

ASPECTOS CINÉTICOS DA DEGRADAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS EXCRETADOS POR *STAUSTRUM IVERSENII* VAR. *AMERICANUM*

*Lucilia Dias Pacobahyba, Irineu Bianchini Júnior,
Armando A. H. Vieira & Marcela B. da Cunha-Santino*

RESUMO: Este estudo visou descrever a cinética da degradação de polissacarídeos extracelulares (PEC) extraídos de excretados de *Staurastrum iversenii* var. *americanum*. Para a extração dos polissacarídeos, foi cultivada, em laboratório, uma cultura de *S. iversenii* var. *americanum* isolada do reservatório de Barra Bonita (22°29'S e 48°34'W; São Paulo). Após 60 dias, os polissacarídeos foram isolados e submetidos à filtração tangencial para a separação em duas frações: com massas moleculares altas (> 10 kDa) e baixas (< 10 kDa). Em seguida, foram montadas câmaras de decomposição (contendo polissacarídeos e a água do reservatório) que foram incubadas sob diferentes temperaturas (20°C; 24°C; 26°C e 28°C). As variações das concentrações de carbono orgânico foram quantificadas e ajustadas a um modelo cinético de 1ª ordem onde foi possível verificar que independente da temperatura de incubação: (i) do ponto de vista estrutural, os polissacarídeos extracelulares de *S. iversenii* var. *americanum* constituíram-se em um substrato heterogêneo, apresentando duas frações: uma lábil e/ou solúvel (PEC-LS) e outra refratária (PEC-R); (ii) a fração PEC-LS correspondeu, em média, a 50% dos polissacarídeos de massas moleculares altas e a 60% para os de massas moleculares baixas; (iii) o coeficiente de oxidação/lixiviação do PEC-LS foi, em média, 116 vezes maior que o de oxidação do PEC-R (0,012 dia⁻¹) e (iv) o rendimento médio da formação do carbono orgânico dissolvido (COD) foi 23%; esta fração apresentou coeficiente médio de degradação estimado em 0,025 dia⁻¹.

PALAVRAS-CHAVE: Degradação. Polissacarídeos. *Staurastrum iversenii* var. *americanum*.

ABSTRACT: Kinetic aspects of the degradation of polysaccharides excreted from *Staurastrum iversenii* var. *americanum*.

This study aimed to describe the mineralization kinetics of high and low molecular weight of extracellular polysaccharides (EPS) extracted from *Staurastrum iversenii* var. *americanum*. For the polysaccharide extraction the *S. iversenii* var. *americanum* was isolated from Barra Bonita reservoir (22°29'S and 48°34'W; São Paulo) and cultivated in laboratory. After 60 days, the polysaccharides were isolated and separated by tangential filtration in two fractions: high (> 10 kDa) and low molecular weight (< 10 kDa). After the fractionation, the decomposition chambers were set up (with polysaccharides and reservoir water) and were incubated under different temperatures (20°C; 24°C; 26°C and 28°C). The temporal variation of particulate and dissolved organic carbon concentrations were quantified and fitted to 1st order kinetic model. It was verified that independent of temperature: (i) from the structural point of view, the *Staurastrum iversenii* var. *americanum* algal detritus is a heterogeneous substratum, presenting two fractions: a labile/soluble (EPS-LS) and a refractory (EPS-R); (ii) the EPS-LS corresponded, in average, to 50% of polysaccharides of high molecular masses and to 60% for low molecular masses; (iii) the EPS-LS oxidation/leachate coefficient was, in average, 116 times higher than EPS-R oxidation coefficient (0.012 day⁻¹) and (iv) the formation of dissolved organic carbon (COD) was 23% and presented a mineralization coefficient of 0.025 day⁻¹.

KEY WORDS: Degradation. Polysaccharides. *Staurastrum iversenii* var. *americanum*.

INTRODUÇÃO

Em vários ambientes aquáticos, o fitoplâncton tem sido reconhecido como a principal comunidade responsável pela produção primária; fornecendo suporte nutricional e influenciando os níveis subseqüentes da cadeia alimentar (Terzié *et al.*, 1998), incluindo a cadeia de detritos. O fitoplâncton pode liberar grandes quantidades de matéria orgânica dissolvida (MOD); tais liberações variam de 1 a 70% do total de carbono fotossintetizado (Chróst & Faust, 1980). Cerca de 75% desta MOD liberada é incorporada à biomassa bacteriana entre 2 e 3 dias (Iturriaga & Zsolnay, 1983; Cho *et al.*, 1997). Nos ecossistemas aquáticos, as bactérias são reconhecidas como eficientes agentes de reciclagem da matéria orgânica, sendo que sua abundância pode representar um índice da atividade heterótrófica (Lynch & Hobbie, 1979). Estes organismos não são apenas responsáveis pela ciclagem dos nutrientes, mas também se constituem numa ligação trófica excepcional entre os detritos e a cadeia alimentar. Com isso, os nutrientes, o carbono e a energia são eficientemente transferidos de um nível inferior da cadeia alimentar para um nível superior (Jugnia *et al.*, 2000). Embora desde o início da década de 70 tenha sido discutida a utilização da MOD pelas bactérias nas cadeias alimentares aquáticas (Pomeroy, 1974), o termo “elo microbiano” só foi formulado no final dos anos 70 por Azam *et al.* (1979); por esse conceito, as bactérias intercedem no retorno da MOD para cadeia alimentar, inclusive a excretada pelo fitoplâncton.

A grande variedade de substâncias liberadas pelo fitoplâncton tem sido ressaltada e, dentre os compostos excretados, destacam-se: carboidratos, substâncias nitrogenadas, ácidos orgânicos, lipídios, substâncias fenólicas, fosfatos orgânicos e toxinas (Hellebust, 1974). Os carboidratos compõem uma fração substancial da biomassa fitoplanctônica, representando 20 a 45% do carbono orgânico particulado (COP) e de 20 a 90% do dissolvido (COD), liberado pelo fitoplâncton para o meio aquático (Minor & Eglinton, 1999). Estudos realizados por Bunte & Simon (1999) abordaram a disponibilidade dos carboidratos para o bacterioplâncton, concluindo que as quantidades disponíveis destes compostos podem aumentar conforme o estágio de senectude das células do fitoplâncton (Biddanda & Benner, 1997). Foram atribuídas diferentes formas de interações dos carboidratos nos ambientes aquáticos, tais como: (i) controle da flutuação do fitoplâncton (Ignatiades & Fogg, 1973); (ii) reassimilação pelas algas em situação de estresse de nutrientes, como fonte de energia para os microheterótrofos (Fogg, 1983); (iii) agentes quelantes de metais pesados de forma a diminuir a disponibilidade destes elementos no meio (e.g. cobre), ou intensificando a disponibilidade de metais essenciais (e.g. ferro) (Vieira & Nascimento, 1989) e (iv) podem, ainda, desempenhar a função de fonte de carbono (energia) durante os processos de degradação dos sedimentos (Hulth *et al.*, 1997).

Considerando a degradação de material orgânico de origem algal como sendo um processo importante na regeneração da matéria orgânica nos ambientes aquáticos, este estudo teve por objetivo verificar as perdas de massa decorrentes da degradação de polissacarídeos (de alta e baixa massas moleculares) excretados por *Staurastrum iversenii* Nygaard var. *americanum* Scott & Grönblad (1949), em diferentes temperaturas.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAL DE COLETA

O reservatório de Barra Bonita, construído em 1963, está localizado a 22° 29' S e 48° 34' W, a uma altitude de 340 m. Situa-se entre os municípios de Barra Bonita e Igarapu (SP); e é formado, principalmente, por 2 tributários, os rios Tietê e Piracicaba, além de outros tributários menores (Calijuri, 1988; Calijuri, Santos & Jati, 2002). O local de coleta de fitoplâncton e de água situou-se a 6,5 km da barragem (22° 32' 34,5" S e 48° 29' 26,4" W). Esse reservatório é eutrófico, com circulação polimítica (ILEC, 2003); apresenta as seguintes características (Calijuri, 1988; Díaz, 1990; Calijuri & Tundisi, 1990; ILEC, 2003): (i) superfície da bacia hidrográfica: 32.330 km²; área inundada: 324,84 km²; (ii) volume do reservatório: 3.160 x 10⁶ m³; (iii) volume útil do reservatório: 2.600 x 10⁶ m³; (iv) descarga total do vertedouro: 4.200 m³ s⁻¹; (v) profundidade média: 10,2 m; (vi) profundidade máxima: 25 m; (vi) perímetro aproximado: 525 km; (vii) capacidade instalada: 140,76 MW; (viii) extensão da barragem: 480 m; (ix) tempo de residência: de 67,05 a 110,8 dias.

Conforme o levantamento realizado entre 2001 e 2002, as águas do reservatório apresentaram as seguintes características (Antonio, 2004): oxigênio dissolvido: 5,0 ± 1,8 mg.L⁻¹ (mín.: 1,2 e máx.: 7,7 mg.L⁻¹); temperatura: 24,7 ± 2,8°C (mín.: 20,0 e máx.: 27,9°C); pH: 6,9 ± 0,4 (mín.: 6,1 e máx.: 7,8); condutividade elétrica: 270 ± 69 μS.cm⁻¹ (mín.: 190 e máx.: 378 μS.cm⁻¹); turbidez: 15,0 ± 10,7 UNT (mín.: 0,0 e máx.: 30,0 UNT) e potencial de oxi-redução: 65,9 ± 25,0 mV (mín.: 22,6 e máx.: 112,8 mV). A variação de nitrogênio orgânico total foi de 406 ± 21 μg.L⁻¹ no período de chuvas e de 277 ± 245 μg.L⁻¹ no de seca (Panhota & Bianchini Jr., 2003); para o fósforo total registrou-se valor médio de 106,7 ± 117,4 μg.L⁻¹ (Calijuri & Santos, 2001).

CULTIVO DE *STAUSTRUM IVERSEII* E AQUISIÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS

Staurastrum iverseii var. *americanum* foi selecionada por possuir uma espessa cápsula de polissacarídeos extracelulares (PEC). Essa cepa isolada do reservatório de Barra Bonita é mantida na Coleção de Culturas de Microalgas de Água Doce no Brasil, São Paulo, São Carlos, na Universidade Federal de São Carlos, no Departamento de Botânica, catalogada como UFSCar-XG-205 sob o registro WHDW 835 e foi coletada por Armando A. H. Vieira em 10/X/1997. O meio de cultura empregado no cultivo foi o WC completo (Guillard & Lorenzen, 1972). Para as lavagens das células foi utilizado o meio WC modificado, sem as fontes de fósforo e de nitrato. Antes de serem autoclavados (120°C; 1 atm; 1 h), os meios tiveram os valores de pH ajustados em 7,0. Os cultivos foram realizados sob condições controladas (aeração contínua, temperatura de 20 a 21°C, iluminação: 4 klux e fotoperíodo: 12/12h claro/escuro). A partir de culturas com 60 dias (número de células.mL⁻¹ = 14,5x10³) as células foram separadas por centrifugação (352,17 G; 30 min). Após, as células foram lavadas por três vezes consecutivamente com o meio de cultura (a 40°C) para remoção dos polissacarídeos aderidos às paredes celulares (Paulsen & Vieira, 1994). Em seguida, os sobrenadantes (polissacarídeos) foram submetidos à filtração tangencial (QSM Series, Quix System, Needham, USA) de cartucho de fibras ocas com porosidade de 0,65 mm para a

eliminação das células algais e posteriormente com porosidade de 10 kDa para as separações dos PEC em duas frações de massa moleculares. Nesse trabalho definiram-se os polissacarídeos com massas moleculares altas os que apresentaram $MM > 10$ kDa e os de baixas com $MM < 10$ kDa (Chaplin & Kennedy, 1995). Depois das separações, os polissacarídeos foram concentrados em evaporador rotatório (40 °C) até o volume aproximado de 300 mL. Esse volume foi dializado em membranas (marca Spectra/Por), deixando em água corrente por 24 horas e subsequentemente por 48 horas em água destilada; esse volume foi na seqüência congelado em nitrogênio líquido, liofilizado (liofilizador Heto-Drywinner) e armazenado hermeticamente a -5°C.

DECOMPOSIÇÃO DOS POLISSACARÍDEOS E O MODELO CINÉTICO

Para cada tipo de PEC (baixas e altas massas moleculares) foram preparadas oito câmaras de decomposição (400 mL de solução de polissacarídeos em água do reservatório de Barra Bonita). As coletas das amostras de água foram realizadas com garrafa de *Van Dorn*, em três profundidades (superfície: 0,5 m; meio: 10 m e fundo: 20 m). Em seguida, as amostras foram misturadas e filtradas em lã de vidro (porosidade > 1,2 mm) para a remoção de material grosseiro. As concentrações de carbono dos PEC foram determinadas com analisador específico de carbono (TOC 5000A, Shimadzu, Tóquio, Japão). Para as câmaras contendo PEC de massa molecular alta a concentração inicial de carbono orgânico foi 21,98 mg.L⁻¹; para as câmaras com PEC com baixa massa molecular a concentração inicial de carbono orgânico foi 26,18 mg.L⁻¹. As câmaras foram incubadas nas temperaturas: 19,3 ± 1,9°C; 23,8 ± 1,2°C; 25,4 ± 0,6°C e 28,1 ± 1,0°C. De acordo com as concentrações iniciais de PEC e com os coeficientes de consumo de oxigênio gerados na degradação aeróbia desses compostos (Pacobahyba, 2002), as incubações entraram em regime anaeróbio de decomposição após, no máximo, três dias. As aberturas das câmaras de decomposição para a retirada das amostras permitiram a difusão atmosférica do oxigênio no meio de decomposição. Desse modo, diante no período experimental adotado (4 meses), admitiu-se que os processos degradativos tratados nesse estudo se desenvolveram sob baixas concentrações de oxigênio dissolvido, *i.e.* anoxia ($OD = 1,51 \pm 0,25$ mg.L⁻¹; $n = 10$) que foram medidas nos dias amostrais com oxímetro (YSI, modelo 58, Yellow Springs, USA; precisão de 0,03 mg.L⁻¹).

Nos dias de amostragem (0, 1, 3, 5, 10, 20, 30, 60, 90, e 120 dias) foram retiradas alíquotas de cada câmara para as determinações das concentrações de carbono orgânico total (> 0,22 mm) e de carbono orgânico dissolvido (< 0,22 mm) através de filtrações sucessivas em membrana de éster de celulose (Millipore) e determinação em analisador específico de carbono (TOC 5000A).

Em relação ao carbono orgânico, as câmaras de decomposição foram consideradas como sistemas fechados (Bianchini Jr. & Toledo, 1996); para as determinações dos coeficientes da decomposição, as variações temporais de PEC (em base de carbono) e COD foram ajustadas a modelos cinéticos de primeira ordem, de acordo com Bianchini Jr. & Toledo (1996). As regressões foram realizadas através de método não linear, utilizando-se o algoritmo iterativo de Levenberg-Marquardt (Press *et al.*, 1993).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Admitiu-se que os recursos (polissacarídeos) apresentaram composições heterogêneas (Bianchini Jr., 1999), com frações lábeis/solúveis (PEC-LS) e refratárias (PEC-R). Desse modo, supôs-se que os processos de degradação ocorreram por meio de três rotas (Figura 1). Na primeira (IN_1), as oxidações das frações lábeis desenvolveram-se rapidamente, em paralelo com o processo de dissolução das frações solúveis ($< 0,22$ mm). A segunda rota (IN_2) coube às oxidações dos compostos orgânicos dissolvidos (COD $< 0,22$ mm). As frações PEC-LS que subsidiaram essas duas rotas de decomposição. A terceira rota de degradação (IN_3) referiu-se apenas às oxidações das frações refratárias (PEC-R).

A parametrização do modelo cinético adotado é apresentada na Tabela I. Pode-se observar, com exceção dos polissacarídeos de alta massa molecular, que na temperatura de $23,8^\circ\text{C}$ mais de 50% do carbono orgânico dos PEC foram compostos por frações lábeis/solúveis. Estas frações foram maiores nas incubações a $25,4^\circ\text{C}$ para os dois tipos de polissacarídeos (altas e baixas massas moleculares).

Os processos de perda de massa para as frações lábeis/solúveis dos dois tipos de PEC foram mais rápidos em $23,8^\circ\text{C}$ ($k_T = 2,47$ e $1,73 \text{ dia}^{-1}$). Esta mesma temperatura proporcionou o aparecimento dos coeficientes de degradação mais elevados das frações refratárias ($k_4 = 0,022 \text{ dia}^{-1}$) para os PEC com altas massas moleculares.

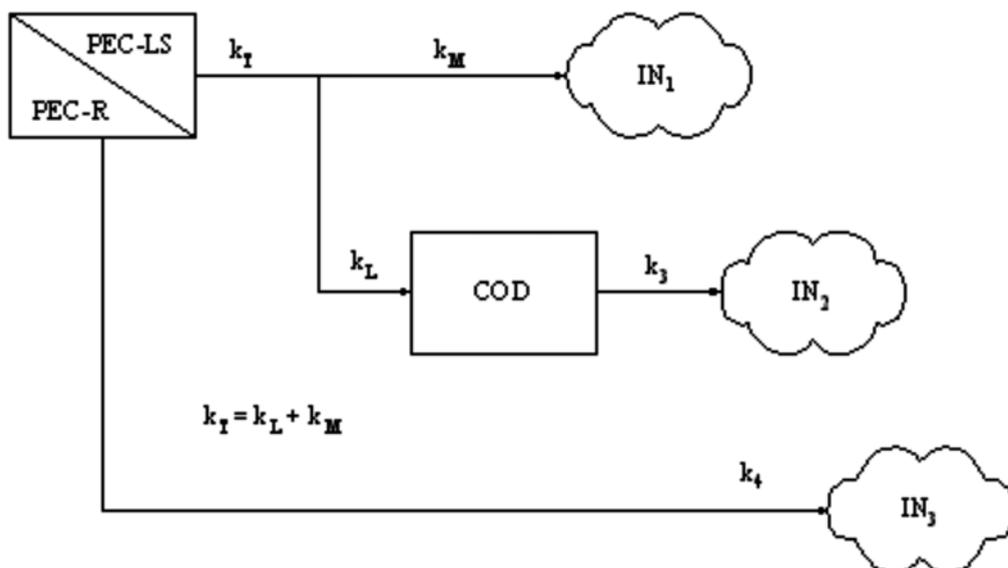


Figura 1. Modelo cinético dos processos de degradação dos PEC de *S. iverseii*. Em que: PEC-LS = fração lábil e/ou solúvel; PEC-R = fração refratária; COD = carbono orgânico dissolvido; k_T = coeficiente global de perda de massa de PEC-LS ($= k_L + k_M$; k_L = coef. de lixiviação e k_M = coef. de degradação das frações lábeis); k_3 = coef. de degradação do COD; k_4 = coef. de degradação do PEC-R; $IN_{1,3}$ = rotas de degradação, segundo os coeficientes k_T , k_3 e k_4 .

Tabela 1. Parametrização do modelo cinético da degradação de PEC > 0,22 μm (com altas e baixas massas moleculares) de *S. iverseii* var. *americanum*.

	Temp. (°C)	PEC-LS (%)	Erro	PEC-L (%)	PEC-R (%)	Erro	k_T (dia ⁻¹)	Erro	k_L (dia ⁻¹)	k_M (dia ⁻¹)	k_4 (dia ⁻¹)	Erro	r^2
	19,3	50,04	4,81	30,00	49,93	2,50	1,99	0,69	1,19	0,80	0,010	0,001	0,98
MM	23,8	36,64	5,33	18,00	63,35	3,20	2,47	1,66	1,21	1,26	0,022	0,003	0,98
alta	25,4	59,99	4,25	39,63	39,90	2,31	1,47	0,30	0,97	0,50	0,011	0,001	0,98
	28,1	55,34	7,60	34,47	43,84	4,62	0,94	0,34	0,59	0,35	0,012	0,003	0,96
	19,3	68,63	1,43	41,10	31,18	0,93	0,67	0,03	0,40	0,27	0,010	0,000	0,99
MM	23,8	54,50	1,29	32,69	45,48	0,68	1,73	0,13	1,03	0,70	0,010	0,000	0,99
baixa	25,4	60,97	3,25	26,37	38,82	1,86	1,29	0,19	0,56	0,73	0,014	0,001	0,99
	28,1	57,85	7,31	39,78	41,44	4,20	1,09	0,37	0,70	0,39	0,011	0,003	0,96

Para os PEC com baixas massas moleculares, a degradação das frações refratárias foi mais rápida em 25,4°C ($k_4 = 0,014 \text{ dia}^{-1}$). Nesse contexto citam-se que os coeficientes globais de degradação/lixiviação determinados para a decomposição de carboidratos de macrófitas aquáticas (*Cabomba piauhyensis* = 3,2 dia^{-1} e para de *Scirpus cubensis* = 2,5 dia^{-1} ; Cunha & Bianchini Jr., 1998) foram mais elevados do que os determinados na perdas de massa das frações lábeis/solúveis dos PEC de *S. iverseii* var. *americanum* (k_T ; Tabela 1). Por outro lado, os coeficientes de decomposição dos carboidratos dos detritos das macrófitas aquáticas mencionadas foram menores que os verificados para as frações refratárias (k_4 ; Tabela 1).

Em relação aos tempos de meia-vida (6,72 a 17,52 dias), constatou-se que os processos de solubilização (k_L) e degradação das frações lábeis (k_M) foram mais lentos que os verificados para os carboidratos na decomposição de *Cabomba piauhyensis* (≈ 5 horas) e *Scirpus cubensis* ($\approx 6,5$ horas) (Cunha & Bianchini Jr., 1998). O tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) relativo ao coeficiente global de perda de massa (k_T) das frações lábeis dos PEC com alta massa molecular foi menor (0,28 dia) na temperatura de 23,8°C e maior (0,73 dia) em 28,1°C; para os de baixa massa molecular o menor $t_{1/2}$ (0,40 dia) foi determinado na temperatura de 23,8°C e o maior (1,03 dia) em 19,3°C.

As frações dos polissacarídeos com massas moleculares mais altas são degradadas pelas bactérias mais rapidamente (em dias e/ou semanas) que as frações com baixa massa molecular (em meses) (Amon & Benner, 1996). Esse mesmo resultado foi verificado na degradação dos PEC de *S. iverseii* var. *americanum*; para os polissacarídeos com massas moleculares altas, o $t_{1/2}$ médio das frações refratárias (PEC-R) foi cerca de 54 dias; para os de baixa massa molecular, o $t_{1/2}$ médio foi aproximadamente 62 dias. É possível que esse evento esteja relacionado com a competição entre os processos de mineralização (*i.e.* conversão das formas orgânicas em inorgânicas) e formação de compostos húmicos. Nesse caso, as reações químicas envolvidas na humificação (e conseqüentemente na conversão de compostos em formas mais refratárias) teriam

sido favorecidas nos PEC de baixa massa molecular. Por outro lado, os polissacarídeos com massas moleculares mais elevadas seriam menos reativos quimicamente e mais disponíveis ao catabolismo microrganismos.

De acordo com Arnosti *et al.* (1994), as degradações de quatro polissacarídeos (sendo dois isolados de excretados de algas) constituíram-se em processos muito rápidos, com $t_{1/2}$ de 70 h. No presente estudo, os tempos de meia-vida determinados na degradação das frações lábeis (k_M) dos PEC de baixa massa molecular apresentaram-se na escala de horas, para os de alta massa molecular este tempo foi estimado em dias. Na degradação dos PEC de *Anabaena spiroides* adotou-se um modelo cinético de apenas uma fração (considerando-se, portanto, o substrato homogêneo), para a qual determinou-se que o coeficiente de perda de massa foi 0,001 dia⁻¹ ($t_{1/2}$: 693 dias), este coeficiente demonstra que tal polissacarídeo apresentou uma degradação relativamente lenta (Colombo, 2001); esse valor de coeficiente é uma ordem de magnitude maior que os obtidos nas mineralizações das frações refratárias dos PEC de *S. iverseii* var. *americanum* (de 0,010 a 0,022 dia⁻¹; Tabela 1).

Os ajustes das cinéticas das perdas de massa de PEC originaram coeficientes de determinação (r^2) entre 0,96 e 0,98 para os polissacarídeos de alta massa molecular e entre 0,96 a 0,99 para os de baixa (Figuras 2 e 3). De modo geral, os valores elevados dos coeficientes de determinação indicaram que o modelo cinético proposto foi adequado para representar as perdas de massa das frações particuladas desses polissacarídeos.

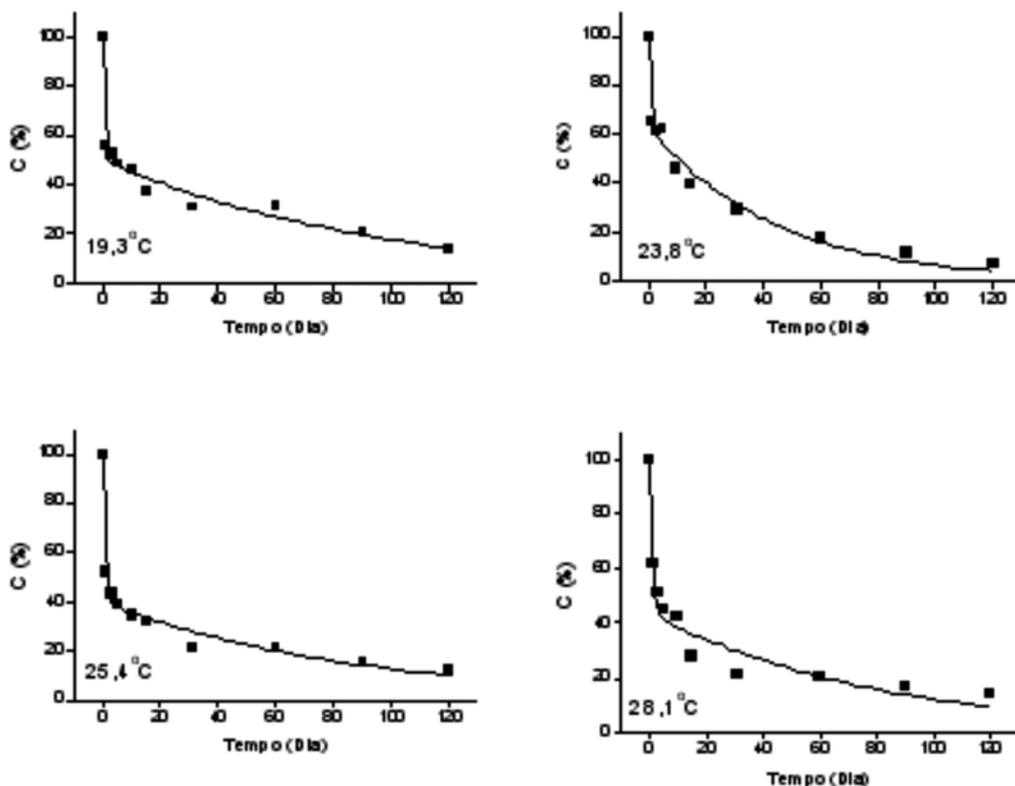


Figura 2. Variação temporal dos teores de carbono da degradação de PEC de *S. iverseii* var. *americanum* com alta massa molecular, em diferentes temperaturas.

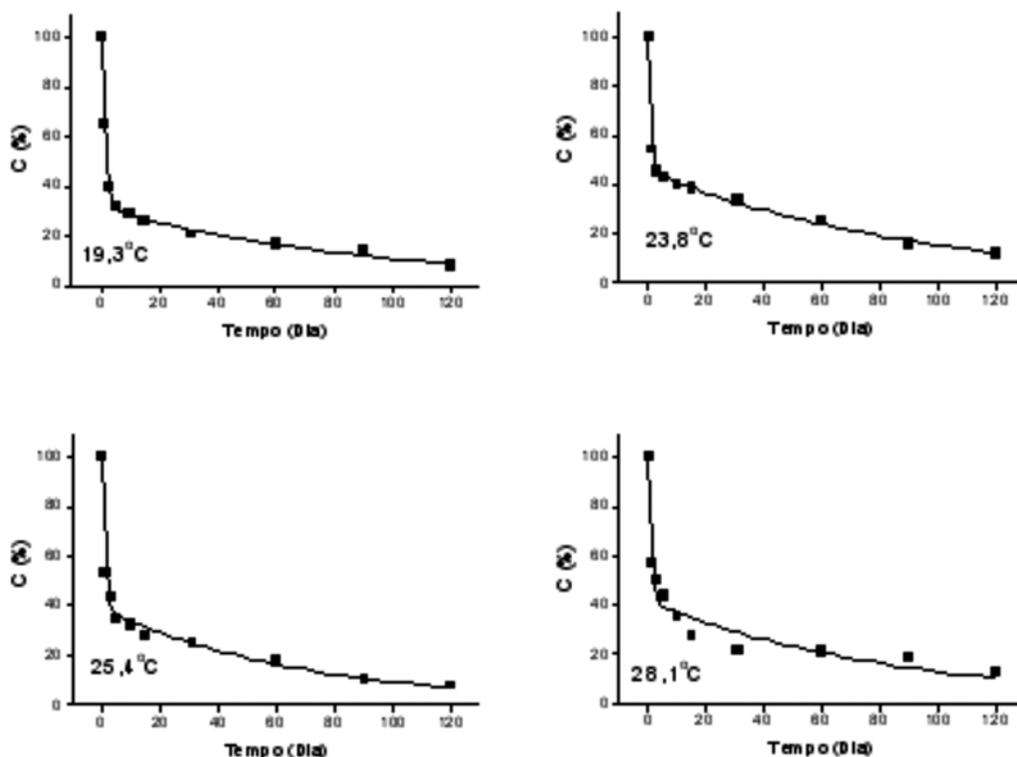


Figura 3. Variação temporal dos teores de carbono da degradação de PEC de *S. iverseii* var. *americanum* com baixa massa molecular, em diferentes temperaturas.

Para as cinéticas de perda de massa das frações dissolvidas dos PEC com massa molecular alta, os coeficientes de determinação variaram entre 0,63 e 0,83; para os PEC com massa molecular baixa, tais coeficientes oscilaram entre 0,34 a 0,87. Supõe-se que os valores baixos de r^2 possam ser devido às formações de substâncias dissolvidas refratárias (Figuras 4 e 5), revelando, nesse caso, que o modelo cinético adotado não previu a formação de tais compostos. No que se refere à formação de substâncias refratárias desde excretados de algas, experimentos realizados em laboratório registraram, com freqüência, baixos rendimentos para os processos de humificação (Antonio, 2004); esses experimentos ratificam a elevada importância dos PEC como fonte de energia, em detrimento da formação de compostos resistentes.

A exemplo do verificado na decomposição de carboidratos dissolvidos derivados de diatomáceas (Ogura & Gotoh, 1974), na degradação dos PEC de *S. iverseii* var. *americanum* também foram identificadas as ocorrências de duas fases: uma rápida e outra lenta (Figuras 2 e 3). Para os carboidratos de diatomáceas foram calculados coeficientes de decomposição para a fase rápida de $0,81 \text{ dia}^{-1}$ e de $0,016 \text{ dia}^{-1}$ para a fase lenta (Ogura & Gotoh, 1974), estes resultados são semelhantes aos valores obtidos para o coeficiente de degradação do COD (k_d) dos PEC de altas e baixas massas moleculares, em todas as temperaturas consideradas (Tabela 2).

De acordo com Ogura (1975), a decomposição da matéria orgânica dissolvida de águas

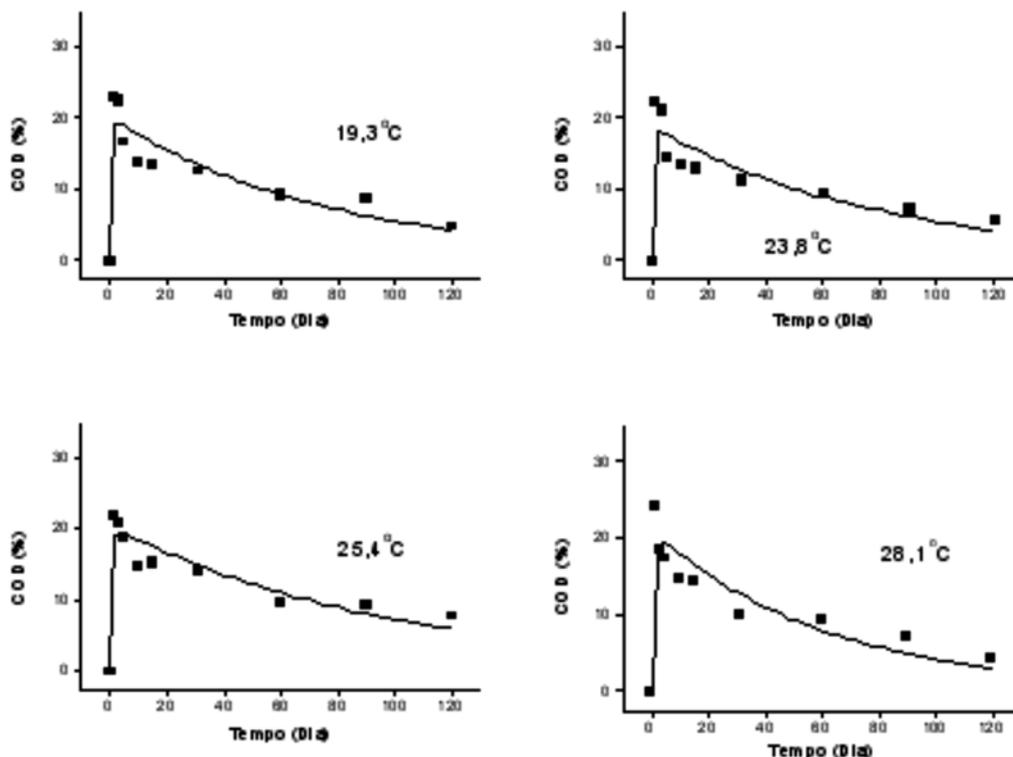


Figura 4. Variação temporal do COD da degradação de PEC de *S. iverseii* var. *americanum* com alta massa molecular, em diferentes temperaturas.

marinhas também apresentou perda de massa com duas fases; a fase rápida apresentou coeficientes que variaram entre 0,01 e 0,09 dia⁻¹. Esses valores foram semelhantes aos determinados para os coeficientes de degradação do COD de *S. iverseii* var. *americanum* (k_3 ; Tabela 2).

Os coeficientes de degradação do COD (k_3) dos PEC de alta massa molecular provavelmente sofreram uma ligeira influência da temperatura, já que a incubação a 28,1 °C foi na qual o processo mais rápido ocorreu (Tabela 2). Ao contrário do verificado para a degradação do COD do PEC com alta massa molecular, na temperatura de 28,1 °C, as frações dissolvidas dos PEC com baixa massa molecular apresentaram o menor coeficiente de degradação. Comparando-se os coeficientes de degradação do COD dos polissacarídeos (k_3) verifica-se que os obtidos da degradação dos PEC com massas moleculares altas foram, em média, menores que os obtidos da degradação dos PEC com baixa massa molecular (Figuras 6A e B). Os coeficientes de degradação das frações refratárias (k_4) aparentemente também não foram influenciados pela temperatura (Figura 6C e D).

Em geral, os compostos orgânicos extracelulares liberados pelo fitoplâncton são facilmente assimiláveis pela comunidade heterotrófica (Jensen, 1983), sendo que os produtos de baixa massa molecular são assimilados com taxas mais elevadas (Iturriaga & Zsolnay, 1981); entre os quais, os carboidratos constituem-se no substrato mais importante para o crescimento bacteriano (Hanish *et al.*, 1996).

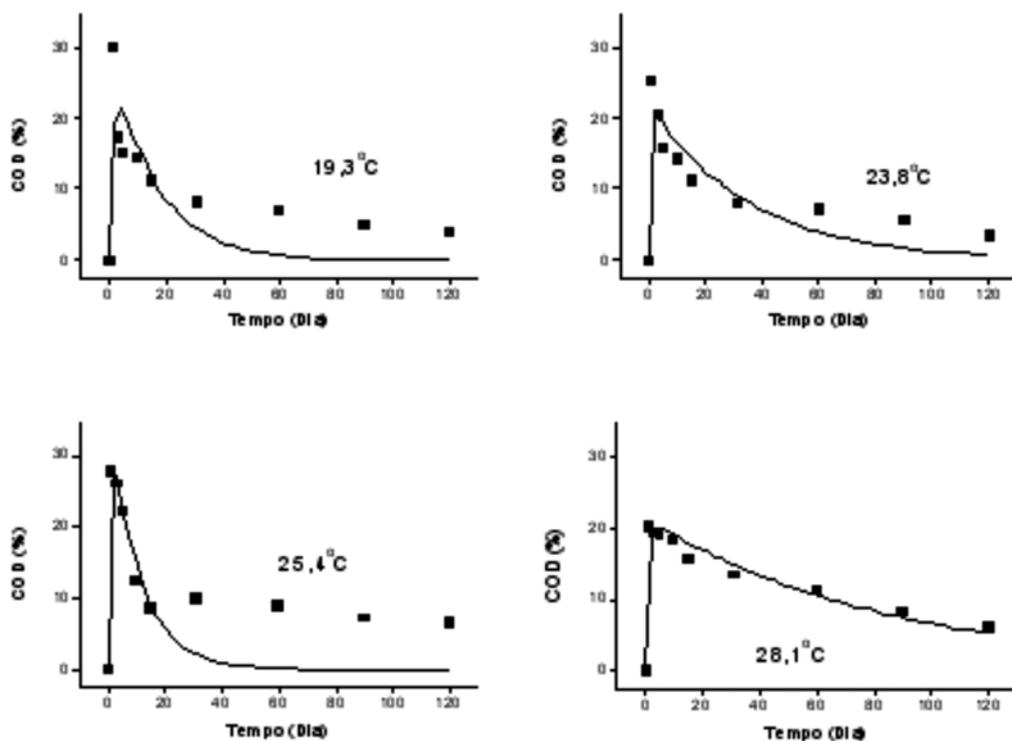


Figura 5. Variação temporal do COD da degradação de PEC de *S. iverseii* var. *americanum* com baixa massa molecular, em diferentes temperaturas.

Tabela 2. Parametrização do modelo cinético da degradação de polissacarídeos < 0,22 μm (com altas e baixas massas moleculares) excretados de *S. iverseii* var. *americanum* (COD).

	Temp. (°C)	COD (%)	Erro	k_3 (dia ⁻¹)	Erro	r^2
MM alta	19,3	20,04	1,71	0,013	0,003	0,83
	23,8	18,64	1,59	0,012	0,003	0,82
	25,4	20,36	1,55	0,010	0,002	0,83
	28,1	20,87	2,82	0,016	0,006	0,63
MM baixa	19,3	27,53	7,50	0,062	0,040	0,34
	23,8	21,81	2,58	0,028	0,009	0,78
	25,4	34,60	5,95	0,092	0,034	0,66
	28,1	21,07	1,38	0,011	0,002	0,87

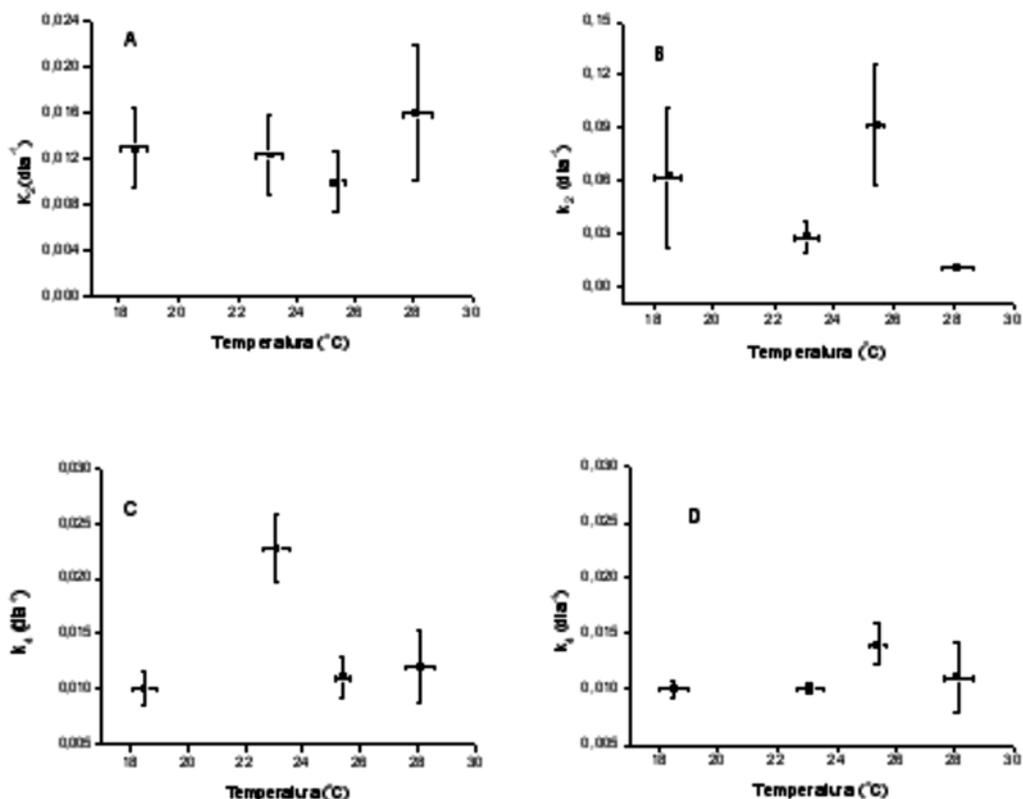


Figura 6. Variações dos coeficientes de degradação do COD e do PEC-R de polissacarídeos com alta (A e C) e baixa massas moleculares (B e D).

Nesse contexto, alguns fatores influenciam a quantidade de substâncias excretadas pelo fitoplâncton, tais como: (i) a idade das células que dependendo do período de crescimento, podem excretar mais ou menos polissacarídeos (Bunte & Simon, 1999); (ii) os meios de cultura, que podem influenciar o comportamento fisiológico das algas; (iii) a intensidade luminosa, que por sua vez, influencia o processo de fotossíntese e conseqüentemente, a excreção de substâncias pelas algas (Zlotnik & Dublinsky, 1989).

O COD consiste em conjunto de diferentes substâncias com baixas ($x \leq 1$ kDa) e altas (principalmente $x \geq 100$ kDa) massas moleculares. Foi sugerido que as bactérias normalmente utilizam os compostos com baixas massas moleculares, sendo que os PEC de diatomáceas são mais utilizados que os liberados por cianofíceas (Cho *et al.*, 1997). Freire-Nordi & Vieira (1996) demonstraram que os microrganismos transformam as substâncias de altas para baixas massas moleculares para poderem utilizá-las como fonte de carbono. Corroborando esta teoria, Maurin, Amblard & Bourdier (1997) demonstraram que as bactérias assimilam rapidamente as moléculas com baixa massa molecular. Segundo Agustí *et al.* (1998), as bactérias heterotróficas não podem utilizar diretamente moléculas com alta massa molecular, antes de serem utilizadas, as

macromoléculas são enzimaticamente degradadas em unidades menores, através de exoenzimas hidrolíticas. Os produtos excretados pelo fitoplâncton são formados por substâncias de massas moleculares baixas que são rapidamente e preferencialmente consumidas; a quantidade, em lugar da qualidade dos excretados pelo fitoplâncton, não tem importância para comunidade heterotrófica (Maurin *et al.*, 1997).

No geral, com base no experimento realizado foi possível verificar que as mineralizações dos PEC com baixas e altas massas moleculares ocorreram através de três caminhos. Em média, os processos rápidos ($t_{1/2} \approx 0,55$ dia) converteram 30,51% e 34,2% dos PEC com altas e baixas massas moleculares, respectivamente. Os PEC com baixa massa molecular geraram mais formas solúveis (valor médio: 26,2%) que os com alta massa molecular (valor médio: 19,9%). Os coeficientes de degradação das frações solúveis dos PEC com massa molecular baixa foram, em média, 3,8 vezes mais elevados que os verificados para as frações solúveis dos com massa molecular alta. Os coeficientes de degradação das frações refratárias dos polissacarídeos (PEC-R) foram equivalentes, no entanto, em termos médios, a degradação das frações refratárias dos PEC com massa molecular alta apresentou-se ligeiramente mais rápida (valor médio de k_4 : 0,014 dia⁻¹). O aumento da temperatura tendeu a incrementar a quantidade de material mineralizado através da 1ª rota (processos respiratórios rápidos e reações de oxidação) na degradação dos PEC com massa molecular alta. O contrário desta tendência verificou-se para os PEC com massa molecular baixa (Figura 7).

Com base nos procedimentos experimentais adotados, os resultados obtidos permitiram chegar às seguintes conclusões: (i) os coeficientes de degradação das frações refratárias (k_4) dos PEC (com altas e baixas massas moleculares) de *S. iversenii* var. *americanum* foram equivalentes. Contudo, em termos médios, as degradações das frações refratárias PEC com massas moleculares altas foram mais rápidas; (ii) na degradação dos polissacarídeos com alta massa molecular o aumento da temperatura tendeu a incrementar a quantidade de material decomposto através de processos rápidos (1ª rota: respiração e oxidação química). O contrário ocorreu para os polissacarídeos com baixa massa molecular, para os quais o incremento da temperatura favoreceu a predominância dos processos lentos de degradação; (iii) os modelos matemáticos adotados para as descrições dos processos de decomposição dos PEC (alta e baixa massas moleculares) foram sensíveis. Em geral, o confronto dos resultados experimentais com os teóricos gerou coeficientes de determinação elevados e (vi) a decomposição dos PEC de *S. iversenii* var. *americanum* disponibiliza rapidamente grande quantidade de energia e matéria para os microrganismos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), ao CNPq (processos: 300959/2004-4 e 150169/2004-3) à FAPESP (processo: 99/07766-0).

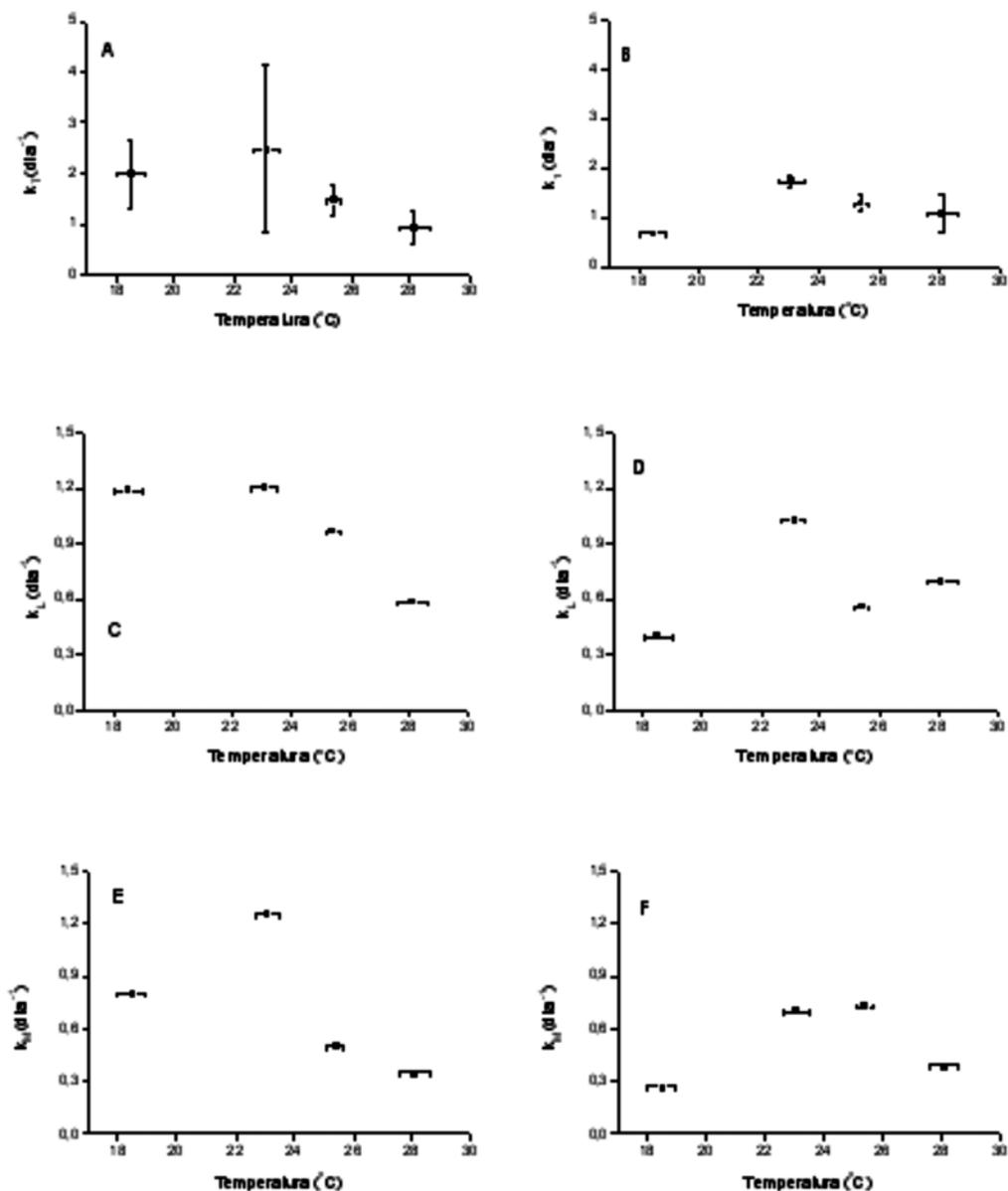


Figura 7. Variações dos coeficientes globais de degradação do PEC-LS (k_r): A e B; dos coeficientes de lixiviação (C e D) e dos coeficientes de degradação (E e F); dos PEC com altas (A, C e E) e baixas massas moleculares (B, D e F).

REFERÊNCIAS

- AGUSTÍ, S.; SATTÀ, M.P.; MURA, M.P. & BENAVENT, E., 1998. Dissolved esterase activity as a trace of phytoplankton lysis: evidence of high phytoplankton lysis rates in the northwestern Mediterranean. *Limnology and Oceanography*, **43**: 1836-1849.
- AMON, R.M.W. & BENNER, R., 1996. Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnology and Oceanography*, **4**: 41-51.

ANTONIO, R. M., 2004. **Potencial de heterotrofia do reservatório de Barra Bonita (SP), com ênfase na decomposição de polissacarídeos extracelulares de espécies fitoplanctônicas**. 135p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

ARNOSTI, C.; REPETA, D.J. & BLOUGH, N.V., 1994. Rapid bacterial degradation of polysaccharides in anoxic marine systems. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, **58**: 2639–2652.

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

BIANCHINI JR., I. & TOLEDO, A.P.P., 1995. Estudo da mineralização de Nymphoides indica. In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 7, 1996, São Carlos. **Anais...** São Carlos: Universidade Federal de São Carlos. p.1315-1329.

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

BIDDANDA, B. & BENNER, R., 1997. Carbon, nitrogen and carbohydrates fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, **42**: 506-518.

BUNTE, C. & SIMON, M., 1999. Bacterioplankton turnover of dissolved free monosaccharides in a mesotrophic lake. **Limnology and Oceanography**, **44**: 1862–1870.

CALIJURI, M.C., 1988. **Respostas fisioecológicas das comunidades fitoplanctônica e fatores ecológicos em ecossistemas com diferentes estágios de eutrofização**. 293p. Tese (Doutorado em Hidráulica e Saneamento) – Programa de Pós Graduação em Hidráulica e Saneamento, Universidade de São Carlos, São Carlos.

CALIJURI, M.C. & DOS SANTOS, A.C.A., 2001. Temporal variations in phytoplankton primary production in a tropical reservoir (Barra Bonita, SP – Brazil). **Hydrobiologia**, **445**: 11-26.

CALIJURI, M.C.; DOS SANTOS, A.C.A. & JATI, S., 2002. Temporal changes in the phytoplankton community structure in a tropical and eutrophic reservoir (Barra Bonita, S.P. – Brazil). **Journal of Plankton Research**, **24**: 617–634.

CALIJURI, M.C. & TUNDISI, J.G., 1990. Limnologia comparada das represas do Lobo (Broa) e Barra Bonita – Estado de São Paulo: Mecanismos de funcionamento e bases para o gerenciamento. **Revista Brasileira de Biologia**, **50**: 893-913.

CHAPLIN, M.F. & KENNEDY, J.F., 1995. **Carbohydrate Analysis. A Practical Approach**. Oxford: Irl Press. 244p.

CHO, J.C.; KIM, M.W.; LEE, D.H. & KIM, S.J., 1997. Response of bacterial communities to changes in composition of extracellular organic carbon from phytoplankton in Daechung Reservoir (Korea). **Archives of Hydrobiology**, **138**: 559–576.

CHRÓST, R.J. & FAUST, M.A., 1980. Organic carbon released by phytoplankton: its composition and utilization by bacterioplankton. **Journal of Plankton Research**, **5**: 325–332.

COLOMBO, V., 2001. **Degradação do polissacarídeo extracelular excretado por *Anabaena spiroides* (CYANOPHYCEAE) e glicosidades envolvidas no processo**. 102p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

CUNHA, M.B. & BIANCHINI JR., I., 1998. Cinética de mineralização aeróbia de celulose e lignina durante a degradação de *Cabomba piauhyensis* e *Scirpus cubensis* **Acta Limnologica Brasiliensia**, **12**: 59–69.

DÍAZ, G.R.A., 1990. **Flutuações nictemerais dos fatores ecológicos na represa de Barra Bonita – Médio Tietê – SP**. 157p. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

FOGG, G.E., 1983. Ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. **Botanica Marina**, **26**: 3–14.

FREIRE-NORDI, C.S. & VIEIRA, A.A.H., 1996. Utilization of extracellular polysaccharides from *Ankistrodesmus densus* Kors. (Chlorophyceae) by heterotrophic bacteria. **Revista de Microbiologia**, **27**: 27–32.

GUILLARD, R.L. & LORENZEN, C.J., 1972. Yellow algae with chlorophyllid-c. **Journal of Phycology**, **8**: 10–14.

HANISH, K.; SCHWEITZER, B. & SIMON, M., 1996. Use of dissolved carbohydrates by planktonic bacteria in a mesotrophic lake. **Microbial Ecology**, New York, 31:41–55.

HELLEBUST, J.A., 1974. Extracellular products. In: STEWART, W.D.P. (Ed.) **Algal physiology and biochemistry**. Oxford: Blackwell Scientific Publication, p.838–863.

HULTH, S.; TENGBERG, A.; LANDÉN, A. & HALL, P.O.J., 1997. Mineralization and burial of organic carbon in sediments of the southern Weddell Sea (Antarctica). **Deep Sea Research - Part I. Oceanographic Research Papers**, **44**: 955–981.

IGNATIADIS, L. & FOGG, G.E., 1973. Studies of the factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve in culture. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, **53**: 937–956.

ILEC (International Lake Environment Committee), 2003. Disponível em <<http://www.ilec.or.jp>>. Acesso em: 10 abr. 2003.

ITURRIAGA, R. & ZSOLNAY, A., 1983. Heterotrophic uptake and transformation of phytoplankton extracellular products. **Botanica Marina**, **26**: 375–381.

JENSEN, L. M., 1983. Phytoplankton release of extracellular organic carbon, molecular weight composition, and bacterial assimilation. **Marine Ecology Progress Series**, **11**: 39–48.

JUGNIA, L.B.; TADONLÉKÉ, R. D.; SIME-NGANDO, T. & DEVAUX, J., 2000. The microbial food web in the recently flooded deep reservoir: diel fluctuations in bacterial biomass and metabolic activity in relation to phytoplankton and flagellates grazer. **Microbial Ecology**, **40**: 317–329.

LYNCH, J.M & HOBBIÉ, J.E., 1979. **Micro-organism in Action: Concepts and Application in Microbial Ecology**. Oxford, Blackwell Scientific Publication. 363p.

MAURIN, N.; AMBLARD, C. & BOURDIER, G., 1997. Phytoplanktonic excretion and bacterial re-assimilation in an oligomesotrophic lake: molecular weight fractionation. **Journal of Plankton Research**, **19**: 1045–1068.

MINOR, E.C. & EGLINTON, T. I., 1999. Molecular-level variations in particulate organic matter subclasses along the Mid-Atlantic Bight. **Marine Chemistry**, **67**: 103–122.

OGURA, N., 1975. Further studies on decomposition of dissolved organic matter in coastal seawater. **Marine Biology**, **31**: 101–111.

OGURA, N. & GOTOH, T., 1974. Decomposition of dissolved carbohydrates derived from diatoms of lake Yuno-ko. **Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie**, **59**: 39–47.

PACOBABHYBA, L.D., 2002. **Decomposição de *Straurastrum iversenii* Nygaard var. *americanum*: efeitos da qualidade do recurso, da disponibilidade de oxigênio e da temperatura.** 118p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais) – Programa de Pós Graduação em Ecologia E recursos Naturais, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

PANHOTA, R.S. & BIANCHINI JR., I., 2003. Potential cycling of organic matter in a eutrophic reservoir (Barra Bonita, SP – Brazil). **Acta Limnologica Brasiliensia**, **15**: 1–11.

PAULSEN, B.S. & VIEIRA, A.A.H., 1994. Structure of the capsular and extracellular polysaccharides produced by the desmid *Spondylosium panduriforme* (Chlorophyta). **Journal of Phycology**, **30**: 638-641.

POMEROY, L.R., 1974. The ocean's food web, a changing paradigm. **Bioscience**, **24**: 499-504.

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

TERZIÉ, S.; AHEL, M.; CAUWET, G. & MALEJ, A., 1998. Group-specific phytoplankton biomass/dissolved carbohydrates relationships in the Gulf of Trieste (Northern Adriatic). **Hydrobiologia**, **363**: 191-205.

VIEIRA, A.A.H. & NASCIMENTO, O.R., 1989. Copper immobilization by high molecular weight compounds excreted by aging culture of *Ankistrodesmus densus* (Chlorococcales). **Revista de Microbiologia**, **20**: 133-139.

ZLOTNIK, I. & DUBINSKY, Z., 1989. The effect of light and temperature on dissolved organic carbon excretion by phytoplankton. **Limnology and Oceanography**, **34**: 831-839.