ($1,67 \mu\text{m}^3$), enquanto a sua biomassa foi somente 1,8 vezes menor resultante da maior densidade de CB comparada à de CCY.

A densidade ($2,47 \times 10^4$ a $5,72 \times 10^5$ células mL^{-1}) e a biomassa ($0,005$ a $0,08 \mu\text{g C mL}^{-1}$) de bactérias filamentosas heterotróficas (HF) apresentaram médias semelhantes mais elevadas em janeiro e maio (Fig. 1C). A variação temporal de HF seguiu a tendência das cianobactérias.

A densidade de *cf.* sulfobactérias oscilou entre 0 (em 29 de janeiro) e $9,06 \times 10^4$ células mL^{-1} em 17 de abril, equivalente a $0,09 \mu\text{g C mL}^{-1}$. Este foi o grupo com maior variação temporal, aumentando inversamente em relação aos níveis de OD ($n = 20$, $r^2 = 0,76$) (Fig. 1D). A contribuição de sulfobactérias na abundância total bacteriana variou entre 0 e 5,8 %, enquanto que, devido ao seu grande biovolume celular ($19,2 \mu\text{m}^3$), a biomassa contribuiu com até 37,7 % da biomassa total bacteriana no dia 17 de abril.

As maiores médias de biomassa bacteriana (CCY, CB e HF) foram observadas no dia 29 de janeiro e 7 de maio, 0,39 e 0,32 $\mu\text{g C mL}^{-1}$, respectivamente (Fig.1).

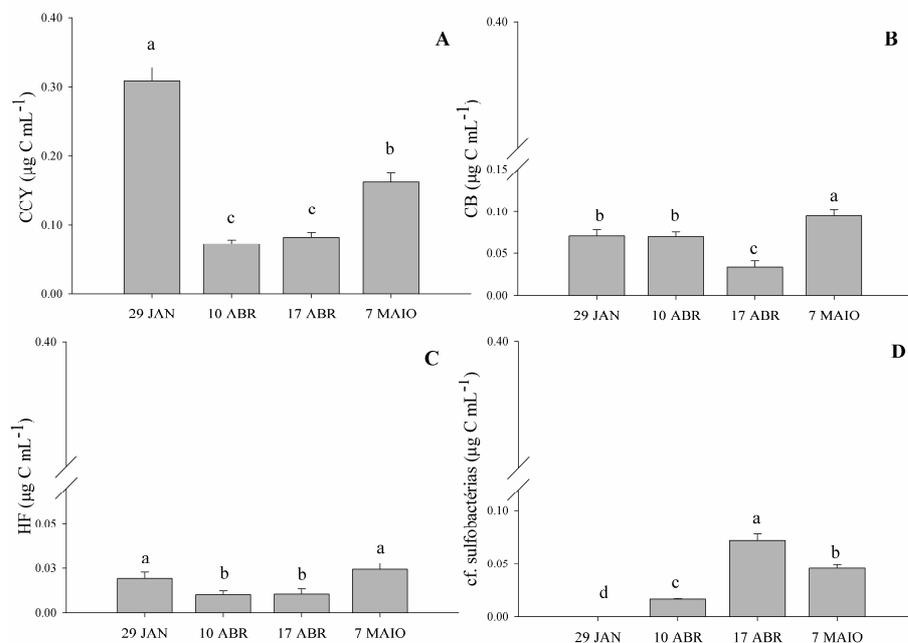


Figura 1. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de procaríotas: cianobactérias (CCY) (A), bactérias cocóides+bastonetes (CB) (B), bactérias filamentosas heterotróficas (HF) (C) e *cf.* sulfobactéria (D) da água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. $n = 50 - 70$ campos.

Flagelados

A densidade de flagelados $< 7,5 \mu\text{m}$ variou de 800 (em 10 de abril) a 10.834 células mL^{-1} (em 7 de maio), equivalente a 0,004 a 0,067 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. As densidades de janeiro e maio foram estatisticamente semelhantes, assim como das duas datas em abril (Fig. 2A).

Os flagelados entre 7,5-25 μm tiveram sua biomassa variando de 0 (10 de abril) a 2.708 células mL^{-1} (7 de maio), equivalente a 0,02 e 0,26 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. A densidade média destes organismos no dia 7 de maio ($1.616 \pm 417,71$ células mL^{-1} , $0,14 \pm 0,03 \mu\text{g C mL}^{-1}$).

C mL⁻¹) foi significativamente maior do que nas demais datas, ressaltando-se que os valores apresentaram grande variação temporal (Fig. 2B).

A densidade dos flagelados entre 25-50 μm variou entre 0 e 78 células mL⁻¹ (7 de maio), equivalente a biomassa máxima de 0,047 $\mu\text{g C mL}^{-1}$, com médias mais elevadas em 7 de maio ($64,32 \pm 18,3$ células mL⁻¹ e $0,039 \pm 0,008$ $\mu\text{g C mL}^{-1}$), em 29 de janeiro (Fig. 2C).

Já os flagelados > 50 μm apresentaram uma densidade oscilando entre 0 e 9 células mL⁻¹ (7 de maio), enquanto a biomassa máxima foi observada em 29 de janeiro (0,072 $\mu\text{g C mL}^{-1}$). A maior biomassa média foi registrada na água subóxica de 7 de maio, ($0,057 \pm 0,003$ $\mu\text{g C mL}^{-1}$) (Fig. 2D), correspondente à densidade de $8,27 \pm 0,63$ células mL⁻¹.

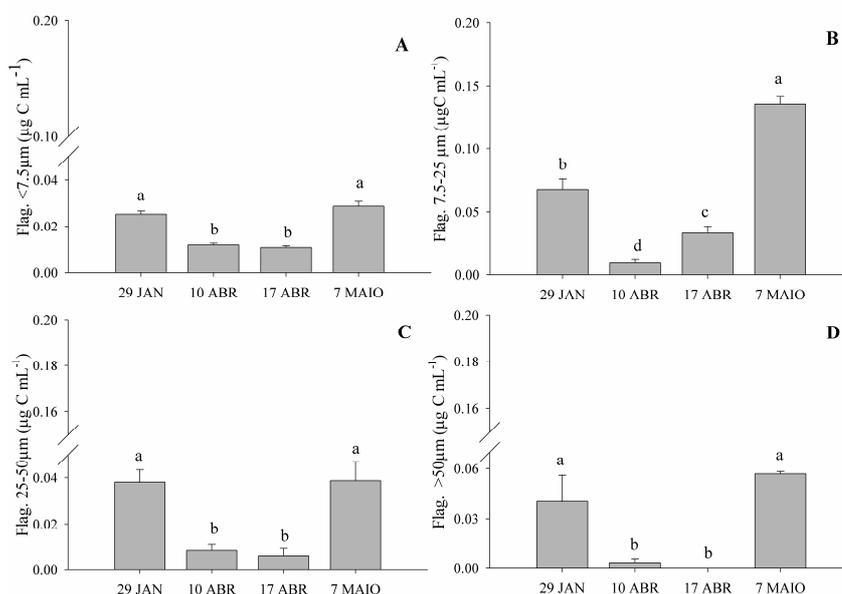


Figura 2. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de flagelados agrupados em classes de tamanho na água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. n = 30.

Ciliados

A densidade de ciliados entre 7,5 – 25 μm variou entre 0 (abril) e 270 células mL^{-1} (7 de maio), equivalente a uma biomassa máxima de 0,016 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. Mesmo não apresentando uma diferença significativa no tempo, a maior densidade média foi medida no dia 7 de maio ($63,20 \pm 116,52$ células mL^{-1}), determinando uma biomassa média de $0,013 \pm 0,027$ $\mu\text{g C mL}^{-1}$ (Fig. 3A).

Os ciliados entre 25-50 μm tiveram uma densidade oscilando entre 0 e 8 células mL^{-1} (29 de janeiro), equivalente a uma variação de 0 a 0,012 $\mu\text{g C mL}^{-1}$, não demonstrando diferença significativa entre os tempos (Fig. 3B).

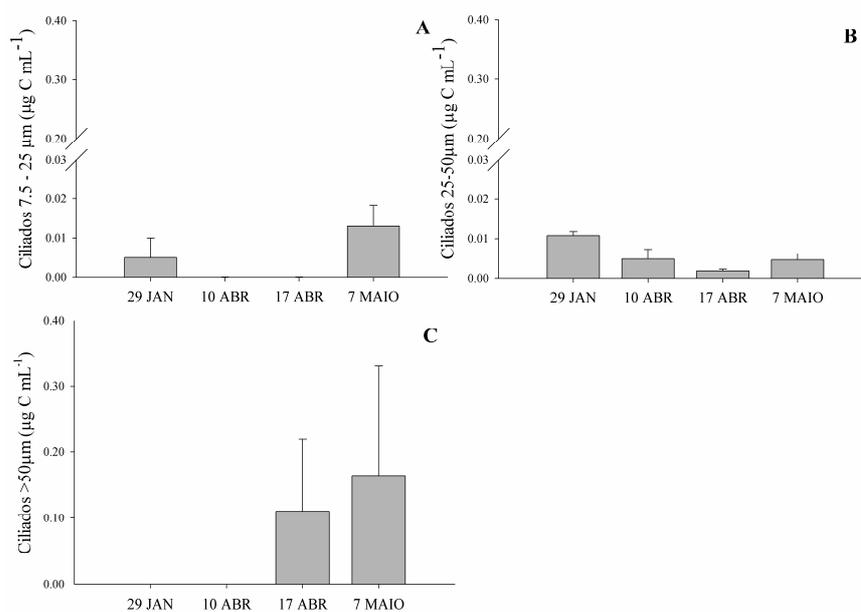


Figura 3. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de ciliados agrupados em classes de tamanho na água de fundo da estação 33. As letras representam os grupos homogêneos resultantes da ANOVA após teste *post-hoc* de Tukey. $n = 30$.

A densidade de ciliados > 50 μm variou entre 0 e 2 células mL^{-1} (7 de maio), o equivalente a 0,32 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. Também para este grupo, não foi constatada diferença

estatística significativa entre os tempos, entretanto estes ciliados somente apareceram na água de fundo em condição subóxica ($0,68 \pm 1,17$ células mL^{-1} e $0,11 \pm 0,19$ $\mu\text{g C mL}^{-1}$ em 17 de abril, $1,02 \pm 1,44$ células mL^{-1} e $0,16 \pm 0,23$ $\mu\text{g C mL}^{-1}$ em 7 de maio), chegando a contribuir com 89% da biomassa de ciliados em 7 de maio (Fig. 3C).

Comparação entre as estações 33 (estratificada e com anoxia no fundo) e 82 (homogênea e oxigenada)

Fatores abióticos

A quantidade de PAR que chega a 0,5 m da superfície da água variou de $52,45 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em maio (# 33) a $1.162 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ em janeiro (# 82), enquanto no fundo, a estação 33 apresentou os menores valores em ambos o períodos ($12,74$ e $3,92 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A temperatura oscilou 10°C , variando de $18,1^\circ\text{C}$ na estação 82 (fundo) em maio a $28,80^\circ\text{C}$ na estação 33 (superfície) em janeiro. A salinidade foi maior em maio nas duas estações e profundidades, com uma variação vertical observada somente na estação 33 (Δ 2,3-2,9) (Tabela 2). Dentre os nutrientes nitrogenados, o amônio foi o íon predominante na Lagoa com o máximo de $37,54 \mu\text{M}$ na estação 82 (fundo) em maio, ou seja, 10 vezes mais do que a média em janeiro. Os valores de nitrato e fosfato foram semelhantes nas 2 estações, mas com gradientes verticais inversos, isto é, nitrato diminuiu e fosfato aumentou no fundo em janeiro. O nitrato apresentou uma maior variação espacial e vertical em maio, chegando a $3,19 \mu\text{M}$ na superfície da estação 33. Com relação à variação na razão N:P, a concentração de nitrogênio inorgânico dissolvido (N) e de fósforo inorgânico dissolvido (P) na superfície aumentou nas 2 estações de janeiro para maio, enquanto que na profundidade, N aumentou e P

diminuiu. O oxigênio dissolvido esteve abaixo do limite de suboxia somente na água de fundo da estação 33 em maio. As variáveis biológicas, Chla e Bchl_a apresentaram as mesmas tendências, com os valores mais altos no fundo da estação 33 em ambos os períodos, e os máximos em maio. A produção primária total (PPT, fixação de CO₂) aumentou significativamente em maio, apresentando valores cerca de 10 vezes maiores na água de fundo subóxica da estação 33 comparada à estação 82 nesta data.

A produção primária líquida (PPL, produção de O₂) foi significativamente menor em maio, apresentando valores negativos na água de fundo subóxica da estação 33, sendo cerca de 100 vezes menor do que a taxa medida na água de fundo óxica da estação 82 em maio.

Procarionotas

A densidade de cianobactérias (CCY) variou de $1,63 \times 10^5$ (estação 82) a $3,02 \times 10^6$ células mL⁻¹ (estação 33), equivalente a 0,03 e 0,51 µg C mL⁻¹. A biomassa média foi semelhante na água superficial das 2 estações em ambos os períodos (janeiro e maio), $0,09 \pm 0,04$ µg C mL⁻¹. No fundo, a biomassa média de CCY foi significativamente maior na estação 33 em ambos os períodos, com a maior média em janeiro ($0,31 \pm 0,12$ µg C mL⁻¹) (Fig. 4A). As bactérias cocóides e bastonetes heterotróficas totais (CB) tiveram sua densidade variando de $0,84 \times 10^5$ (estação 82 - sup) a $6,30 \times 10^6$ células mL⁻¹ (estação 33 - fundo), equivalente a 0,001 e 0,21 µg C mL⁻¹. A sua biomassa média foi significativamente diferente somente em maio, com a maior média na água de fundo subóxica da estação 33 ($0,09 \pm 0,04$ µg C mL⁻¹) (Fig. 4B). A densidade de bactérias filamentosas heterotróficas (HF) variou de $0,67 \times 10^4$

Valores das variáveis: PAR, em $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, coeficiente de atenuação da luz (k), em m^{-1} , T, em $^{\circ}\text{C}$, salinidade (Sal), oxigênio dissolvido (O_2), nutrientes inorgânicos dissolvidos, em μM , amônio (NH_4^+), nitrato+nitrito ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$), fosfato (PO_4^{3-}), razão N:P, clorofila *a* (Chl *a*) e clorofila *b* (Bchl *a*), em $\mu\text{g L}^{-1}$, produção primária total (PPT), em $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$, medida pelo método do ^{14}C , produção primária líquida (PPL), em $\text{mg C m}^{-3} \text{h}^{-1}$, medida pelo método do O_2 avaliadas nas estações 33 e 82, a 0.5 m da superfície (sup) e a 0.5 m do fundo (fun), nos dias 29 de janeiro e 29 de maio de 2007. Médias, desvio padrão, mínimo e máximo apresentados somente para OD (n=3), PPT e PPL (n=2).

	Jan sup #33	Jan sup #82	Jan fun #33	Jan fun #82	Mai sup #33	Mai sup #82	Mai fun #33	Mai fun #82
PAR	181,81	1162,08	12,74	68,44	52,45	169,41	3,92	11,75
k	0,55	0,48	0,55	0,48	0,53	0,42	0,53	0,42
T	28,80	26,40	27,00	26,10	23,30	19,00	23,60	18,10
Sal	29,80	27,50	32,10	27,20	30,90	30,70	33,80	30,90
NH_4^+	2,51	1,71	3,24	4,30	0,62	34,79	17,93	37,54
NO_3^-	0,65	0,63	0,48	0,21	3,19	1,95	0,63	0,91
PO_4^{3-}	0,09	0,09	0,73	0,96	0,39	0,14	0,53	0,24
N:P	33,77	24,99	5,11	4,71	9,86	258,47	34,86	160,38
Chl <i>a</i>	5,02	1,41	8,24	2,03	2,34	2,80	11,46	2,28
BChl <i>a</i>	0,04	0,37	5,32	0,02	1,24	0,74	10,41	1,95
OD	6,96 ± 0,19 (6,83-7,1)	6,84±0,04 (6,81-6,88)	5,34±0,05 (5,31-5,40)	5,01±0,007 (5,10-5,12)	6,2±0,03 (6,2-6,25)	5,88±0,19 (5,76-6,02)	0,43±0,16 (0,31-0,55)	5,58±0,18 (5,45-5,70)
PPT	33,43±6,32 (28,9-37,9)	31,04±1,32 (30,1-31,9)	9,76±0,34 (9,5-10,0)	7,63±4,87 (4,2-11,1)	63,33±6,79 (58,5-68,1)	76,56±31,3 (54,4-98,7)	220,80±6,8 (216-225,6)	23,6±19,1 (10,5-37,1)
PPL	114,9±12,0 106,4-123,3	100±33,28 76,47-123,52	56,03±37,62 29,43-82,64	5,88±0,70 5,38-6,38	7,39±8,47 1,19-13,18	34,12±8,32 28,24-40,02	-124,7±11,9 -116,3-133,1	2,94±0,83 2,35-3,52

(estação 82) a $5,72 \times 10^5$ células mL^{-1} (estação 33), ou $0,001$ a $0,07 \mu\text{g C mL}^{-1}$. A biomassa média foi significativamente maior na água de fundo da estação 33 em ambos os períodos, com a maior média em maio ($0,023 \pm 0,015 \mu\text{g C mL}^{-1}$) (Fig. 4C). As *cf.* sulfobactérias apareceram somente na amostra de água de fundo subóxica da estação 33 em maio, chegando a $7,58 \times 10^4$ células mL^{-1} ou $0,07 \mu\text{g C mL}^{-1}$, com média de $0,045 \pm 0,014 \mu\text{g C mL}^{-1}$ ($4,83 \pm 1,64 \times 10^4$ células mL^{-1}) (Fig. 4D).

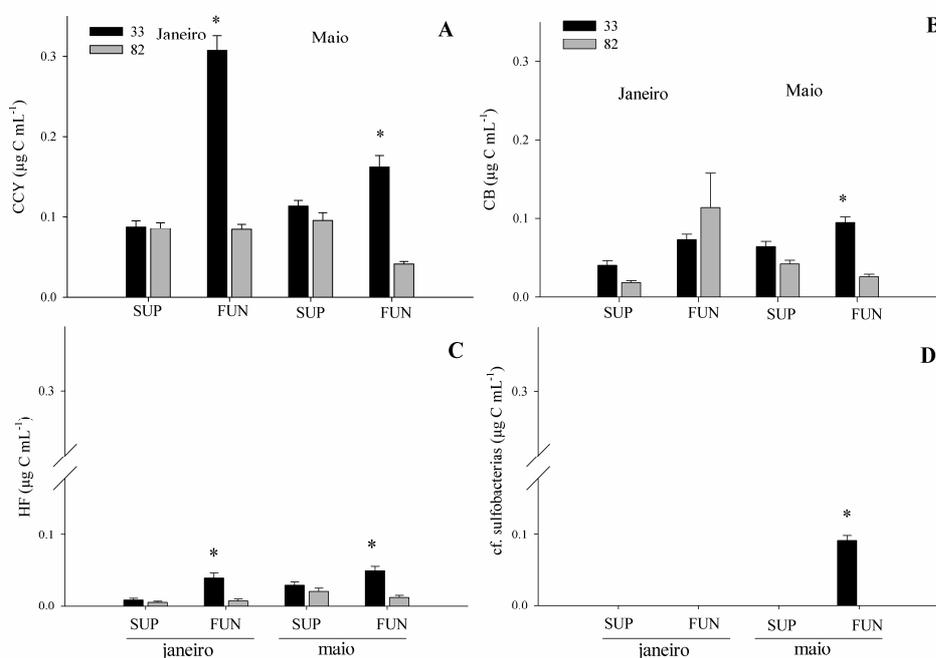


Figura 4. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa de procariotas na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Cianobactérias (CCY) (A), bactérias cocóides+bastonetes (CB) (B), filamentosas heterotróficas (HF) (C) e *cf.* sulfobactérias (D). Os asteriscos representam valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA.

Flagelados

A densidade de flagelados $< 7,5 \mu\text{m}$ variou de 1.625 (na superfície da estação 33) a 13.001 células mL^{-1} (na superfície da estação 33), equivalente a uma biomassa de $0,007$ e $0,067 \mu\text{g C mL}^{-1}$. A maior biomassa média na água superficial foi observada na

estação 82 em janeiro ($0,041 \pm 0,01 \mu\text{g C mL}^{-1}$). Na água de fundo, os valores foram semelhantes em janeiro, enquanto em maio, a biomassa média na estação 33 foi significativamente maior do que na estação 82 (Fig. 5A). Os flagelados entre 7,5 e 25 μm tiveram sua densidade oscilando entre 270 (na superfície da estação 33) e 2.708 células mL^{-1} (no fundo da estação 33), equivalente a 0,01 a $0,26 \mu\text{g C mL}^{-1}$. Esta classe de tamanho de flagelados foi a que contribuiu com a maior parte da biomassa total de flagelados na laguna, e.g. contribuindo com 52% da biomassa total na água subóxica da estação 33 em maio. A sua biomassa foi significativamente maior na água superficial da estação 33 em janeiro e na água de fundo desta estação nos dois períodos, com a maior biomassa na água subóxica da estação 33 em maio (7 x maior do que na #82) (Fig. 5B).

A densidade de flagelados entre 25 e 50 μm variou entre 0 e 290 células mL^{-1} (estação 33), equivalente a uma biomassa máxima de $0,047 \mu\text{g C mL}^{-1}$. A biomassa média na água superficial foi semelhante nas 2 estações em janeiro, enquanto a biomassa medida na água de fundo em janeiro e nas duas profundidades (superfície e fundo) da estação 33 foi significativamente maior em maio (ca. 8 vezes maior do que na #82) (Fig. 5C). Com relação à densidade de flagelados $> 50 \mu\text{m}$, estes apresentaram uma variação entre 0 e 13 células mL^{-1} (estação 33), equivalente a 0 e $0,114 \mu\text{g C mL}^{-1}$. A sua biomassa média foi significativamente maior nas duas profundidades da estação 33 em maio (6 x maior do que na #82) (Fig. 5D). Esta classe de tamanho apresentou a segunda maior contribuição para a biomassa total de flagelados na água subóxica da estação 33 em maio (22% da biomassa total).

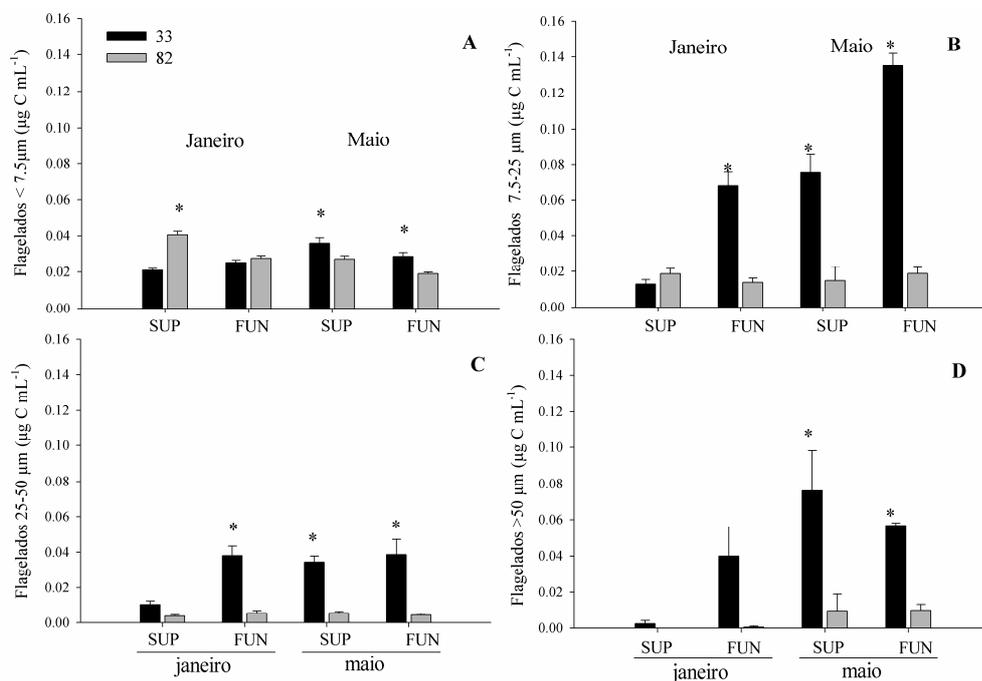


Figura 5. Variação (média \pm erro padrão) na biomassa das 4 classes de tamanho de flagelados na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Os asteriscos representam valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA.

Ciliados

A densidade de ciliados entre 7,5 e 25 μm variou entre 0 e 270 células mL^{-1} (água de fundo da estação 33), com biomassa oscilando entre 0 e 0,16 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. A biomassa na água superficial e na água de fundo foi semelhante nas 2 estações em ambos os períodos (Fig. 6A). Os ciliados entre 25 e 50 μm tiveram sua densidade oscilando entre 0 e 14 células mL^{-1} (estação 33), equivalente a uma biomassa de 0 e 0,021 $\mu\text{g C mL}^{-1}$. A biomassa na água superficial foi significativamente maior na estação 33 somente em maio ($0,013 \pm 0,009 \mu\text{g C mL}^{-1}$). Na água de fundo não foi verificada diferença significativa entre as estações (Fig. 6B). Já os ciliados $> 50 \mu\text{m}$ foram observados somente na #33, com valor mais elevado nas águas de fundo em maio, variando entre 0

e 4 células mL⁻¹ (estação 33), equivalente a uma biomassa máxima de 0,32 µg C mL⁻¹. A maior biomassa média medida na água subóxica em maio (0,16 ± 0,23 µg C mL⁻¹) (Fig. 6C) contribuiu com 88% da biomassa total de ciliados na água subóxica da estação 33 em maio.

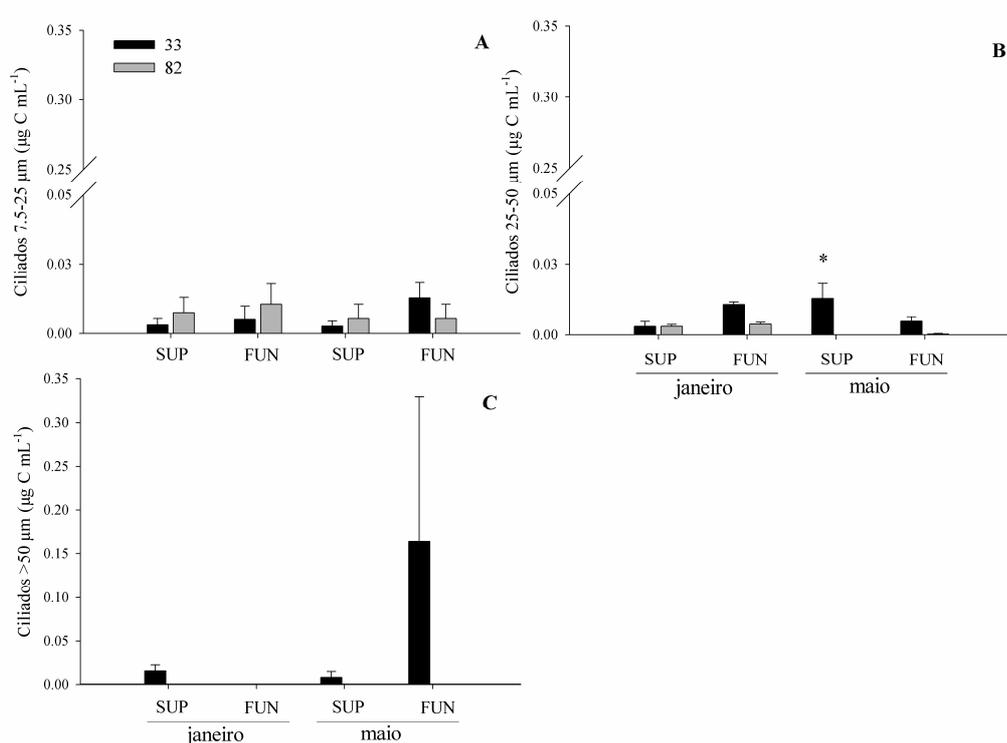


Figura 6. Variação (média ± erro padrão) na biomassa das 3 classes de tamanho de ciliados na água de superfície (SUP) e de fundo (FUN) nas estações 33 e 82 durante os períodos de coleta de janeiro e maio de 2007. Os asteriscos representam valores significativamente diferentes ($p < 0.05$) obtidos pelo teste *post-hoc* de Tukey depois da ANOVA.

A biomassa de bacterioplâncton (bactérias totais) se correlacionou positivamente com a biomassa de flagelados totais, especialmente entre 25-50 µm, mas também entre 7,5-25 µm e com a transparência da coluna d'água (Tabela 3). Os flagelados entre 25-50 µm estiveram correlacionados com cianobactérias e bactérias filamentosas (Tabela 3). Já a biomassa total de ciliados totais esteve somente correlacionada positivamente

Matriz de correlação entre a biomassa ($\mu\text{g C mL}^{-1}$) de bactérias (filamentosas heterotróficas, HF; cianobactérias, CCY; cocos e bastonhos totais, CB; sulfobactérias, sulfo), flagelados (<7,5; 7,5-25; 25-50; >50 μm) e ciliados (7,5-25; 25-50; >50 μm); oxigênio dissolvido (OD); silicato (SiO_4 , μM), produção primária total (PPT, $\text{mg C m}^{-3} \text{ h}^{-1}$), bacterioclorofila *a* e clorofila *a* (BChl *a*, Chl *a*, $\mu\text{g L}^{-1}$) e transparência (m^{-1}) na Lagoa da Conceição. Valores em negrito correspondem a $p < 0.05$; $n=12$.

act tot	Flag tot	Cil tot	HF	CCY	CB	Sulfo	FI < 7,5	FI 7,5-25	FI 25-50	FI > 50	Cil 7,5-25	Cil 25-50	Cil > 50	OD	SiO ₄	PPT	BChla	Chla
1,00																		
0,66	1,00																	
0,37	0,52	1,00																
0,74	0,68	0,37	1,00															
0,88	0,54	0,09	0,47	1,00														
0,56	0,41	0,19	0,67	0,20	1,00													
0,23	0,14	0,82	0,23	-0,04	-0,03	1,00												
0,29	0,36	-0,19	0,45	0,29	0,39	-0,42	1,00											
0,60	0,93	0,75	0,58	0,44	0,35	0,36	0,12	1,00										
0,81	0,93	0,38	0,77	0,70	0,48	0,10	0,33	0,81	1,00									
0,50	0,94	0,34	0,55	0,45	0,26	0,04	0,27	0,82	0,89	1,00								
0,26	0,34	0,36	-0,03	0,30	0,09	0,02	0,18	0,39	0,21	0,24	1,00							
0,20	0,42	-0,03	0,22	0,14	0,40	-0,26	0,17	0,39	0,37	0,40	-0,36	1,00						
0,34	0,46	0,99	0,35	0,05	0,15	0,86	-0,23	0,69	0,33	0,29	0,32	-0,11	1,00					
0,35	-0,28	-0,88	-0,31	-0,04	-0,16	-0,94	0,43	-0,52	-0,22	-0,16	-0,19	0,15	-0,89	1,00				
0,29	0,39	0,83	0,50	-0,07	0,21	0,88	-0,29	0,54	0,34	0,31	-0,02	-0,11	0,86	-0,88	1,00			
0,17	0,26	0,86	0,35	-0,16	0,10	0,90	-0,24	0,48	0,13	0,12	-0,07	0,00	0,88	-0,85	0,89	1,00		
0,53	0,56	0,83	0,50	0,35	0,10	0,72	-0,25	0,73	0,52	0,42	0,34	-0,13	0,83	-0,82	0,73	0,63	1,00	
0,13	0,25	0,48	0,13	-0,03	0,25	0,23	-0,29	0,49	0,13	0,08	-0,14	0,63	0,44	-0,37	0,27	0,48	0,33	1,00
0,60	-0,36	-0,09	-0,52	-0,38	-0,59	-0,04	-0,21	-0,25	-0,56	-0,29	0,25	-0,39	-0,07	0,03	-0,22	-0,08	-0,04	-0,11

com a biomassa de *cf.* sulfobactérias, sendo os ciliados > 50 μm os principais responsáveis por esta correlação. As *cf.* sulfobactérias estiveram correlacionadas positivamente com a concentração de Bchl *a*, silicato, PPT e negativamente com OD. O mesmo foi observado para os ciliados > 50 μm (Tabela 3).

A análise de correspondência canônica mostrou que as variáveis PPT, Chl *a*, Bchl*a* salinidade e amônio estiveram relacionadas com as amostras de água subóxica (33f M e 33fAb2) (Fig. 7). A biomassa de ciliados > 50 μm e de sulfobactérias esteve também agrupada juntamente com estas variáveis ambientais na parte à direita da figura. O oxigênio foi a variável com maior força no eixo 1, agrupando as amostras coletadas em águas oxigenadas e o restante da biomassa de protozoários e de bactérias.

O nitrato esteve relacionado com a água superficial da estação 33 em maio que apresentou a maior concentração da Lagoa, juntamente de ciliados da classe 2 e flagelados da classe 4. A quantidade de PAR e temperatura estiveram agrupadas juntamente com flagelados e ciliados da classe 1 e cianobactérias e CB.

DISCUSSÃO

A elevada produção primária (220 mg C m⁻³ h⁻¹) na água subóxica no fundo da estação 33 em 7 de maio de 2007, assim como o desacoplamento entre a fixação de CO₂ (método ¹⁴C) e a produção de O₂ demonstraram a importância dos microorganismos fotoautotróficos anoxigênicos na produção primária da Lagoa da Conceição (Capítulo 2). Além disso, foi estimado que bactérias anoxigênicas fotoautotróficas (AnAnP) podem contribuir com até 47% da energia produzida pela fotossíntese nestas águas subóxicas, indicando a provável existência de uma cadeia alimentar especializada que

se beneficie do material orgânico produzido em condições de baixo oxigênio dissolvido e o transfira podendo ser transferido para níveis tróficos superiores (ver Capítulo 2).

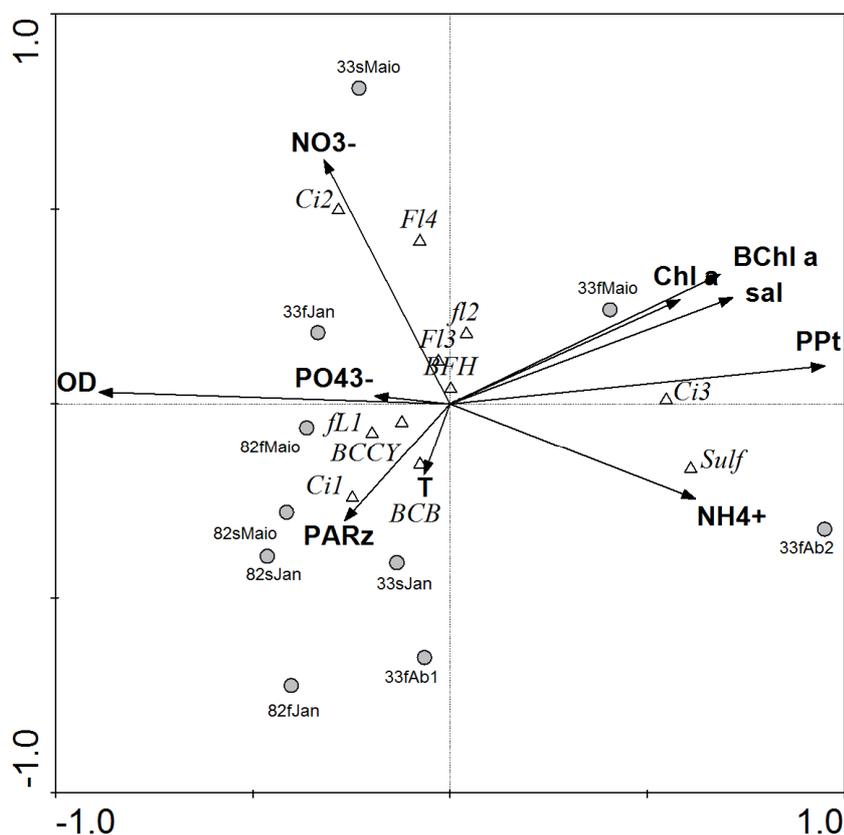


Figura 7. Análise de correspondência canônica (CCA) entre variáveis ambientais e biomassa de bactérias, flagelados e ciliados nas estações 33 e 82, superfície x fundo, em 29 de janeiro (Jan), 10 de abril (Ab1), 17 de abril (Ab2) e 7 de maio (Maio) de 2007. BCCY = biomassa de cianobactérias, BCB = biomassa de bactérias heterotróficas totais, BHF = biomassa de bactérias filamentosas, Sulfo = biomassa de sulfobactéria cf.; Ci = ciliado (1= 7,5-25 μm ; 2= 25-50 μm ; 3 = >50 μm), Fl = flagelado (1= <7,5 μm ; 2= 7,5-25 μm ; 3= 25-50 μm ; 4 = > 50 μm). As amostras são representadas por círculos preenchidos, as variáveis ambientais por vetores e a biomassa de bactérias e protozoários por triângulos.

Neste trabalho procurou-se estudar a sucessão microbiana (bactérias e protozoários) na água de fundo na região central da Lagoa da Conceição durante a transição de uma condição com elevados teores de oxigênio dissolvido (normoxia - concentrações de oxigênio dissolvido > 3 mg L⁻¹) para uma condição de hipoxia (< 3

mg L⁻¹), avaliando a composição, abundância e biomassa dos diferentes grupos de microorganismos neste ambiente. A comparação da assembléia microbiana na região estratificada com água de fundo subóxica com aquela de uma região homogênea e oxigenada da laguna mostrou uma alteração na composição da assembléia microbiana (bactérias e protozoários) em função do oxigênio dissolvido, com predomínio de CCY sob condições óxicas (52% da abundância do bacterioplâncton) e subsequente queda em sua abundância, contribuindo com 24% da abundância total de procariotas em maio, quando a água de fundo esteve subóxica.

A biomassa de flagelados heterotróficos (HF) seguiu a biomassa e abundância de cianobactérias na Lagoa, como sugerido em estudo com maior resolução espacial (Fontes & Abreu 2009). Opostamente, a densidade de bactérias heterotróficas cocóides e bastonetes (CB) foi significativamente maior (72% dos procariotas) na água subóxica de maio, sugerindo uma predominância de metabolismo heterotrófico; entretanto, a biomassa de CB foi 1.8 vezes menor do que a de CCY. No trabalho sobre a variação espaço-temporal do bacterioplâncton, Fontes & Abreu (2009) reportaram que CCY geralmente apresentam um biovolume significativamente maior do que o das bactérias heterotróficas de semelhante morfotipo, justificando a menor biomassa de CB. Já as *cf.* sulfobactérias ocorreram somente em condições hipóxicas (concentrações de OD < 3 mg L⁻¹). A densidade de Sulfobactéria *cf.* foi pequena comparada à abundância total de procariotas mas, devido ao seu grande biovolume (média celular de 19,2 μm³), este grupo chegou a contribuir com até 37.7% da biomassa de procariotas no dia 17 de abril, semelhante ao observado no lago Monte Alegre, SP, onde sulfobactérias ovóides

Thiopedia rosea compuseram 61% da biomassa bacteriana total na água de fundo anóxica (Gomes & Godinho 2003).

Como esperado, verifica-se que a biomassa dos diferentes grupos bacterianos varia em função das concentrações de OD, apresentando uma diminuição na biomassa bacteriana total em 29 de janeiro (condições óxicas) para 10 de abril (hipoxia) e um aumento de 17 de abril (suboxia recente) para 7 de maio (suboxia prolongada). No estuário de Chesapeake Bay, sabe-se que a composição das comunidades bacterianas é influenciada pela temperatura, Chl *a*, oxigênio dissolvido, nutrientes, sulfetos e viroses (Crump *et al.* 2004; Kan *et al.* 2006; Crump *et al.* 2007). Crump *et al.* (2007) mostraram que 50% de espécies bacterianas presentes na água anóxica foram também encontradas na água com maiores níveis de oxigênio, sugerindo que as populações bacterianas continuam a crescer após o esgotamento de oxigênio (Crump *et al.* 2007). Os autores descrevem ainda que a comunidade bacteriana de água anóxica se diferencia daquela em superfície ao longo do tempo, dependendo dos compostos presentes na água; algumas bactérias na ausência de O₂ utilizam compostos oxidados (NO³⁻) como fonte alternativa de aceptor final de elétrons. Após o esgotamento do nitrato, bactérias especializadas na utilização de compostos derivados de enxofre começariam a predominar, diferenciando ainda mais a comunidade bacteriana destes ambientes com baixos teores de oxigênio das comunidades encontradas em condições óxicas. As bactérias heterotróficas redutoras de SO₄⁻², íon abundante na água salgada, produzem H₂S que funciona como agente redutor na fotossíntese anoxigênica realizada por sulfobactérias.

Na Lagoa da Conceição, parte da elevada produção anoxigênica nas águas subóxicas em maio foi canalizada na trama trófica através do consumo de bactérias por flagelados de 7,5-25 e 25-50 μm e destes por ciliados $>50 \mu\text{m}$, como observado nas figuras 2-4 e na correlação de Pearson (Tabela 3). Entretanto, apesar da relação trófica observada entre flagelados e ciliados, é possível também que ambos os grupos de protozoários tenham predado as bactérias que cresceram em condições hipóxicas/subóxicas. A associação entre partículas em suspensão e a produção das bactérias anoxigênicas, sugerida no capítulo 2, demonstra um importante mecanismo na transferência de carbono para os níveis tróficos superiores, o que foi corroborado pela correlação negativa entre transparência da coluna d'água e biomassa bacteriana, principalmente CB (heterotróficas e fotoheterotróficas).

As maiores biomassas de flagelados e ciliados foram encontradas na água subóxica de maio e na água oxigenada de janeiro, seguindo a mesma tendência da biomassa das bactérias. Os grupos de flagelados que contribuíram com a maior biomassa foram os de tamanho entre 7,5-25 μm , representando até 57% da biomassa total de flagelados na água subóxica em maio. A figura 7 mostra que o oxigênio atuou na regulação da estrutura da assembléia microbiana, sendo que os ciliados $> 50 \mu\text{m}$ e as *cf.* sulfobactérias se relacionaram negativamente com o oxigênio, enquanto que o restante dos microorganismos apresenta uma relação positiva com este gás. O aumento gradativo na biomassa de flagelados de 7,5-25 μm e ciliados $> 50 \mu\text{m}$ sob condições de suboxia de 17 de abril para 7 de maio, indica que deva existir um intervalo entre o efeito da produção primária sobre a produção secundária de protistas, pois mesmo tendo uma elevada produção primária na água de fundo subóxica de 17 de abril, a biomassa

destes protozoários foi pequena, aumentando significativamente em maio, quando a produção primária ainda estava elevada. A correlação entre a biomassa e a abundância de flagelados entre 25-50 μm com a biomassa e a abundância de cianobactérias indica a importância destas como recurso alimentar para estes flagelados. Entretanto, as bactérias filamentosas também estiveram correlacionadas com os mesmos, sugerindo a possibilidade de predação de bactérias filamentosas por nanoflagelados heterotróficos, como reportado por Wu *et al.* (2004). Esses autores comentam que a probabilidade de contato entre predador e presa seria o fator regulador da predação das filamentosas, e não o tamanho das mesmas. Em artigo de revisão, Hahn & Höfle (2001) reportam que bactérias filamentosas pequenas na faixa de tamanho entre 4 e 10 μm podem ser sensíveis à ação de predação de flagelados e ciliados $> 20 \mu\text{m}$. Por outro lado, a forte correlação entre HF e CCY ($r = 0.90$, $p < 0.05$) indica que possa estar havendo uma covariação das bactérias filamentosas com as cianobactérias.

A correlação entre a biomassa de flagelados entre 7,5-25 μm e a abundância de bactérias CB indica a existência de uma preferência deste grupo por células bacterianas menores, principalmente em maio, quando a biomassa de flagelados desta classe de tamanho representou 57% da biomassa total de flagelados. A relação direta entre ciliados $> 50 \mu\text{m}$ e sulfobactérias também demonstra a preferência deste grupo de ciliados por células com o maior biovolume dentre as bactérias.

Portanto, ciliados $> 50 \mu\text{m}$ podem estar predando as sulfobactérias e os flagelados entre 7,5-25 μm nas águas subóxicas da Lagoa. Ciliados são abundantes na água anóxica de ambientes costeiros estratificados, muitos destes sendo estritamente anaeróbicos e presentes em grande densidade nas zonas com alta concentração de

sulfobactérias, como reportado por Bark & Watts (1984) e Gomes & Godinho (2003), que observaram uma relação de predação entre ciliados *Spirostumum teres* (> 50 µm) e *Thiopedia rosea* (sulfobactéria).

Odebrecht (1988) descreveu a variação mensal e horizontal da densidade de fitoplâncton, protozooplâncton e metazooplâncton ao longo de 1 ano (julho de 1983 a junho de 1984) em águas superficiais da Lagoa da Conceição. Em comunicação pessoal, Odebrecht reportou que a água de fundo do setor central apresentou uma densidade de ciliados cerca de 200 vezes maior do que na superfície entre janeiro e junho de 1984 (cerca de 1 a 3 organismos mL⁻¹ na superfície e 100 a 400 organismos mL⁻¹ no fundo) e os mais abundantes foram aqueles com comprimento de 20 µm, do tipo *Holotrichia*. Entre os dinoflagelados heterotróficos, *Oxyrrhis* estiveram sempre em grande número na água anóxica, chegando a 800 organismos mL⁻¹ em janeiro de 1984 e até 4 000 células mL⁻¹ em junho de 1984. Naquele período houve a predominância de dinoflagelados heterotróficos sobre ciliados na Lagoa da Conceição e a abundância de flagelados foi muito maior no presente estudo, mas semelhante ao encontrado pela autora na água de fundo anóxica (dados não publicados) em 1983-84. Já a abundância de ciliados foi semelhante, com predominância também de ciliados pequenos entre 7,5-25 µm, mas com maior contribuição de ciliados > 50 µm para a biomassa de ciliados em águas subóxicas.

Após a abertura permanente do canal de acesso a lagoa em julho de 1982, Knoppers *et al.* (1984) analisaram a variação espacial da matéria orgânica particulada, apresentando valores de biomassa de protozooplâncton variando de $0,2 \times 10^{-3} \mu\text{g C mL}^{-1}$ na área central a $7,4 \times 10^{-3} \mu\text{g C mL}^{-1}$ na área Norte, muito menores do que a biomassa

de flagelados e ciliados observada neste estudo. A principal alteração físico-química na Lagoa desde 1982 foi na salinidade, que em 1982 foi de 13,5 na água superficial do setor Central e de 18,5 em 1983-84, cerca de 12-15 unidades inferior a atual salinidade da região. Entretanto, mesmo com menor salinidade, todas as estações amostradas no setor Central apresentaram uma coluna d'água estratificada (Knoppers *et al.* 1984; Odebrecht & Caruso 1987).

No ambiente marinho, nanoflagelados heterotróficos (2-20 μm) são, geralmente, conhecidos por serem os principais bacterívoros, enquanto que em águas hipóxicas e anóxicas, ambos ciliados e flagelados se beneficiam do material orgânico produzido pelo bacterioplâncton (Fenchel & Finlay 1990; Fenchel *et al.* 1990; Massana & Pedrós-Alió 1994; Gobler *et al.* 2008). Sabe-se que muitos protozoários são tolerantes a concentrações de oxigênio $< 0,72 \text{ mg L}^{-1}$ ou suboxia e anoxia, e também que, nestas condições, a abundância de flagelados pode ser igual (Gobler *et al.* 2008) ou maior (Gomes & Godinho 2003) à observada na água de superfície óxica. Além disso, algumas espécies de ciliados $>20 \mu\text{m}$ (microzooplâncton) persistem sob condições hipóxicas em ambientes marinhos (Setala 1991; Detmer *et al.* 1993). Gomes & Godinho (2003) encontraram uma alta correlação entre a abundância e biomassa de protozoários com bacterioplâncton, demonstrando uma relação próxima entre estes microorganismos. A presença de substrato químico como sulfato e a disponibilidade de luz sustenta a elevada biomassa de bactérias anoxigênicas fototróficas que contêm Bchl *a* (e.g. sulfobactérias) e que, conseqüentemente, sustentam uma biomassa de ciliados em águas anóxicas (Guhl & Finlay 1993). Alguns ciliados têm mostrado geotaxia (no sentido de que sentem a direção da gravidade) como forma de orientação em gradientes

de oxigênio, sendo capazes de migrar verticalmente na coluna d'água procurando permanecer sob uma tensão de O₂ ideal para cada espécie. Além da geotaxia, o controle na velocidade de movimentação tem sido demonstrado como uma forma de permanência em regiões favoráveis em gradientes horizontais (Fenchel & Finlay 2008). Como a migração vertical é comum entre ciliados, visto que a velocidade de movimentação é maior do que a de sedimentação, ciliados microaeróbicos tendem se mover para cima quando a água de fundo se torna anóxica, transportando a matéria orgânica de ambientes anóxicos para a interface óxico/anóxico, onde existem pequenas concentrações de oxigênio e sulfeto (Dolan & Coats 1991; Hayward *et al.* 2003; Finlay & Esteban 2009).

Neste trabalho foi possível mostrar uma maior biomassa e abundância de ciliados > 50 µm na água de fundo subóxica, se comparado às águas de superfície da mesma estação.

Ao comparar a abundância e biomassa do bacterioplâncton total e de protozoários entre a água de fundo da estação estratificada #33 e da misturada #82, pôde-se notar que geralmente os 4 grupos de bactérias foram maiores nas águas subóxicas. Já para a água superficial, todos os 4 grupos bacterianos apresentaram abundância e biomassa semelhantes em ambas as estações. A biomassa de cianobactérias apresentou a maior variação vertical entre as bactérias na coluna d'água da estação #33 que mesmo estando verticalmente estratificada no verão, o oxigênio da água de fundo foi alto (> 6 mg L⁻¹). Em contraste, as *cf.* sulfobactérias, células sensíveis a elevadas concentrações de OD, só apareceram na água de fundo da estação 33 em maio, quando esteve com concentração de OD < 3 mg L⁻¹.

No geral, os flagelados apresentaram uma densidade e biomassa semelhante ou maior na estação #33 comparado à estação #82. Entretanto, os flagelados $< 7,5 \mu\text{m}$ apresentaram uma biomassa significativamente maior na água superficial da estação #82 em janeiro. Odebrecht (1988) encontrou também um aumento de outros flagelados, de tamanho entre $1,5$ e $8 \mu\text{m}$, no setor central em janeiro de 1984.

Os ciliados de classe de tamanho entre $25-50 \mu\text{m}$ estiveram ausentes das águas da estação #82 em maio e aqueles $> 50 \mu\text{m}$ estiveram ausentes nesta estação durante todo o período amostral. Em geral, a maior biomassa de protozoários na estação #33 em maio, pode ter ocorrido em função de entrada de frentes mais freqüentes nesta época do ano (Cruz 1998). Com a intrusão de água salgada existe o transporte de microorganismos para dentro da laguna (Odebrecht 1988), os quais são acumulados na camada mais profunda devido à estabilidade da coluna d'água no setor CS, favorecendo a cadeia alimentar microbiana com conseqüente consumo de OD até desenvolvimento de suboxia. Assim, a estagnação da coluna d'água parece estar sendo responsável pelo acúmulo primeiramente de bactérias e posteriormente de flagelados e ciliados. A presença de ciliados $> 50 \mu\text{m}$ somente na estação #33 (superfície e fundo) sugere que as espécies são tolerantes à baixa concentração de oxigênio e capazes de migrar verticalmente na coluna d'água (Fenchel & Finlay 2008; Finlay & Esteban 2009).

A elevada biomassa bacteriana na água de fundo subóxica da estação #33, 5 vezes maior do que a da água de fundo óxica da estação #82 no mesmo período, assim como a biomassa de flagelados, 4,8 vezes maior na água subóxica da estação #33 do que na #82 e a biomassa de ciliados entre $25-50$ e $> 50 \mu\text{m}$, cerca de 33 vezes maior do que na estação #82, mostram a importância deste ambiente como reserva de carbono. A maior

biomassa e abundância de bactérias e ciliados em águas anóxicas quando comparadas às águas superficiais têm sido reportado em outros sistemas aquáticos estratificados (Gomes & Godinho 2003; Hayward *et al.* 2003). Outro fator importante que pode estimular a bacterivoria nas águas com baixo OD é a ação sinérgica entre predação e infecção viral, liberando mais matéria orgânica dissolvida (MOD) ou carbono orgânico dissolvido (COD) que conseqüentemente estimula a atividade bacteriana e o consumo de oxigênio (Weinbauer *et al.* 2007; Gobler *et al.* 2008). Além disso, o desenvolvimento de águas subóxicas e o acúmulo de maior biomassa microbiana no fundo do setor CS podem estar sendo favorecidos pelos processos de sedimentação de matéria orgânica de origem alóctone e autóctone, visto que este setor da Lagoa tem sido reportado como acumulador de matéria orgânica no sistema (Odebrecht & Caruso 1987; Fonseca 2004).

Os dados levantados neste trabalho comprovam a existência de uma cadeia alimentar especializada na água de fundo subóxica que está consumindo o material produzido pelos produtores primários anoxigênicos, sendo composta especialmente por flagelados entre 7,5-25 μm e ciliados $> 50 \mu\text{m}$. Ciliados são capazes de migração vertical e tendem a se acumular na interface de águas óxicas/anóxicas (oxiclina) (Fenchel *et al.* 1990; Dolan & Coats 1991; Hayward *et al.* 2003), formando uma fina camada rica em microorganismos disponível para metazoários capazes de alimentar na profundidade da oxiclina, geralmente entre 3-4 m de profundidade (Odebrecht & Caruso 1987; Sierra de Ledo & Soriano-Sierra 1994; Fontes & Abreu 2009). Ciliados podem servir como um importante elo de ligação entre a cadeia alimentar microbiana e a clássica (Sheldon *et al.* 1986 ; Sherr & Sherr 1988).

Evidências da transferência trófica do material produzido fotossinteticamente para os protozoários nas águas anóxicas do setor CS da Lagoa também foram fornecidas por Odebrecht (1988) que reportou uma acentuada variabilidade na abundância de protozoários no setor Central e uma grande densidade de pequenos peixes próximos a base da oxiclina, observado através mergulho (Odebrecht & Caruso 1987). Portanto, as “zonas mortas” ou hipóxicas (Diaz & Rosenberg 2008) apresentam uma grande quantidade de biomassa microbiana que pode ser transferida para os metazoários através dos ciliados, mostrando que estas regiões não podem ser consideradas “zonas mortas”. Trabalhos futuros necessitam ser feitos na laguna a fim de se confirmar a existência deste mecanismo de transporte vertical de matéria orgânica entre as águas anóxicas e óxicas.

REFERÊNCIAS

- BARK, AW & JM WATTS. 1984. A comparison of the growth characteristics and spatial distribution of hypolimnetic ciliates in a small lake and an artificial lake ecosystem. *Journal of General Microbiology* 130: 3113–3122.
- BERGONDO, DL, DR KESTER, HE STOFFEL & WL WOODS. 2005. Time-series observations during the low sub-surface oxygen events in Narragansett Bay during summer 2001. *Marine Chemistry*, 97(1-2): 90-103.
- CRUMP, BC, CS HOPKINSON, ML SOGIN & JE HOBBIIE. 2004. Microbial Biogeography along an Estuarine Salinity Gradient: Combined Influences of Bacterial Growth and Residence Time. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(3): 1494-1505.
- CRUMP, BC, C PERANTEAU, B BECKINGHAM & JC CORNWELL. 2007. Respiratory succession and community succession of bacterioplankton in seasonally anoxic estuarine waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(21): 6802-6810.
- CRUZ, O. 1998. A Ilha de Santa Catarina e o continente próximo: um estudo de geomorfologia costeira. Florianópolis: Editora da UFSC. 276 p.

- DETMER, AE, GIESENHAGEN, H. C, TRENKEL, V. M., AUF DEM VENNE, H., JOCHEM, F. J. 1993. Phototrophic and heterotrophic pico- and nanoplankton in anoxic depths of the central Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 99: 197-204.
- DIAZ, RJ & R ROSENBERG. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891): 926-929.
- DOLAN, JR & DW COATS. 1991. A study of feeding in predacious ciliates using prey ciliates labeled with fluorescent microspheres. *Journal of Plankton Research*, 13(3): 609-627.
- FENCHEL, T. 2002. Microbial Behavior in a Heterogeneous World. *SCIENCE*, 296: 1068-1071.
- FENCHEL, T & B FINLAY. 2008. Oxygen and the Spatial Structure of Microbial Communities. *Biological Reviews*, 83(4): 553-569.
- FENCHEL, T & BJ FINLAY. 1990. Anaerobic free-living protozoa - growth efficiencies and the structure of anaerobic communities. *Fems Microbiology Ecology*, 74(4): 269-275.
- FENCHEL, T, LD KRISTENSEN & L RASMUSSEN. 1990. Water column anoxia - vertical zonation of planktonic protozoa. *Marine Ecology-Progress Series*, 62(1-2): 1-10.
- FINLAY, BJ & GF ESTEBAN. 2009. Oxygen sensing drives predictable migrations in a microbial community. *Environmental Microbiology*, 11(1): 81-85.
- FONSECA, AL. 2004. Variação Sazonal e Espacial das Características Hidroquímicas, dos Fluxos de Nutrientes e do Metabolismo na Interface Água-Sedimento da Lagoa da Conceição (SC, Brasil). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Paulo, Brasil, 180 p.
- FONTES, ML. 2004. Breve Estudo Espaço-Temporal e de Impacto do Feriado de Carnaval e de Corpus Christi sobre Variáveis Ambientais nas Águas da Lagoa da Conceição, Florianópolis. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 133 p.
- FONTES, MLS & PA ABREU. 2009. Spatiotemporal Variation of Bacterial Assemblages in a Shallow Subtropical Coastal Lagoon in Southern Brazil. *Microbial Ecology*: 58(1): 140-153. doi: 10.1007/s00248-00008-09454-z.
- GOBLER, CJ, TW DAVIS, SN DEONARINE, MA SAXTON, PJ LAVRENTYEV, FJ JOCHEM & SW WILHELM. 2008. Grazing and virus-induced mortality of microbial populations before and during the onset of annual hypoxia in Lake Erie. *Aquatic Microbial Ecology*, 51(2): 117-128.

- GOMES, EAT & MJL GODINHO. 2003. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. *Acta Oecologica*, 24: S153-S161.
- GRASSHOFF, K, M EHRHARDT & K KREMLING. 1999 Methods of seawater analysis. 3rd edition 3 ed. New York: Weinheim: Wiley-VCH. 159-228 p.
- GUHL, BE & BJ FINLAY. 1993. Anaerobic predatory ciliates track seasonal migrations of planktonic photosynthetic bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 107(2-3): 313-316.
- HAHN, MW & MG HÖFLE. 2001. Grazing of protozoa and its effect on populations of aquatic bacteria. *Fems Microbiology Ecology*, 35(2): 113-121.
- HAYWARD, BH, R DROSTE & SS EPSTEIN. 2003. Interstitial ciliates: Benthic microaerophiles or planktonic anaerobes? *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 50(5): 356-359.
- HILLEBRAND, H, CD DURSELEN, D KIRSCHTEL, U POLLINGHER & T ZOHARY. 1999. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35(2): 403-424.
- HOBBIE, JE, RJ DALEY & S JASPER. 1977. Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 33(5): 1225-1228.
- JONES, JG. 1979. A guide to methods for estimating microbial numbers and biomass in freshwater: Scientific Publication. 62-88 p.
- KAN, JJ, BC CRUMP, K WANG & F CHEN. 2006. Bacterioplankton community in Chesapeake Bay: Predictable or random assemblages. *Limnology and Oceanography*, 51(5): 2157-2169.
- KNOPPERS, B, S OPITZ, M SOUZA & C MIGUEZ. 1984. The spatial distribution of particulate organic matter and some physical and chemical water properties in Conceição Lagoon, Santa Catarina, Brazil (July 19, 1982). *Braz Arch Biol Technol*, 27: 59-77.
- MACLSAAC, E & J STOCKNER. 1993. Enumeration of phototrophic picoplankton by autofluorescence In: Kemp, P, B Sherr, E Sherr & J Cole (eds.). Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, Boca Raton: 187-197.
- MASSANA, R, JM GASOL, PK BJORNSEN, N BLACKBURN, A HAGSTROM, S HIETANEN, BH HYGUM, J KUPARINEN & C PEDROSALIO. 1997. Measurement of bacterial size via image analysis of epifluorescence preparations: description of an inexpensive system and solutions to some of the most common problems. *Scientia Marina*, 61(3): 397-407.

- MASSANA, R & C PEDRÓS-ALIÓ. 1994. Role of Anaerobic Ciliates in Planktonic Food Webs: Abundance, Feeding, and Impact on Bacteria in the Field. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(4): 1325-1334.
- MENDEN-DEUER, S & EJ LESSARD. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnology and Oceanography*, 45(3): 569-579.
- NORLAND, S. 1993. The relationship between biomass and volume of bacteria. In: KEMP, PF, BF SHERR, EB SHERR & JJ COLE (eds.). Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. Lewis Publishers, 35: 303-307.
- ODEBRECHT, C. 1988. Variações espaciais e sazonais do fitoplâncton, protozooplâncton e metazooplâncton na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, Brasil. *Atlântica*, 10(1): 21-40.
- ODEBRECHT, C & F CARUSO. 1987. Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. *Atlântica*, 9(1): 83-104.
- PUTT, M & DK STOECKER. 1989. An experimentally determined carbon : volume ratio for marine "oligotrichous" ciliates from estuarine and coastal waters *Limnology and Oceanography*, 34(6): 1097-1103.
- SETALA, O. 1991. Ciliates in the anoxic deep water layer of the Baltic. *Arch. Hydrobiol.*, 122(4): 483-492.
- SHELDON, RW, P NIVAL & F RASSOULZADEGAN. 1986 An experimental investigation of a flagellate-ciliate-copepod food chain with some observations relevant to the linear biomass hypothesis. *Limnology and Oceanography*, 31: 184-188.
- SHERR, BF, EB SHERR & J MCDANIEL. 1992. Effect of Protistan Grazing on the Frequency of Dividing Cells in Bacterioplankton Assemblages. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8): 2381-2385.
- SHERR, E & B SHERR. 1988. Role of microbes in pelagic food webs: A revised concept. *Limnology and Oceanography*, 33(5): 1225-1227.
- SIERRA DE LEDO, B & E SORIANO-SIERRA. 1994. Atributos e processos condicionantes da hidrodinâmica na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *ACIESP*, 2: 113-121.
- STRICKLAND, J & T PARSONS. 1972. A practical handbook of seawater analysis, 2 edition. Ottawa: Fisheries Research Board of Canada. 310 p.

- UNESCO. 1983. Chemical methods for use in marine environmental monitoring: Intergovernmental Oceanographic Commission p.
- UTERMÖHL, H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton Methodik *Mitteilungen der Internationalen Vereinigung der Theoretischen und Angewandten Limnologie*, 9: 1–38.
- VAQUER-SUNYER, R & CM DUARTE. 2008. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(40): 15452-15457.
- WEINBAUER, MG, K HORNÁK, J JEZBERA, JI NEDOMA, JR DOLAN & K SIMEK. 2007. Synergistic and antagonistic effects of viral lysis and protistan grazing on bacterial biomass, production and diversity. *Environmental Microbiology*, 9(3): 777-788.
- WU, QL, J BOENIGK & MW HAHN. 2004. Successful Predation of Filamentous Bacteria by a Nanoflagellate Challenges Current Models of Flagellate Bacterivory. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(1): 332-339.
- ZAR, JH. 1999. Biostatistical Analysis 4th ed. New Jersey: Prentice-Hall, Inc. 664 p.

6. DISCUSSÕES GERAIS

Considerando-se a ocorrência e importância das zonas mortas na Lagoa da Conceição, reportadas desde a década de 80 (Odebrecht & Caruso 1987), decidiu-se realizar um estudo ecológico para se avaliar a biomassa, produção e o possível estabelecimento de uma cadeia trófica microbiana nesta região. É importante ressaltar que, até recentemente, não havia maiores estudos sobre o bacterioplâncton na Lagoa da Conceição. Esses fatos nos levaram a realizar um estudo para se conhecer a distribuição espaço-temporal do bacterioplâncton na Lagoa da Conceição, assim como as variáveis físico-químicas e biológicas que afetam estes microorganismos (clorofila *a*, fitoplâncton e protozooplâncton). Portanto, o primeiro trabalho desta Tese (capítulo 1) teve por objetivo responder às seguintes perguntas:

- 1) Existe uma variação espaço-temporal do bacterioplâncton na Lagoa da Conceição?
- 2) Onde e quando as zonas hipóxicas ou anóxicas se desenvolvem?
- 3) Qual o papel das bactérias na formação de águas com baixos níveis de oxigênio, em condições estratificadas?

Para este estudo foram realizadas coletas de água em 85 estações, distribuídas em 8 transectos nos quatro setores da Lagoa da Conceição, onde foram medidos, *in situ*, as concentrações de O₂ dissolvido (OD), salinidade e temperatura, em intervalos de 1 m de profundidade até o fundo durante condições meteorológicas distintas: inverno (julho -

estação seca) e verão (janeiro - estação chuvosa). Em função do perfil de oxigênio de cada setor foram selecionadas pelo menos quatro estações por setor para avaliar a abundância e o biovolume de 3 morfotipos bacterianos dominantes e relacioná-los aos principais fatores ambientais.

Com relação à variação espacial foi verificada uma tendência com o maior número de bactérias em direção a região Sul da laguna, seguindo um gradiente de concentração de clorofila-a, enquanto o oposto foi observado para o biovolume celular, o qual esteve relacionado principalmente com a concentração de amônio e fosfato. As bactérias variaram também no tempo, com maiores abundância e biovolume, em geral, no verão, quando foram registradas as maiores temperatura e intensidade luminosa, o que parece estimular o crescimento das cianobactérias, demonstrado pela maior abundância deste grupo. A mesma variação na densidade de bactérias heterotróficas não foi verificada na Lagoa, o que pode indicar que elas possam estar sofrendo maior controle “top down”, isto é, por predação de protozoários ou por infecção viral. O oxigênio foi uma variável importante na água de fundo, pois na superfície a sua concentração sofre uma menor variação já que processos de mistura são freqüentes e há a constante troca entre atmosfera e coluna d’água. Entretanto, o oxigênio na água de fundo, nos setores Sul e CS variou significativamente entre os dois períodos amostrais, estando relacionado ao predomínio de bactérias fotoautotróficas (oxigênicas x anoxigênicas) ou heterotróficas e à quantidade de luz que chegava ao fundo da região estratificada do setor CS. Com relação à luz, verificou-se que, apesar da estratificação da coluna de água, se uma quantidade elevada de luz chegar ao fundo desta região estratificada haverá produção

fotossintética oxigênica, gerando condições saturadas de oxigênio no fundo, como observado em janeiro de 2006. Ademais, se houver uma incidência menor de luz, poderá haver predomínio de bactérias fotossintetizantes, pois estas requerem pouca energia luminosa para fotossíntese.

Portanto, verificou-se que a maior abundância bacteriana na água de fundo ocorreu somente na região estratificada e que a existência da barreira física causada pela diferença de densidade da água de superfície e fundo pode promover tanto a depleção quanto o acúmulo de elevados níveis de OD na camada profunda estagnada, como observado anteriormente em janeiro e maio de 1984 por Odebrecht & Caruso Gomes (1987). Conclui-se, portanto, que a intensidade de luz que chega ao fundo regula a concentração de oxigênio dissolvido na coluna d'água e a predominância de condições autotróficas ou heterotróficas nestes ambientes estratificados. Os resultados do primeiro estudo nos possibilitaram conhecer os locais com provável produção de oxigênio no fundo e os locais onde zonas hipóxicas podem ser observadas na Lagoa da Conceição e a microbiota característica de cada situação. Baseado nisso, surgiram outras perguntas que orientaram o segundo trabalho (capítulo 2). São estas:

1) O oxigênio presente na água de fundo no verão resulta da maior taxa de produção primária de organismos fotoautotróficos oxigênicos?

2) Por outro lado, em águas com baixo OD há produção primária por bactérias anoxigênicas fototróficas, caracterizado pela incorporação de carbono, mas não pela produção de oxigênio?

Para avaliar a produção primária (PP) na Lagoa da Conceição foram utilizados os dois métodos para medir a PP de um sistema, o do oxigênio e o do ^{14}C , o que permitiu a estimativa de produção oxigênica e total – oxigênica + anoxigênica e a determinação do Quociente Fotossintético (QF), que relaciona o número de moles de O_2 produzido por moles de CO_2 incorporado. Ao mesmo tempo, foram avaliadas as concentrações de clorofila *a* e bacterioclorofila *a*, a fim de se determinar a contribuição de bactérias anoxigênicas fototróficas para a produção primária total do sistema.

Partindo do princípio de que a produção primária oxigênica é maior no verão, foi avaliada a produção primária no verão e comparada à PP no outono, que é o período no qual as zonas mortas começam a se desenvolver na águas de fundo da Lagoa (Odebrecht & Caruso 1987; Sierra de Ledo & Soriano-Sierra 1994; Fonseca 2004; Fonseca & Braga 2006). As medidas de PP foram realizadas nas estações que apresentaram uma variação vertical na concentração de oxigênio e em estações representando condições de mistura, identificadas no primeiro trabalho.

Foi observado comportamentos similares para a produção de oxigênio e incorporação de ^{14}C , com valores de QF acima de 1 (2,91 em média) no verão, confirmando uma elevada produção de oxigênio em relação a fixação de CO_2 neste período. Entretanto, no outono, a PP total não esteve relacionada com a produção de oxigênio, e o QF se manteve sempre inferior a 1 (0,32 em média). Estes resultados confirmaram a contribuição de bactérias anoxigênicas para a produção primária do sistema. Condições de baixos níveis de oxigênio na água de fundo da estação #33 apareceram em maio de 2007 e a PP total nessas águas foi uma das maiores da Lagoa

(220 mg C m⁻³ h⁻¹), concomitantemente com a maior concentração de Bchl *a* e o menor QF (0,02). A maior razão entre Bchl *a* /Chl *a* neste período indicou que uma grande parte de produção primária deveu-se a organismos autotróficos anoxigênicos. É interessante notar que o desacoplamento entre a PP oxigênica e a incorporação de ¹⁴C também foi observado em águas superficiais do setor sul.

A caracterização das comunidades bacterianas de ambas as estações através da técnica de biologia molecular (“Denaturing Gradient Gel Electrophoresis – DGGE), mostrou uma similaridade entre as assembléias bacterianas do fundo subóxico da estação #33 com a superfície óxica da estação #12. Portanto, a PP anoxigênica pode ocorrer em águas óxicas na Lagoa, estando essas bactérias associadas a partículas grandes, as quais podem desenvolver condições subóxicas no seu interior. A elevada quantidade de carbono produzida sem a liberação de oxigênio tanto na água superficial no setor Sul e nas águas subóxicas da estação #33 no setor CS que conduziu ao terceiro trabalho desta Tese, baseado nas seguintes perguntas:

- 1) A alta produção medida na água subóxica da estação #33 é transferida para níveis tróficos superiores por uma cadeia alimentar microbiana?
- 2) A comunidade microbiana nas águas de fundo da estação #33 varia com o teor de oxigênio?
- 3) Existe diferenças na cadeia alimentar microbiana da região anóxica em comparação com uma região oxigenada e homogênea?

Para responder a estas perguntas, foi realizado um estudo da abundância e biomassa de bactérias, flagelados e ciliados em diferentes concentrações de oxigênio dissolvido

nas águas de fundo da estação #33 (representando o setor estratificado). Estes resultados foram comparados com aqueles obtidos em uma estação que apresentou uma condição oxigenada e homogênea durante o ano (estação #82). Os resultados do capítulo 3 mostraram que com a diminuição do OD de fundo, aparecem *cf.* sulfobactérias e ciliados $> 50 \mu\text{m}$, além destes microorganismos, as bactérias heterotróficas cocus e bastonetes (CB) estiveram presentes em grande quantidade. Portanto, o carbono produzido através da fotossíntese anoxigênica nas águas subóxicas parece estar sendo transferido para uma cadeia alimentar especializada, composta especialmente por bactérias anoxigênicas (principais produtores primários), flagelados entre $7,5\text{-}25 \mu\text{m}$ e ciliados $> 50 \mu\text{m}$. Entretanto, o incremento na biomassa de *cf.* sulfobactérias quando o oxigênio esteve abaixo de $0,7 \text{ mg/L}$ no primeiro momento, em abril de 2008, parece ter estimulado o crescimento de ciliados $> 50 \mu\text{m}$, mas não de flagelados. Ademais, a predação nas águas com baixo OD pode liberar mais matéria orgânica dissolvida (MOD) ou carbono orgânico dissolvido (COD) e, conseqüentemente, estimular a atividade bacteriana e o consumo de oxigênio dissolvido.

A maior quantidade de carbono microbiano na água subóxica da estação #33 comparado à estação #82 em maio sugere que, sob baixa concentração de oxigênio, os protozoários encontram uma espécie de refúgio contra predação além de alimento abundante estimulando a produção secundária. Esta biomassa pode ser transferida para a camada de água oxigenada através da ascensão de alguns protozoários, como observado em ciliados microaeróbicos que são capazes migrar verticalmente na coluna d'água tendendo a se acumular na interface de águas óxicas/anóxicas (oxiclina)

(Fenchel *et al.* 1990; Dolan & Coats 1991; Hayward *et al.* 2003; Finlay 1981). Este acúmulo de microorganismos poderia servir de alimento para o metazooplâncton e assim, ligar a cadeia alimentar microbiana à tradicional.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Nutrientes, temperatura, luz e estratificação da coluna d'água regulam a distribuição espacial (vertical e horizontal) e temporal do bacterioplâncton (densidade, biovolume e composição) na Lagoa da Conceição. A produção e consumo do oxigênio são governados pela predominância de microorganismos autotróficos ou heterotróficos na água de fundo e pela intensidade de luz.

A produção primária foi predominantemente oxigênica no verão (janeiro/fevereiro) e anoxigênica no outono (abril/maio). A razão entre os pigmentos de microorganismos fotossintéticos anoxigênicos por oxigênicos (Bchl *a*/Chl *a*) pode ser utilizada como uma estimativa da contribuição de bactérias fotossintéticas anoxigênicas na geração de energia fotossintética neste sistema, chegando a um máximo de 47% nas águas subóxicas quando a produção primária total foi desacoplada da produção oxigênica. A produção primária anoxigênica deve ser considerada como substancial na Lagoa.

A grande quantidade de carbono produzida na água de fundo subóxica pode ter sido consumida por protozoários, principalmente flagelados entre 7,5-25 μm e ciliados $> 50 \mu\text{m}$, os quais apresentaram uma biomassa 5 vezes maior nessas águas do que a biomassa medida nas águas de fundo de uma estação homogênea e oxigenada.

Com isso, pode-se dizer que as zonas “mortas” observadas na Lagoa da Conceição consistem em regiões com produção de matéria orgânica significativa, a qual é transferida na cadeia trófica. A elevada biomassa de microorganismos e a transferência

deste material para a cadeia trófica tradicional através dos ciliados sugerem a inadequação do termo “zona morta” para uma região tão viva.

É bastante provável que processos semelhantes aconteçam em outras regiões com baixos níveis de oxigênio em regiões costeiras ao redor do mundo. Se isto acontecer, o conceito de “zonas mortas” precisará ser revisto.

As recomendações para futuros trabalhos na Lagoa da Conceição baseadas nos resultados apresentados nesta tese são:

- 1) Determinar a diversidade das bactérias anoxigênicas fototróficas (AnAnP e AAnP) nas águas subóxicas, seqüenciar e quantificar as espécies dominantes;
- 2) Caracterizar os pigmentos fotossintéticos presentes na água oxigenada, hipóxica, subóxica e anóxica;
- 3) Quantificar a contribuição da fotossíntese anoxigênica para a fotossíntese total através de medidas da taxa de produção primária obtida através do método do ^{14}C usando inibidor para oxigênicas (DCMU);
- 4) Avaliar mais detalhadamente a intensidade luminosa que chega ao fundo do setor CS para determinar a intensidade limitante para a produção primária anoxigênica;
- 5) Avaliar a abundância e a biomassa de ciliados em intervalos de profundidade mais freqüente do fundo até a oxiclina ao longo de ciclos diários com a finalidade de avaliar a existência de migração vertical destes microorganismos;
- 6) Identificar os flagelados e ciliados presentes nas zonas mortas e nas zonas oxigenadas;

- 7) Quantificar a abundância e a biomassa de metazoários na profundidade da oxiclina em situações distintas de oxigênio dissolvido na água de fundo: óxica, hipóxica e anóxica;
- 8) Calcular a taxa de predação de protozoários sobre o bacterioplâncton nas zonas mortas e comparar com valores nas zonas oxigenadas;
- 9) Avaliar a dinâmica do carbono orgânico dissolvido (COD) e carbono orgânico particulado (COP)
- 10) Comparar a extensão das zonas mortas observadas em 1983-1984 com a de 2005 e 2007.

8. LITERATURA CITADA NA INTRODUÇÃO, DISCUSSÕES GERAIS E CONCLUSÃO GERAL

- ASSUMPÇÃO, DTG, APP TOLEDO & VA D'AQUINO. 1981. Levantamento ecológico da Lagoa da Conceição (Florianópolis, Santa Catarina) I: Caracterização-parâmetros ambientais. *Ciência e Cultura*, 33 (8): 1096-1101.
- BEHNKE, A, J BUNGE, K BARGER, H-W BREINER, V ALLA & T STOECK. 2006. Microeukaryote Community Patterns along an O₂/H₂S Gradient in a Supersulfidic Anoxic Fjord (Framvaren, Norway). *Applied and Environmental Microbiology*, 72(5): 3626-3636.
- BERGONDO, DL, DR KESTER, HE STOFFEL & WL WOODS. 2005. Time-series observations during the low sub-surface oxygen events in Narragansett Bay during summer 2001. *Marine Chemistry*, 97(1-2): 90-103.
- BREWER, PG & ET PELTZER. 2009. Limits to Marine Life. *Science*, 324(5925): 347-348.
- CASAMAYOR, EO, J GARCIA-CANTIZANO & C PEDRÓS-ALIÓ. 2008. Carbon dioxide fixation in the dark by photosynthetic bacteria in sulfide-rich stratified lakes with oxic-anoxic interfaces. *Limnology and Oceanography*, 53(4): 1193-1203.
- CASAMAYOR, EO, J GARCIA-CANTIZANO, J MAS & C PEDRÓS-ALIÓ. 2001. Primary production in estuarine oxic/anoxic interfaces: contribution of microbial dark CO₂ fixation in the Ebro River Salt Wedge Estuary. *Marine Ecology-Progress Series*, 215: 49-56.
- DETMER, AE, GIESENHAGEN, H. C, TRENKEL, V. M., AUF DEM VENNE, H., JOCHEM, F. J. 1993. Phototrophic and heterotrophic pico- and nanoplankton in anoxic depths of the central Baltic Sea. *Marine Ecology Progress Series*, 99: 197-204.
- DIAZ, RJ & R ROSENBERG. 2008. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *Science*, 321(5891): 926-929.
- DIAZ, RJ. (2001). Overview of hypoxia around the world. *Journal of Environmental Quality*, 30: 275-281.
- FENCHEL, T & BJ FINLAY. 1990. Anaerobic free-living protozoa - growth efficiencies and the structure of anaerobic communities. *Fems Microbiology Ecology*, 74(4): 269-275.
- FENCHEL, T, LD KRISTENSEN & L RASMUSSEN. 1990. Water column anoxia - vertical zonation of planktonic protozoa. *Marine Ecology-Progress Series*, 62(1-2): 1-10.
- FENCHEL, T. 1990. The role of protozoa in nature in terms of functional-properties related to size. *Zoological Science*, 7: 51-67.

- FONSECA, AL & ES BRAGA. 2006. Temporal dynamic of the dissolved nutrients and the eutrophization processes in a southern brazilian coastal lagoon, Conceição Lagoon. *Journal of Coastal Research*, *SI 39*: 1229 -1233.
- FONSECA, AL, E BRAGA & B EICHLER. 2002. Distribuição espacial dos nutrientes inorgânicos dissolvidos e da biomassa fitoplanctônica no sistema pelágico da Lagoa da Conceição, Santa Catarina, Brasil (Setembro, 2000). *Atlântica*, *24*(2): 69-83.
- FONSECA, AL. 2004. Variação Sazonal e Espacial das Características Hidroquímicas, dos Fluxos de Nutrientes e do Metabolismo na Interface Água-Sedimento da Lagoa da Conceição (SC, Brasil). Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Paulo, Brasil, 180 p.
- FONTES, ML. 2004. Breve Estudo Espaço-Temporal e de Impacto do Feriado de Carnaval e de Corpus Christi sobre Variáveis Ambientais nas Águas da Lagoa da Conceição, Florianópolis. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil, 133 p.
- GOBLER, CJ, TW DAVIS, SN DEONARINE, MA SAXTON, PJ LAVRENTYEV, FJ JOCHEM & SW WILHELM. 2008. Grazing and virus-induced mortality of microbial populations before and during the onset of annual hypoxia in Lake Erie. *Aquatic Microbial Ecology*, *51*(2): 117-128.
- GOMES, EAT & MJL GODINHO. 2003. Structure of the protozooplankton community in a tropical shallow and eutrophic lake in Brazil. *Acta Oecologica*, *24*: S153-S161.
- GUHL, BE & BJ FINLAY. 1993. Anaerobic predatory ciliates track seasonal migrations of planktonic photosynthetic bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, *107*(2-3): 313-316.
- GUHL, BE, BJ FINLAY & B SCHINK. 1996. Comparison of ciliate communities in the anoxic hypolimnia of three lakes: general features and the influence of lake characteristics. *J. Plankton Res.*, *18*(3): 335-353.
- HAYWARD, BH, R DROSTE & SS EPSTEIN. 2003. Interstitial ciliates: Benthic microaerophiles or planktonic anaerobes? *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *50*(5): 356-359.
- IMHOFF, J. 2006. The Chromatiaceae. In: Dworkin, M, S Falkow, E Rosenberg, KH Schleifer & E Stackebrandt (eds.). *The Prokaryotes*. Vol. 6, Springer, New York, 3.3.31: 846-873.
- IMHOFF, JF. 2008. Systematics of Anoxygenic Phototrophic Bacteria. In: Hell, R, C Dahl, DB Knaff & T Leustek (eds.). *Sulfur Metabolism in Phototrophic Organisms*. Springer, New York, 14: 269-287.

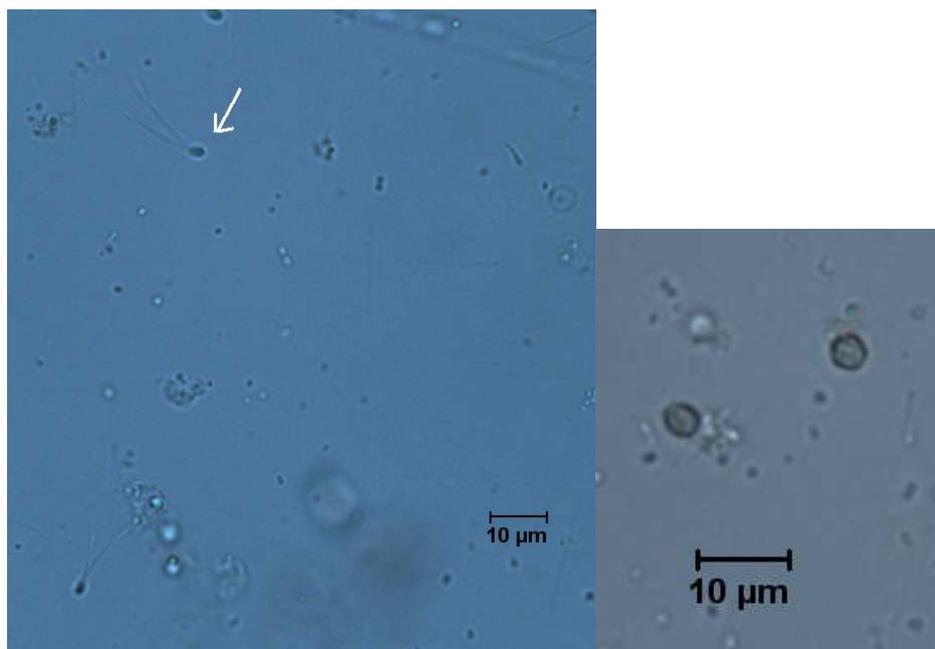
- KNOPPERS, B, S OPITZ, M SOUZA & C MIGUEZ. 1984. The spatial distribution of particulate organic matter and some physical and chemical water properties in Conceição Lagoon, Santa Catarina, Brazil (July 19, 1982). *Braz Arch Biol Technol*, 27: 59-77.
- ODEBRECHT, C & F CARUSO. 1987. Hidrografia e matéria particulada em suspensão na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, SC, Brasil. *Atlântica*, 9(1): 83-104.
- ODEBRECHT, C. 1988. Variações espaciais e sazonais do fitoplâncton, protozooplâncton e metazooplâncton na Lagoa da Conceição, ilha de Santa Catarina, Brasil. *Atlântica*, 10(1): 21-40.
- OVERMANN, J & AK MANSKE. 2006. Anoxygenic phototrophic bacteria in the Black Sea chemocline. In: Neretin, LN (ed.). Past and Present Water Column Anoxia. Vol. 64, Springer, the Netherlands, V: 523-541.
- PSENNER, R & K SCHLOTT-IDL. 1985. Trophic relationships between bacteria and protozoa in the hypolimnion of a meromictic mesotrophic lake. *Hydrobiologia*, 121(2): 111-120.
- RABALAIS, NN, RE TURNER & D SCAVIA. 2002. Beyond science into policy: Gulf of Mexico hypoxia and the Mississippi River. *Bioscience*, 52(2): 129-142.
- RABALAIS, NN, RE TURNER & WJ WISEMAN. 2001. Hypoxia in the Gulf of Mexico. *Journal of Environmental Quality*, 30: 320-329.
- RENAUD, ML. 1986. HYPOXIA IN LOUISIANA COASTAL WATERS DURING 1983 - IMPLICATIONS FOR FISHERIES. *Fishery Bulletin*, 84(1): 19-26.
- SETALA, O & K KIVI. 2003. Planktonic ciliates in the Baltic Sea in summer: distribution, species association and estimated grazing impact. *Aquatic Microbial Ecology*, 32(3): 287-297.
- SIERRA DE LEDO, B & E SORIANO-SIERRA. 1994. Atributos e processos condicionantes da hidrodinâmica na Lagoa da Conceição, Ilha de Santa Catarina, Brasil. *ACIESP*, 2: 113-121.
- SILVA, CA, CR OLIVEIRA, IRWZ OLIVEIRA & LAS MADUREIRA. 2008. Distribution of lipid compounds in sediments from Conceição Lagoon, Santa Catarina Island, Brazil. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 19: 1513-1522.
- STRAMMA, L, GC JOHNSON, J SPRINTALL & V MOHRHOLZ. 2008. Expanding Oxygen-Minimum Zones in the Tropical Oceans. *Science*, 320(5876): 655-658.
- TAYLOR, GT, M IABICHELLA-ARMAS, R VARELA, F MÜLLER-KARGER, X LIN & MI SCRANTON. 2006. Microbial ecology of the CARIACO basin's redoxcline: the U.S. -

Venezuela CARIACO times series program. In: Neretin, LN (ed.). Past and Present Water Column Anoxia. Vol. 64, Springer the Netherlands, V: 471-499.

VAQUER-SUNYER, R & CM DUARTE. 2008. Thresholds of hypoxia for marine biodiversity. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105(40):15452-15457.

ANEXOS

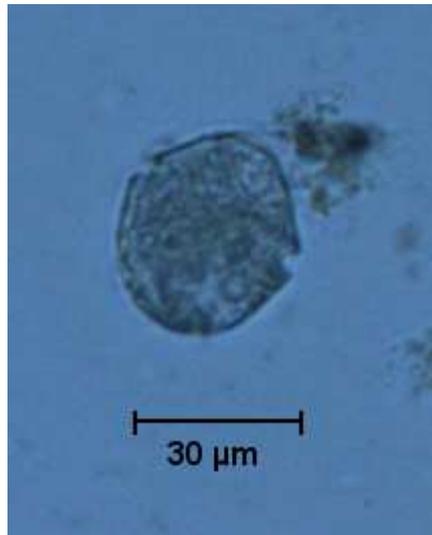
FOTOS DE ALGUNS DOS PROTOZOÁRIOS MAIS ABUNDANTES DENTRO DE CADA CLASSE DE TAMANHO



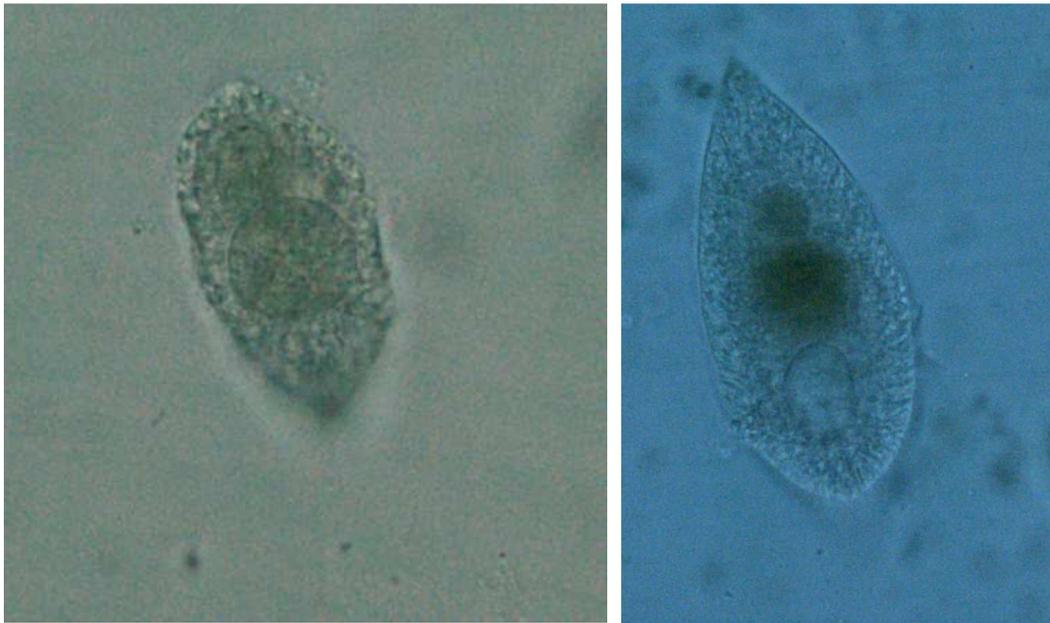
Flagelados < 7,5 µm



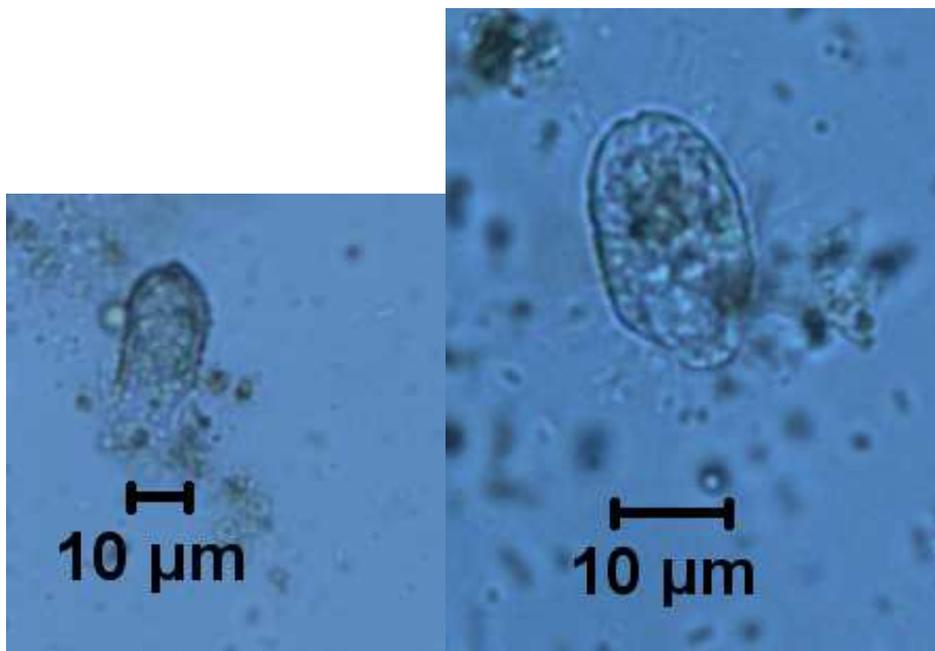
Flagelado dominante entre 7,5 - 25 µm



Flagelado entre 25 – 50 µm



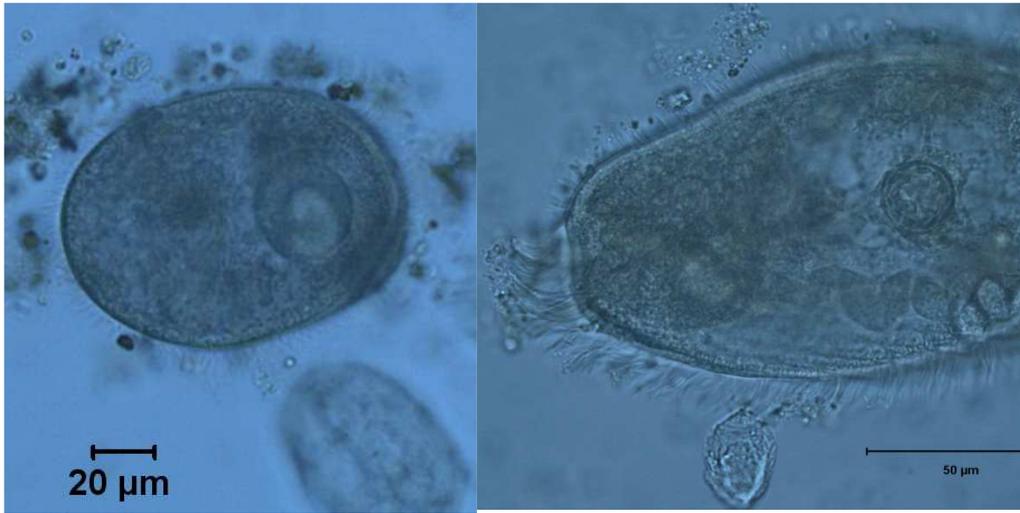
Flagelados > 50 µm (aumento de 400x)



Ciliados entre 7,5 – 25 µm

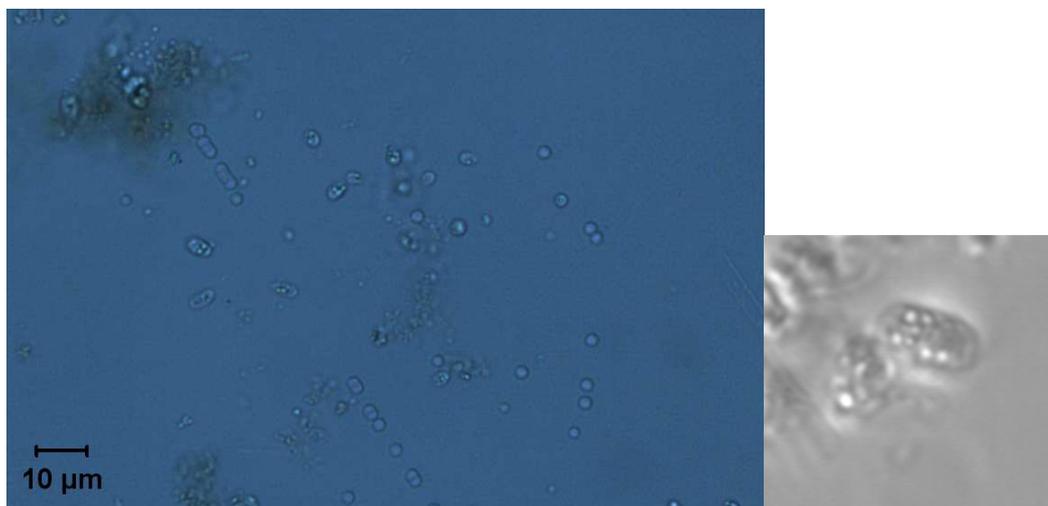


Ciliado entre 25 – 50 µm



Ciliados > 50 µm

FOTOS DAS *CF.* SULFOBACTÉRIAS PRESENTES NA ÁGUA HIPÓXICA E
SUBÓXICA



(em aumento de 400x)

(em aumento de 1000x)