

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA APLICADA A  
CONSERVAÇÃO E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS

BACTERIOPLÂNCTON EM RESERVATÓRIOS TROPICAIS DE GERAÇÃO DE  
ENERGIA: VARIAÇÃO NO ESPAÇO E NO TEMPO DA ESTRUTURA DA  
COMUNIDADE BACTERIANA EM SETE RESERVATÓRIOS DE  
FURNAS CENTRAIS ELÉTRICAS S.A.

**ALESSANDRO DEL'DUCA TEIXEIRA**

DISSERTAÇÃO APRESENTADA COMO REQUISITO  
PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE.  
ORIENTADORA: Profa. Dra. Dionéia Evangelista Cesar

JUIZ DE FORA - BRASIL  
AGOSTO DE 2007

DEL'DUCA, ALESSANDRO

Bacterioplâncton em Reservatórios Tropicais de Geração de Energia: Variação no Espaço e no Tempo da Estrutura Bacteriana em Sete Reservatórios de FURNAS Centrais Elétricas S.A. [Minas Gerais] 2007

xv, 115 pp. 29,7 cm (Instituto de Ciências Biológicas/UFJF, M.Sc., PGECOL, 2007)

Dissertação - Universidade Federal de Juiz de Fora, PGECOL

1. Bacterioplâncton; 2. Reservatórios; 3. Estrutura de Comunidade

I. ICB/UFJF II. Título ( série )

Dedico esta dissertação à minha mãe, Angela, a meus irmãos Alex e Allan, a meu  
sobrinho Lucas e à Mariana.

## **AGRADECIMENTOS**

- Agradeço aos meus familiares, principalmente à minha mãe e a meus irmãos, que sempre estiveram ao meu lado e me apoiaram nos caminhos que resolvi seguir. Ao Lucas, meu sobrinho, que sempre “brincava” comigo para me distrair e espairecer um pouco.
- Agradeço (e muito!!!) à Mariana, que foi quem suportou-me nestes dois anos (e até mais, né, Mari...). Foi ela quem me mostrava que nem tudo “estava perdido” e que a vida valia a pena nas muitas vezes que eu achava que não ia dar conta de tudo. Isso sem contar que sabia entender o porquê de, às vezes, eu estar “ausente”. À você, LINDA, muito mais que um obrigado e uma dedicatória e você sabe muito bem disso!!!
- Agradeço a todos os funcionários, professores e alunos do Colégio Magister, que foi onde eu comecei a me despertar como cientista. À Dona Tereza, que não foi somente a diretora do colégio, foi quem me deu a oportunidade de crescer também como professor e educador.
- Agradeço à Dra. Dionéia Cesar, que foi quem me orientou com muita competência e maestria nestes anos de graduação e mestrado e que enxergou em mim um cientista!
- À amiga Dionéia que sempre esteve ao meu lado (e não só como orientadora de mestrado), mas que se preocupava com as coisas que se passavam, tanto no âmbito profissional quanto pessoal!
- Agradeço a TODOS meus amigos, mas principalmente ao Saulo, quem muito contribuiu para que me distraísse, quando necessário, e ao Thiago, que se mostrava sempre aberto a conversas sobre a vida, sobre profissão e sobre bobearias.

- Agradeço a todas as pessoas do Laboratório de Ecologia Aquática tanto pela amizade, quanto pelo apoio para realização deste trabalho.
- Agradeço ao Felipe, à Natália, ao Caíque, à Bel (que já estão dentro dos “amigos”) e à Mari (que já estava lá em cima também) por terem feito de Pequerê (ou Perequê...?) uma das melhores viagens que já fiz e que muito renovou e me deu gás para a reta final do mestrado.
- Agradeço aos Dr. Paulo Abreu e ao Dr. Cláudio Diniz por terem aceitado o convite de fazer a revisão desta dissertação e que, sem dúvidas, muito enriqueceram a mesma com seus comentários e sugestões.
- Agradeço a FURNAS Centrais Elétricas S.A., na pessoa do Msc. André Cimberis, coordenador do “Projeto Balanço de Carbono nos Reservatórios de FURNAS Centrais Elétricas S.A.”, por ter dado a oportunidade de desenvolver o presente trabalho com apoios financeiros e logísticos para a realização do mesmo. E a todos os pesquisadores dos grupos que fazem parte deste projeto.
- Agradeço ao Dr. Fábio Roland, coordenador do curso de pós-graduação e do subprojeto Limnologia e Metabolismo Planctônico do Projeto Balanço de Carbono nos Reservatórios de FURNAS Centrais Elétricas S.A., que concedeu a bolsa de mestrado para o desenvolvimento deste trabalho, além de ter contribuído com sugestões para o mesmo.
- Agradeço aos professores do programa de pós-graduação em Ecologia da UFJF por contribuírem para minha formação profissional.
- Agradeço a todos os alunos da pós-graduação em Ecologia, que hoje já são e aos que ainda serão mestres, pela amizade e discussões produtivas durante as disciplinas e fora delas também.

## **RESUMO**

A densidade, diversidade, biomassa e atividade de microrganismos heterotróficos são de importância inquestionável dentro da cadeia alimentar em ecossistemas aquáticos. Estes atributos foram avaliados nos seguintes reservatórios de geração de energia do Sistema FURNAS Centrais Elétricas S.A.: Serra da Mesa (GO), Manso (MT); Itumbiara(GO), Corumbá (GO); Mascarenhas de Moraes(MG), Furnas (MG); e Luis Carlos Barreto (SP). Primeiramente, foi avaliada a densidade e biomassa da comunidade bacteriana e estimado o estoque de carbono bacteriano nestes sete reservatórios em diferentes épocas do ano. Maiores densidades bacterianas foram encontradas antes do período chuvoso em todos os reservatórios e correlacionaram com a turbidez da água em todos os períodos. Embora o reservatório com maior área (Serra da Mesa) tenha apresentado o maior estoque de carbono bacteriano, nem sempre o estoque de carbono foi proporcional ao tamanho dos reservatórios. Em seguida, foi avaliada a composição da comunidade bacteriana nestes reservatórios dentro do contexto biogeográfico. Características específicas de distribuição foram encontradas dentro e entre os reservatórios. Depois, a densidade, biomassa e composição da comunidade bacteriana foram avaliadas dentro de um gradiente montante-barragem-jusante nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá no período de chuva e seca. O efeito da diluição da água pela chuva e no gradiente montante-barragem não foi observado da mesma forma para todas variáveis e nem para todos os reservatórios. Por último, a estrutura e a produção da comunidade bacteriana foram estudadas ao longo de um perfil vertical na barragem do reservatório mais profundo (Serra da Mesa). Comunidades distintas foram encontradas nas profundidades relacionando com a concentração de oxigênio dissolvido e compostos nitrogenados. Assim, os reservatórios estudados apresentaram distintas variações no espaço e no tempo da estrutura de comunidade bacteriana.

## **ABSTRACT**

Density, diversity, biomass and activity of heterotrophic microorganisms have an unquestioned importance on aquatic food web. These attributes have been evaluated in the following energy generation reservoir of FURNAS Centrais Elétricas S.A.: Serra da Mesa (GO), Manso (MT), Itumbiara (GO), Corumbá (GO), Mascarenhas de Moraes (MG), Furnas (MG) e Luis Carlos Barreto (SP). First, bacterial community structure and bacterial carbon supply were estimated in these seven reservoirs at different seasons. Highest bacterial densities were found before the rainy period in all the reservoirs and were correlated with turbidity in all periods. Although the biggest reservoir (Serra da Mesa) presented the highest bacterial carbon supply, it was not always proportional to the reservoir size. After, the bacterial community composition in these reservoirs was evaluated in biogeography context. Specific distribution characteristics were found inside and between the reservoirs. The bacterial density, biomass and composition were evaluated in comparison to the water dilution factor in the reservoirs of Serra da Mesa, Manso, Itumbiara and Corumbá in rainy and dry periods. The influence of dilution effect was not observed in the same way for all variables and nor for all reservoirs. Finally, bacterial community structure and production were studied throughout a vertical profile in the deepest reservoir (Serra da Mesa). Distinct communities were found in the depths relating with dissolved oxygen concentration and nitrogen compounds. Thus, the studied reservoir presented distinct and variations in the space and in the time of bacterial community structure.

## SUMÁRIO

Resumo	vi
Abstract	vii
Índice de Figuras	x
Índice de Tabelas	xiv
Introdução Geral	01
Referências Bibliográficas	06
Área de Estudo	08
Capítulo 1: Distribuição Espaço-Temporal do Estoque de Carbono Bacteriano em Sete Reservatórios Tropicais Brasileiros	15
Resumo	15
Introdução	16
Material e Métodos	18
Resultados	21
Discussão	36
Referências Bibliográficas	41
Capítulo 2: Biogeografia de grandes grupos bacterianos em sete reservatórios tropicais brasileiros	46
Resumo	46
Introdução	47
Material e Métodos	49
Resultados	52
Discussão	65
Referências Bibliográficas	71

Capítulo 3: Estrutura da Comunidade Bacteriana em Quatro Reservatórios Tropicais em Períodos de Chuva e de Seca	76
Resumo	76
Introdução	77
Material e Métodos	78
Resultados	81
Discussão	89
Referências Bibliográficas	95
Capítulo 4: Concentração de Oxigênio e suas Implicações na Estrutura e Metabolismo Bacteriano em Reservatório Profundo	100
Resumo	100
Introdução	101
Material e Métodos	102
Resultados	104
Discussão	112
Referências Bibliográficas	115

## ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. A1 – Mapa do reservatório de Serra da Mesa (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:700.000).	08
Fig. A2 – Mapa do reservatório de Manso (MT), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:400.000).	09
Fig. A3 – Mapa do reservatório de Itumbiara (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:600.000).	10
Fig. A4 – Mapa do reservatório de Corumbá (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).	11
Fig. A5 – Mapa do reservatório de Furnas (MG), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:800.000).	12
Fig. A6 – Mapa do reservatório de Mascarenhas de Moraes (MG), destacando a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).	13
Fig. A7 – Mapa do reservatório Luis Carlos Barreto (SP), destacando a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).	14
Fig. 1.1 – Box plot com média, mediana e desvio padrão dos valores de densidade bacteriana (células. $10^6$ .mL <sup>-1</sup> – A, C e E) e de biomassa bacteriana ( $\mu$ g C L <sup>-1</sup> – B, D e F) nos reservatórios de Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Frunas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) nos períodos pré-chuva (A e B), pós-chuva (C e D) e de seca (E e F).	23
Fig. 1.2 – Densidade bacteriana total (células. $10^6$ .mL <sup>-1</sup> – A, C e E) e biomassa bacteriana total ( $\mu$ g C L <sup>-1</sup> – B, D e F) nos compartimentos dos sete reservatórios estudados nos períodos pré-chuva (A e B), pós-chuva (C e D) e de seca (E e F).	25
Fig. 1.3 – Elongação e biovolume bacterianos (escala logaritmizada) encontrados nos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D) nos períodos pré-chuva (círculos cheios e linha cheia), pós-chuva (círculos vazios e linha tracejada) e de seca (triângulos vazios e linha pontilhada).	27
Fig. 1.4 – Elongação e biovolume bacterianos (escala logaritmizada) encontrados nos reservatórios de Furnas (A), Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto (C) nos períodos pré-chuva (círculos cheios e linha cheia), pós-chuva (círculos vazios e linha tracejada) e de seca (triângulos vazios e linha pontilhada).	28

- Fig. 1.5 – Análise de componentes principais das variáveis bióticas e abióticas com os dois principais eixos (A) e distribuição dos pontos dos reservatórios segundo estas variáveis (B) em Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) no período pré-chuva. 33
- Fig. 1.6 – Análise de componentes principais das variáveis bióticas e abióticas com os dois principais eixos (A) e distribuição dos pontos dos reservatórios segundo estas variáveis (B) em Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) no período pós-chuva. 34
- Fig. 1.7 – Análise de componentes principais das variáveis bióticas e abióticas com os dois principais eixos (A) e distribuição dos pontos dos reservatórios segundo estas variáveis (B) em Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) no período de seca. 35
- Fig. 2.1 – Densidade bacteriana ( $\text{célula} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) em A e biomassa bacteriana total ( $\mu\text{g C L}^{-1}$ ) em B nos ambientes dos sete reservatórios 54
- Fig. 2.2 – Densidade relativa dos grupos bacterianos analisados (% da densidade bacteriana total) nos ambientes dos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D). 56
- Fig. 2.3 – Densidade relativa dos grupos bacterianos (% da densidade bacteriana total) nos ambientes dos reservatórios em cascata do Rio Grande (Furnas - A, Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto - C). 57
- Fig. 2.4 – Similaridade da comunidade bacteriana nos ambientes amostrados (T – ambiente de entrada, B – barragem e J – ambiente de saída) nos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D) usando o índice de Morisita-Horn. Gradiente claro-escuro indica maior-menor similaridade. 59
- Fig. 2.5 – Similaridade da comunidade bacteriana nos ambientes amostrados (T – ambiente de entrada, B – barragem e J – ambiente de saída) nos reservatórios de Furnas (A), Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto (C) usando o índice de Morisita-Horn. Gradiente claro-escuro indica maior-menor similaridade. 60
- Fig. 2.6 – Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Serra da Mesa. 61

- Fig. 2.7 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Manso. 62
- Fig. 2.8 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Itumbiara. 62
- Fig. 2.9 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Corumbá. 63
- Fig. 2.10 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) nos reservatórios em cascata do rio Grande considerado com único sistema. 64
- Fig. 2.11 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) em todos os reservatórios avaliados conjuntamente. 65
- Fig. 3.1 – Densidade Bacteriana ( $\text{céls.} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) na montante, barragem e jusante nos períodos de chuva (A) e seca (B) dos quatro reservatórios estudados. 82
- Fig. 3.2 – Biomassa Bacteriana ( $\mu\text{g C L}^{-1}$ ) na montante, barragem e jusante nos períodos de chuva (A) e de seca (B) dos quatro reservatórios tropicais estudados. 83
- Fig. 3.3 – Densidade relativa (% da densidade bacteriana total) dos grupos bacterianos (alfa-,beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter*) na montante, barragem e jusante de Serra da Mesa (A - chuva e B - seca), Manso (C -chuva e D - seca), Itumbiara (E - chuva e F - seca) e Corumbá (G - chuva e H – seca). 86
- Fig. 3.4 – Biomassa relativa (% da biomassa bacteriana total) dos grupos bacterianos (alfa-,beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter*) na montante, barragem e jusante de Serra da Mesa (A - chuva e B - seca), Manso (C -chuva e D - seca), Itumbiara (E - chuva e F - seca) e Corumbá (G - chuva e H – seca). 88

Fig. 4.1 – Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) e concentrações de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e de carbono orgânico dissolvido (COD -  $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004. 105

Fig. 4.2 – Concentrações de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), de nitrogênio amoniacal ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e de nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004. 106

Fig. 4.3 – Densidade ( $\text{cél.s.}10^6.\text{mL}^{-1}$ ) e biomassa bacteriana ( $\mu\text{g C.L}^{-1}$ ) e concentração de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004. 107

Fig 4.4 – Produção bacteriana ( $\mu\text{g C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) e concentração de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004 108

Fig. 4.5 - Elongação e volume das células bacterianas (escala logarítmica) na subsuperfície (A), 6 m (B), 12 m (C), 47 m (D) e 107 m (E) em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004 109

## ÍNDICE DE TABELAS

- Tabela 1.1: Área (km<sup>2</sup>), volume (km<sup>3</sup>), tempo de alagamento (IDADE - anos), biomassa fitoplanctônica (BFITO - µg C L<sup>-1</sup>) e zooplanctônica (BZOO - mg C L<sup>-1</sup>), temperatura (TEMP - °C) e transparência da água (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), condutividade (COND - mS cm<sup>-1</sup>), concentrações de carbono dissolvido (COD - mg L<sup>-1</sup>), de nitrogênio total (NT - µg L<sup>-1</sup>) e de fósforo total (PT - µg L<sup>-1</sup>) nos mesmos pontos dos reservatórios e períodos de amostra para a comunidade bacteriana. 19
- Tabela 1.2 – Estimativa do número de células bacterianas (DB – céls.10<sup>12</sup>.m<sup>-2</sup>) e do estoque de carbono bacteriano (BB – mg C. m<sup>-2</sup>) em cada reservatório, integrando os dados com a profundidade de coleta (0,5 m). 29
- Tabela 1.3 – Estimativa do número de células bacterianas (DB - céls.10<sup>20</sup>) e do estoque de carbono bacteriano (BB – 10<sup>5</sup> g C) dos dados integrados com a profundidade de coleta (0,5 m) encontrado nos reservatórios estudados. 29
- Tabela 1.4 – Correlações (r<sup>2</sup>) entre densidade bacteriana total (DB) e a biomassa total (BB) com as biomassas do fitoplâncton (BFITO) e do zooplâncton (BZOO), com a transparência da água (SECCHI), turbidez (TURB), carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) nos reservatórios estudados. 31
- Tabela 1.5 – Correlações (r<sup>2</sup>) entre densidade bacteriana total (DB total) e a biomassa total (BB total) com a biomassa total de carbono do fitoplâncton (Bfito), a biomassa total do zooplâncton (Bzoo), transparência da água (Secchi), turbidez (Turb), carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) nos períodos analisados. 32
- Tabela 2.1 – Características dos reservatórios brasileiros estudados: área alagada (ÁREA – km<sup>2</sup>), volume (km<sup>3</sup>), tempo de alagamento (IDADE – anos) e tempo de residência (dias). 50
- Tabela 2.2 - Média ± desvio-padrão de temperatura (Temp. - °C), transparência (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), condutividade (COND - mS cm<sup>-1</sup>), concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD – mg L<sup>-1</sup>), de nitrogênio total (NT - µg L<sup>-1</sup>) e fósforo total (PT - µg L<sup>-1</sup>) da água nos sete reservatórios estudados. 52

Tabela 2.3 – Correlações ( $r^2$ ) entre a densidade absoluta dos grupos de alfa- (ALFA), beta- (BETA) e gama-proteobactérias (GAMA) e <i>Cytophaga-Flavobacter</i> (CF) com a temperatura (TEMP), a transparência (SECCHI), a turbidez (TURB), a condutividade (COND) e com as concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) da água nos reservatórios estudados.	58
Tabela 2.4 – Variância (média±desvio padrão) da densidade bacteriana total (DB), de cada grupo bacteriano analisado e de todos grupos bacterianos analisados nos sete reservatórios estudados. Os dados da média estão em células. $10^4$ .mL <sup>-1</sup> .	58
Tabela 3.1 – Marcadores específicos utilizados para análise da composição da comunidade bacteriana por FISH.	80
Tabela 3.2 – Área alagada (ÁREA - km <sup>2</sup> ), volume (km <sup>3</sup> ), tempo de residência (Residência - dias) e pluviosidade acumulada no mês de coleta (mm) nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá na chuva (março-abril) e na seca (julho-agosto) nos anos de 2004 (Serra da Mesa e Manso) e de 2005 (Itumbiara e Corumbá).	81
Tabela 3.3 – Média (desvio padrão) dos valores de biomassa zooplanctônica (BZOO – mg C L <sup>-1</sup> ), de transparência (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), de concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD – mg L <sup>-1</sup> ), de nitrogênio total (NT - µg L <sup>-1</sup> ) e de fósforo total (PT - µg L <sup>-1</sup> ) da água nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá na chuva (março-abril) e na seca (julho-agosto) nos anos de 2004 (Serra da Mesa e Manso) e de 2005 (Itumbiara e Corumbá).	81
Tabela 4.1 - Marcadores específicos utilizados para análise da composição da comunidade bacteriana por FISH.	104
Tabela 4.2 – Densidade bacteriana (céls. $10^6$ .mL <sup>-1</sup> ) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e <i>Cytophaga-Flavobacter</i> (% da densidade bacteriana total) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.	110
Tabela 4.3 – Biomassa bacteriana total (µg C.L <sup>-1</sup> ) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e <i>Cytophaga-Flavobacter</i> (% da biomassa bacteriana total) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e <i>Cytophaga-Flavobacter</i> (% da densidade bacteriana total) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.	111

## INTRODUÇÃO GERAL

A dinâmica dos ecossistemas aquáticos é resultante de inúmeras interações bióticas e abióticas que muitas vezes são complexas. É preciso reconhecer e buscar elementos mais refinados que auxiliem no entendimento dos padrões das comunidades aquáticas para melhor utilização, gerenciamento e preservação dos ambientes aquáticos.

A comunidade microbiana é um dos principais componentes dos sistemas aquáticos considerando a representatividade de suas abundâncias, biomassas e metabolismos. A densidade de microrganismos varia de  $10^4$  a  $10^7$  células.mL<sup>-1</sup> nos ambientes aquáticos. A estimativa global do número de células microbianas, apenas nos ambientes de água doce, é de  $2.3 \times 10^{26}$  células (Whitman *et al.*, 1998). A cadeia alimentar de ambientes aquáticos pode ter como base as bactérias heterotróficas, que são capazes de absorver carbono orgânico dissolvido do meio e incorporar na sua biomassa. Este carbono incorporado pode ser respirado pelas próprias bactérias ou consumido por predadores, principalmente por flagelados e ciliados, constituindo a alça microbiana (Azam *et al.*, 1983). Além disso, a biomassa bacteriana nos ambientes está também relacionada ao estoque de alguns elementos essenciais a todos os seres vivos, dentre eles o carbono, o nitrogênio e o fósforo. Estima-se que o estoque total de carbono nos microrganismos varie de  $3.5$  a  $5.5 \times 10^{17}$  g de carbono, de  $0.8$  a  $1.3 \times 10^{17}$  g de nitrogênio e de  $0.9$  a  $1.4 \times 10^{17}$  g de fósforo (Whitman *et al.*, 1998). A participação dos microrganismos no ciclo de vários elementos é essencial e imprescindível.

Além da quantidade em número e biomassa, e da importância do bacterioplâncton nos ciclos e estoques de elementos nos ambientes, estes microrganismos são os seres vivos mais diversos que habitam o planeta. Esta diversidade microbiana pode ser explicada por uma taxa de especiação maior que a taxa

de extinção destes organismos (Dykhuizen, 1998). Estima-se que existam mais de  $10^{16}$  espécies de procariontes em uma tonelada de solo (Curtis & Sloan, 2005). Acredita-se que a diversidade microbiana seja 10 vezes menor em ambientes aquáticos quando comparados à diversidade desta comunidade nos solos (Torsvik *et al.*, 2002). Entretanto, não se sabe qual é o real número de espécies bacterianas nos ambientes, podendo ser estimada a diversidade microbiana em escalas menores e não de forma global (Curtis *et al.*, 2002).

A diversidade de microrganismos está diretamente relacionada à diversidade funcional dos microrganismos derivada da complexidade de rotas de matéria e energia e, das cadeias tróficas dos ecossistemas aquáticos. Estudos sob esta perspectiva têm utilizado técnicas e metodologias da biologia molecular cujo impacto tem sido tão intenso, com perspectivas de aplicabilidade cada dia maior (Devereux *et al.*, 2006). Um apanhado destas técnicas utilizadas na caracterização da diversidade microbiana em amostras ambientais de modo geral pode ser encontrado em Coutinho *et al.* (2001), em Lambais *et al.* (2005) para amostras do solo e em Cesar *et al.* (2005) para ambientes aquáticos. Durante o desenvolvimento deste trabalho utilizamos a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) que tem sido empregada como uma opção de ferramenta em estudos de ecologia microbiana aquática (Del’Duca & Cesar, 2007).

Em ambientes aquáticos continentais, são encontrados freqüentemente altas densidades de alguns grandes grupos bacterianos representando bactérias não sulfúricas e bactérias anaeróbicas com bacteriofila (ambas pertencente ao grupo das alfa-proteobactérias), bactérias quimioheterotróficas e quimioautotróficas que transformam nutrientes a partir de matéria em decomposição (pertencentes ao grupo beta-proteobactérias), bactérias gram-negativas fermentadoras e facultativamente

anaeróbicas (integrantes do grupo das gama-proteobactérias), bactérias gram-negativas saprofiticas e aeróbicas (pertencentes ao grupo das *Cytophaga-Flavobacter*).

Caracterizar a diversidade microbiana de assembléias naturais e investigar a importância destes genótipos para a estrutura e função da comunidade é o principal foco da ecologia microbiana e continuará a ser pelos próximos anos. As crescentes alterações de origem antrópica, de efeito devastador, condicionam a necessidade de estudos de natureza ecológica, como veículo para a identificação, quantificação e caracterização dos processos ecológicos e de suas relações funcionais, estratégias mitigadoras da ação e do desenvolvimento humano. Mudanças indesejáveis nos processos do ecossistema provêm uma das mais fortes razões para conservação da biodiversidade (McGrady-Steed *et al.*, 1997; Azam & Worden, 2004). O efeito estufa, por exemplo, é um dos principais problemas atuais de ordem ecológica resultante destas mudanças indesejáveis.

Os reservatórios de água para geração de energia elétrica são conhecidos como geradores de energia limpa. No entanto, dados que registram se eles emitem ou não gases causadores do efeito estufa, como o gás carbônico (CO<sub>2</sub>), gás metano (CH<sub>4</sub>) e óxido nítrico (NO<sub>2</sub>) são escassos. A princípio, os reservatórios com mais tempo de alagamento (mais idade) teriam níveis de emissão de CO<sub>2</sub> e de CH<sub>4</sub> mais parecidos com os lagos naturais, quando comparados aos reservatórios mais recentes, que por sua vez tendem a produzir mais gases (Schaeffer *et al.*, 2001; Tremblay *et al.*, 2004). Os microrganismos que estão nestes ambientes são importantes no fluxo destes gases por estarem diretamente relacionados a sua síntese e absorção. Assim, qualquer que seja a resposta encontrada, o resultado passa pela estrutura e dinâmica microbiana.

Esta dissertação faz parte do projeto “O Balanço de Carbono nos Reservatórios de FURNAS Centrais Elétricas S.A.”, que visa quantificar e determinar os estoques e

fluxos de carbono e de gases do efeito estufa em reservatórios pertencentes a este sistema de geração de energia elétrica. Como produto final deste projeto maior objetiva-se elaborar um modelo espacial e temporal de emissão de gases e avaliar os estoques e as rotas do carbono nestes reservatórios.

Esta dissertação foi dividida em quatro capítulos de acordo com temáticas específicas conforme descrição abaixo, na tentativa de se aproximar ao máximo de formatações de futuras publicações científicas.

Capítulo 1 – o estoque de carbono do bacterioplâncton foi estimado, assim como suas relações com características físicas e químicas em sete reservatórios do Sistema FURNAS Centrais Elétricas S.A. foram analisadas. A densidade e a biomassa bacteriana foram comparadas entre os reservatórios, entre os compartimentos dos reservatórios, bem como entre as diferentes épocas do ano em que ocorreram as coletas.

Capítulo 2 – a estrutura da comunidade bacteriana (densidade, biomassa e composição) nestes sete reservatórios foi avaliada dentro do contexto de biogeografia considerando o tamanho dos reservatórios, o tempo de retenção da água e a distância entre os pontos amostrais. A distribuição de grandes grupos de bactérias (eubactérias, alfa-, beta- e gama-proteobactérias, *Cytophaga-Flavobacter*) foi correlacionada com parâmetros ambientais e distância geográfica.

Capítulo 3 – a densidade, biomassa e composição da comunidade bacteriana foi analisada dentro de um gradiente montante-barragem-jusante dos principais rios formadores de quatro reservatórios no período de chuva e de seca. O fator de diluição no sentido montante-barragem e durante o período de chuva foi considerado durante avaliação dos fatores que controlam a estrutura da comunidade bacteriana nestes ambientes.

Capítulo 4 – a estrutura e a produção da comunidade bacteriana foram estudadas ao longo de um perfil vertical na barragem de um reservatório profundo, bem como suas relações com a concentração de oxigênio dissolvido e compostos nitrogenados.

Concluimos que a estrutura da comunidade bacteriana nos reservatórios tropicais apresenta variações em diferentes escalas espaciais, assim como as variações no tempo. Entretanto, padrões de distribuição da comunidade bacteriana não estão completamente definidos, necessitando de maiores estudos principalmente em regiões tropicais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZAM, F., FENCHEL, T., FIELD, J.G., GRAY, J.S., MEYER-REIL, L.A. & THINGTAD, F., 1983, “The Ecological Role of Water-Column Microbes in the Sea”, *Marine Ecology – Progress Series*, v. 10, pp. 257-263.

AZAM, F. & WORDEN, A.Z., 2004, “Microbes, molecules and marine ecosystems”, *Science*, v. 303, pp. 1622-1624.

CESAR, D.E., DEL’DUCA, A., PANOSSO, R. & ROLAND, F., 2005, “Atalhos entre a Limnologia, a Microbiologia e a Biologia Molecular: Diversidade de Microrganismos Planctônicos”. In: Roland, F., Cesar, D. E. & Marinho, M. (eds.), *Lições de Limnologia*, Editora RiMa, pp. 273-298.

COUTINHO, H.L.C., OLIVEIRA, V.M. & MANFIO, G.P., 2001, “Diversidade microbiana em amostras ambientais”, In: Garay, I. & Dias, B.F.S. (eds.), *Conservação da biodiversidade em ecossistemas tropicais*, Editora Vozes, pp. 215-232.

CURTIS, T.P. & SLOAN, W.T., 2005, “Exploring Microbial Diversity – A Vast Below”, *Science*, v. 39, pp. 1331-1333.

CURTIS, T.P., SLOAN, W.T. & SCANNELL, J.W., 2002, “Estimating Prokaryotic Diversity and Its Limits”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 99, pp. 10494-10499.

DEL’DUCA, A. & CESAR, D.E., 2007, “Hibridização *In Situ* Fluorescente (FISH) como Opção de Ferramenta em Ecologia Microbiana Aquática”, *Boletim da Sociedade Brasileira de Limnologia*, v. 36, pp. 6-9.

DEVEREUX, R., RUBLEE, P., PAUL, J.H., FIELD, K.G. & DOMINGO, J.W.S., 2006, “Development and applications of microbial ecogenomic indicators for monitoring water quality: report of a workshop assessing the state of science, research

needs and future directions”, *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 116, pp. 459-479.

DYKHUIZEN, D. E., 1998, “Santa Rosalia revisited: why are there so many species of bacteria?”, *Antonie van Leeuwenhoek*, v. 73, pp. 25-33.

LAMBAIS, M.R., CURY, J.C., MALUCHE-BARETA, C.R. & BÜLL, R.C., 2005, “Diversidade microbiana nos solos: definindo novos paradigmas”, *Tópicos em Ciências do Solo*, v. 4, pp. 43-84.

MCGRADY-STEED, J., HARRIS, P.M. & MORIN, P.J., 1997, “Biodiversity regulates ecosystem predictability”, *Nature*, v. 390, pp. 162-165.

SCHAEFFER, R., LOGAN, J., SZKLO, A., CHANDLER, W. & MARQUES, J.C.S., 2001, “Brazil’s Electric Power Their Corresponding Carbon Emissions Implications”, *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, v. 6, pp. 47–69.

TORSVIK, V., OVREAS, L. & THINGSTAD, T.F., 2002, “Prokaryotic Diversity – Magnitude, Dynamics, and Controlling Factors”, *Science*, v. 296, pp. 1064-1066.

TREMBLAY, A., VARFALVY, L., ROEHM, C. & GARNEAU, M., 2004, *Greenhouse gas emission – fluxes and process: hydroelectric reservoir and natural environments (environmental science)*. Editora Springer-Verlag, Berlim, Alemanha, pp. 700.

WHITMAN, W.B., COLEMAN, D.C. & WIEBE, W.J., 1998, “Prokaryotes: The Unseen Majority”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 95, pp. 6578-6583.

## ÁREA DE ESTUDO

Os estudos foram realizados em pelo menos um dos sete reservatórios de água para a geração de energia elétrica, apresentados abaixo, que pertencem ao Sistema Furnas Centrais Elétricas S.A.

- Reservatório de Serra da Mesa ( $13^{\circ}49'S$ ;  $48^{\circ}18'W$ ) – localizado na Bacia do Alto Tocantins, em Goiás, possui grande importância no panorama energético brasileiro (1275 MW). Sua barragem está situada no curso principal do Rio Tocantins, no município de Minaçu (GO), a 1790 km de sua foz e a 640 km de Brasília - DF. Tem como principais rios formadores o Tocantins, Bagagem e Maranhão. Este é o maior reservatório do Brasil em volume de água, com 55 bilhões de  $m^3$  e uma área de 1.785  $km^2$  (Fig. A1).

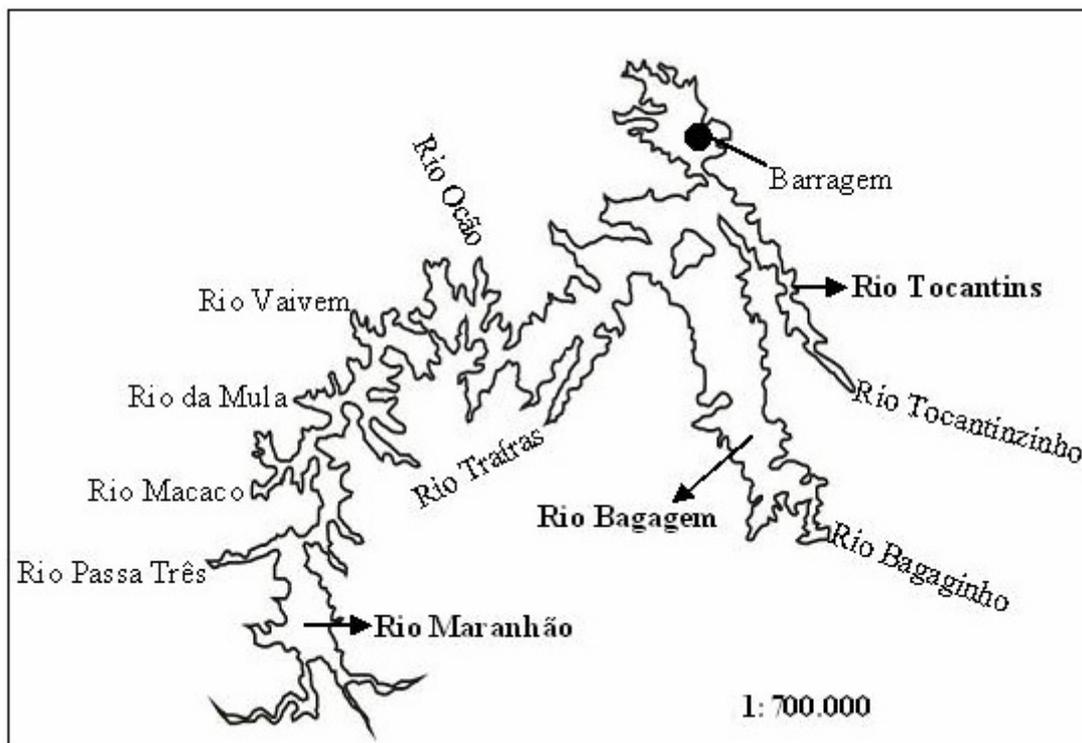


Fig. A1 – Mapa do reservatório de Serra da Mesa (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:700.000).

- Reservatório de Manso ( $14^{\circ}87'S/55^{\circ}77'W$ ) – localizado no município de Chapada dos Guimarães (MT) no rio Manso, o principal afluente do rio Cuiabá e distante 100 km da cidade de Cuiabá – MT. Além do rio Manso contribuem para a área alagada os rios Palmares, Casca e Quilombo. Este reservatório foi concebido com quatro objetivos principais: (a) regularização do Rio Corumbá; (b) fomento do turismo através do lago; (c) incentivo a irrigação no cerrado e (d) geração de energia. Possui área de 430 km<sup>2</sup> e volume de 7,5 km<sup>3</sup> (Fig. A2).

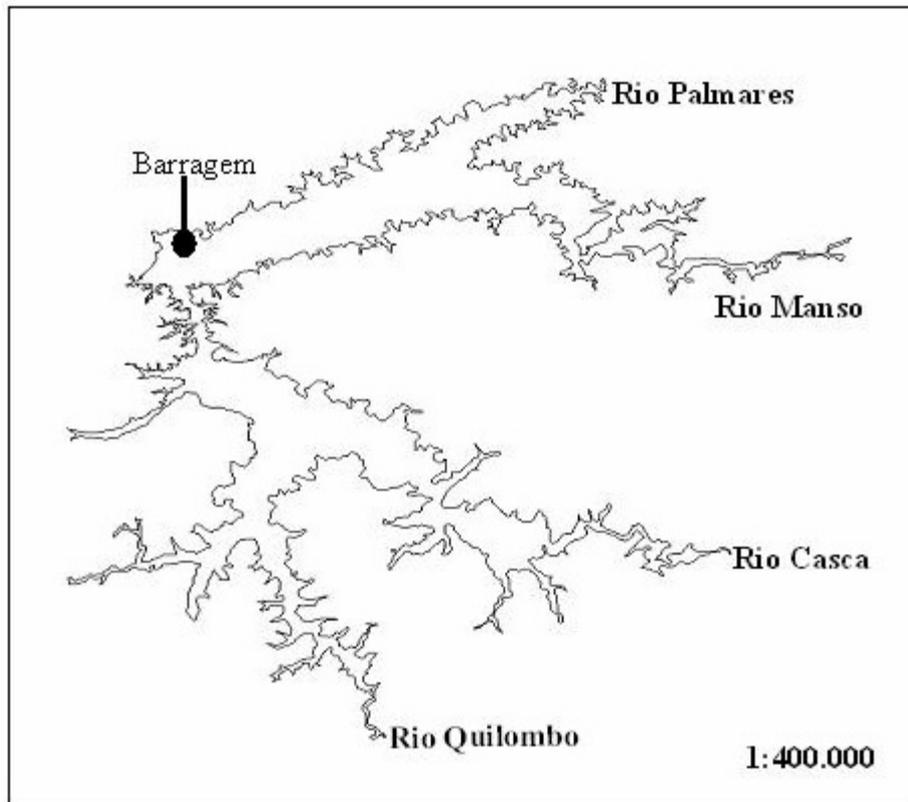


Fig. A2 – Mapa do reservatório de Manso (MT), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:400.000).

- Reservatório de Itumbiara ( $18^{\circ}41'S/49^{\circ}08'W$ ) – localizado entre os municípios de Itumbiara (GO) e Araporã (MG). Formado pelos rios Paranaíba, Araguari e Corumbá. Seu reservatório constituído principalmente pelas águas do Rio Paranaíba possui uma área de  $780\text{ km}^2$  e volume de  $17\text{ km}^3$  (Fig. A3).

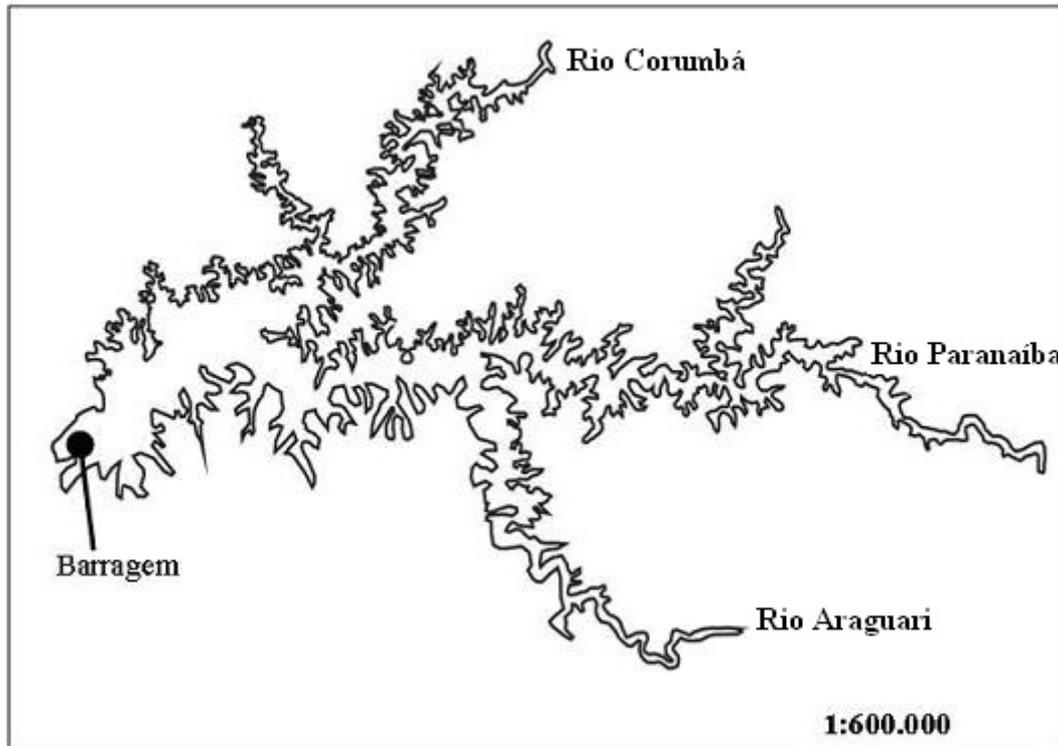


Fig. A3 – Mapa do reservatório de Itumbiara (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:600.000).

- Reservatório de Corumbá ( $17^{\circ}98'S/48^{\circ}51'W$ ) – situada no rio Corumbá, distante cerca de 30 km da cidade de Caldas Novas (GO). Seus rios tributários são o rio Santo Antônio, rio Pirapetinga, rio do Peixe. O lago formado pelo reservatório possui  $65\text{ km}^2$  e volume de  $1,5\text{ km}^3$ , propiciando a prática de diversos esportes aquáticos. A Usina de Corumbá é operada remotamente da Usina de Itumbiara, localizada a 160 km de distância. A jusante do reservatório de Corumbá também está localizada em um dos tributários formadores do reservatório de Itumbiara (Fig. A4).

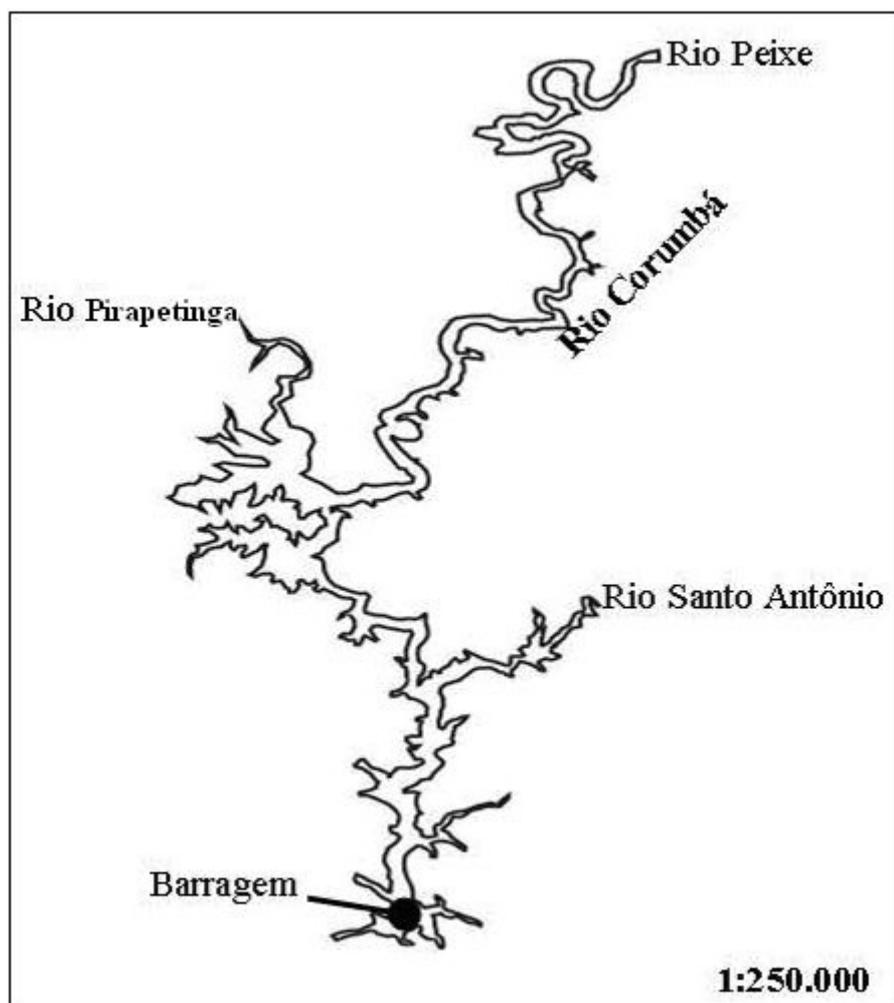


Fig. A4 – Mapa do reservatório de Corumbá (GO), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).

- Reservatório de Furnas (20°66'S/46°25'W) – tem sua usina localizada no curso médio do Rio Grande, no trecho denominado "Corredeiras das Furnas", entre os municípios de São José da Barra e São João Batista do Glória (MG). Foi a primeira usina hidrelétrica a ser construída pela empresa da qual herdou o nome. Sua construção começou em julho de 1958, tendo a primeira unidade entrado em operação em 1963. O reservatório, um dos maiores do Brasil, com 1.440 km<sup>2</sup>, volume de 23 km<sup>3</sup> e 3.500 km de perímetro, banha 34 municípios de Minas Gerais. O reservatório é dividido em dois grandes braços: o do rio Grande e o do rio Sapucaí. (Fig. A5).

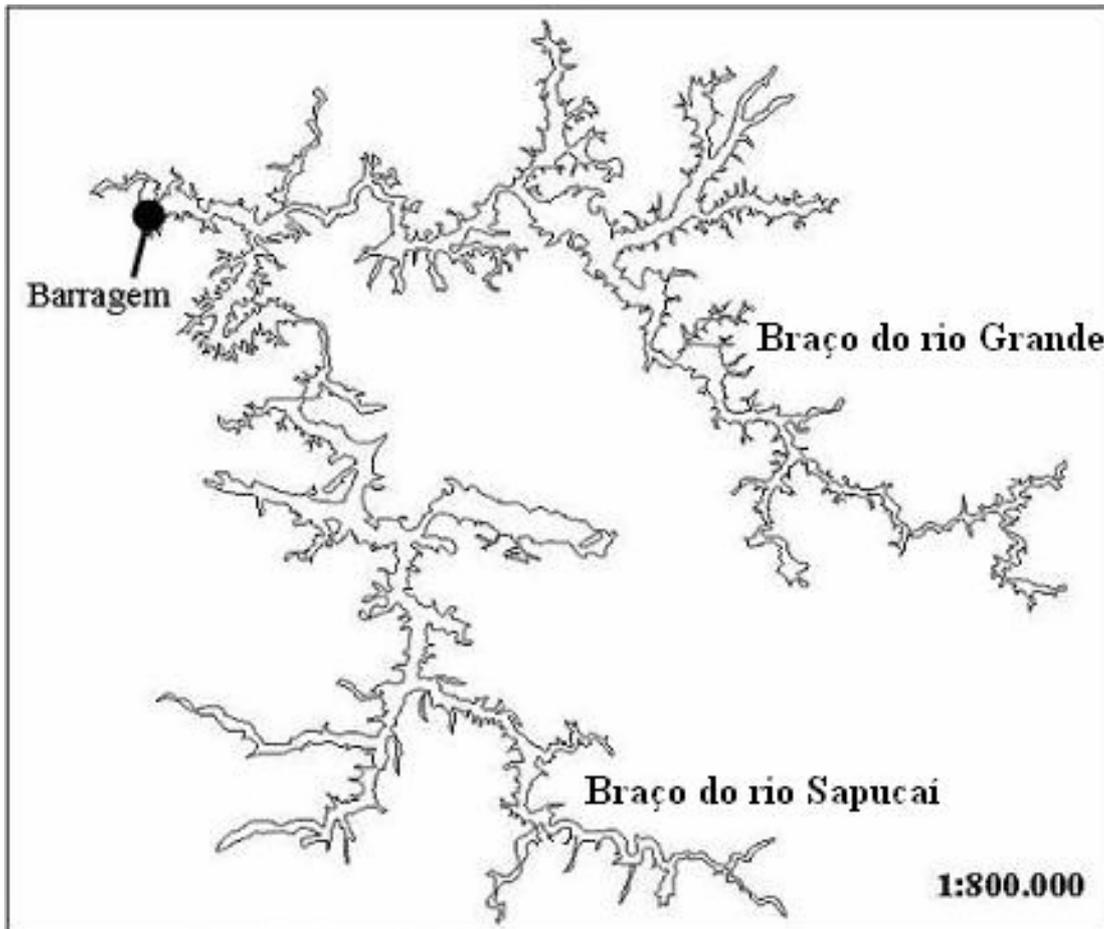


Fig. A5 – Mapa do reservatório de Furnas (MG), destacando os principais rios tributários e a localização de sua barragem (Escala 1:800.000).

- Reservatório de Mascarenhas de Moraes ( $20^{\circ}28'S/47^{\circ}05'W$ ) – anteriormente denominado como reservatório de Peixoto, foi o primeiro reservatório de grande porte construído no Rio Grande, na década de 1950 e adquirida pelo Sistema FURNAS anos mais tarde. Está localizado no município de Ibiraci (MG). Pode ser dividido em duas partes retas, ligadas por um trecho central em curvatura bem acentuada. Possui área de  $250 \text{ km}^2$  e volume de  $4 \text{ km}^3$  (Fig. A6).

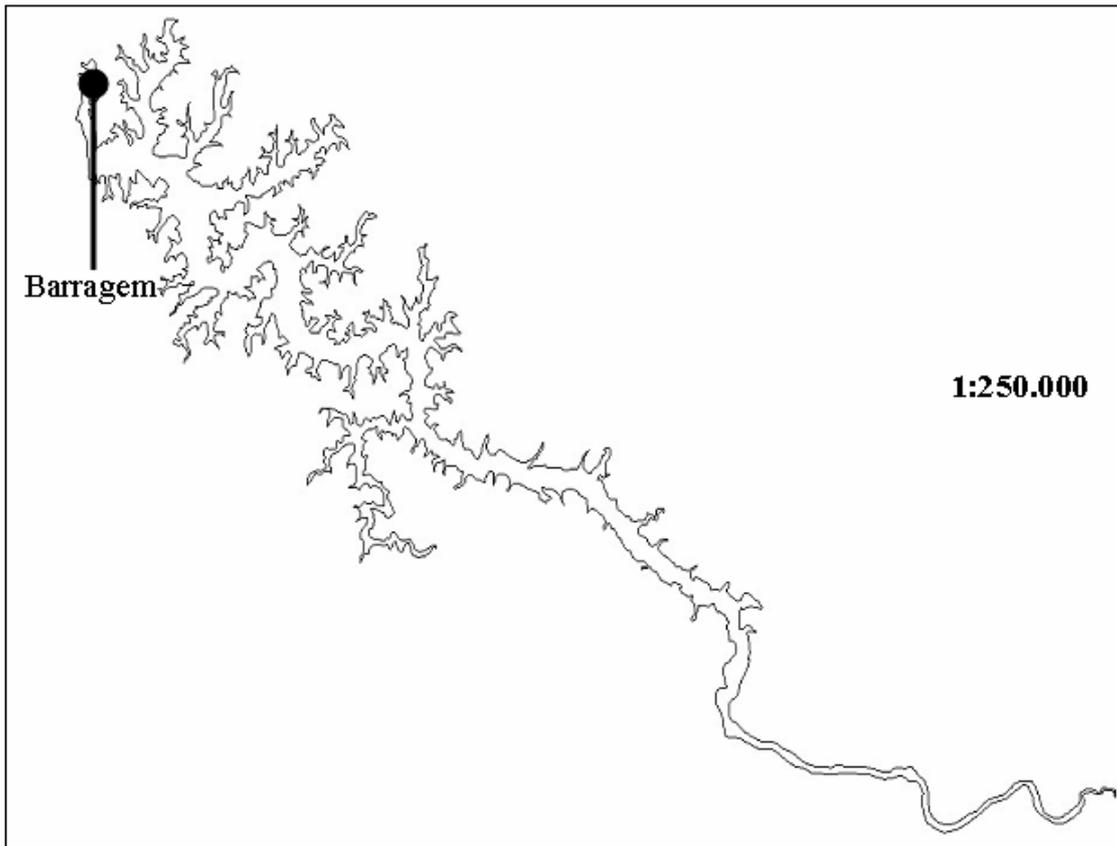


Fig. A6 – Mapa do reservatório de Mascarenhas de Moraes (MG), destacando a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).

- Reservatório de Luis Carlos Barreto de Carvalho (20°15’S/47°26’W) – antigamente denominado de reservatório de Estreito, está localizado próximo à cidade de Franca, 55 km, município de Pedregulho (SP). Sua construção iniciou em 1963, tendo a primeira unidade geradora entrado em operação em 1969. O reservatório possui uma característica especial, tipo fio d’água entre “canyons” e é o que possui menor área (50 Km<sup>2</sup>) dos reservatórios estudados e volume de 1,5 km<sup>3</sup> (Fig. A7).
- Os três últimos reservatórios estão dispostos em forma de cascata, isto é, à jusante de Furnas está localizado o reservatório de Mascarenhas de Moraes e à jusante deste último está o reservatório de Luis Carlos Barreto – Cascata do Rio Grande.

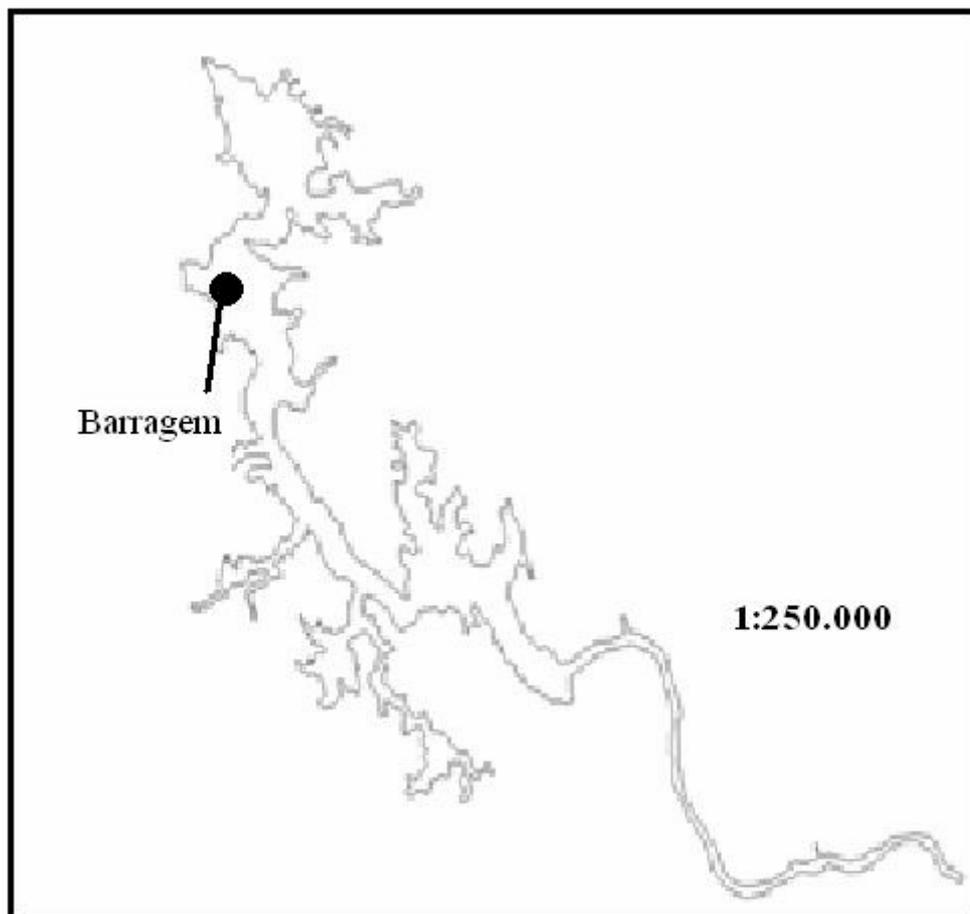


Fig. A7 – Mapa do reservatório Luis Carlos Barreto (SP), destacando a localização de sua barragem (Escala 1:250.000).

## **CAPÍTULO 1**

### **Distribuição Espaço-Temporal do Estoque de Carbono Bacteriano em Sete Reservatórios Tropicais Brasileiros**

#### **RESUMO**

A estrutura de comunidade e estoque de carbono bacteriano foram determinados em reservatórios brasileiros com características físicas e químicas distintas: Serra da Mesa, Manso, Itumbiara, Corumbá, Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto. Amostras de água da subsuperfície foram coletadas em pontos localizados nos principais rios tributários, à montante, próximas às barragens e à jusante dos reservatórios antes da estação chuvosa, no final desta estação e durante a estação seca. Densidade, volume, alongação e biomassa bacterianos foram determinados utilizando microscopia de epifluorescência. O estoque de carbono bacteriano foi estimado a partir da média da biomassa bacteriana integrada pela profundidade de coleta (0,5m) e área de cada reservatório. Apesar das densidades bacterianas serem semelhantes entre os períodos amostrados nos reservatórios, a biomassa bacteriana foi maior no período anterior às chuvas em comparação aos outros períodos amostrados. A densidade e a biomassa bacteriana correlacionaram com diferentes fatores nos períodos, como a transparência da água (negativamente) e a turbidez (positivamente) em todos os períodos, sugerindo que as bactérias teriam seu crescimento favorecido diretamente pelas substâncias orgânicas e inorgânicas destas partículas e indiretamente pela ausência de competição com o fitoplâncton. Nem sempre quantidade de carbono estimado foi proporcional ao tamanho do reservatório. Mesmo assim, a maior quantidade de carbono bacteriano foi encontrada no maior no reservatório (Serra da Mesa) em todos os períodos.

## INTRODUÇÃO

O estoque de carbono bacteriano em ecossistemas aquáticos é estimado em  $2,2 \times 10^{15}$  g (Whitman *et al.*, 1998). Em ambientes aquáticos, este carbono microbiano pode representar mais de 50% do carbono orgânico particulado (Abreu *et al.*, 1992; Callieri *et al.*, 1999). Assim, podemos afirmar que as bactérias heterotróficas são de grande importância para a sustentação da cadeia alimentar destes ambientes.

A quantidade de carbono nas células bacterianas é variável e para a sua quantificação pode ser necessário analisar o volume das células bacterianas, já que a biomassa pode ser determinada em função do volume celular (Whitman *et al.*, 1998). Variações no volume celular muitas vezes estão ligadas às interações tróficas, isto é, a pressão de predação, sendo observada ainda variações morfológicas na tentativa de escape destas células de seus predadores, portanto o tamanho das bactérias é um importante fator para este escape (Nakano & Kawabata, 2000). Weisse (1991) sugere que a biomassa e produção bacteriana aumentam com o aumento da concentração de nutrientes e da produção primária no ecossistema.

Assim, a distribuição da densidade e biomassa bacteriana varia de acordo com o a concentração de nutrientes inorgânicos, quantidade e qualidade de matéria orgânica, a pressão de predação e infecções virais, além de outros fatores limnológicos (Meyer, 1994; Pesce *et al.*, 2006). Compreender quais são os fatores que controlam a densidade e a biomassa bacteriana, facilita o entendimento de como o carbono e outros nutrientes circulam pela cadeia alimentar planctônica (Gasol *et al.*, 2002). Entretanto, a densidade e biomassa de células bacterianas devem ser estudadas de acordo com a variabilidade das dimensões espaciais e temporais do ambiente de estudo para uma melhor compreensão.

A variabilidade espacial da estrutura da comunidade bacteriana reflete os efeitos dos processos hidrodinâmicos como mistura, ressuspensão e descarga de nutrientes. A identificação dos parâmetros que influenciam a dinâmica desta comunidade não pode ser completa sem a consideração do controle de predadores (August *et al.*, 2005). Alterações na densidade, biomassa e no estoque de carbono bacteriano pode ocorrerem ao longo do tempo (Comerma *et al.*, 2003).

Por exemplo, a variação da temperatura pode afetar a disponibilidade da matéria orgânica dissolvida, tendo implicações na competição entre espécies de bactérias e na biogeoquímica do ciclo do carbono. Kirchman & Rich (1997), em seus experimentos, demonstram que as bactérias das regiões temperadas têm maior produção de biomassa em altas temperaturas. Pomeroy & Wiebe (2001) afirmam que microrganismos das regiões de clima temperado têm maior crescimento em períodos mais quentes (principalmente no verão), enquanto os microrganismos de regiões tropicais estariam sempre nas temperaturas ótimas para seu crescimento. Entretanto, estudos avaliando a contribuição da comunidade microbiana em regiões tropicais ao sul do Equador são escassos, especialmente em reservatórios (Peduzzi & Schiemer, 2004). Nestes ecossistemas, deve-se avaliar os rios tributários, já que os reservatórios estão sujeitos, também, a influências de fatores físicos, químicos e biológicos destes rios que o compõem (Torloni, 1994).

Os países tropicais, em sua grande maioria “países em desenvolvimento” econômico, têm como sua principal fonte geradora de energia elétrica as hidroelétricas. No Brasil, isso não é diferente. O país possui mais de 130 reservatórios de hidroelétricas distribuídos ao longo de todo o seu território. Segundo os dados apresentados pela Agência Nacional de Energia Elétrica (ANEEL, 2002), estas hidroelétricas somadas

geram de mais de 260 GW de energia elétrica, o que corresponde à cerca de 90% do total gasto no país.

O objetivo deste trabalho foi estimar o estoque de carbono bacteriano em reservatórios de hidroelétricas, avaliando também as diferenças sazonais, bem como quais são os fatores que influenciariam a distribuição das bactérias heterotróficas nestes ambientes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Amostragens foram realizadas em sete reservatórios de hidrelétricas brasileiras situados acima do trópico de Capricórnio: Serra da Mesa (13°49'S; 48°18'W), Manso (14°87'S/55°77'W), Itumbiara (18°41'S/49°08'W), Corumbá (17°98'S/48°51'W), Furnas (20°66'S/46°25'W), Mascarenhas de Moraes (20°28'S/47°05'W) e Luis Carlos Barreto (20°15'S/47°26'W). Estes três últimos reservatórios estão localizados no rio Grande apresentando-se em sistema de cascata, onde a jusante do reservatório de Furnas é o ponto à montante mais distante do reservatório de Mascarenhas de Moraes e, a jusante deste é o ponto à montante mais distante da barragem de Luis Carlos de Barreto. Todos os reservatórios apresentam características morfológicas, físicas e químicas distintas (Tabela 1.1).

Coleta de água da subsuperfície (0,5m) foi realizada em pontos à montante, à jusante e próximos à barragem de cada reservatório e também em seus principais rios tributários. Os períodos de coletas nos reservatórios foram no início da estação chuvosa (“pré-chuva”, em novembro de 2003: Serra da Mesa e Manso; novembro de 2004: Itumbiara e Corumbá; novembro de 2005: Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto), final da estação chuvosa (“pós-chuva”, em março de 2004: Serra da Mesa e Manso; março de 2005: Itumbiara e Corumbá; de abril de 2006: Furnas,

Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto) e de seca (julho de 2004: Serra da Mesa e Manso; agosto de 2005: Itumbiara e Corumbá; agosto de 2006: Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto).

Tabela 1.1: Área (km<sup>2</sup>), volume (km<sup>3</sup>), tempo de alagamento (idade - anos), biomassa fitoplanctônica (BFITO - µg C L<sup>-1</sup>) e zooplânctônica (BZOO - mg C L<sup>-1</sup>), temperatura (TEMP - °C) e transparência da água (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), condutividade (COND - mS cm<sup>-1</sup>), concentrações de carbono dissolvido (COD - mg L<sup>-1</sup>), de nitrogênio total (NT - µg L<sup>-1</sup>) e de fósforo total (PT - µg L<sup>-1</sup>) nos mesmos pontos dos reservatórios e períodos de amostra para a comunidade bacteriana.

Reservatório	ÁREA (km <sup>2</sup> )	VOLUME (km <sup>3</sup> )	IDADE (anos)	BFITO (µg CL <sup>-1</sup> )	BZOO (mg CL <sup>-1</sup> )	TEMP (°C)	SECCHI (m)	TURB (NTU)	COND (mS cm <sup>-1</sup> )	COD (mg L <sup>-1</sup> )	NT (µg L <sup>-1</sup> )	PT (µg L <sup>-1</sup> )
Serra da Mesa	1785	54.5	8	125±107	50±234	26±1.6	3.2±1.2	3.1±9.8	100±42	2.9±0.9	512±288	14±21
Manso	430	7.5	6	282±305	103±86	28±1.7	2.1±1.2	2.5±2.0	46±20	1.9±0.5	418±275	26±19
Itumbiara	780	17.0	26	46±71	130±220	26±2.3	2.8±1.5	15±41	32±3.2	1.2±0.5	515±628	38±90
Corumbá	65	1.5	19	19±28	114±172	25±2.4	0.8±0.8	41±66	36±21	1.6±0.7	515±385	25±12
Furnas	1440	23.0	43	78±125	82±238	24±3.1	3.3±1.4	8.9±14	43±21	1.8±0.7	574±239	70±76
Mascarenhas	250	4.0	59	13±13	48±57	24±2.7	4.2±1.7	6.6±11	46±28	1.7±1.2	674±611	73±106
Luis Carlos	50	1.5	37	22±59	68±80	25±2.0	5.0±1.9	5.2±10	36±12	1.4±0.4	526±188	42±24

FONTE: Banco de dados do Projeto Balanço de Carbono em Reservatórios de FURNAS Centrais Elétricas S.A.

*Densidade Bacteriana:* As amostras coletadas para análise bacteriana foram fixadas em formalina 4%. Posteriormente, as amostras foram filtradas em filtros pretos de policarbonato Millipore poro 0,2 µm e corados com laranja de acridina (Hobbie *et al.* 1977). A densidade bacteriana total das amostras foi determinada com a contagem de 20 campos aleatórios de cada filtro em microscópio de epifluorescência Olympus IX-71 equipado com filtro Chroma U-MWB2, no aumento de 1000x.

*Biomassa Bacteriana:* Imagens de células bacterianas foram capturadas, através da câmera de vídeo colorida de alta resolução refrigerada Evolution VF com o auxílio do programa Image Pro Plus, e analisadas no programa Image Tool 3.0, do qual foram aproveitados os dados de área e alongação das células medidas. Cada imagem analisada tinha pelo menos 25 células bacterianas. As células foram medidas, de forma a determinar o volume celular a partir da sua área, segundo a fórmula  $V = (4 \cdot \sqrt{A^3} / \pi) / 3$ ,

onde  $V$  é o volume celular e  $A$  representa a área da célula (Massana *et al.*, 1997). Posteriormente, então, foi determinada a biomassa celular pela fórmula  $B_c = 120 \cdot V^{0.72}$ , onde  $B_c$  é a biomassa de carbono da célula, 120 é o valor de conversão para  $\text{fg C} \cdot \mu\text{m}^{-3}$  e  $V$  é o volume celular (Norland, 1993). A biomassa celular média da amostra foi determinada e multiplicada pela densidade bacteriana total da amostra resultando na biomassa bacteriana média da amostra. A relação entre o volume celular e a alongação das células bacterianas foi verificada nos reservatórios estudados para cada período.

*Número total de células bacterianas e estoque de carbono bacteriano:* A estimativa do número total de células bacterianas encontradas em cada reservatório foi dado a partir da integração da densidade bacteriana média em cada reservatório com a profundidade de coleta dos pontos (0,5 m). Este número médio de células de cada reservatório foi multiplicado pela área do respectivo reservatório (Tabela 1.1).

*Análise Estatística:* O teste de ANOVA One-way e o teste “a posteriori” de Tukey foram utilizados para comparações da densidade bacteriana total, da biomassa bacteriana total, do estoque de carbono bacteriano, bem como para a comparação dos reservatórios e de seus compartimentos nos diferentes períodos estudados. Em todos os casos, foram considerados significativos para os valores de  $p < 0,05$ . A correlação de Spearman foi utilizada para comprar os dados da comunidade bacteriana e os outros parâmetros bióticos e abióticos utilizados.

*Relações com variáveis ambientais:* Análise de correlação entre as variáveis dependentes (densidade e biomassa bacteriana) e as variáveis independentes (temperatura, transparência, turbidez, concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), de nitrogênio total (NT) e de fósforo total (PT), biomassas em carbono de fitoplâncton e de zooplâncton foram realizadas. Para tanto, foram utilizados dados do banco de dados do Projeto Balanço de Carbono em Reservatórios de Furnas Centrais

Elétricas S.A. – ([www.projetoFurnas.dsr.inpe.br](http://www.projetoFurnas.dsr.inpe.br)) no qual está inserido este trabalho (Tabela 1.1). Além disso, análise de componentes principais foi realizada com os dados de estrutura da comunidade bacteriana e as variáveis ambientais.

## RESULTADOS

A densidade bacteriana foi maior no reservatório de Serra da Mesa em todos os períodos amostrados e a menor densidade bacteriana foi encontrada no reservatório de Mascarenhas de Moraes. Em todos os reservatórios estudados, os maiores valores de densidade bacteriana foram encontradas no período pré-chuva, sendo significativamente diferentes comparados aos outros dois períodos de amostragem. Já os menores valores, foram encontrados no período de seca, sendo semelhantes aos encontrados no período de pós-chuva (Fig. 1.1). No período de pré-chuva, os reservatórios puderam ser divididos em dois grupos distintos quanto à densidade bacteriana. Os valores da densidade bacteriana nos reservatórios de Serra da Mesa, Itumbiara e Corumbá foram os maiores do período, sendo significativamente diferente dos outros valores de densidade bacteriana dos outros quatro reservatórios estudados. A densidade bacteriana dividiu os reservatórios em três grupos distintos no período pós-chuva. Os valores de Serra da Mesa e Manso foram semelhantes entre si e diferentes dos demais valores. Da mesma forma, a densidade bacteriana total nos reservatórios de Itumbiara e Corumbá foi semelhante entre si e diferentes das demais. O mesmo foi observado para os valores de densidade bacteriana nos reservatórios de Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto. Os reservatórios de Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto tiveram a densidade bacteriana semelhante entre si e diferente dos demais valores de densidade bacteriana dos outros reservatórios estudados no período de seca. Neste

período, a densidade bacteriana no reservatório de Itumbiara foi diferente da densidade bacteriana encontrada em Serra da Mesa.

A biomassa bacteriana média dos reservatórios amostrados variou de 6,8 a 38  $\mu\text{g C L}^{-1}$  (Luis Carlos Barreto e Corumbá, respectivamente), não apresentando valores significativamente diferentes na comparação destes valores entre os reservatórios. Entretanto, analisando a biomassa bacteriana nos reservatórios por período, pudemos observar que a biomassa bacteriana foi significativamente maior no período pré-chuva, sendo semelhante os valores de biomassa bacteriana encontrados nos outros dois períodos estudados (Fig. 1.1). No período pré-chuva, a biomassa bacteriana média encontrada no reservatório de Corumbá foi significativamente maior que a biomassa bacteriana dos outros seis reservatórios. Neste período, ainda foi observada diferença significativa entre os valores de biomassa bacteriana de Itumbiara e de Furnas. Os maiores valores de biomassa bacteriana no período pós-chuva foram encontrados nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá, sendo estes semelhantes entre si. As menores biomassas bacterianas foram encontradas nos reservatórios em cascata do Rio Grande, sendo significativamente diferente dos valores encontrados em Manso. A biomassa bacteriana foi a maior no reservatório de Corumbá no período de seca. Os valores de biomassa bacteriana total neste período separam os reservatórios em dois grupos: (a) Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá; e (b) Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto.

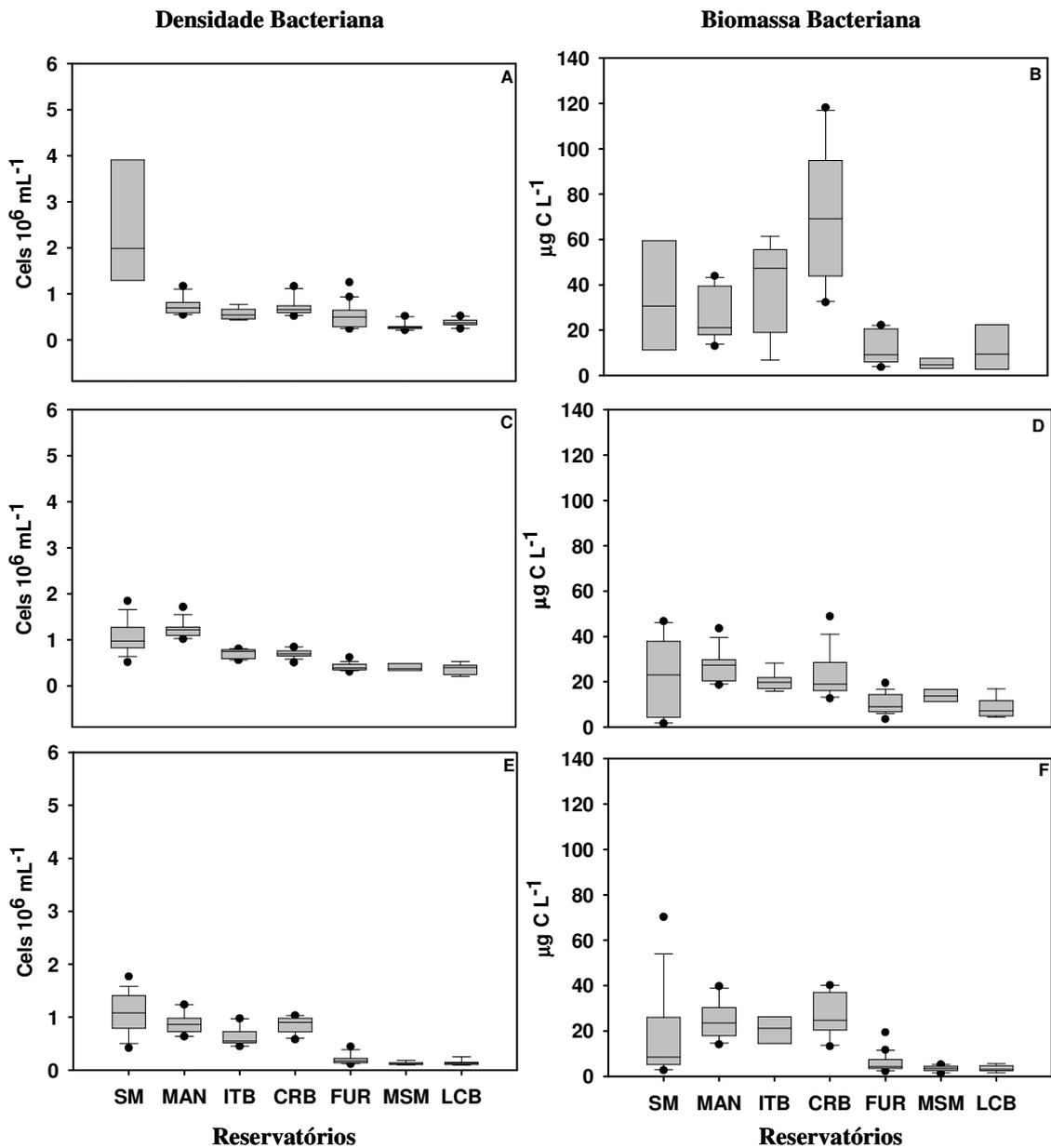


Fig. 1.1 – Box plot com média, mediana e desvio padrão dos valores de densidade bacteriana ( $\text{células} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$  – A, C e E) e de biomassa bacteriana ( $\mu\text{g C L}^{-1}$  – B, D e F) nos reservatórios de Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) nos períodos pré-chuva (A e B), pós-chuva (C e D) e de seca (E e F).

Os tributários de Serra da Mesa apresentaram as maiores densidades bacterianas do período pré-chuva. A montante e a barragem de Manso apresentaram as maiores densidades bacterianas destes compartimentos neste período. As jusantes dos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Corumbá, Furnas e Luiz Carlos Barreto

apresentaram valores semelhantes de densidade bacteriana total (Fig. 1.2A). No período pós-chuva, as maiores densidades bacterianas nos tributários, montante e barragem foram observadas no reservatório de Manso. A densidade bacteriana à jusante do reservatório de Serra da Mesa foi a maior comparando com os dados à jusante de todos os reservatórios (Fig. 1.2C). A densidade bacteriana nos tributários de Serra da Mesa foi o maior valor encontrado no período de seca. Em Manso, observou-se os maiores valores de densidade bacteriana total da montante, barragem e jusante neste mesmo período (Fig. 1.2E).

A biomassa bacteriana nos tributários, montante e barragem foram maiores no reservatório de Corumbá no período pré-chuva. No reservatório de Itumbiara, foi observado o maior valor da jusante para este período (Fig. 1.1B). No período pós-chuva, os tributários de Serra da Mesa apresentaram os maiores valores de biomassa bacteriana de todos os compartimentos dos reservatórios. A montante e a barragem de Manso apresentaram os maiores valores de biomassa bacteriana para estes compartimentos neste período. As jusantes de Manso e de Corumbá apresentaram os maiores valores para este compartimento neste período (Fig. 1.1D). A biomassa bacteriana nos tributários de Corumbá foi a maior deste compartimento no período de seca. As biomassas bacterianas das montantes de Itumbiara e de Corumbá foram as maiores neste período. Comparando as barragens neste período de seca, a biomassa bacteriana de Manso foi a maior. Em relação às jusantes, a biomassa bacteriana de Manso e Corumbá apresentaram valores semelhantes (Fig. 1.1F).

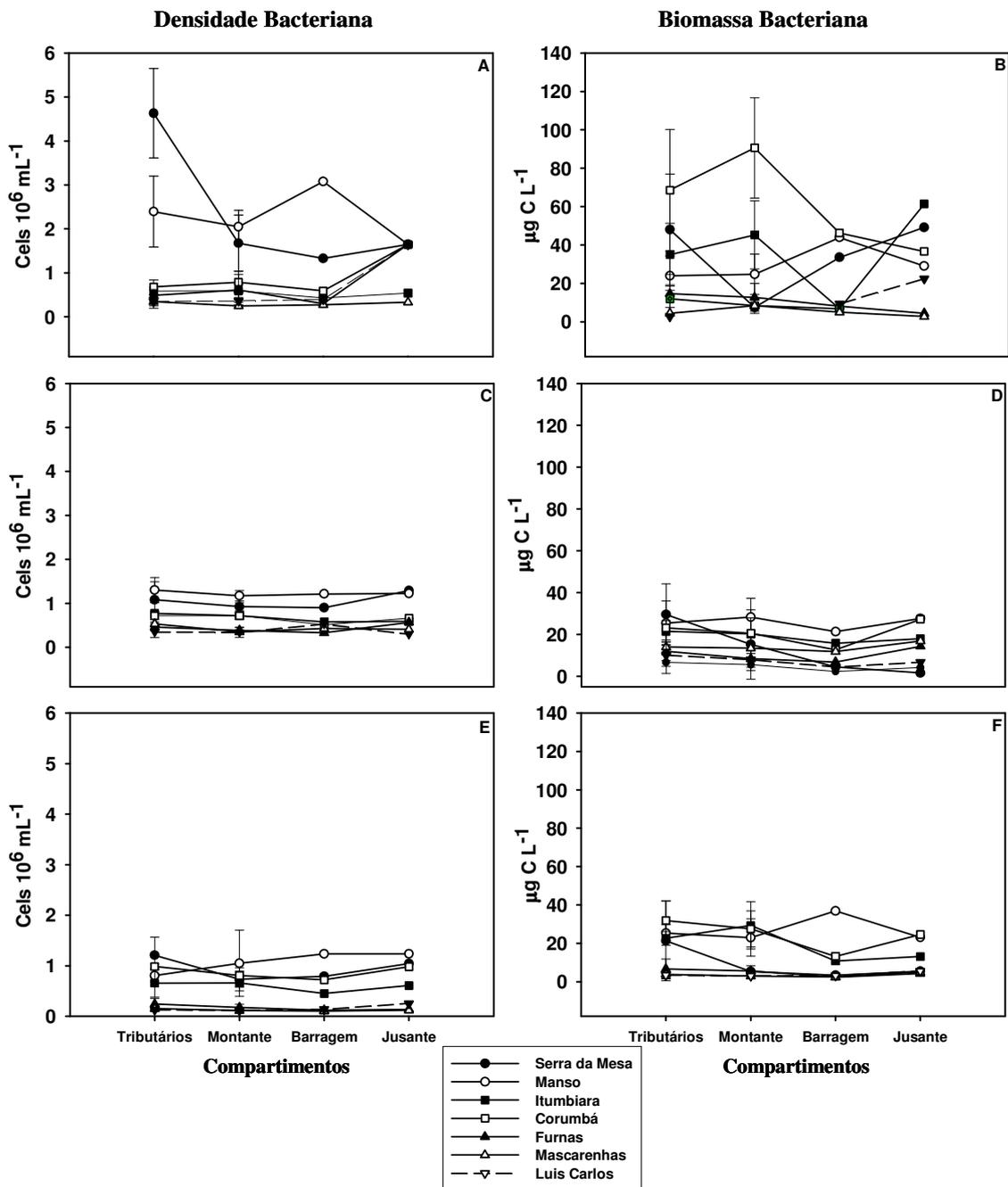


Fig. 1.2 – Densidade bacteriana total (células.10<sup>6</sup>.mL<sup>-1</sup> – A, C e E) e biomassa bacteriana total (µg C L<sup>-1</sup> – B, D e F) nos compartimentos dos sete reservatórios estudados nos períodos pré-chuva (A e B), pós-chuva (C e D) e de seca (E e F).

A elongação e o volume das células bacterianas apresentaram diferenças significativas quando comparadas quanto ao período estudado em cada reservatório. A

elongação das células bacterianas no período de pré-chuva foi semelhante ao do período de pós-chuva e ambos diferentes do encontrado no período de seca nos reservatórios de Serra da Mesa, Itumbiara, Corumbá e Furnas. Em Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto, os tamanhos das células bacterianas foram semelhantes em todos os períodos (Fig. 1.3 e 1.4)

O volume celular das bactérias foi semelhante nos três períodos analisados nos reservatórios de Furnas e Luis Carlos Barreto. Em Manso e Itumbiara, o biovolume foi semelhante comparando os períodos pós-chuva e de seca, sendo ambos diferentes do período de pré-chuva. No reservatório de Serra da Mesa, o volume das células bacterianas foi semelhante entre os períodos de pré-chuva e pós-chuva, e ambos diferentes do encontrado no período de seca. Já o biovolume bacteriano no período pós-chuva foi semelhante aos outros dois períodos no reservatório de Corumbá. No reservatório de Mascarenhas de Moraes, este parâmetro foi semelhante entre comparando o período pré-chuva e seca e ambos diferentes do volume celular encontrado no período pós-chuva (Fig. 1.3 e 1.4).

Os reservatórios de Serra da Mesa, Corumbá e Mascarenhas de Moraes apresentaram a maior correlação entre a elongação e volume celulares das bactérias no período pré-chuva. Já os reservatórios de Manso, Itumbiara, Furnas e Luis Carlos Barreto apresentaram a correlação mais alta no período de seca. No período pós-chuva, a maior correlação entre estas variáveis foi encontrada no reservatório de Mascarenhas de Moraes.

Excetuando o reservatório de Itumbiara, o qual apresentou os menores volumes das células no período de pré-chuva, os demais reservatórios apresentaram menores volumes e elongação das células no período de seca. A maior elongação em média das

células bacterianas foi observado no período pré-chuva em todos os reservatórios (Fig. 1.3 e 1.4).

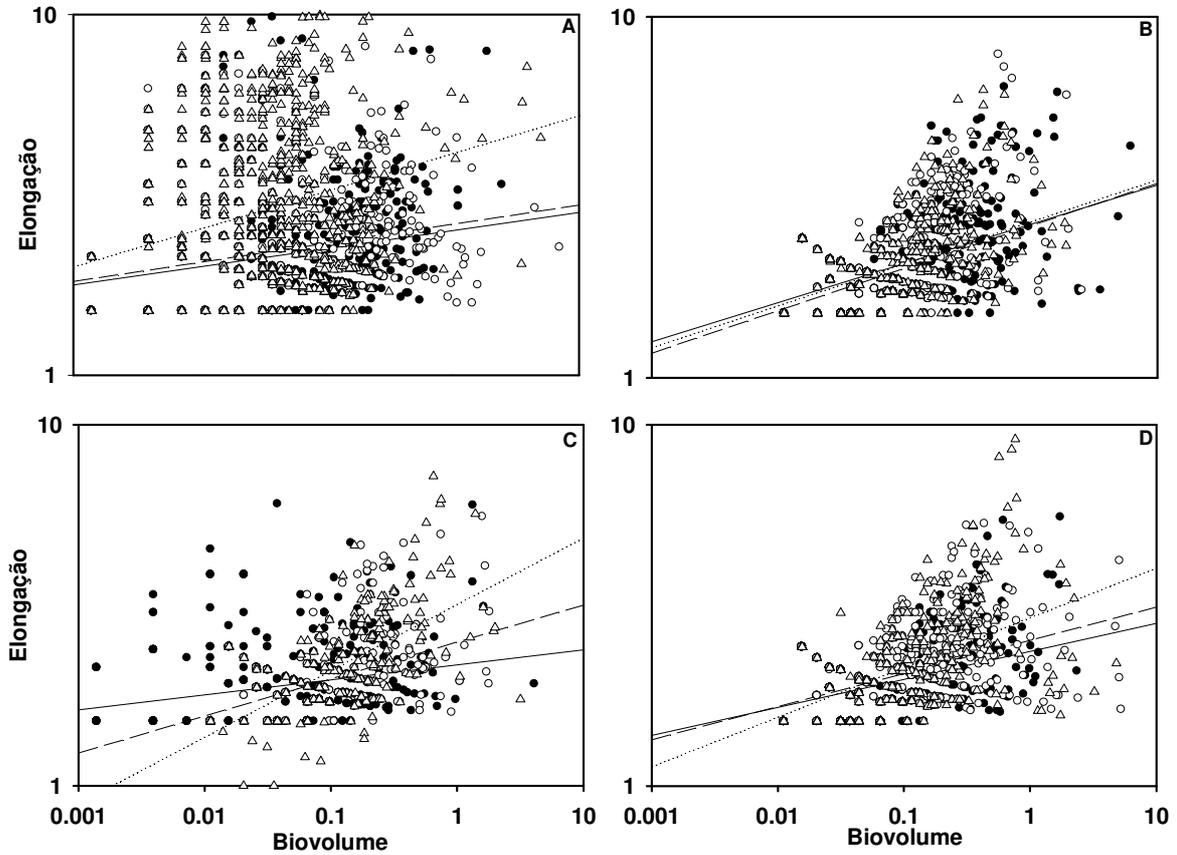


Fig. 1.3 – Elongação e biovolume bacterianos (escala logaritmizada) encontrados nos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D) nos períodos pré-chuva (círculos cheios e linha cheia), pós-chuva (círculos vazios e linha tracejada) e de seca (triângulos vazios e linha pontilhada).

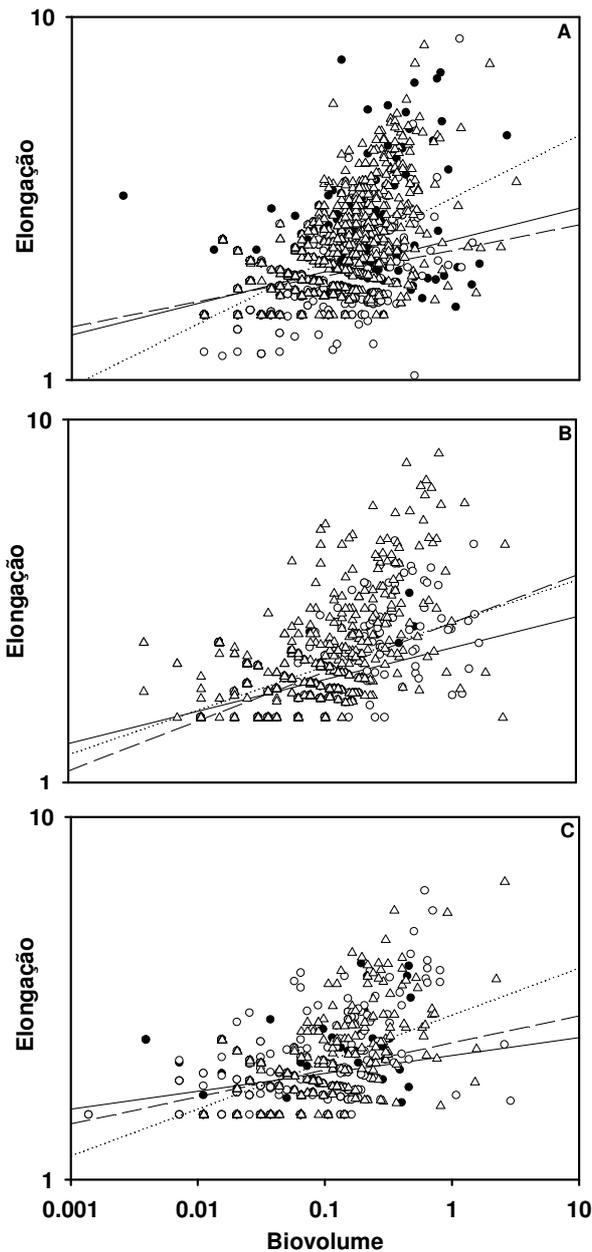


Fig. 1.4 – Elongação e biovolume bacterianos (escala logaritmizada) encontrados nos reservatórios de Furnas (A), Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto (C) nos períodos pré-chuva (círculos cheios e linha cheia), pós-chuva (círculos vazios e linha tracejada) e de seca (triângulos vazios e linha pontilhada).

O reservatório de Corumbá apresentou o maior estoque de carbono bacteriano por área. Os reservatórios em cascata do rio Grande apresentaram o menor estoque de carbono e o número de células estimado por área (Tabela 1.2).

Tabela 1.2 – Estimativa do número de células bacterianas (DB – céls. $10^{12} \cdot m^{-2}$ ) e do estoque de carbono bacteriano (BB – mg C.  $m^{-2}$ ) em cada reservatório, integrando os dados com a profundidade de coleta (0,5 m).

Reservatório	DB	BB	DB	BB	DB	BB	DB	BB
	Total		Pré-chuva		Pós-chuva		Seca	
Serra da Mesa	0.8	11	1.3	16	0.5	11	0.5	6.5
Manso	0.5	13	0.4	13	0.6	13	0.4	12
Itumbiara	0.7	13	0.9	19	0.3	10	0.8	11
Corumbá	0.6	20	1.1	36	0.3	11	0.4	14
Furnas	0.2	4.8	0.3	6.3	0.2	5.1	0.1	3.0
Mascarenhas	0.1	3.8	0.2	3.0	0.2	6.7	0.1	1.6
Luis Carlos	0.2	3.9	0.2	5.8	0.2	4.3	0.1	1.7

O número de células bacterianas estimado foi significativamente maior no reservatório de Serra da Mesa, quando comparado aos outros reservatórios. O estoque de carbono bacteriano no reservatório de Serra da Mesa, também, foi o maior, sendo semelhante apenas ao estoque encontrado no reservatório de Itumbiara. Tanto o estoque de carbono bacteriano, como o número total de células bacterianas nos reservatórios, foi maior no período pré-chuva, porém não houve diferença significativa entre os períodos amostrados (Tabela 1.3).

Tabela 1.3 – Estimativa do número de células bacterianas (DB - céls. $10^{20}$ ) e do estoque de carbono bacteriano (BB –  $10^5$  g C) dos dados integrados com a profundidade de coleta (0,5 m) encontrado nos reservatórios estudados.

Reservatório	DB	BB	DB	BB	DB	BB	DB	BB
	Total		Pré-chuva		Pós-chuva		Seca	
Serra da Mesa	13.9	1.99	22.3	2.90	9.73	1.91	9.59	1.16
Manso	2.01	0.56	1.51	0.57	2.65	0.57	1.89	0.54
Itumbiara	5.27	1.04	7.02	1.49	2.72	0.78	6.08	0.84
Corumbá	0.39	0.13	0.68	0.23	0.22	0.07	0.28	0.09
Furnas	2.67	0.69	3.60	0.91	2.96	0.73	1.45	0.43
Mascarenhas	0.33	0.09	0.38	0.07	0.50	0.17	0.13	0.04
Luis Carlos	0.08	0.02	0.10	0.03	0.10	0.02	0.03	0.01

Observando os dados de correlações apresentados na Tabela 1.4, podemos observar que a densidade bacteriana total teve correlação negativa com a transparência da água nos três reservatórios em cascata do Rio Grande. Além disso, a densidade bacteriana em Furnas teve correlações positivas com os dados de turbidez da água e de concentração de carbono orgânico dissolvido. No reservatório de Luis Carlos Barreto, a densidade bacteriana também se correlacionou negativamente com os dados de fósforo total. A densidade bacteriana se correlacionou negativamente com os dados de biomassa do fitoplâncton no reservatório de Manso. Em Itumbiara, a densidade bacteriana teve correlações negativa com os dados de biomassa de zooplâncton e positiva com os dados de concentração de nitrogênio. Já em Corumbá, foram observadas correlações positivas entre os dados de densidade bacteriana total com as concentrações de carbono orgânico dissolvido e de fósforo total.

A biomassa bacteriana no reservatório de Itumbiara foi a única que apresentou correlação com os dados de biomassa de zooplâncton, sendo esta correlação negativa. Em Corumbá, a biomassa bacteriana, assim como a densidade bacteriana, teve correlações positivas com os dados de concentração de carbono orgânico dissolvido e de fósforo total. A biomassa bacteriana em Furnas apresentou correlação positiva com os dados de turbidez da água, enquanto que em Luis Carlos Barreto, a biomassa bacteriana teve correlação negativa com os dados de transparência da água (Tabela 1.4).

Tabela 1.4 – Correlações ( $r^2$ ) entre densidade bacteriana (DB) e a biomassa (BB) com as biomassas do fitoplâncton (BFITO) e do zooplâncton (BZOO), com a transparência da água (SECCHI), turbidez (TURB), carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) nos reservatórios estudados.

Reservatório		BB	BFITO	BZOO	SECCHI	TURB.	COD	NT	PT
Serra da Mesa	DB	0.40*	-0.12	0.37	-0.13	0.25	-0.10	0.33	-0.10
	BB		-0.16	0.15	0.20	0.30	-0.21	0.36	-0.23
Manso	DB	0.37*	-0.38*	-0.04	0.10	0	0.16	-0.15	-0.16
	BB		0.11	0.20	-0.08	-0.12	0.32	0.04	0.06
Itumbiara	DB	0.54*	-0.14	-0.44*	-0.13	0.25	0.24	0.46*	0.28
	BB		-0.19	-0.56*	-0.30	0.11	-0.03	0.15	0.11
Corumbá	DB	0.87*	0.11	0.12	-0.18	0.09	0.34*	0.24	0.57*
	BB		0.08	0.12	-0.20	0.17	0.45*	0.33	0.61*
Furnas	DB	0.89*	0.07	-0.02	-0.39*	0.47**	0.37**	-0.10	0.16
	BB		0.08	-0.02	-0.20	0.41**	0.18	-0.10	0.04
Mascarenhas	DB	0.90*	0.08	-0.11	-0.52*	0.27	-0.36	-0.22	-0.16
	BB		0.29	-0.20	-0.47	0.27	-0.27	0.04	-0.11
Luis Carlos	DB	0.76*	0.37	0.29	-0.80**	0.26	0.14	-0.24	-0.46*
	BB		0.18	0.15	-0.65**	0.22	-0.06	-0.36	-0.39

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

Em todos os períodos, correlações negativas entre densidade e biomassa bacteriana com os dados de transparência da água. Correlações positivas entre a densidade e biomassa bacteriana e a turbidez da água também foram observadas em todos os períodos (Tabela 1.5). No período pré-chuva, foram encontradas correlações positivas entre a densidade bacteriana e as concentrações de carbono orgânico dissolvido e de nitrogênio total. No período de pós-chuva, a densidade bacteriana teve correlação positiva com os dados de biomassa do fitoplâncton. Neste período, a densidade e a biomassa bacteriana tiveram correlação negativa com a concentração de nitrogênio total. A densidade e biomassa bacteriana tiveram correlação positiva com os dados de biomassa do fitoplâncton. Em relação às correlações com as concentrações de nitrogênio e fósforo totais no período de seca, tanto a densidade quanto a biomassa bacteriana correlacionaram-se negativamente (Tabela 1.5).

Tabela 1.5 – Correlações ( $r^2$ ) entre densidade bacteriana total (DB) e a biomassa total (BB) com a biomassa total do fitoplâncton (BFITO), a biomassa total do zooplâncton (BZOO), transparência da água (SECCHI), turbidez (TURB), carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) em juntando os dados de todos os reservatórios nos diferentes períodos analisados.

		BB	BFITO	BZOO	SECCHI	TURB.	COD	NT	PT
PRÉ-CHUVA	DB	0.75**	-0.04	0.01	-0.52*	0.33**	0.29*	0.34*	-0.25
	BB		-0.26	-0.14	-0.55*	0.55**	0.31	0.27	-0.08
PÓS-CHUVA	DB	0.71*	0.33**	0.08	-0.29*	0.58**	0.15	-0.53**	-0.11
	BB		0.12	-0.04	-0.35*	0.52**	0.14	-0.41**	-0.09
SECA	DB	0.78**	0.41*	0.22	-0.74**	0.26*	0.06	-0.36*	-0.57*
	BB		0.23*	0.20	-0.78**	0.33**	-0.21	-0.37*	-0.38*

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

A análise de componentes principais do período pré-chuva mostrou que os primeiros dois eixos explicam cerca de 50% dos dados. O eixo 1 é explicado pela concentração de carbono orgânico dissolvido (-0.53) e a biomassa de fitoplâncton (0.39). O eixo 2 é explicado pela concentração de fósforo total (-0.48) e pela densidade e biomassa bacteriana (0.58 e 0.53 respectivamente). Desta forma, os reservatórios se agruparam em (a) Serra da Mesa e Manso; (b) Itumbiara e Corumbá; (c) Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto. O grupo (a) se diferenciou dos demais em relação ao eixo 1. Já os grupos (b) e (c) se diferenciaram em relação ao eixo 2 (Fig. 1.5).

No período pós-chuva, os dois primeiros eixos da análise de componentes principais explicam 44% dos dados. O primeiro eixo é explicado pela densidade bacteriana (0.56) e a concentração de nitrogênio total (-0.50). O segundo eixo é explicado pela turbidez (0.45) e pela transparência da água (-0.54). Os reservatórios neste período formaram dois grupos: (a) Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá; (b) Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto (Fig. 1.6).

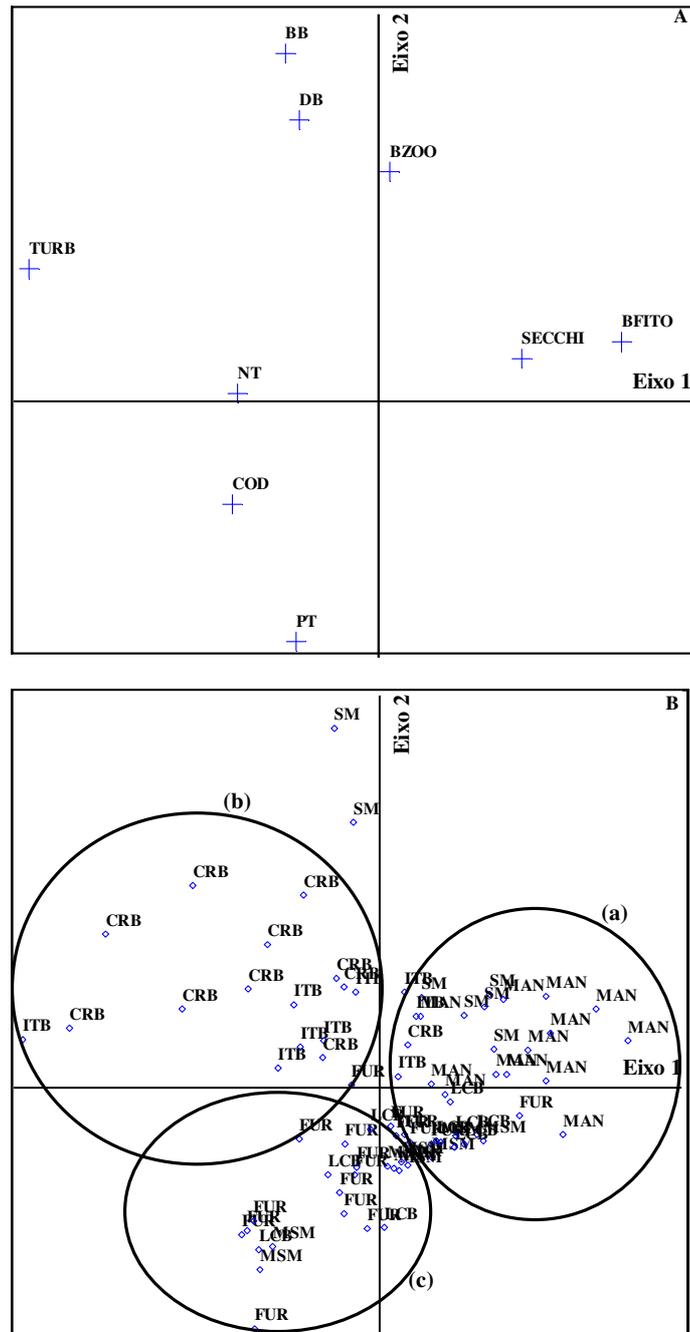


Fig. 1.5 – Análise de componentes principais das variáveis bióticas e abióticas com os dois principais eixos (A) e distribuição dos pontos dos reservatórios segundo estas variáveis (B) em Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) no período pré-chuva.

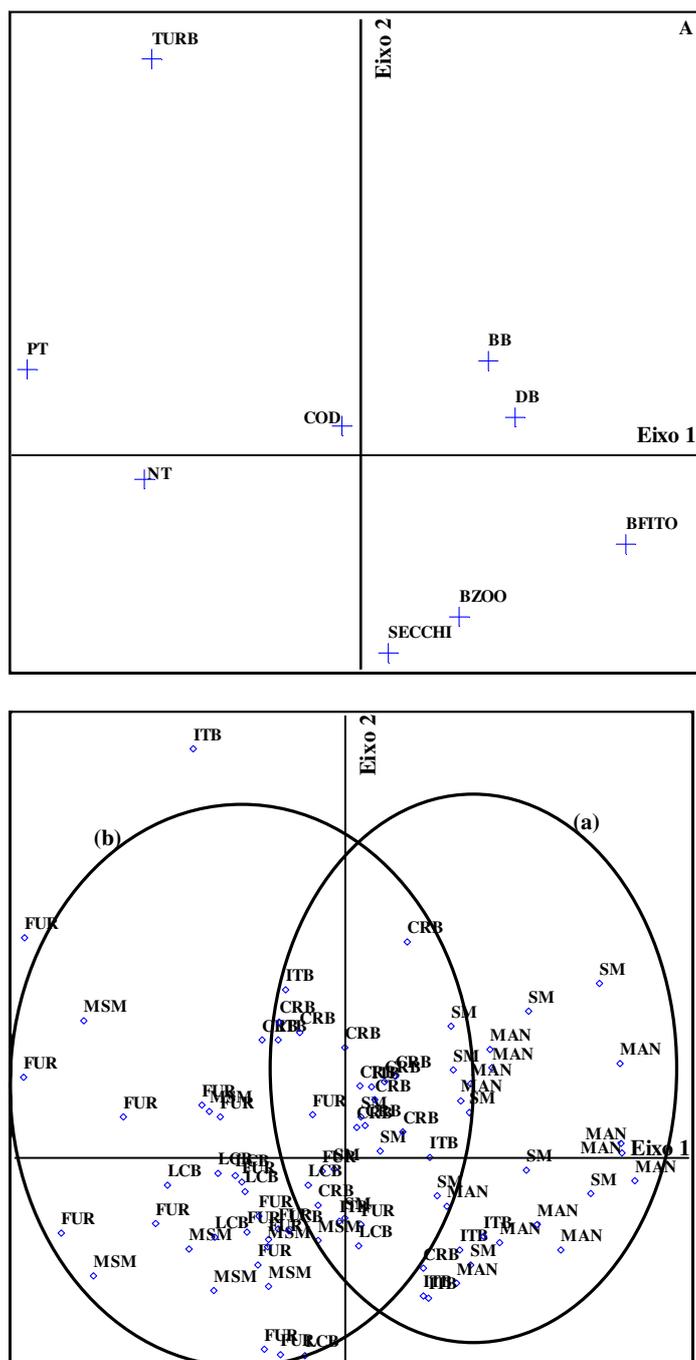


Fig. 1.6 – Análise de componentes principais das variáveis bióticas e abióticas com os dois principais eixos (A) e distribuição dos pontos dos reservatórios segundo estas variáveis (B) em Serra da Mesa (SM), Manso (MAN), Itumbiara (ITB), Corumbá (CRB), Furnas (FUR), Mascarenhas de Moraes (MSM) e Luis Carlos Barreto (LCB) no período pós-chuva.

No período de seca, a análise de componentes principais explica, com os dois primeiros eixos, 51% dos dados. O eixo 1 é explicado pela concentração de nitrogênio



## DISCUSSÃO

A densidade e biomassa bacteriana variaram distintamente dentro de cada reservatório e entre os reservatórios e ao longo das épocas de amostragem. As explicações para estas variações são semelhantes apenas para os reservatórios em cascata do rio Grande. De modo geral, o controle da estrutura da comunidade bacteriana se dá pelos predadores através da retirada de bactérias (número e biomassa) do meio ou seleção de determinado tamanho e forma – controle descendente. O outro tipo de controle, ascendente, atua primeiramente no metabolismo bacteriano, uma vez que a concentração, qualidade e razão entre os nutrientes do meio afetam a taxa de crescimento destes microrganismos.

Bactérias possuem estratégia para escapar de predadores. Simek *et al.* (1997) e Pernthaler *et al.* (1997) sugerem duas hipóteses para estas estratégias de bactérias contra predadores: uma diz que o rápido crescimento bacteriano superaria as perdas causadas pelos predadores; a outra diz que as bactérias alongariam suas formas, tornando-se não comestíveis por seus predadores. Grande parte da biomassa bacteriana total, de 11-83%, nas amostras ambientais é proveniente de bactérias filamentosas (Jürgens & Stolpe, 1995; Sommaruga & Psenner, 1995). Dentre os reservatórios estudados, as bactérias filamentosas (maior alongação) foram encontradas em Serra da Mesa. Os motivos da variação do volume celular das bactérias dentro de um mesmo ambiente não são explicados apenas pelo estado trófico deste (Nakano & Kawabata, 2000). Bird & Kalff (1984) observaram que, para os lagos canadenses estudados por estes autores, o volume celular bacteriano diminuía com o crescimento da densidade bacteriana.

O reservatório de Serra da Mesa foi o maior reservatório em extensão analisado, sendo por isso, além da grande densidade e biomassa bacterianas encontradas, o motivo deste reservatório apresentar o maior estoque de carbono bacteriano de todos os

reservatórios estudados. Neste reservatório, não foram encontradas correlações significativas com nenhuma outra variável analisada. Provavelmente por causa da heterogeneidade contida em sua imensa área, possibilitando a existência de inúmeros nichos. Lindström (2001) não encontrou relação da biomassa bacteriana com nenhuma variável ambiental dos lagos suecos estudados. Entretanto, a densidade e biomassa bacteriana dos outros seis reservatórios aqui estudados apresentaram correlações com as variáveis analisadas.

De acordo com os modelos propostos por Currie (1990), a relação entre algas e bactérias pode ser de competição por nutrientes limitantes, pode ser de dependência mútua (covariância) e, por último, as algas seriam limitadas por nutrientes enquanto bactérias seriam limitadas pelo carbono oriundo das algas. A correlação negativa encontrada entre os dados de densidade bacteriana e a biomassa de carbono do fitoplâncton, encontrada em Manso, indica uma competição entre estas duas comunidades por nutrientes.

Em Itumbiara, a correlação negativa encontrada dos dados tanto da densidade quanto da biomassa bacteriana com os dados de biomassa zooplancônica sugere que estes últimos seriam os controladores da comunidade bacteriana neste reservatório. Cormema *et al.* (2003) estimaram que 95% do carbono bacteriano foram consumidos por predadores zooplancônicos no reservatório de Sau, Espanha. Os predadores zooplancônicos foram considerados os principais mecanismos de controle da comunidade bacteriana também nos lagos estudados por Chróst *et al.* (2000).

Nos reservatórios de Corumbá e Furnas, foram encontradas correlações positivas da densidade bacteriana com o carbono orgânico dissolvido. Apesar destes reservatórios apresentarem idades de alagamento distintas (19 e 43 anos respectivamente), acredita-se que este carbono orgânico seja de origem recente em ambos os reservatórios e não

produto da decomposição do material submerso. Isso sugere que o carbono orgânico dissolvido estaria sendo assimilado por estas bactérias, favorecendo o seu crescimento, fato que também foi observado por Cormema *et al.* (2003).

A separação dos reservatórios em cascata diferenciando dos demais potencializa a contribuição e impacto de um reservatório em outro da mesma cascata. Os reservatórios de Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto apresentaram semelhanças nos parâmetros da estrutura da comunidade bacteriana em todos os períodos. Estes três reservatórios, além de constituírem um sistema em cascata do Rio Grande, são os mais antigos em relação ao período de enchimento. Isso faz com que a matéria orgânica a ser degradada seja menor em relação aos mais recentes, tendo por isso a estrutura da comunidade bacteriana mais estável e semelhante entre os períodos amostrados. De acordo com o conceito Contínuo de Reservatório em Cascata (Barbosa *et al.*, 1999), as alterações na composição e na distribuição das comunidades aquáticas nos reservatórios em cascata são reflexo das modificações laterais, verticais e longitudinais dos reservatórios.

As estimativas do estoque de carbono mostraram a contribuição diferenciada das bactérias para o estoque total de carbono em cada reservatório. Em alguns casos, ocorreram independentes do tamanho dos reservatórios. O reservatório de Itumbiara apesar de ser o terceiro maior reservatório, apresentou o segundo maior número total de células bacterianas dos reservatórios estudados. Da mesma forma, o reservatório de Corumbá, apesar de ser quase a metade do tamanho do reservatório de Mascarenhas de Moraes, apresentou um número total de células e o estoque de carbono bacteriano maior que este último reservatório, sugerindo que tanto a densidade, quanto a biomassa depende de fatores intrínsecos aos ambientes e não apenas o tamanho. O fato de o reservatório de Mascarenhas de Moraes ser mais antigo que o de Corumbá pode

explicar a maior densidade bacteriana neste reservatório, já que este teria mais matéria orgânica a ser decomposta, favorecendo o crescimento bacteriano. Os valores de densidade e biomassa bacteriana do reservatório de Corumbá sugerem que as células bacterianas encontradas neste reservatório têm maior quantidade de biomassa de carbono, já que os valores de densidade não são altos e os valores de biomassa quase sempre são os mais altos quando comparados aos demais reservatórios estudados. No lago Tanganyika (continente africano), foi encontrado baixo conteúdo de carbono nas células bacterianas associado a grandes densidades bacterianas (Pirlot *et al.*, 2005). Os autores sugeriram que isto estava relacionado com as baixas concentrações de nutrientes e disponibilidade de carbono orgânico, encontrando-se bactérias espiraladas com alta razão superfície-área.

As correlações negativas entre a densidade e a biomassa bacteriana com a transparência da água e positivas com a turbidez em todos os períodos analisando todos reservatórios juntos indica que material em suspensão afeta fortemente a estrutura da comunidade bacteriana local. Este efeito pode ser direto uma vez que partículas em suspensão são agregados com substância orgânicas e inorgânicas que promovem o crescimento bacteriano (Turner *et al.*, 1994). O efeito também pode ser indireto uma vez que interfere na penetração da energia luminosa necessária para a produção fitoplanctônica, diminuindo, assim, a competição entre bactérias e algas. Isso indica que as bactérias heterotróficas teriam seu crescimento favorecido pela maior disponibilidade de nutrientes, tanto os disponíveis nos agregados, quanto os disponíveis pela ausência de competição com o fitoplâncton. Goosen *et al.* (1999) encontraram que a biomassa bacteriana foi maior que 50% da biomassa microbiana total (bactéria + fitoplâncton) no ambiente de maior turbidez. Nestes ambientes, devido ao impedimento ou atenuação da

entrada de luz, o fitoplâncton teria dificuldade de crescer, deixando de assimilar nutrientes importantes para toda comunidade microbiana (Faithful & Griffiths, 2000).

A porcentagem de nutrientes absorvidos pelas bactérias é variável e pode ser influenciada tanto pela concentração e qualidade deste elemento no meio, quanto pela proporção do elemento em relação a outros elementos. No entanto, essas variações na absorção podem estar relacionadas, principalmente, com a composição da comunidade microbiana presente no local. Bactérias com diferentes razões superfície-volume vão absorver os nutrientes diferentemente e nem todas as espécies de bactérias absorvem todos os nutrientes o tempo todo. As correlações encontradas no período pós-chuva e de seca entre a biomassa bacteriana e a concentração de nitrogênio total foram negativas. Entretanto, no período pré-chuva, esta correlação foi positiva. Carr *et al.* (2005) encontraram correlações positivas entre a biomassa bacteriana e a concentração de nitrogênio total. A densidade e a biomassa bacteriana se correlacionaram positivamente com o fósforo total em Corumbá e a densidade se correlacionou negativamente com a mesma variável em Luis Carlos Barreto e no período de seca.

As análises de componentes principais mostraram que pelo menos um dos dois principais eixos era explicado por uma das variáveis da comunidade bacteriana analisadas. Portanto, a estrutura bacteriana foi um dos principais fatores que contribuíram para a separação dos reservatórios em grupos.

Embora os estoques de carbono bacteriano dos reservatórios apresentados aqui sejam apenas estimativas, mostram a variabilidade e importância desta comunidade nos sistemas aquáticos. Assim, a quantificação do carbono bacteriano nos ambientes aquáticos sempre que tiver a intenção de entender a real participação destes microrganismos no ciclo e no estoque do carbono de cada ambiente deve ser realizada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P.C., BIDDANDA, B. & ODEBRECHT, C., 1992, “Bacterial Dynamics of the Patos Lagoon Estuary, Southern Brazil (32°S; 52°W): Relationship with Phytoplankton Production and Suspended Material”, *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 35, pp. 621-635.

ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica), 2002, *Atlas de Energia Elétrica do Brasil*, Brasília, DF, pp. 153.

AUGUET, J.C., MONTANIE, H., DELMAS, D., HARTMANN, H.J. & HUET, V., 2005, “Dynamic of virioplankton abundance and its environmental control in the Charente estuary (France)”, *Microbial Ecology*, v. 50, pp. 337-349.

BARBOSA, F.A.R., PADISÁK, J., ESPÍNDOLA, E.L.G., BORICS, G. & ROCHA, O., 1999, “The Cascading Reservoir Continuum Concept (CRCC) and Its Application to the River Tietê-Basin, São Paulo, State, Brazil”, In: Tundisi, J.G. & Straskraba, M. (eds.), *Theoretical Reservoir Ecology and Its Applications*, Backhuys Published, The Netherlands, pp. 425-437.

BIRD, D.F. & KALFF, J., 1984, “Empirical Relationship Between Bacterial Abundance and Chlorophyll Concentration in Fresh and Marine Waters”, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, v. 41, pp. 1015-1023.

CALLIERI, C., PUGNETTI, A. & MANCA, M., 1999, “Carbon Partitioning in Food Web of a High Mountain Lake: From Bacteria to Zooplankton”, In: Straskrabová, V., Callieri, C. & Fott, J. (eds.), *Pelagic Food Web in Mountain Lakes. Mountain Lakes Research Program. Journal of Limnology*, v. 58, pp. 144-151.

CARR, G.M., MORIN, A. & CHAMBERS, P.A., 2005, “Bacterial and Algae in Stream Periphyton Along a Nutrient Gradient”, *Freshwater Biology*, v. 50, pp. 1337-1350.

- CHROST, R.J., KOTON, M. & SIUDA, W., 2000, "Bacterial Secondary Production and Bacterial Biomass in Four Mazurian Lakes of Differing Trophic Status", *Polish Journal of Environmental*, v. 9, pp. 255-266.
- COMERMA, M. GARCÍA, J.C., ROMERO, M., ARMENGOL, J. & SIMEK, K., 2003, "Carbon Flow Dynamics in the Pelagic Community of the Sau Reservoir (Catalonia, NE Spain)", *Hydrobiologia*, v. 504, pp. 87-98.
- CURRIE, D.J., 1990, "Large-Scale Variability and Interactions Among Phytoplankton, Bacterioplankton, and Phosphouros", *Limnology and Oceanography*, v. 35, pp. 1437-1455.
- FAITHFUL, J.W. & GRIFFITHS, D.J., 2000, "Turbid Flow a Tropical Reservoir (Lake Dalrymple, Queensland, Australia): Responses to a Summer Storm Event", *Lakes & Reservoirs and Management*, v. 5, pp. 231-247.
- HOBBIE, J.E., DALEY, R.J. & JASPER, S., 1977, "Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy", *Applied Environmental Microbiology*, v. 33, pp. 1225-1228.
- GASOL, J.M., COMERMA, M., GARCÍA, J.C., ARMENGOL, J., CASAMAYOR, E.O., KOJECKÁ, P. & SIMEK, K., 2002, "A transplant experiment to identify the factors controlling bacterial abundance, activity, production, and community composition in a eutrophic canyon-shaped reservoir", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 62-77.
- GOOSEN, N.K., KROMKAMP, J., PEENE, J., van RIJSWIJK, P. & van BREUGEL, P., 1999, "Bacterial and Phytoplankton Production in the Maximum Turbidity Zone of Three European Estuaries: The Elbe, Westerschelde and Gironde", *Journal of Marine Systems*, v. 22, pp. 151-171.

- JÜRGENS, K. & STOLPE, G., 1995, "Seasonal Dynamics of Crustacean Zooplankton, Heterotrophic Nanoflagellates and Bacteria in a Shallow Eutrophic Lake", *Freshwater Biology*, v. 33, pp. 27-38.
- KIRCHMAN, D. L. & RICH, J. H., 1997, "Regulation of Bacterial Growth Rates by Dissolved Organic Carbon and Temperature in the Equatorial Pacific Ocean", *Microbial Ecology*, v. 33, pp. 11-20.
- LINDSTRÖM, E.S., 2001, "Investigation Influential Factors on Bacterioplankton Community Composition: Results from a Field Study of Five Mesotrophic Lakes", *Microbial Ecology*, v. 42, pp. 598-605.
- MASSANA, R., GASOL, J.M., BJORNSEN, P.K., BLACK-BURN, N., HAGSTRÖM, A., HIETANEN, S., HYGUM, B.H., KUPARINEN, J. & PEDRÓS-ALIÓ, C., 1997, "Measurement of Bacterial Size Via Image Analyses of Epifluorescence Preparations: Description of an Inexpensive System and Solutions to Some of the Most Common Problems", *Scientia Marina*, v. 61, pp. 397-407.
- MEYER, J.L., 1994, "The Microbial Loop in Flowing Waters", *Microbial Ecology*, v. 28, pp. 195-199.
- NAKANO, S & KAWABATA, Z., 2000, "Changes in Cell Volume of Bacteria and Heterotrophic Nanoflagellates in a Hypereutrophic Pond", *Hydrobiologia*, v. 428, pp. 197-203.
- NORLAND, S., 1993, "The Relationship Between Biomass and Volume of Bacteria", In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, pp. 303-307.
- PEDUZZI, P. & SCHUEMER, F., 2004, "Bacteria and Viruses in the Water Column of Tropical Freshwater Reservoir", *Environmental Microbiology*, v. 6, pp. 707-715.

- PERNTHALER, J., POSCH, T., SIMEL, K., VRBA, J., AMANN, R. & PSENNER, R., 1997, "Contrasting Bacterial Strategies to Coexist with a Flagellate Predator in an Experimental Microbial Assemblage", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, pp. 596-601.
- PESCE, S., FAJON, C., BARDOT, C., BONNEMOY, F., PORTELLI, C. & BOHATIER, J., 2006, "Effects of the Phenylurea Herbicide Diuron on Natural Riverine Microbial Communities in an Experimental Study", *Aquatic Toxicology*, v. 78, pp. 303–314.
- PIRLOT, S., VANDERHEYDEN, J., DESCY, J. & SERVAIS, P., 2005, "Abundance and Biomass of Heterotrophic Microorganisms in Lake Tanganyka", *Freshwater Biology*, v. 50, pp. 1219-1232.
- POMEROY, L.R. & WIEBE, W.J., 2001, "Temperature and Substrate as Interactive Limiting Factors for Marine Heterotrophic Bacteria", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 23, pp. 187-204.
- SIMEK, K., VRBA, J., PERNTHALER, J., POSCH, T., HARTMAN, P., NEDOMA, J. & PSENNER, R., 1997, "Morphological and Compositional Shifts in an Experimental Bacterial Community Influenced by Protists with Contrasting Feeding Modes", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, pp. 587-595.
- SOMMARUGA, R. & PSENNER, R., 1995, "Permanent Presence of Grazing-Resistant Bacteria in a Hypereutrophic Lake", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 61, pp. 3457-3459.
- TURNER, A., MILLWARD, G.E. & TYLER, A.O., 1994, "The Distribution and Chemical Composition of Particles in a Macrotidal Estuary", *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, v. 38, pp. 1-17.

TORLONI, C.E., 1994, "Management of Fishing Resources in CESP's Reservoirs", In: Barbosa, F.A.R. (eds.), *Workshop: Brazilian Programme on Conservation and Management of Inland Waters, Acta Limnologica Brasiliensia*, v. 5, pp. 177-186.

WEISSE, T., 1991, "The Microbial Food Web and Its Sensitivity to Eutrophication and Contamination Enrichment: A Cross-System Overview", *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie*, v. 26, pp. 327-337.

WHITMAN, W.B., COLEMAN, D.C. & WIEBE, W.J., 1998, "Prokaryotes: The Unseen Majority", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 95, pp. 6578-6583.

## CAPÍTULO 2

### **Biogeografia de grandes grupos bacterianos em sete reservatórios tropicais brasileiros**

#### RESUMO

A distribuição da comunidade bacteriana foi determinada em amostras subsuperficiais de água em sete reservatórios tropicais brasileiros diferentes quanto à morfologia, tempo alagamento e de residência da água (Serra da Mesa, Manso, Itumbiara, Corumbá, Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto). A composição dos grandes grupo bacterianos Eubactérias, alfa-, beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* foram avaliados no estudo desta comunidade pela técnica de biologia molecular de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Índices de similaridade da comunidade bacteriana, de similaridade ambiental e a distância geográfica entre os pontos amostrados foram relacionados nos diferentes reservatórios. A distribuição da comunidade bacteriana não foi semelhante em todos os ambientes estudados. Todos os grupos bacterianos analisados tiveram correlação positiva significativa com o carbono orgânico dissolvido, indicando que esse pode ser um fator influenciador ao crescimento de todos os grupos analisados. O grupo das *Cytophaga-Flavobacter* apresentou correlação significativa positiva com a turbidez da água, o que sugere que a presença de substratos favorece seu estabelecimento na comunidade bacteriana. Ao contrário do observado em ambientes temperados, a flutuação da densidade bacteriana foi maior que a flutuação filogenética desta comunidade nos ambientes estudados. Características específicas de distribuição dos grupos bacterianos foram encontrados dentro e entre os reservatórios.

## INTRODUÇÃO

A biogeografia é um dos principais conceitos para estudo da distribuição dos organismos no espaço e no tempo. Recentemente, discussões e controvérsias questionam a existência de biogeografia microbiana (Bell *et al.*, 2005; Fenchel & Finlay, 2005; Mitchel, 2005; Dolan, 2006). Os trabalhos levando em conta a biogeografia para microrganismos, tentam elucidar como as comunidades bacterianas estão distribuídas nos ambientes (de Wit & Bouvier, 2006).

Bell *et al.* (2005) afirmam que a relação espécie-área para microrganismos aquáticos aumenta a medida que o sistema considerado seja maior, sendo comparável a distribuição de organismos eucariontes de maior porte. No entanto, Fenchel & Finlay (2005), mesmo concordando que há maior número de espécies bacterianas em sistemas maiores, não concordam que estas espécies sejam restritas e exclusivas de apenas um determinado local.

A teoria de Baas Becking que afirma que “todos microrganismos estão em todos os lugares, mas o ambiente seleciona” se baseia na idéia de que estes microrganismos têm distribuição ubíqua por causa do seu pequeno tamanho, grande abundância e facilidade de dispersão. Assim, as barreiras geográficas seriam, de certa forma, irrelevantes para distribuição espacial das bactérias (Whitaker *et al.*, 2003; Dolan, 2005; de Wit & Bouvier, 2006).

No entanto, alguns trabalhos avaliam a presença sistemática de padrões biogeográficos para alguns grupos bacterianos indicando que estes microrganismos podem funcionar como unidades ecológicas definindo papéis na mediação de processos biogeoquímicos, bem como nem todos os microrganismos estariam distribuídos na mesma proporção em todos os ambientes (Kirchman *et al.*, 2005; Dolan, 2006).

Descobrir e entender quais são os fatores que influenciam na distribuição das comunidades microbianas aquáticas é necessário para a compreensão da existência destes padrões biogeográficos. Estes padrões de distribuição dos microrganismos promovem importantes ligações dos mecanismos que estruturam as comunidades biológicas e são centrais para determinação de prioridades de conservação (Nold & Zwart, 1998; Green & Bohannan, 2006). Para se determinar quais fatores influenciam nas variações da composição da comunidade bacteriana, é preciso obter dados de correlação das variáveis ambientais e geográficas com essa comunidade em vários ambientes diferentes (Yannarell & Triplett, 2004).

Neste sentido, as comunidades planctônicas, especialmente as formadas por bactérias e algas, são consideradas valiosos indicadores dos estresses antrópicos em sistemas límnicos. Os entendimentos da composição e dos processos relacionados à produtividade são bons indicadores das condições de estresse as quais os sistemas ecológicos estão submetidos. Assim, alterações na estrutura e metabolismo da comunidade microbiana têm efeito na estabilidade e funcionamento dos ecossistemas. Entender a ligação entre a diversidade e função dos microrganismos não só promove informações sobre a resiliência do ecossistema aos distúrbios causados pelo homem, mas também ajuda a desenvolver estratégias de isolamento de microrganismos com potencial aplicação biotecnológica (Devereux *et al.*, 2006).

Neste trabalho, analisamos a distribuição de diferentes grupos de bactérias aquáticas em sete reservatórios de água para geração de energia hidrelétrica de diferentes tamanhos e tempo de residência. Padrões de distribuição em escala regional (região tropical) e em escala local (dentro dos reservatórios) foram avaliados. A composição da comunidade bacteriana foi determinada pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) em amostras oriundas do ambientes de entrada, da barragem e

do ambiente de saída. As hipóteses testadas para os grandes grupos bacterianos analisados nestes reservatórios foram: (a) a similaridade bacteriana é maior em pontos amostrais ambientalmente mais similares em um mesmo ecossistema; e (b) a similaridade bacteriana é maior em locais ambientalmente mais semelhantes e mais próximos geograficamente, analisando diferentes ecossistemas (Martiny *et al.*, 2006).

## MATERIAL E MÉTODOS

As coletas de água foram realizadas na subsuperfície de pontos localizados nos rios tributários (ambiente de entrada), no ambiente do corpo do reservatório (barragem) e no ambiente de saída (jusante) dos seguintes reservatórios brasileiros: Serra da Mesa (13°49' S; 48°18' W), Manso (14°87'S/55°77'W), Itumbiara(18°41'S/49°08'W), Corumbá (17°98'S/48°51'W), Furnas (20°66'S/46°25'W), Mascarenhas de Moraes (20°28'S/47°05'W) e Luis Carlos Barreto (20°15'S/47°26'W). Estes três últimos reservatórios estão dispostos em forma de reservatórios em cascata da bacia do rio Grande. Os reservatórios estudados apresentam diferenças quanto ao tamanho e tempo de residência da água (Tabela 2.1). Em Serra da Mesa e Manso, as coletas foram realizadas em março de 2004; nos reservatórios de Itumbiara e Corumbá, foram realizadas em março de 2005; e em Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto, foram realizadas em novembro de 2005.

A transparência da água foi determinada através da profundidade do disco de Secchi, a turbidez utilizando o turbidímetro Lamotte (modelo 2020) para todos os sete reservatórios. A concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) foi determinada pelo analisador de carbono Phoenix 8000 (Tekmar-Dohrmann). As concentrações de nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) foram determinadas segundo metodologias específicas (Wetzel & Likens, 1991).

Tabela 2.1 – Características dos reservatórios brasileiros estudados: área alagada (ÁREA – km<sup>2</sup>), volume (km<sup>3</sup>), tempo de alagamento (IDADE – anos) e tempo de residência (dias).

<b>Reservatório</b>	<b>ÁREA (km<sup>2</sup>)</b>	<b>VOLUME (km<sup>3</sup>)</b>	<b>IDADE (anos)</b>	<b>TEMPO RESIDÊNCIA (dias)</b>
<b>Serra da Mesa</b>	<b>1785</b>	<b>54.5</b>	<b>8</b>	<b>720</b>
<b>Manso</b>	<b>430</b>	<b>7.5</b>	<b>6</b>	<b>888</b>
<b>Corumbá</b>	<b>65</b>	<b>1.5</b>	<b>19</b>	<b>36</b>
<b>Itumbiara</b>	<b>780</b>	<b>17.0</b>	<b>26</b>	<b>113</b>
<b>Furnas</b>	<b>1440</b>	<b>23.0</b>	<b>43</b>	<b>?</b>
<b>Mascarenhas</b>	<b>250</b>	<b>4.0</b>	<b>59</b>	<b>?</b>
<b>Luis carlos</b>	<b>50</b>	<b>1.5</b>	<b>37</b>	<b>?</b>

? - não conhecido

A composição da comunidade do bacterioplâncton foi determinada pelo método hibridização *in situ* fluorescente (FISH). As amostras foram fixadas com paraformaldeído 20% (concentração final 2%) e filtradas através de filtro branco de policarbonato Millipore 0.2 µm. A densidade relativa dos diferentes grupos analisados foi determinada a partir de marcadores Cy3 em oligonucleotídeos RNAr 16S (Operon Technologies®) para a identificação de Eubactérias (Eub338R, 5' – 3GCTGCCTCCCGTAGGAGT – 3'), alfa-proteobactérias (Alf986, 5' – 3GG TAA GGT TCT GCG CGT T – 3'), beta-proteobactérias (Bet42a, 5' – 3GC CTT CCC ACT TCG TTT – 3'), gama-proteobactérias (Gam42a, 5' – 3GC CTT CCC ACA TCG TTT – 3') e *Cytophaga-Flavobacter* (CF319a, 5' – 3TG GTC CGT GTC TCA GTA C – 3'). Posteriormente as amostras foram coradas com DAPI para contagem da densidade bacteriana total. Um marcador controle negativo (5'- 3CC TAG TGA CGC CGT CGA C – 3'), que não possui especificidade para nenhum grupo bacteriano, foi utilizado para avaliação da eficiência da hibridização (Cottrell & Kirchman, 2000). Dez campos aleatórios foram analisados em cada filtro com auxílio do microscópio de

epifluorescência Olympus IX-71 equipado com os seguintes jogos de filtros Chroma U-N41007, U-MWU2, U-MWB2 e U-MWG2, no aumento de 1000x.

A biomassa bacteriana total média foi determinada a partir da captura de imagens de células bacterianas coradas com fluorocromo (Cy3) dos marcadores específicos. Posteriormente, estas imagens foram analisadas com o auxílio do programa Image Tool 3.0. Cada imagem tinha pelo menos 30 células bacterianas. As células foram medidas e determinado o biovolume celular a partir da sua área (Massana *et al.*, 1997) e, então, foi determinada a biomassa celular (Norland, 1993). A biomassa celular média da amostra foi determinada e multiplicada pela densidade bacteriana total da amostra resultando na biomassa bacteriana média da amostra.

A correlação de Spearman foi utilizada para comparar a densidade absoluta dos grupos bacterianos analisados e as variáveis ambientais. Os testes ANOVA One Way e “a posteriori” de Tukey foram utilizados para comparação dos dados de estrutura da comunidade bacteriana, sendo considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ .

O índice de Morisita-Horn foi utilizado para análise de similaridade da composição da comunidade bacteriana, levando em conta os dados de densidade bacteriana dos grupos bacterianos analisados. A similaridade ambiental foi determinada a partir da Distância Euclidiana Simples (DES):  $1 - DES$ . A DES foi determinada após a estandarização dos dados abióticos. A análise de distância geográfica foi utilizada a partir das coordenadas geográficas dos pontos de coleta. As análises de similaridade das comunidades bacterianas e a distribuição destas segundo a similaridade ambiental e distância geográfica foram analisadas segundo proposto por Martiny *et al.* (2006) com o auxílio do programa Fitopac 1.1.

## RESULTADOS

Embora as amostragens tenham sido realizadas em diferentes épocas do ano, a temperatura mostra a característica tropical dos reservatórios: altas temperaturas com pouca variabilidade entre as estações do ano. O reservatório de Furnas apresentou os maiores valores para os dados de transparência da água e de concentração de PT. Os maiores valores de turbidez e COD foram encontrados no reservatório de Itumbiara. O reservatório de Serra da Mesa apresentou o maior valor de condutividade da água (Tabela 2.2). Dessa forma, podemos observar a heterogeneidade dos sistemas principalmente a partir dos dados de transparência da água (disco de Secchi), turbidez, NT e PT. Observam-se diferenças nos valores de condutividade entre os reservatórios mais jovens e os mais velhos.

Tabela 2.2 - Média  $\pm$  desvio-padrão de temperatura (Temp. - °C), transparência (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), condutividade (COND - mS cm<sup>-1</sup>), concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD - mg L<sup>-1</sup>), de nitrogênio total (NT - µg L<sup>-1</sup>) e fósforo total (PT - µg L<sup>-1</sup>) da água nos sete reservatórios estudados.

Reservatório	TEMP (°C)	SECCHI (m)	TURB (NTU)	COND (mS cm <sup>-1</sup> )	COD (mg L <sup>-1</sup> )	NT (mgL <sup>-1</sup> )	PT (mg L <sup>-1</sup> )
Serra da Mesa	28 $\pm$ 1.3	2.0 $\pm$ 1.8	6.4 $\pm$ 9.8	75 $\pm$ 12	1.3 $\pm$ 0.4	450 $\pm$ 187	20 $\pm$ 21
Manso	30 $\pm$ 2.2	1.9 $\pm$ 1.6	2.5 $\pm$ 2.1	30 $\pm$ 13	1.6 $\pm$ 0.6	139 $\pm$ 116	18 $\pm$ 13
Itumbiara	28 $\pm$ 2.8	1.5 $\pm$ 1.6	30 $\pm$ 41	31 $\pm$ 3.1	1.6 $\pm$ 0.8	258 $\pm$ 112	26 $\pm$ 14
Corumbá	27 $\pm$ 1.0	0.5 $\pm$ 0.3	32 $\pm$ 22	27 $\pm$ 7.2	1.4 $\pm$ 0.2	326 $\pm$ 85	27 $\pm$ 6.9
Furnas	27 $\pm$ 1.3	4.3 $\pm$ 2.5	7.6 $\pm$ 6.6	42 $\pm$ 7.3	1.7 $\pm$ 0.4	411 $\pm$ 122	52 $\pm$ 28
Mascarenhas	26 $\pm$ 1.9	3.8 $\pm$ 1.4	1.2 $\pm$ 0.4	34 $\pm$ 1.5	1.2 $\pm$ 0.2	243 $\pm$ 69	38 $\pm$ 6
Luis Carlos	25 $\pm$ 1.7	4.0 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.2	36 $\pm$ 0.3	1.1 $\pm$ 0.1	462 $\pm$ 91	31 $\pm$ 5

A comparação da densidade bacteriana nos reservatórios separou os reservatórios estudados em dois grupos: (a) Serra da Mesa e Manso; e (b) Itumbiara, Corumbá, Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto. Os valores de densidade bacteriana total nos reservatórios de Serra da Mesa e de Manso foram

maiores em todos os compartimentos em comparação aos outros cinco reservatórios estudados. A densidade bacteriana nos reservatórios de Serra da Mesa e de Manso apresentou diferença apenas na barragem, sendo maior em Manso do que em Serra da Mesa. Comparando dos diferentes compartimentos dos reservatórios quanto aos dados de densidade bacteriana, podemos observar que eles foram semelhantes em todos os compartimentos para todos os reservatórios (Fig. 2.1).

A biomassa bacteriana apresentou diferença significativa quando comparados os dados de Furnas e de Mascarenhas Moraes aos dados de Manso e de Corumbá. Comparando os dados da biomassa bacteriana nos compartimentos, ela não apresentou diferenças significativas. Entretanto, é possível notar diferença nos dados da biomassa bacteriana na barragem e ambientes de entrada e de saída do reservatório de Corumbá. Da mesma forma, Serra da Mesa apresenta valores decrescentes de biomassa bacteriana total do ambiente de entrada até o ambiente de saída, enquanto o reservatório de Luis Carlos Barreto apresenta valores crescentes considerando este mesmo eixo ambiente de entrada – ambiente de saída (Fig. 2.1).

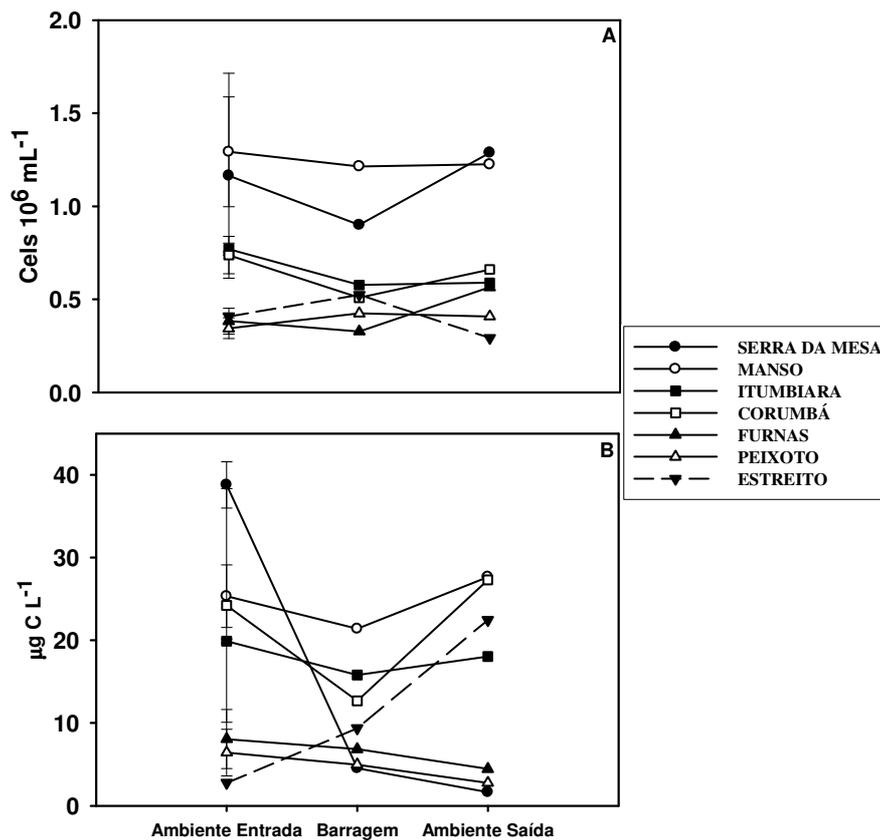


Fig. 2.1 – Densidade bacteriana (célula. $10^6$ .mL $^{-1}$ ) em A e biomassa bacteriana total ( $\mu\text{g C L}^{-1}$ ) em B nos ambientes dos sete reservatórios.

Os reservatórios apresentaram diferenças entre eles quanto à estrutura da comunidade bacteriana e demais parâmetros analisados, não sendo observado nenhum padrão de distribuição desta comunidade. O grande grupo das Eubactérias apresentou valores variando de 18 a 47% ( $30 \pm 7,3\%$ ) da densidade bacteriana total. O menor valor da densidade relativa foi encontrado em um rio tributário no ambiente de entrada do reservatório de Itumbiara e o maior valor foi encontrado em um rio tributário no ambiente de entrada do reservatório de Corumbá.

Os dados da densidade bacteriana dos grupos analisados apresentaram semelhança nos compartimentos dos reservatórios estudados. Entretanto, quando comparados os dados dos reservatórios para cada grupo, pudemos observar que a densidade relativa das alfa-proteobactérias foi diferente quando comparados os dados de

Serra da Mesa aos de Furnas e Mascarenhas de Moraes. Os dados da densidade relativa de beta-proteobactérias mostraram que o reservatório de Serra da Mesa foi diferente de todos os outros reservatórios estudados. O que não aconteceu para os dados de densidade relativa de gama-proteobactérias, sendo semelhante os dados de densidade deste grupo para todos os reservatórios.

A densidade relativa de *Cytophaga-Flavobacter*, assim como a densidade bacteriana total, separou os reservatórios nos mesmos dois grupos, isto é, os dados de densidade para este grupo foram semelhantes entre Serra da Mesa e Manso e entre os outros cinco reservatórios estudados.

A barragem de Serra da Mesa, apresentou os maiores valores de densidade relativa dos grupos alfa- e beta-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter*. Em Manso, *Cytophaga-Flavobacter* foi o grupo mais abundante em todos os compartimentos do reservatório. As alfa- e gama-proteobactérias apresentaram grande variabilidade dos dados de densidade relativa no ambiente de entrada em comparação aos demais grupos bacterianos analisados. Nos ambientes de saída de Itumbiara e de Corumbá, o grupo das *Cytophaga-Flavobacter* foi o mais abundante. (Fig. 2.2).

Nos reservatórios em cascata do rio Grande, os valores de densidade relativa das gama-proteobactérias os valores mais semelhantes aos outros grupos analisados (Fig. 2.3).

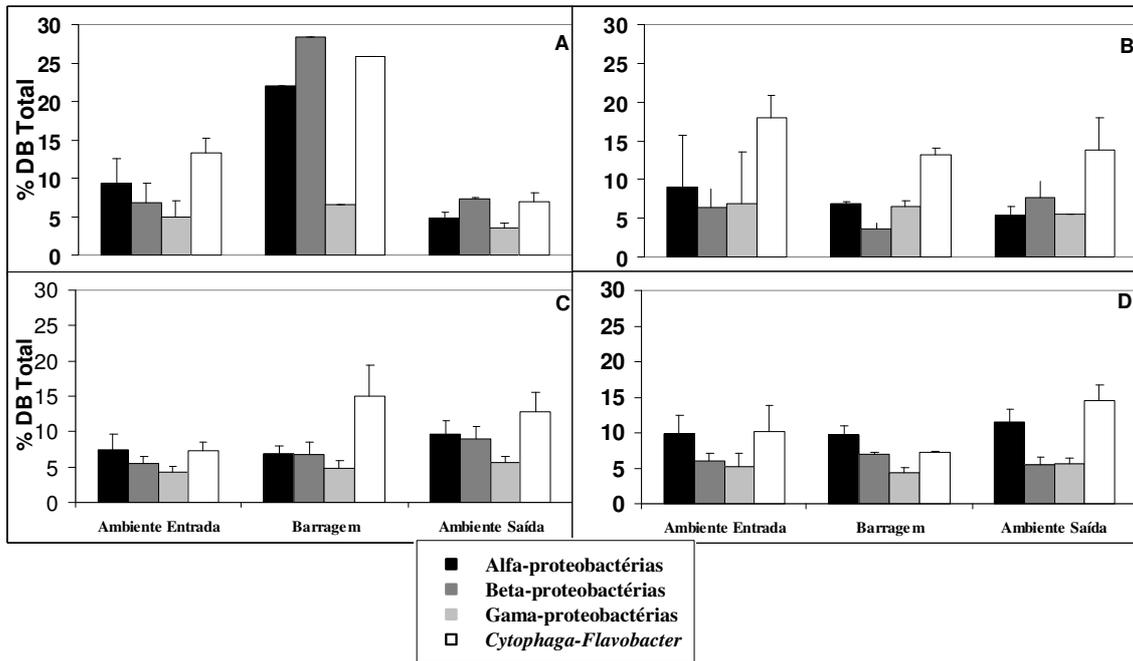


Fig. 2.2 – Densidade relativa dos grupos bacterianos analisados (% da densidade bacteriana total) nos ambientes dos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D).

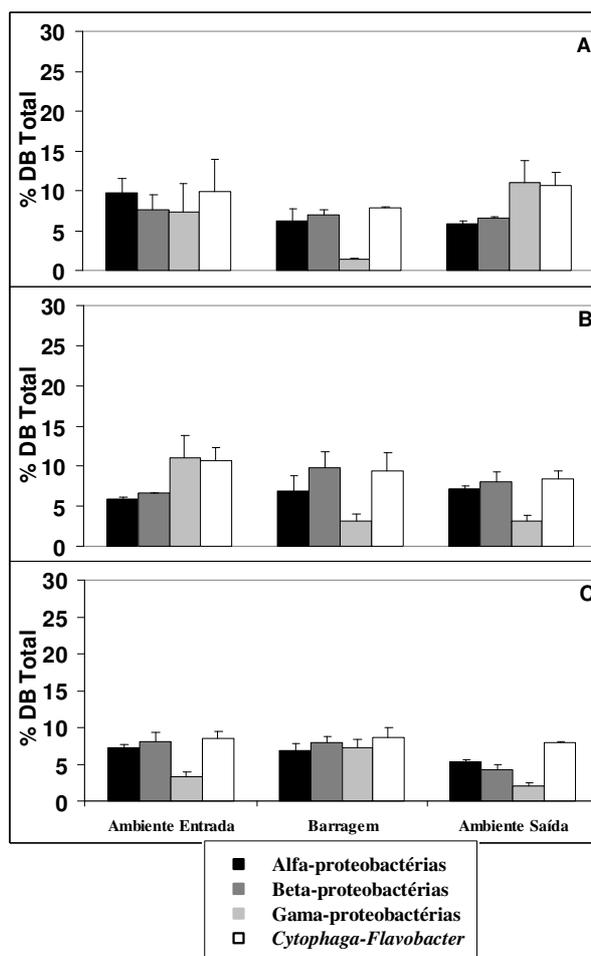


Fig. 2.3 – Densidade relativa dos grupos bacterianos (% da densidade bacteriana total) nos ambientes dos reservatórios em cascata do Rio Grande (Furnas - A, Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto - C ).

Todos os dados dos grupos bacterianos analisados apresentaram correlação positiva significativa com a concentração de carbono orgânico dissolvido na água. O grupo das beta-proteobactérias e das *Cytophaga-Flavobacter* apresentaram correlação positiva significativa com a temperatura da água. As *Cytophaga-Flavobacter* ainda apresentaram correlação positiva significativa com a turbidez da água (Tabela 2.3).

Tabela 2.3 – Correlações ( $r^2$ ) entre a densidade absoluta dos grupos de alfa- (ALFA), beta- (BETA) e gama-proteobactérias (GAMA) e *Cytophaga-Flavobacter* (CF) com a temperatura (TEMP), a transparência (SECCHI), a turbidez (TURB), a condutividade (COND) e com as concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT) e fósforo total (PT) da água nos reservatórios estudados.

	TEMP	SECCHI	TURB	COND	COD	NT	PT
<b>ALFA</b>	0.18	-0.11	0.01	0.10	0.36*	-0.10	-0.15
<b>BETA</b>	0.43*	-0.07	0.31	-0.18	0.36*	-0.19	-0.35
<b>GAMA</b>	0.27	-0.06	0.24	-0.01	0.34*	-0.21	-0.09
<b>CF</b>	0.53**	-0.03	0.62**	-0.15	0.44**	-0.11	-0.31

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$

A variância dos dados de densidade bacteriana para os grupos analisados foi maior que a variância da densidade bacteriana quando comparados a densidade bacteriana de todos os grupos analisados apenas no reservatório de Manso (tabela 2.4).

Tabela 2.4 – Variância (média±desvio padrão) da densidade bacteriana total (DB), de cada grupo bacteriano analisado e de todos grupos bacterianos analisados nos sete reservatórios estudados. Os dados da média estão em células.  $10^4 \cdot \text{mL}^{-1}$ .

Reservatório	DB	Alfa-	Beta-	Gama-	<i>Cytophaga-Flavobacter</i>	Todos Grupos
Proteobactérias						
<b>Serra da Mesa</b>	1516 (132±39)	37 (14±6.1)	72 (15±8.5)	20 (7.5±4.4)	56 (18±7.5)	499 (54±22)
<b>Manso</b>	527 (127±23)	114 (11±11)	6.2 (7.8±2.5)	138 (11±12)	21 (21±4.5)	735 (51±27)
<b>Itumbiara</b>	112 (70±11)	2.3 (5.3±1.5)	0.4 (4.4±0.6)	0.4 (3.1±0.6)	2.5 (6.6±1.5)	6.9 (19±2.6)
<b>Corumbá</b>	137 (69±12)	3.2 (7.0±1.8)	0.8 (4.2±1.0)	0.9 (3.5±1.0)	7.7 (7.2±2.8)	25 (22±5.0)
<b>Furnas</b>	1217 (55±35)	13 (4.6±3.7)	7.3 (3.8±2.7)	13 (3.2±3.6)	20 (5.3±4.4)	118 (17±13)
<b>Mascarenhas</b>	24 (27±4.9)	0.3 (2.1±0.5)	0.4 (1.6±0.6)	0.5 (1.6±0.7)	0.5 (2.2±0.7)	0.6 (7.9±0.8)
<b>Luis Carlos</b>	94 (41±9.8)	0.04 (2.7±0.5)	0.2 (2.7±0.5)	1.0 (1.6±1.0)	0.4 (3.4±0.7)	2.5 (10±1.6)

A composição da comunidade bacteriana do ambiente de saída de Serra da Mesa foi similar à composição da barragem e de apenas um de seus tributários. Em Manso, apenas um dos tributários se diferenciou dos demais pontos de amostragem. A barragem de Itumbiara teve a composição de comunidade bacteriana diferenciada dos tributários. Em Corumbá, a diferença se deu principalmente entre os tributários (Fig. 2.4).

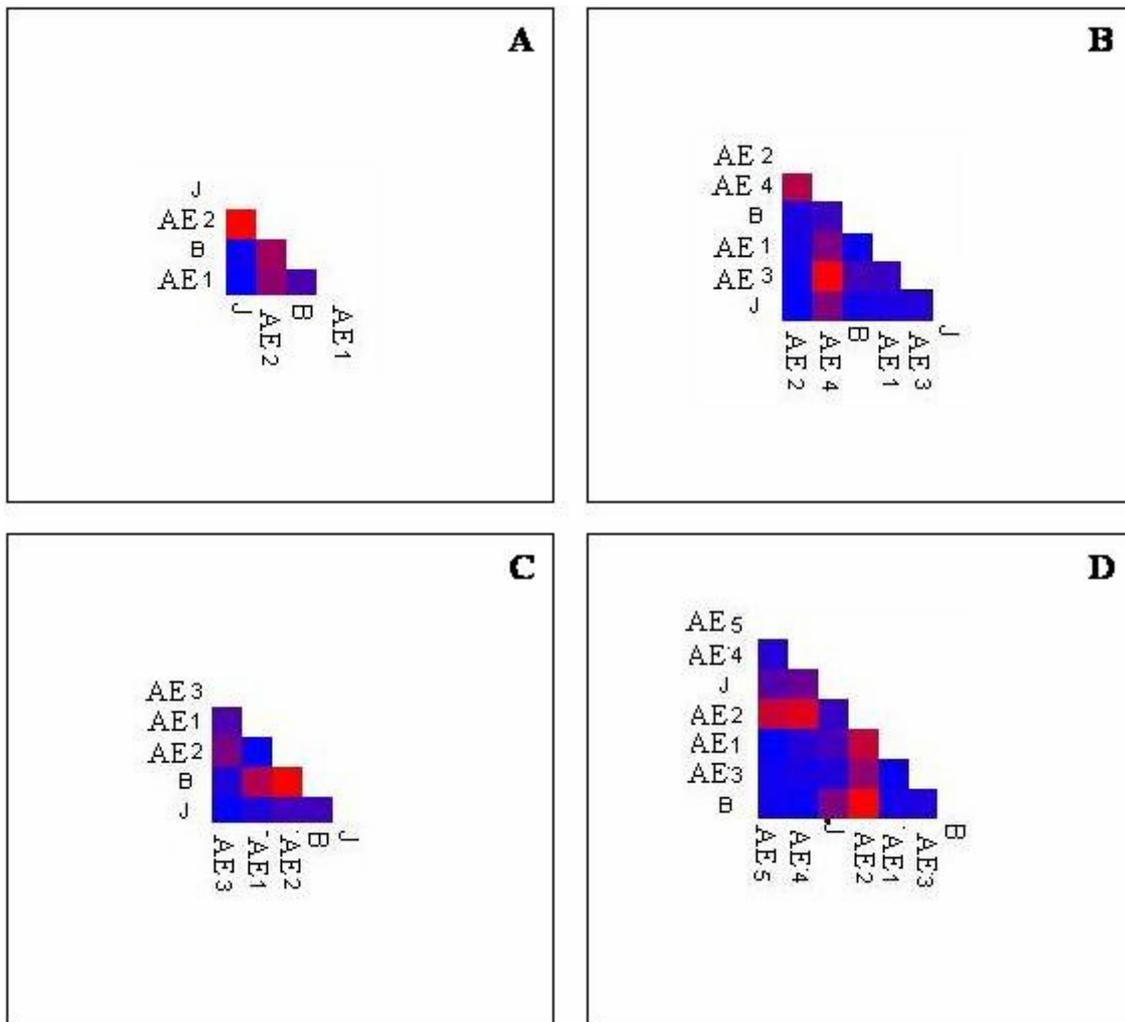


Fig. 2.4 – Similaridade da comunidade bacteriana nos diferentes ambientes de entrada (AE), na barragem (B) e no ambiente de saída (J) nos reservatórios de Serra da Mesa (A), Manso (B), Itumbiara (C) e Corumbá (D) usando o índice de Morisita-Horn. Gradiente azul-vermelho indica maior-menor similaridade respectivamente.

No reservatório de Furnas, a composição da comunidade bacteriana de um de seus tributários e o ambiente de saída foi diferente da composição bacteriana dos demais locais amostrados. A composição da comunidade bacteriana na barragem e no ambiente de saída de Mascarenhas de Moraes foi semelhante entre si e diferente dos tributários do ambiente de entrada deste reservatório. Em Luis Carlos Barreto, a composição da comunidade bacteriana foi semelhante a encontrada no ambiente de saída (Fig. 2.5).

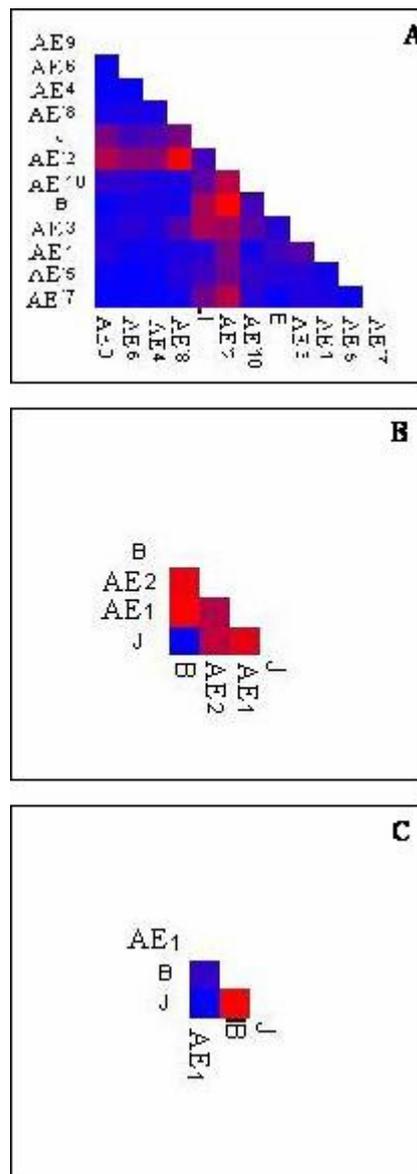


Fig. 2.5 – Similaridade da comunidade bacteriana nos diferentes ambientes de entrada (AE), na barragem (B) e no ambiente de saída (J) nos reservatórios de Furnas (A), Mascarenhas de Moraes (B) e Luis Carlos Barreto (C) usando o índice de Morisita-Horn. Gradiente azul-vermelho indica maior-menor similaridade respectivamente.

A relação entre a similaridade da comunidade bacteriana e sua distribuição segundo os fatores ambientais e a distância geográfica dos pontos de coleta mostram tendências diferentes quando os reservatórios são observados separadamente.

A similaridade bacteriana manteve-se constante independente da similaridade ambiental e apresentou uma tendência a ser maior em locais geograficamente mais distantes no reservatório de Serra da Mesa (Fig. 2.6).

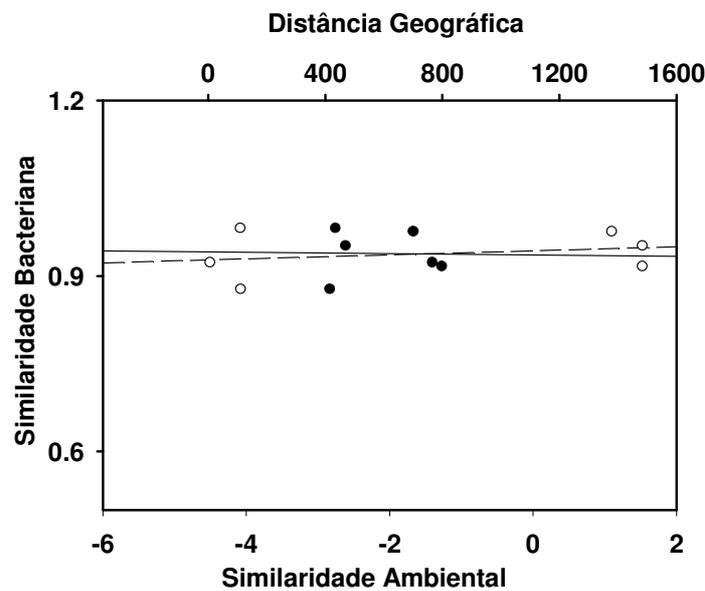


Fig. 2.6 – Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Serra da Mesa.

Nos reservatórios de Manso e Itumbiara, observou-se uma tendência de maior similaridade bacteriana em pontos mais próximos geograficamente. Nestes reservatórios uma tendência de menor similaridade bacteriana foi encontrada em menor similaridade ambiental (Fig. 2.7 e 2.8).

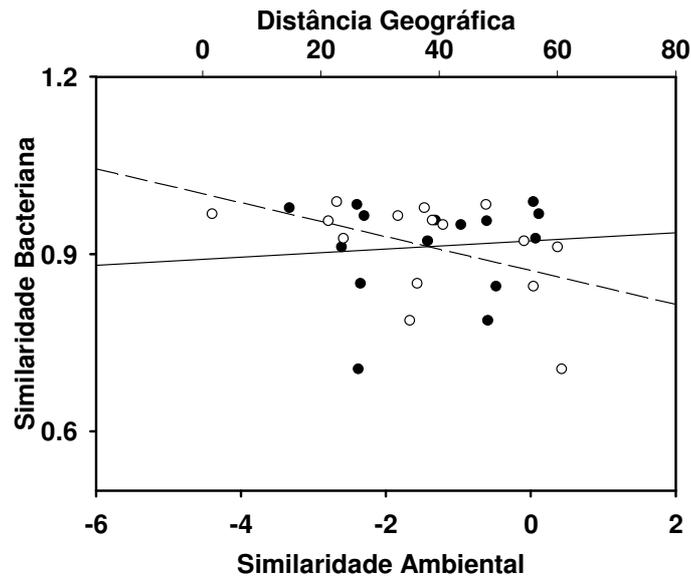


Fig. 2.7 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Manso.

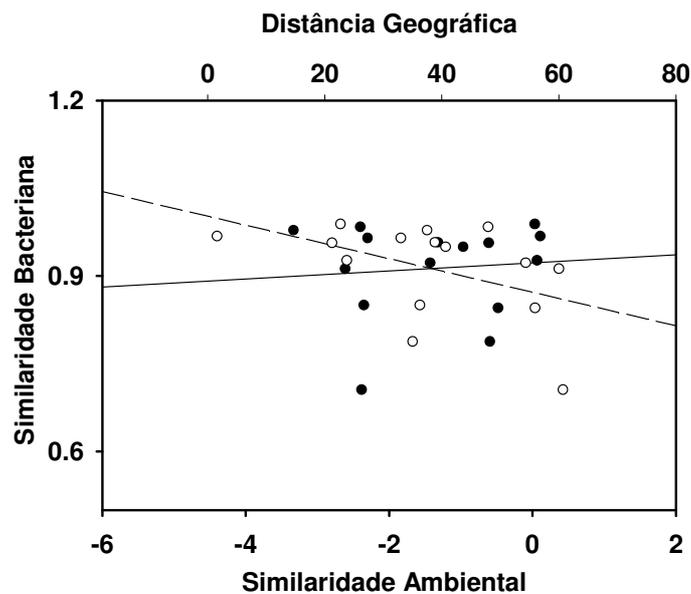


Fig. 2.8 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Itumbiara.

O reservatório de Corumbá e o de Serra da Mesa foram os que apresentaram maior similaridade de bactérias com tendência a aumentar com o aumento da distância geográfica entre os pontos amostrados (Fig 2.9 e 2.6).

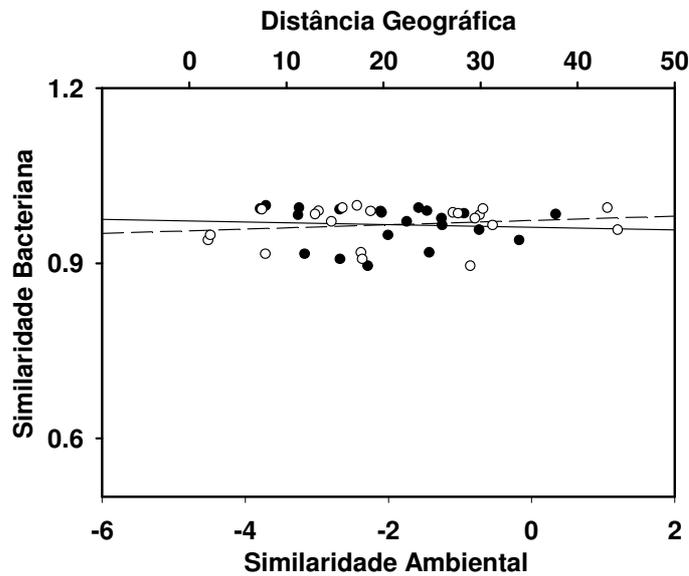


Fig. 2.9 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) no reservatório de Corumbá.

A similaridade bacteriana manteve-se constante independente da distância geográfica nos reservatórios do rio Grande (reservatório de Furnas, Mascarenhas de Moraes e Luis Carlos Barreto), que foram considerados como um único sistema. Neste sistema, também foi observada uma tendência a aumentar a similaridade bacteriana com o aumento da similaridade ambiental (Fig. 2.10).

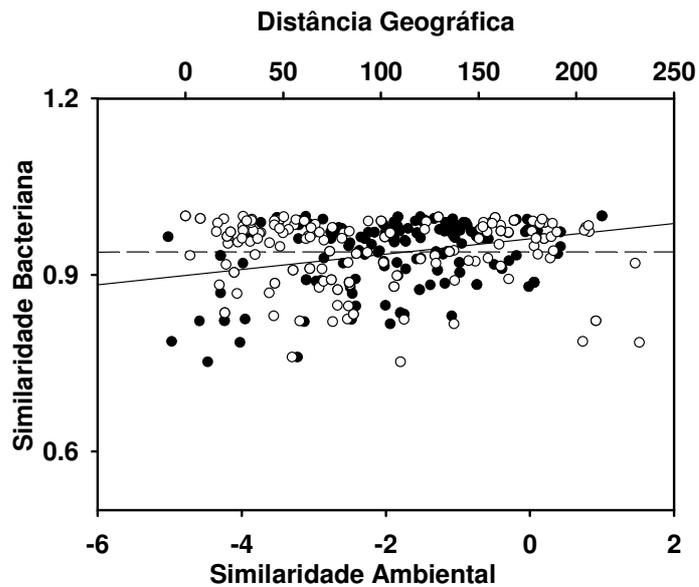


Fig. 2.10 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) nos reservatórios em cascata do rio Grande considerado com único sistema.

No nível filogenético avaliado, a similaridade bacteriana foi sempre maior que 50% em todos os reservatórios, com maiores valores encontrados em reservatórios com distintos tamanhos de área alagada (Serra da Mesa – 1.785 km<sup>2</sup> e Corumbá – 65 km<sup>2</sup>). Analisando todos os sete reservatórios em conjunto, observa-se que a similaridade bacteriana mantém-se constante independente das mudanças ambientais e tende a diminuir com a distância geográfica (Fig. 2.6, 2.9 e 2.11).

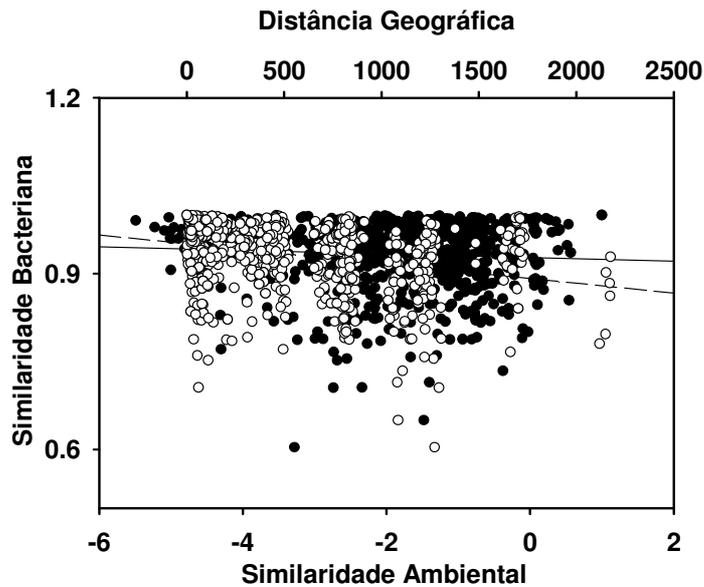


Fig. 2.11 - Relação entre a similaridade dos grupos bacterianos avaliados com a similaridade ambiental (círculos cheios e linhas completas) e a distância geográfica dos pontos amostrados (círculos vazios e linhas tracejadas) em todos reservatórios avaliados conjuntamente.

## DISCUSSÃO

Estudos em ecologia microbiana, através do emprego de métodos moleculares, têm revelado um cenário composto por uma rica diversidade de organismos ainda não estudados nos mais variados ecossistemas (Kenzaka *et al.* 2001; Lambais *et al.*, 2006; Sogin, *et al.*, 2006). Uma variedade de métodos moleculares disponíveis para a caracterização da comunidade microbiana diferindo quanto ao custo, limite de detecção e complexidade da técnica. Entretanto, mais do que as limitações de cada método, torna-se necessária a sua aplicação e padronização de acordo com escalas espaciais e temporais nos mais diversos ecossistemas para um melhor conhecimento da estrutura e função desta comunidade. Esta padronização deve ser considerada antes de encaixar ou excluir os microrganismos das teorias ecológicas vigentes para macro-organismos.

Os valores observados para Eubactérias neste trabalho foram baixos quando comparados aos dados de ecossistemas aquáticos temperados, geralmente acima de 50%, segundo Kirchman (2002). A variação de EUB338, o marcador mais comum para

identificar o grupo das Eubactérias, foi de 1 a 100% em diferentes trabalhos, com média de 56%. Acredita-se que existe um componente metodológico nesta variação, mas também que existe um componente ambiental forte capaz de explicá-las. O tipo de ecossistema e o grupo filogenético dominante influenciam a proporção das eubactérias (Daims et al 1999; Bouvier & del Giorgio 2003). O marcador para o grande grupo das Eubactérias utilizado neste trabalho é comum para os trabalhos em ecossistemas temperados, porém pode ter apresentado uma eficácia menor para ecossistemas de climas tropicais. Portanto, são necessários o estudo e desenvolvimento de marcadores específicos para grupos encontrados nos ecossistemas tropicais. Diferenças na comunidade bacteriana comparando os dados de ambientes tropicais e temperados foram encontrados por Abe *et al.* (2003).

Neste estudo, as beta-proteobactérias foram as que menos variaram em relação à média de todos os grupos bacterianos analisados neste estudo. A variância do grupo das beta-proteobactérias no reservatório de Luis Carlos Barreto foi a menor observada quando comparada à variância de todos os reservatórios para todos os grupos. Para ecossistemas de água doce de clima temperado, o grupo mais abundante é beta-proteobactérias principalmente na região eufótica (Glöckner *et al.*, 1999; Kirchman, 2002; Boucher *et al.*, 2006). Este fato, entretanto, não foi observado para estes reservatórios de clima tropical, sendo que as beta-proteobactérias apresentaram a menor proporção dos grupos analisados ( $6,2 \pm 2,2\%$ ) no reservatório de Manso.

O fato das gama-proteobactérias serem mais abundantes nos reservatórios mais antigos estudados pode ser explicado pelo fato deste ambientes apresentarem as maiores concentrações de fósforo total. Bouvier & del Giorgio (2002) afirmam que o grupo das gama-proteobactérias é oportunista, apresentando maior densidade em locais com grande disponibilidade de nutrientes.

Wever *et al.* (2005) observaram que as mudanças apresentadas na comunidade microbiana ocorreram devido às variações nas concentrações de nutrientes e na biomassa ou composição da comunidade fitoplanctônicas, já que influenciam a quantidade e qualidade da matéria orgânica dissolvida no meio. Ao contrário do que foi encontrado por Langenheder *et al.* (2006), em que a maioria das funções relacionadas ao ciclo do carbono orgânico não tinha forte relação com a composição da comunidade bacteriana. As densidades dos grupos estavam correlacionadas com a concentração de carbono orgânico dissolvido nos reservatórios.

As *Cytophaga-Flavobacter*, assim como as beta-proteobactérias, também apresentaram correlação positiva significativa encontrada entre a suas densidades e com a temperatura da água. O mesmo foi observado para o lago tropical estudado por Wever *et al.* (2005). Entretanto, estes autores sugerem que esta relação entre a temperatura e a composição da comunidade bacteriana não é de forma direta neste lago, propondo que a temperatura permanente e o gradiente de oxigênio podem afetar a composição da comunidade bacteriana.

Considerar a heterogeneidade bacteriana, com respeito à vulnerabilidade aos predadores, à taxonomia e à capacidade fisiológica pode elucidar as contradições que são observadas em estudos que tratam a comunidade microbiana como um nível trófico homogêneo (Langenheder & Jürgens, 2001). A variabilidade da composição filogenética pode exceder as flutuações da comunidade total, sugerindo que a aparente estabilidade da densidade total mascara as flutuações altamente dinâmicas da comunidade (Pernthaler *et al.*, 1998). Esse fato, entretanto, não foi observado para a variação na composição da comunidade bacteriana comparada aos dados da densidade bacteriana total nos reservatórios aqui estudados.

Yannarell e Triplett (2004) observaram que a variação da composição da comunidade bacteriana dentro de um lago foi menor em relação aos dados da variação da composição da comunidade bacteriana entre todos os lagos estudados por eles. Em relação aos lagos tropicais deste estudo, a variação comparando os grupos dentro de um mesmo sistema e todos os sistemas depende de cada sistema, bem como de cada grupo. A contribuição relativa dos grupos bacterianos varia entre os reservatórios, sugerindo que a estrutura da comunidade bacteriana varia e está relacionada com as características físico-químicas da água. Assim, variações dos grupos bacterianos independem da variação de outro grupo bacteriano e é local. A grande abundância bacteriana total e dos grupos, principalmente de alfa- e beta-proteobactérias, nos tributários de Manso pode ser explicada pontualmente por um rio tributário. Isso pode ser justificado pelas características físico-químicas deste tributário. As características dos ambientes de entrada (rios tributários) influenciam a disponibilidade de nutrientes e outras características de ambientes aquáticos, sendo esta caracterização importante para o estabelecimento de determinados grupos bacterianos em detrimento de outros. Similaridade maior que 50% entre a composição da comunidade bacteriana dos ambientes de entrada e do corpo do reservatório revela a influência dos tributários. Uma similaridade menor que 50% indica a influência de processos internos como cadeia alimentar e competição. A influência de bactérias alóctones na estrutura da comunidade local depende do tempo de retenção da água (Lindstöm & Bergström, 2004; Lindstöm *et al.*, 2006).

Esperava-se que a composição da comunidade bacteriana da barragem de Serra da Mesa fosse formada por bactérias autóctones, com similaridade abaixo de 50% quando comparada com a comunidade dos seus tributários uma vez que a distância entre o ambiente de entrada e a barragem é grande. Entretanto, este foi um dos reservatórios

que apresentou maior similaridade bacteriana independente da distância geográfica. Desta forma este reservatório não corrobora a hipótese de Martiny *et al.* (2006) em que a similaridade bacteriana aumentaria com o aumento da similaridade ambiental independente da distância entre os pontos.

Os reservatórios de Manso, Itumbiara e o sistema em cascata do rio Grande comprovam a hipótese de Martiny *et al.* (2006) quanto à relação similaridade bacteriana e similaridade ambiental em um mesmo ambiente, mostrando a influência de fatores ambientais na composição da comunidade bacteriana. Entretanto, apenas no sistema em cascata do rio Grande a distância geográfica não influenciou na similaridade bacteriana, indicando a inexistência de padrões biogeográficos neste ambiente. Correlações entre a similaridade bacteriana e a distância geográfica, como encontrado em Manso e Itumbiara, indicam uma influência de fatores históricos de acordo com Martiny *et al.* (2006).

Yannarell & Triplett (2005) também observaram padrões biogeográficos no estudo de 30 lagos do estado de Wisconsin (Estados Unidos), onde a composição da comunidade bacteriana teve relação com as variáveis ambientais analisadas, bem como com a distância dos pontos amostrados, sendo até melhor explicado por esta distância.

A maior similaridade bacteriana encontrada nos reservatórios de Serra da Mesa e Corumbá independente da distância entre os pontos sugere uma contradição quando comparado o tamanho da área alagada de ambos. Acredita-se que apenas o reservatório de Corumbá deve ser analisado como um sistema único e que Serra da Mesa deve ser analisado em uma escala maior (regional) ou como vários ecossistemas.

As ausências de correlações entre a similaridade bacteriana, a similaridade ambiental e a distância geográfica quando analisados todos ecossistemas e Serra da Mesa, considerando-o em escala regional, sugerem que o nível filogenético utilizado

não foi apropriado para avaliar os padrões de distribuição da comunidade bacteriana. Assim, quanto maior a escala espacial, maior deve ser a especificidade do nível filogenético a ser utilizado para definição de padrões de distribuição. A comunidade bacteriana é capaz de se ajustar rapidamente às mudanças locais (dados experimentais de Cesar, 2002 e Gasol *et al.* 2002). Mas nem sempre esta resposta pode ser observada em grande escala espacial e temporal.

Pommier *et al.* (2007) observaram que o bacterioplâncton marinho analisado por eles compartilhavam alguns aspectos biogeográficos e macroecológicos de organismos macroscópicos e que os padrões de riqueza de espécies bacterianas resultaram de processos evolutivos e ecológicos similares, não sendo mutuamente excludentes. Dessa forma, pudemos observar que os grandes grupos bacterianos analisados estavam presentes em todos os ambientes de maneira similar, embora fossem observadas mudanças ambientais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, D.S., MATSUMURA-TUNDISI, T., ROCHA, O. & TUNDISI, J.G., 2003, “Denitrification and Bacterial Community Structure in the Cascade of Six Reservoirs on a Tropical River in Brazil”, *Hydrobiologia*, v. 504, pp. 67-76.

BELL, T., AGER, D., SONG, J., NEWMAN, J.A., THOMPSON, I.P., LILLEY, A.K. & van der GAST, C.J., 2005a, “Larger Islands House More Bacterial Taxa”, *Science*, v. 308, p. 1884.

BOUCHER, D., JARDILLIER, L. & DEBROAS, D., 2006, “Succession of Bacterial Community Composition Over Two Consecutive Years in Two Aquatic Systems: a Natural Lake and a Lake-Reservoir”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 55, pp. 79-97.

BOUVIER, T. & del GIORGIO, P., 2002, “Compositional changes in free-living bacterial communities along a salinity gradient in two temperate estuaries”, *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 453-470.

BOUVIER, T. & del GIORGIO, P., 2003, “Factors Influencing the Detection of Bacterial Cells Using Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH): A Quantitative Review of Published Reporters”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 44, pp. 3-15.

CESAR, D.E., 2002, *Estrutura e dinâmica do bacterioplâncton e suas relações com nutrientes inorgânicos e predação no estuário da Lagoa dos Patos/RS*. Tese de Doutorado, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

COTTRELL, M.T. & KIRCHMAN, D.L., 2000, “Community Composition of Marine Bacterioplankton Determined by 16S rRNA Gene Clone Libraries and Fluorescence *In Situ* Hybridization”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, pp. 5116-5122.

DAIMS, H., BRÜHL, A., AMANN, R., SCHLEIFER, K. & WAGNER, M., 1999, “The Domain-Specific Probe EUB338 Is Insufficient for the Detection of all *Bacteria*:

Development and Evaluation of a More Comprehensive Probe Set”, *Systematic and Applied Microbiology*, v. 22, pp. 434-444.

DEVEREUX, R., RUBLEE, P., PAUL, J.H., FIELD, K.G. & DOMINGO, J.W.S., 2006, “Development and applications of microbial ecogenomic indicators for monitoring water quality: report of a workshop assessing the state of science, research needs and future directions”, *Environmental Monitoring and Assessment*, v. 116, pp. 459-479.

de WIT & BOUVIER, T., 2006, “ ‘Everything Is Everywhere, but, the Environmental Selects’; What Did Baas Becking and Beijerinck Really Say?”, *Environmental Microbiology*, v. 8, pp. 755-758.

DOLAN, J.R., 2005, “An introduction to the biogeography of aquatic microbes”, *Aquatic Microbial Ecology*, v. 41, pp. 39-48.

DOLAN, J.R., 2006, “Microbial biogeography?”, *Journal of Biogeography*, v. 33, pp. 199-200.

FENCHEL, T. & FINLAY, B.J., 2005, “Bacteria and Islands Biogeography”, *Science*, v. 309. p. 1997.

GASOL, J.M., COMERMA, M., GARCÍA, J.C., ARMENGOL, J., CASAMAYOR, E.O., KOJECKÁ, P. & SIMEK, K., 2002, “A transplant experiment to identify the factors controlling bacterial abundance, activity, production, and community composition in a eutrophic canyon-shaped reservoir”, *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 62-77.

GLÖCKNER, F.O., FUCHS, B.M. & AMANN, R., 1999, “Bacterioplankton Composition of Lakes and Oceans: a First Comparison Based on Fluorescence *In Situ* Hybridization”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, pp. 3721-3726.

- GREEN, J. & BOHANNAN, B.J.M., 2006, "Spatial Scaling of Microbial Biodiversity", *Trends in Ecology and Evolution*, v. 21, pp. 501-507.
- KENZAKA, T., YAMAGUCHI, N., PRAPAGDEE, B., MIKAMI, E. & NASU, M., 2001, "Bacterial community composition and activity in urban rivers in Thailand and Malaysia", *Journal of Helth Science*, v. 47, pp. 353-361.
- KIRCHMAN, D.L., 2002, "The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 39, pp. 91-100.
- KIRCHMAN, D.L., DITTEL, A.I., MAMSTROM, R.R. & COTTRELL, M.T., 2005, "Biogeography of Major Bacterial Groups in the Delaware Estuary", *Limnology and Oceanography*, v. 50, pp. 1697-1706.
- LAMBAIS, M.R., CROWLEY, D.E., CURY, J.C., BÜLL, R.C. & RODRIGUES, R.R., 2006, "Bacterial diversity in tree canopies of the Atlantic Forest", *Science*, v. 312, p. 1917.
- LANGENHEDER, S. & JÜRGENS, K., 2001, "Regulation of bacterial biomass and community structure by metazoan and protozoan predation", *Limnology and Oceanography*, v. 46, pp. 121-134.
- LANGENHEDER, S., LINDSTRÖM, E.S. & TRANVIK, L.J., 2006, "Structure and function of bacterial communities emerging from different sources under identical conditions", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, pp. 212-220.
- LINDSTRÖM, E.S. & BERGSTRÖM, A., 2004, "Influence of inlet bacteria on bacterioplakton assemblage composition in lakes of different retention time", *Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 125-136.
- LINDSTRÖM, E.S., FORSTLUND, M., ALGESTEN, G. & BERGSTRÖM, A., 2006, "External control of bacterial community structure in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 339-342.

MARTINY, J.B.H., BOHANNAN, B.J.M., BROWN, J.H., COLWELL, R.K., FURHMAN, J.A., GREEN, J.L., HORNER-DEVINE, M.C., KANE, M., KRUMINS, J.A., KUSKE, C.R., MORIN, P.J., NAEEM, S., OVREAS, L., REYSENBACH, A., SMITH, V.H. & STALEY, J., 2006, "Microbial Biogeography: Putting Microorganisms on the Map", *Nature Review Microbiology*, v. 4, pp. 102-112.

MASSANA, R., GASOL, J.M., BJORNSEN, P.K., BLACK-BURN, N., HAGSTRÖM, A., HIETANEN, S., HYGUM, B.H., KUPARINEN, J. & PEDRÓS-ALIÓ, C., 1997, "Measurement of Bacterial Size Via Image Analyses of Epifluorescence Preparations: Description of an Inexpensive System and Solutions to Some of the Most Common Problems", *Scientia Marina*, v. 61, pp. 397-407.

MITCHELL, E.A.D., 2005, "The Long-Lasting Debate About the Ubiquitous Distribution of Microbes", *Science*, v. 309, pp. 1997-1998.

NOLD, S.C. & ZWART, G., 1998, "Patterns and Governing Forces in Aquatic Microbial Communities", *Aquatic Ecology*, v. 32, pp. 17-35.

NORLAND, S., 1993, "The Relationship Between Biomass and Volume of Bacteria", In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, pp. 303-307.

PERNTHALER, J., GLÖCKNER, F., UNTERHOLZNER, S., ALFREIDER, A., PSENNER, R. & AMANN, R., 1998, "Seasonal community and population dynamics of pelagic bacteria and Archea in high mountain lake", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, pp. 4299-4306.

POMMIER, T., CANBÄCK, B., RIEMANN, L., BOSTRÖM, K.H., SIMU, K., LUNDBERG, P., TUNLID, A. & HAGSTRÖM, A., 2007, "Global Patterns of Diversity and Community Structure in Marine Bacterioplankton", *Molecular Ecology*, v. 16, pp. 867-880.

SOGIN, M.L., MORRISON, H.G., HUBER, J.A., WELCH, D.M., HUSE, S.M., NEAL, P.R., ARRIETA, J.M. & HERNDL, G.J., 2006, "Microbial diversity in the deep sea and the underexplored 'rare biosphere' ", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 103, pp. 12115-12120.

WETZEL, R.G. & LIKENS, G.E., 1991, *Limnological Analyses*. Springer-Verlag. Pp. 391.

WEVER, A., MUYLAERT, K., VAN der GUCHT, K., PIRLOT, S. COCQUYT, C., DESCY, J., PLISNIER, P. & VYVERMAN, W., 2005, "Bacterial community composition in lake Tanganyika: vertical and horizontal heterogeneity", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, pp. 5029-5037.

WHITAKER, R.J., GROGAN, D.W. & TAYLOR, J.W., 2003, "Geographic Barriers Isolate Endemic Populations of Hyperthermophilic Archaea", *Science*, v. 301, pp. 976-978.

YANNARELL, A.C. & TRIPLETT, E.W., 2004, "Within- and between-lake variability in the composition of bacterioplankton communities: investigation using multiple spatial scales", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 70, pp. 214-223.

YANNARELL, A.C. & TRIPLETT, E.W., 2005, "Geographic and Environmental Sources of Variations in Lake Bacterial Community Composition", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, pp. 227-239.

## CAPÍTULO 3

### **Estrutura da Comunidade Bacteriana em Quatro Reservatórios Tropicais em Períodos de Chuva e de Seca**

#### RESUMO

A estrutura (densidade, biomassa e composição) da comunidade bacteriana foi analisada na subsuperfície à montante, à barragem e à jusante do principal rio formador de cada um dos quatro reservatórios tropicais brasileiros (Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá) em períodos de chuva e de seca pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). O efeito diluição no sentido montante-barragem ocorreu de maneira diferente para cada reservatório. A composição da comunidade bacteriana foi diferente entre a barragem e a jusante do reservatório de Serra da Mesa no período de chuva e, também, quando comparada às comunidades bacterianas à montante e da barragem do reservatório de Corumbá no período de seca. A biomassa bacteriana dos grupos bacterianos estudados teve maior participação que a sua densidade relativa em alguns pontos amostrados nos reservatórios. A concentração de carbono orgânico dissolvido teve correlação positiva com a densidade bacteriana total, com alfa-proteobactérias, beta-proteobactérias e correlação negativa com *Cytophaga-Flavobacter* em períodos distintos. Isso sugere que existe uma variação na influência do carbono orgânico dissolvido na estrutura da comunidade bacteriana ao longo do tempo. Apenas em alguns reservatórios, as diluições pela chuva e no gradiente montante-barragem se aplicaram, ainda assim de maneira diferenciada entre eles.

## INTRODUÇÃO

Os microrganismos têm importante participação na manutenção dos processos biológicos e ecológicos, tais como a fotossíntese, ciclagem de matéria orgânica, ciclos biogeoquímicos (Sherr & Sherr, 1996). As funções do ecossistema muitas vezes dependem da composição das espécies presentes nele, logo a biodiversidade é chave para o processamento de matéria e energia.

Estudos em ecologia microbiana molecular permitem que seja determinada a abundância relativa de diferentes grupos de microrganismos. É possível analisar a estrutura de comunidade e seguir a dinâmica espaço-temporal de populações microbianas em diferentes ambientes aquáticos, além de poder se inferir sobre preferência de predadores por algum grupo específico e se algum grupo é favorecido por alguma outra variável ambiental e/ou biológica (Nold & Zwart, 1998; Glöckner *et al.*, 1999; Simek *et al.*, 2005).

Mudanças sazonais dos fatores ambientais, como nutrientes inorgânicos, podem controlar o aparecimento de espécies fitoplanctônicas, no entanto pouco se sabe ainda a respeito da ação destas variações ambientais sobre as assembléias bacterianas (Alonso-Sáez *et al.*, 2007). Trabalhos revelam variações sazonais nos grupos encontrados na comunidade bacteriana podem decorrer de variações nos ambientes (Eilers *et al.*, 2001; Allgaier & Grossart, 2006), podendo estar correlacionadas, por exemplo, com a concentração de carbono orgânico dissolvido (Kritzberg *et al.* 2006). Entretanto, há dados que mostram que mesmo ocorrendo variações em algumas condições ambientais e/ou bióticas, algumas populações bacterianas mostram padrões sazonais semelhantes independentes (Wu & Hanh, 2006).

A estrutura da comunidade bacteriana pode ser afetada pelas chuvas. Cesar (2002), estudando a estrutura da comunidade bacteriana no estuário da Lagoa dos Patos,

encontrou correlação entre os dados de densidade bacteriana e a pluviosidade, com maiores densidades em anos de El Niño, indicando influência direta e indireta da chuva. A ação seria de forma direta, quando o efeito diluição sobre os predadores desta comunidade ocorresse devido aumento da pluviosidade. Já o efeito indireto da pluviosidade sobre esta comunidade seria dado pelo carreamento de nutrientes orgânicos e inorgânicos para os ambientes, favorecendo o crescimento da comunidade bacteriana.

Neste trabalho, avaliamos a distribuição da estrutura da comunidade de bactérias aquáticas em escalas espacial de diluição de água (gradiente montante-barragem-jusante) e temporal (chuva e seca) em quatro reservatórios de hidrelétricas brasileiros. Considerando estes fatores de diluição, nossa hipótese foi encontrar uma maior densidade bacteriana e dos grupos bacterianos em períodos de chuva e/ou nos locais de amostragem próximos à barragem. Os reservatórios apresentaram distintos padrões de distribuição da estrutura da comunidade bacteriana em relação ao tempo e ao espaço.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os reservatórios para geração de energia elétrica de Serra da Mesa ( $13^{\circ}49' S$ ;  $48^{\circ}18' W$ ), Manso ( $14^{\circ}87' S/55^{\circ}77' W$ ), Itumbiara ( $18^{\circ}41' S/49^{\circ}08' W$ ), Corumbá ( $17^{\circ}98' S/48^{\circ}51' W$ ) do sistema Furnas Centrais Elétricas S.A. foram estudados. As coletas de água da subsuperfície destes reservatórios foram realizadas nos períodos de chuva (Serra da Mesa e Manso: março de 2004; Itumbiara e Corumbá: abril de 2005) e de seca (Serra da Mesa e Manso: julho de 2004; Itumbiara e Corumbá: agosto de 2005). Pontos amostrais foram realizados à montante, à barragem e à jusante do principal rio

formador de cada um dos reservatórios (Serra da Mesa: rio Maranhão; Manso: rio Manso; Itumbiara: rio Paranaíba; Corumbá: rio Corumbá).

Os pontos amostrados nestes quatro reservatórios foram caracterizados segundo a transparência da água, a turbidez e as concentrações de carbono orgânico dissolvido, de nitrogênio e de fósforo totais, e biomassa total de zooplâncton (banco de dados do Projeto Balanço de Carbono em Reservatórios de Furnas Centrais Elétricas S.A. - [www.projeto Furnas.dsr.inpe.br](http://www.projeto Furnas.dsr.inpe.br)). Também foram obtidos dados de chuvas e de cota máxima de água nestes reservatórios nos dois períodos. A estrutura da comunidade do bacterioplâncton foi determinada pelo método hibridização *in situ* fluorescente (FISH). As amostras foram fixadas com paraformaldeído 20% (concentração final 2%) e filtradas através de filtro branco de polycarbonato Millipore 0.2 µm. A densidade relativa dos diferentes grupos analisados foi determinada a partir de marcadores Cy3 em oligonucleotídeos RNAr 16S (Operon Technologies®), utilizados para a identificação de Eubactérias, alfa-proteobactérias, beta-proteobactérias, gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* (Tabela 3.1). Posteriormente as amostras foram coradas com DAPI para contagem da densidade bacteriana total. Um marcador controle negativo (5'-3CC TAG TGA CGC CGT CGA C - 3'), que não possui especificidade para nenhum grupo bacteriano. Dez campos aleatórios foram analisados em cada filtro com auxílio do microscópio de epifluorescência Olympus IX-71 equipado com os seguintes jogos de filtros Chroma U-N41007, U-MWU2, U-MWB2 e U-MWG2, no aumento de 1000x.

Tabela 3.1 – Marcadores específicos utilizados para análise da composição da comunidade bacteriana por FISH.

<b>Marcador</b>	<b>Especificidade</b>	<b>Seqüênica (5'-3')</b>
<b>Eub338R</b>	<b>Eubactérias</b>	<b>GCTGCCTCCCGTAGGAGT</b>
<b>Alf986</b>	<b>Alfa-proteobactérias</b>	<b>GGTAAGGTTCTGCGCGTT</b>
<b>Bet42a</b>	<b>Beta-proteobactérias</b>	<b>GCCTTCCCACATTCGTTT</b>
<b>Gam42a</b>	<b>Gama-proteobactérias</b>	<b>GCCTTCCCACATTCGTTT</b>
<b>CF319a</b>	<b><i>Cytophaga-Flavobacter</i></b>	<b>TGGTCCGTGTCTCAGTAC</b>

Imagens das células bacterianas foram capturas e analisadas com o auxílio do programa Image Tool 3.0. O volume celular das bactérias foi determinada a partir da área das células bacterianas analisadas (Massana *et al*, 1997). Então, a biomassa celular das bactérias foi segundo a fórmula de Norland (1993). A biomassa celular média da amostra foi determinada e multiplicada pela densidade bacteriana total da amostra resultando na biomassa bacteriana total da amostra. Procedimento semelhante foi utilizado para determinação da biomassa bacteriana nos diferentes grupos analisados a partir da captura de imagem das células bacterianas marcadas pelos marcadores específicos.

Os testes de ANOVA One-way e “a posteriori” de Tukey foram utilizados para comparações da densidade bacteriana total, biomassa bacteriana total, densidade relativa dos grupos bacterianos analisados, biomassa dos grupos analisados e composição da comunidade bacteriana, bem como para a comparação dos reservatórios e de seus compartimentos nos dois períodos estudados. Em todos os casos, foram considerados significativos para os valores de  $p < 0,05$ . A correlação de Spearman foi avaliada entre os dados de estrutura da comunidade bacteriana e as variáveis limnológicas que podem controlar esta estrutura.

## RESULTADOS

Os períodos amostrados foram diferentes quanto ao regime de chuvas, sendo que no período de chuvas o índice pluviométrico foi maior do que no período de seca (Tabela 3.1).

Tabela 3.2 – Área alagada (ÁREA - km<sup>2</sup>), volume (km<sup>3</sup>), tempo de residência (Residência - dias) e pluviosidade acumulada no mês de coleta (mm) nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá na chuva (março-abril) e na seca (julho-agosto) nos anos de 2004 (Serra da Mesa e Manso) e de 2005 (Itumbiara e Corumbá).

Reservatório	Área (km <sup>2</sup> )	Volume (km <sup>3</sup> )	Residência (dias)	Pluviosidade	
				Chuva	Seca
Serra da Mesa	1785	55	720	217	0
Manso	430	7.5	888	150	42
Itumbiara	780	17	113	395	11
Corumbá	65	1.5	36	395	11

Apenas no reservatório de Corumbá, a biomassa zooplancônica foi maior no período de chuva quando comparado com o período de seca. A transparência da água e as concentrações de nitrogênio e de fósforo totais foram maiores no período de seca, enquanto a turbidez foi maior no período de chuvas. A concentração de carbono orgânico dissolvido foi semelhante nos dois períodos amostrados (Tabela 3.2).

Tabela 3.3 – Média (desvio padrão) dos valores de biomassa zooplancônica (BZOO – mg C L<sup>-1</sup>), de transparência (SECCHI - m), turbidez (TURB - NTU), de concentrações de carbono orgânico dissolvido (COD – mg L<sup>-1</sup>), de nitrogênio total (NT - µg L<sup>-1</sup>) e de fósforo total (PT - µg L<sup>-1</sup>) da água nos reservatórios de Serra da Mesa, Manso, Itumbiara e Corumbá na chuva (março-abril) e na seca (julho-agosto) nos anos de 2004 (Serra da Mesa e Manso) e de 2005 (Itumbiara e Corumbá).

Reservatório	BZOO (mg C L <sup>-1</sup> )		SECCHI (m)		TURB (NTU)		COD (mg L <sup>-1</sup> )		NT (µg L <sup>-1</sup> )		PT (µg L <sup>-1</sup> )	
	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca
Serra da Mesa	16 (5.6)	42 (27)	2.7 (1.9)	3.3 (0.4)	nd	2.6 (1.6)	1.2 (0.4)	2.9 (0.5)	450 (187)	304 (147)	9.2 (nd)	14 (2.4)
Manso	121 (22)	172 (139)	3.0 (2.2)	1.7 (0.3)	nd	2.5 (0.6)	1.9 (0.5)	2.1 (0.2)	121 (86)	602 (146)	26 (nd)	45 (33)
Itumbiara	97 (115)	102 (67)	1.3 (1.9)	4.3 (0.2)	43 (52)	1.1 (0.1)	1.7 (1.1)	1.1 (0.3)	278 (131)	234 (108)	28 (19)	224 (336)
Corumbá	75 (117)	18 (21)	0.5 (0.3)	1.7 (2.2)	37 (24)	22 (33)	1.5 (0.2)	1.1 (nd)	385 (43)	367 (66)	26 (10)	28 (14)

*Densidade Bacteriana:* O maior valor de densidade bacteriana foi encontrado na montante do reservatório de Manso ( $1.7 \text{ célula} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) no período de chuva e a menor densidade bacteriana foi encontrada na barragem do reservatório de Itumbiara ( $0.4 \text{ célula} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) no período de seca (Fig. 3.1). Em nenhum dos reservatórios houve diferença significativa entre os valores de densidade bacteriana comparando chuva e seca.

Os reservatórios de Serra da Mesa e Manso apresentaram os maiores valores de densidade bacteriana na montante e o menor na barragem no período de chuva (Fig. 3.1A).

Em Serra da Mesa, essa mesma tendência foi observada no período de seca. Em Manso, houve uma inversão destes valores, isto é, o menor valor foi observado na montante para o período de seca. Em Itumbiara, os valores de densidade bacteriana foram semelhantes em todos os compartimentos nos dois períodos. Apenas no reservatório de Corumbá que a densidade bacteriana foi maior no período de seca do que no período de chuva (Fig. 3.1B).

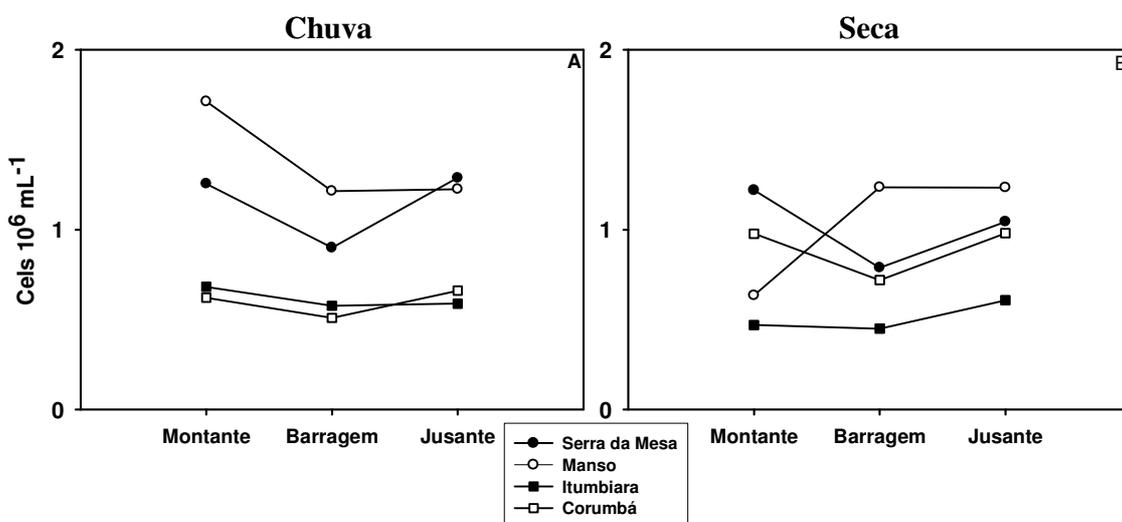


Fig. 3.1 – Densidade Bacteriana ( $\text{cél} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) na montante, barragem e jusante nos períodos de chuva (A) e seca (B) dos quatro reservatórios estudados.

*Biomassa Bacteriana*: A biomassa bacteriana não apresentou padrões sazonais semelhantes nos quatro reservatórios estudados. Estes valores não apresentaram diferenças significativas entre os dois períodos analisados em todos os reservatórios (Fig. 3.2).

A biomassa bacteriana, no período de chuva, foi maior na montante e menor na jusante do reservatório de Serra da Mesa (Fig. 3.2A). Neste reservatório foram observados os menores valores de biomassa bacteriana em todos os compartimentos no período de seca. O reservatório de Manso apresentou valores maiores que aqueles encontrados em Serra da Mesa. No reservatório de Itumbiara, foram observados os maiores valores da biomassa na montante, assim como no reservatório de Corumbá, onde foi encontrado o maior valor de biomassa bacteriana deste período (Fig. 3.2B).

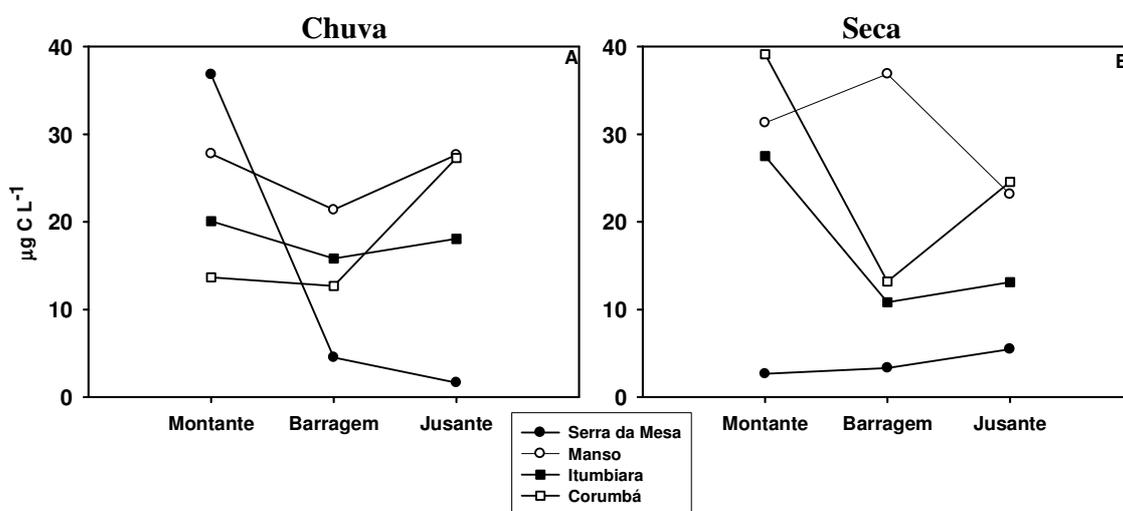


Fig. 3.2 – Biomassa Bacteriana ( $\mu\text{g C L}^{-1}$ ) na montante, barragem e jusante nos períodos de chuva (A) e de seca (B) dos quatro reservatórios tropicais estudados.

*Composição da Comunidade Bacteriana:* No período de chuva, a densidade bacteriana relativa dos grupos alfa- e beta-proteobactérias, e *Cytophaga-Flavobacter* apresentaram valores acima de 22% da densidade bacteriana total na barragem de Serra da Mesa, o que não foi observado no período de seca, com valores não superiores a 18% da densidade bacteriana total (Fig. 3.3 A e B).

Em Manso, também no período de chuva, os valores de densidade relativa dos grupos alfa- e gama-proteobactérias, e *Cytophaga-Flavobacter* foram superiores a 17% da densidade bacteriana total e no período de seca, não foi maior que 11% (Fig. 3.3 C e D).

O grupo das gama-proteobactérias apresentou a menor proporção da densidade bacteriana na montante de Itumbiara no período de chuva, no entanto foi um dos principais grupos bacterianos encontrados deste compartimento no período de seca (Fig. 3.3 E e F).

Na barragem de Corumbá, a densidade relativa das gama-proteobactérias foi de 4.5% da densidade bacteriana no período de chuva e foi de apenas 0.1% da densidade bacteriana total no período de seca. As densidades de alfa-, beta- e gama-proteobactérias foram maiores na montante em comparação aos outros compartimentos deste reservatório no período de seca (Fig. 3.3 G e H).

A composição da comunidade bacteriana da barragem de Serra da Mesa foi diferente da encontrada na jusante no período de chuva. Da mesma forma, a composição da comunidade bacteriana da montante foi diferente da encontrada na barragem do reservatório de Corumbá no período de seca.

*Biomassa Bacteriana por grupos:* Em alguns pontos dos reservatórios os grupos tiveram maior porcentagem de participação na biomassa bacteriana quando comparado à porcentagem que representavam da densidade bacteriana total (Fig. 3.4).

A alta biomassa bacteriana total encontrada no ambiente de entrada do reservatório de Serra da Mesa no período de chuva foi decorrente da grande biomassa do grupo das alfa-proteobactérias, o qual foi responsável por cerca de mais de 30% da biomassa bacteriana total e, no entanto, apenas 13% da densidade bacteriana total. No período de chuva, a densidade e a biomassa de beta-proteobactérias e de *Cytophaga-Flavobacter* foi maior na barragem (Fig. 3.3 e 3.4).

Beta-proteobactérias foi o grupo menos representativo dos grupos bacterianos analisados quanto a sua biomassa na barragem de Manso nos dois períodos. Na jusante deste reservatório, a biomassa bacteriana das gama-proteobactérias representou menos de 0,1% da biomassa bacteriana total, mesmo que sua densidade relativa sendo 5,5% da total. O grupo das *Cytophaga-Flavobacter* representou 32% da biomassa bacteriana total da jusante, enquanto representava 14% da densidade total no reservatório de Manso no período de chuva. A densidade e a biomassa de *Cytophaga-Flavobacter* foi maior na barragem e na jusante no período de seca.

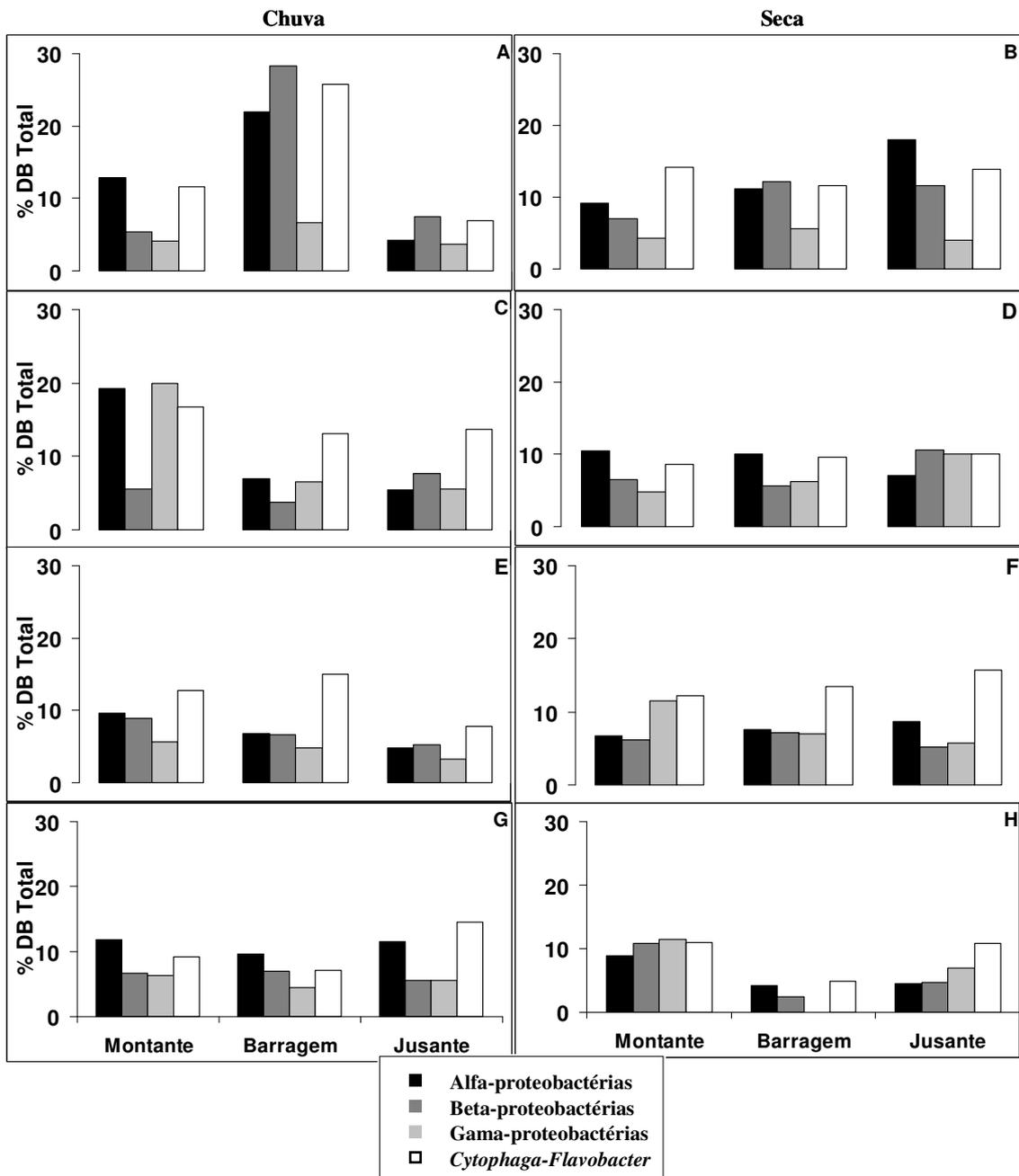


Fig. 3.3 – Densidade relativa (% da densidade bacteriana total) dos grupos bacterianos (alfa-,beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter*) na montante, barragem e jusante de Serra da Mesa (A - chuva e B - seca), Manso (C -chuva e D - seca), Itumbiara (E - chuva e F - seca) e Corumbá (G - chuva e H – seca).

No reservatório de Itumbiara, as gama-proteobactéria foram o principal grupo quanto a sua biomassa, representando 20% da biomassa bacteriana total na montante no período de seca e 12% da densidade bacteriana total. Na jusante de Itumbiara no período de seca, o grupo menos representativo em relação à biomassa bacteriana foi o

das beta-proteobactérias. As *Cytophaga-Flavobacter* tiveram os maiores valores de biomassa bacteriana em todos os compartimentos de Itumbiara no período de chuva, e na barragem e na jusante no período de seca neste reservatório (Fig. 3.4).

Em Corumbá, as alfa-proteobactérias representaram a maior biomassa dos grupos na montante e na barragem no período de chuva. O grupo das beta-proteobactérias foi o que teve menor valor de biomassa bacteriana na jusante deste reservatório no período de chuva. Na jusante de Corumbá no período de chuva e em todos os compartimentos no período de seca, as *Cytophaga-Flavobacter* apresentaram os maiores valores de biomassa bacteriana. As gama-proteobactérias apresentaram baixa densidade e biomassa na barragem no período de seca (Fig. 3.4).

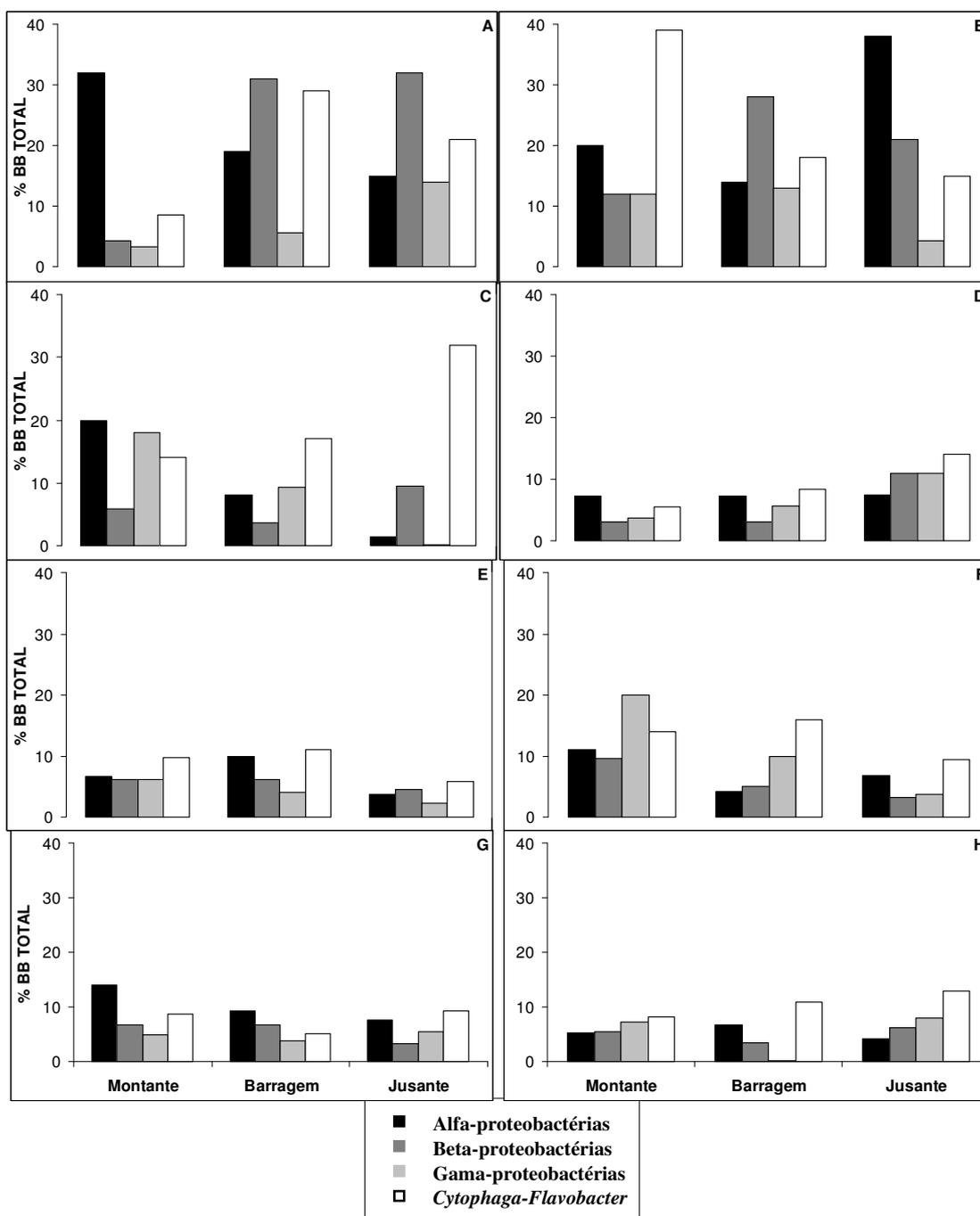


Fig. 3.4 – Biomassa relativa (% da biomassa bacteriana total) dos grupos bacterianos (alfa-,beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter*) na montante, barragem e jusante de Serra da Mesa (A - chuva e B - seca), Manso (C -chuva e D - seca), Itumbiara (E - chuva e F - seca) e Corumbá (G - chuva e H – seca).

*Estrutura da Comunidade Bacteriana em relação a fatores ambientais:* A densidade bacteriana total e das gama-proteobactérias, e a biomassa de beta- e gama-proteobactérias tiveram correlação positiva com a transparência da água ( $r^2=0,85$ ;  $r^2=0,64$ ;  $r^2=0,63$ ; e  $r^2=0,69$ , respectivamente) no período de chuva. Neste mesmo período, a densidade de alfa-proteobactérias e a biomassa bacteriana total tiveram correlação com a concentração de carbono orgânico dissolvido ( $r^2=0,60$  e  $r^2=0,53$  respectivamente). Da mesma forma, correlação negativa entre a densidade de beta-proteobactérias e concentração de nitrogênio total foi observada neste período ( $r^2=-0,68$ ).

No período de seca, correlações negativas foram observadas entre a biomassa de beta-proteobactérias e a transparência da água ( $r^2=-0,81$ ), e entre a biomassa de *Cytophaga-Flavobacter* e a concentração de carbono orgânico dissolvido ( $r^2=-0,77$ ). A densidade de beta-proteobactérias correlacionou-se positivamente com a concentração de carbono orgânico dissolvido neste período ( $r^2=0,70$ ).

## DISCUSSÃO

Variações na distribuição das comunidades bacterianas podem revelar variações importantes nos processos mediados por bactérias nos ambientes, como o metabolismo do carbono (Alonso-Sáez et al 2007). As diferenças nos padrões de distribuição da densidade e biomassa da comunidade bacteriana nos reservatórios aqui estudados devem-se ao tamanho e forma diferenciadas destes microrganismos.

A chuva não influenciou a densidade e a biomassa bacteriana nem direta (diluição de predadores), nem indiretamente (entrada de nutrientes), já que não foram encontradas diferenças significativas nos dois períodos analisados. A densidade na

barragem, onde se esperava uma diluição dos predadores e entrada de nutrientes oriundos de toda a bacia de drenagem, foi menor que a encontrada na montante de Serra da Mesa e no período de chuva em Manso. Esse fato pode ser explicado pela distância dos pontos nestes reservatórios e/ou pela heterogeneidade destes quanto à forma e tamanho. A densidade bacteriana na barragem de Corumbá foi maior que nos outros ambientes analisados neste reservatório no período de seca, indicando que o fator diluição na barragem pode ter influenciado na pressão de predação e/ou na entrada de nutrientes.

Gasol *et al.* (2002) encontraram os predadores como principal controlador da estrutura da comunidade bacteriana no reservatório de Sau (Espanha), entretanto Schauer *et al.* (2003) afirmam que as mudanças temporais graduais na composição da comunidade bacteriana são derivadas do controle por limitação de nutriente ou por fatores ambientais. Estes últimos autores ainda sugerem que o controle da comunidade bacteriana por predação parece menos importante levando-se em conta uma avaliação temporal. No entanto, mesmo assim, é importante avaliar as pressões de predação sobre o bacterioplâncton em escala temporal, já que alguns dados mostram relação entre a estrutura da comunidade bacteriana e a predação por zooplâncton (Höfle *et al.*, 1999).

Não foi observada correlação com os dados de biomassa zooplanctônica em nenhum dos reservatórios estudados. Estudos da estrutura da comunidade zooplanctônica em Serra da Mesa (Garrido & Bozelli, 2000) e em Corumbá (Aoyagui *et al.*, 2003), mostraram o predomínio de rotíferos nestes reservatórios. Rotíferos podem preda bacterias, entretanto, seus principais predadores são flagelados e ciliados (Strom, 2000).

Em nosso estudo da comunidade bacteriana nos reservatórios tropicais, alfa-proteobactéria foi o principal grupo dos analisados no período de chuva no reservatório

de Corumbá. Em todos os outros reservatórios, o principal grupo foi o das *Cytophaga-Flavobacter* no período de chuva. Amostras mensais da Baía de Blanes, Espanha, que a ocorria uma mudança gradual ao longo do ano na composição da comunidade bacteriana. Neste ambiente, as alfa-proteobactérias foram dominantes no verão (Alonso-Sáez et al 2007). Glöckner *et al.* (1999) observaram que, em nenhum dos ambientes estudados por estes autores, o grupo das *Cytophaga-Flavobacter* foi menos abundante que o grupo das alfa-proteobactérias.

As menores densidades relativas tanto no período de chuva, como no período de seca, foram encontradas para o grupo das gama-proteobactérias, enquanto os maiores valores foram observados para o grupo de *Cytophaga-Flavobacter* em ambos períodos. Este último grupo é um dos principais encontrados nos ambientes marinhos, mas também bastante representativos nos ambientes de águas continentais, observando-se relação na sua densidade relativa com a disponibilidade e a degradação de matéria orgânica dissolvida (Glöckner *et al.*, 1999; Kirchman, 2002).

Lindström *et al.* (2006) estudando sistemas lóticos, utilizando a técnica de Eletroforese em Gel com Gradientes de Desnaturação (DGGE), constataram que a influência de bactérias alóctones na estrutura da comunidade bacteriana local depende, principalmente, do tempo de retenção da água do sistema. Os lagos com pequeno tempo de residência devem ter as comunidades bacterianas similares àquelas que a água que chega até eles, do que aqueles lagos que têm o tempo de residência mais elevado, isso devido a maior quantidade de bactérias importadas para o corpo do lago. Entre os reservatórios estudados, Corumbá possui o menor tempo de residência e Manso, o maior. Entretanto, acredita-se que o tamanho e a heterogeneidade ambiental também devem ser considerados ao explicar a composição da comunidade bacteriana.

Mesmo apresentando o menor valor geral, gama-proteobactéria apresentou um pico de valor da densidade relativa na montante de Manso no período de chuva, sendo o maior valor encontrado para este reservatório nos dois períodos e um dos maiores valores proporcionais à densidade bacteriana de todos os reservatórios nos períodos analisados, o que não é comum para este grupo em amostras ambientais. Alguns trabalhos sugerem que alguns grupos podem ter seu crescimento favorecido por algum evento pontual durante o período de coleta (Pernthaler & Amann, 2005).

Abe *et al.* (2003) encontrou diferenças na composição da comunidade bacteriana comparando os períodos de chuva e seca em seis reservatórios. O fato de um mesmo grupo apresentar densidades relativas diferentes de um período para outro de coleta, como o caso das alfa-proteobactérias no reservatório de Corumbá, por exemplo, pode ser explicado variações na disponibilidade de nutrientes, podendo favorecer alguns grupos devido as suas capacidades fisiológicas de conseguir crescer melhor em determinadas características ambientais. Portanto, alterando as taxas de crescimento dos organismos e, conseqüentemente, as relações entre as populações existentes no ambiente (Konopka, 2000; Beisner, 2001; Carrero-Colón *et al.*, 2006). Variações temporais na composição da comunidade bacteriana foram observadas nas amostras de cinco lagos suecos por Lindström (2001). A autora sugere que isto ocorreu devido às chuvas fortes no intervalo de coleta. Dessa forma, as chuvas podem carrear além de microrganismos, nutrientes para dentro dos ambientes ajudando a variação na composição da comunidade bacteriana de um período para outro de coleta. Além disso, essas densidades maiores no período de chuva indicam que os possíveis predadores estariam diluídos. Da mesma forma, as densidades dos grupos analisados em Serra da Mesa foram maiores na barragem no período de chuva.

Como observado em alguns compartimentos dos reservatórios estudados, há grupos bacterianos que representam maior proporção na biomassa bacteriana do que na densidade bacteriana. Este fato sugere que, apesar da densidade relativa de alguns grupos não ser muito alta, a biomassa bacteriana destes grupos pode ser bastante representativa dentro da biomassa bacteriana total, chegando a valores maiores até que 50% da biomassa bacteriana total, como observado também em outros ambientes (Glöckner *et al.*, 2000). Yokokawa *et al.* (2004) observaram, entretanto, que porcentagem dos grupos em relação à densidade e à biomassa bacteriana eram semelhantes.

As funções de um ecossistema muitas vezes dependem da composição das espécies presentes nele, portanto mudanças nas funções do ecossistema podem ser advindas das mudanças genéticas das comunidades bacterianas, sugerindo que a magnitude e a eficiência dos processos ecossistêmicos dependem da composição da comunidade bacteriana. É importante ressaltar que, neste trabalho, foram avaliados grandes grupos bacterianos, dentro dos quais são encontradas diferentes espécies. Assim, deve-se considerar também que as comunidades bacterianas podem ser redundantes, isto é, diferentes comunidades bacterianas podem desempenhar funções semelhantes em ambientes diferentes ou no mesmo ambiente (Kirchman *et al.*, 2005; Langenheder *et al.*, 2006).

Os menores valores da densidade e da biomassa bacteriana nas barragens dos reservatórios de Serra da Mesa, Itumbiara e Corumbá em relação aos valores encontrados no ambiente de entrada podem ser explicados pela menor turbulência da água nas barragens em relação ao outro ambiente em questão. Isso sugere que pode haver uma maior taxa de sedimentação na barragem podendo influenciar na menor densidade e biomassa dos microrganismos planctônicos nas camadas mais superficiais.

Portanto, ao contrário do que era esperado, o fator de diluição não se aplicou a todos os reservatórios estudados. Isso pode ser explicado pela dependência das entradas de nutrientes, da bacia de drenagem de cada reservatório, bem como da distância do ponto da montante em relação à barragem. Assim, podemos concluir que as variações sazonais da estrutura da comunidade bacteriana nestes quatro reservatórios tropicais não tiveram mecanismos semelhantes para todos os parâmetros da comunidade bacteriana.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, D.S., MATSUMURA-TUNDISI, T., ROCHA, O. & TUNDISI, J.G., 2003, “Denitrification and Bacterial Community Structure in the Cascade of Six Reservoirs on a Tropical River in Brazil”, *Hydrobiologia*, v. 504, pp. 67-76.

ALLGAIER, M. & GOSSART, H., 2006, “Diversity and Seasonal Dynamics of *Actinobacteria* Populations in Four lakes in Northeastern Germany”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, pp. 3489-3497.

ALONSO-SÁEZ, L., BALAGUÉ, V., SÀ, E.L., SÁNCHEZ, O., GONZÁLEZ, J.M., PINHASSI, J., MASSANA, R., PERNTHALER, J., PEDRÓS-ALIÓS, C. & GASOL, J.M., 2007, “Seasonality in Bacterial Diversity in North-West Mediterranean Coastal Waters: Assessment Through Clone Libraries, Fingerpriting and FISH”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 60, pp. 98-112.

AOYAGUI, A.S.M., BONECKER, C.C., LANSAC-TÔHA, F.A. & VELHO, L.F.M., 2003, “Estrutura e Dinâmica dos Rotíferos no Reservatório de Corumbá, Estado de Goiás, Brasil”, *Acta Scientiarum: Biological Science*, v. 25, pp. 31-39.

BEISNER, B., 2001, “Plankton Community Structure in Fluctuating Environments and the Role of Productivity”, *Oikos*, v. 95, pp. 496-510.

CARRERO-COLÓN, M., NAKATSU, C.H. & KONOPKA, A., 2006, “Microbial Community Dynamics in Nutrient-Pulsed Chemostats”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 51, pp. 1-8.

CESAR, D.E., 2002, *Estrutura e dinâmica do bacterioplâncton e suas relações com nutrientes inorgânicos e predação no estuário da Lagoa dos Patos/RS*. Tese de Doutorado, Fundação Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil.

- COTTRELL, M.T. & KIRCHMAN, D.L., 2000, "Community Composition of Marine Bacterioplankton Determined by 16S rRNA Gene Clone Libraries and Fluorescence In Situ Hybridization", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, pp. 5116-5122.
- EILERS, H., PERNTHALER, J. PEPLIES, P., GLÖCKNER, F., GERDTS, G. & AMANN, R., 2001, "Isolation of Novel Pelagic Bacteria from the German Bight and Their Seasonal Contribution to Surface Picoplankton", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 67, pp. 5134-5142.
- GARRIDO, A.V. & BOZELLI, R.L., 2000, "The Study of Zooplankton During the Filling of the Serra da Mesa Reservoir, Tocantins River (GO, Brazil)", *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, v. 27, pp. 2875-2878.
- GASOL, J.M., COMERMA, M., GARCÍA, J.C., ARMENGOL, J., CASAMAYOR, E.O., KOJECKÁ, P. & SIMEK, K., 2002, "A transplant experiment to identify the factors controlling bacterial abundance, activity, production, and community composition in a eutrophic canyon-shaped reservoir", *Limnology and Oceanography*, v. 47, pp. 62-77.
- GLÖCKNER, F.O., FUCHS, B.M. & AMANN, R., 1999, "Bacterioplankton Composition of Lakes and Oceans: a First Comparison Based on Fluorescence *In Situ* Hybridization", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, pp. 3721-3726.
- GLÖCKNER, F.O., ZAICHKOV, E., BELKOVA, N., DENISSOVA, L., PERNTHALER, J., PERNTHALER, A. & AMANN, R., 2000, "Comparative 16S rRNA Analysis of Lake Bacterioplankton Reveals Abundant Group of Actinobacteria", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, pp. 5053-5065.
- HOFLE, M.G., HAAS, H. & DOMINIK, K., 1999, "Seasonal Dynamics of Bacterioplankton Community Structure in a Eutrophic Lake as Determined by 5S rRNA Analysis", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 65, pp. 3164-3174.

KIRCHMAN, D.L., 2002, "The ecology of *Cytophaga-Flavobacteria* in aquatic environments", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 39, pp. 91-100.

KIRCHMAN, D.L., DITTEL, A.I., MAMSTROM, R.R. & COTTRELL, M.T., 2005, "Biogeography of Major Bacterial Groups in the Delaware Estuary", *Limnology and Oceanography*, v. 50, pp. 1697-1706.

KONOPKA, A., 2000, "Theoretical Analysis of the Starvation Response Under Substrate Pulses", *Microbial Ecology*, v. 38, pp. 321-329.

KRITZBERG, E.S., LANGENHEDER, S. & LINDSTRÖM, E.S., 2006, "Influence of Dissolved Organic Matter Source on Lake Bacterioplankton Structure and Function – Implications for Seasonal Dynamics of Community Composition", *FEMS Microbiology Ecology*, v. 56, pp. 406-417.

LANGENHEDER, S., LINDSTRÖM, E.S. & TRANVIK, L.J., 2006, "Structure and function of bacterial communities emerging from different sources under identical conditions", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, pp. 212-220.

LINDSTRÖM, E.S., 2001, "Investigation Influential Factors on Bacterioplankton Community Composition: Results from a Field Study of Five Mesotrophic Lakes", *Microbial Ecology*, v. 42, pp. 598-605.

LINDSTRÖM, E.S., FORSTLUND, M., ALGESTEN, G. & BERGSTRÖM, A., 2006, "External control of bacterial community structure in lakes", *Limnology and Oceanography*, v. 51, pp. 339-342.

MASSANA, R., GASOL, J.M., BJORNSEN, P.K., BLACK-BURN, N., HAGSTRÖM, A., HIETANEN, S., HYGUM, B.H., KUPARINEN, J. & PEDRÓS-ALIÓ, C., 1997, "Measurement of Bacterial Size Via Image Analyses of Epifluorescence Preparations: Description of an Inexpensive System and Solutions to Some of the Most Common Problems", *Scientia Marina*, v. 61, pp. 397-407.

- NOLD, S.C. & ZWART, G., 1998, "Patterns and Governing Forces in Aquatic Microbial Communities", *Aquatic Ecology*, v. 32, pp. 17-35.
- NORLAND, S., 1993, "The Relationship Between Biomass and Volume of Bacteria", In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, pp. 303-307.
- PERNTHALER, J. & AMANN, R., 2005, "Fate of Heterotrophic Microbes in Pelagic Habitats: Focus on Populations", *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, v. 69, pp. 440-461.
- SCHAUER, M., BALAGUÉ, V., PEDRÓS-ALIÓS, C. & MASSANA, R., 2003, "Seasonal changes in the Taxonomic Composition of Bacterioplankton in a Coastal Oligotrophic System", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 31, pp. 163-174.
- SHERR, E.B. & SHERR, B.F., 1996, "Temporal offset in oceanic production and respiration processes implied by seasonal changes in atmospheric oxygen: the role of heterotrophic microbes", *Aquatic Microbial Ecology*, v. 11, pp. 91-100.
- SIMEK, K., HORNÁK, K., JEZBERA, J., MASIN, M., NEDOMA, J., GASOL, J.M. & SCHAUER, M., 2005, "Influence of Top-Down and Bottom-Up Manipulations on the R-BT065 Subcluster of  $\beta$ -Proteobacteria, an Abundant Group in Bacterioplankton of a Freshwater Reservoir", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 71, pp. 2381-2390.
- STROM, S.L., 2000, "Bacterivory: Interactions Between Bacteria and their Grazers", In: Kirchman, D.L. (eds.), *Microbial Ecology of the Oceans*, Wiley-Liss, pp. 351-386.
- WU, Q.L. & HAHN, M.W., 2006, "High Predictability of the Seasonal Dynamics of a Species-Like *Polynucleobacter* Population in a Freshwater Lake", *Environmental Microbiology*, v. 8, pp. 1660-1666.

YOKOKAWA, T., NAGATA, T., COTTRELL, M.T. & KIRCHMAN, D.L., 2004,  
“Growth rate of the major phylogenetic bacterial groups in the Delaware estuary”,  
*Limnology and Oceanography*, v. 49, pp. 1620-1629.

## CAPÍTULO 4

### Concentração de Oxigênio e suas Implicações na Estrutura e Metabolismo Bacteriano em Reservatório Profundo

#### RESUMO

A estrutura e a produção da comunidade bacteriana foram avaliadas em cinco diferentes profundidades na barragem do reservatório de Serra da Mesa. Diferenças na concentração de oxigênio dissolvido na água possibilitaram caracterizar este perfil da coluna de água em camadas óxica, de transição e hipóxica. As maiores densidade e biomassa bacteriana foram encontradas na profundidade limite da zona eufótica, onde a produção bacteriana foi uma das mais baixas. Isso sugere que as bactérias estariam inativas ou têm crescimento lento. Diferenças nos tamanhos das células foram observadas entre as profundidades, com a presença de bactérias filamentosas nas camadas mais próximas à superfície, isso pode estar relacionado a diferentes pressões de predação. A composição da comunidade bacteriana não foi semelhante em todas as profundidades analisadas. Na subsuperfície, onde foi encontrada a maior concentração de carbono orgânico dissolvido, os grupos alfa- e beta-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* tiveram densidades semelhantes. Entretanto, foi nesta profundidade que a menor biomassa bacteriana foi encontrada. A profundidade com maior valor de concentração de oxigênio dissolvido apresentou a menor densidade bacteriana, sendo principalmente formada por alfa- e gama-proteobactérias. Assim, a estrutura e a produção bacteriana foram diferentes nas diferentes camadas.

## INTRODUÇÃO

As bactérias heterotróficas participam do processo de remineralização e decomposição da matéria orgânica. Alguns microrganismos são essenciais nos processos de oxidações e de reduções, dentre eles processos, as oxidações do nitrogênio amoniacal a nitrito e, deste a nitrato ocorrem através da absorção de oxigênio do sistema. E também nos processos inversos, isto é, as reduções destes compostos nitrogenados ocorrem com a liberação de oxigênio para o meio (Sherr & Sherr, 2000).

Bactérias nitrificantes possuem estratégia de crescimento mais lento, sendo estimuladas pela adição de amônia, e compreendem dois grupos funcionais: aquelas que oxidam amônia a nitrito (beta-proteobactérias e gama-proteobactérias) e outras que oxidam nitrito a nitrato (alfa-proteobactérias, beta-proteobactérias e gama-proteobactérias). Nenhum organismo é capaz de realizar ambas as reações. Algumas bactérias representantes do grupo alfa-proteobactérias apresentam crescimento mais lento e são adaptadas a baixas concentrações de nitrito e de oxigênio, enquanto outras deste mesmo grupo apresentam crescimento mais acelerado. As bactérias que oxidam amônia são capazes de oxidar metano e vice-versa (beta- e gama-proteobactérias), apresentando similaridade fisiológica e filogenética (Zerh & Ward, 2002).

Nos ambientes aquáticos, a quantidade e a disponibilidade de determinados elementos pode determinar a estrutura da comunidade bacteriana (Nold & Zwart, 1998). Em especial, nos reservatórios de hidrelétricas, o processo de enchimento, desde a retirada de biomassa vegetal até a duração deste pode promover uma estratificação química, principalmente nos primeiros momentos. A estratificação pela diferença na concentração de oxigênio pode formar camadas totalmente distintas metabolicamente. Assim, o processo de alagamento e a idade de represamento de reservatórios são importantes para se determinar as condições da matéria a ser decomposta pelos

microrganismos (Tammert *et al.*, 2005). Uma diminuição da concentração de oxigênio dissolvido na água com a diferenciação em camadas óxica e anóxica pode ser observada principalmente em reservatórios de grandes profundidades. O metabolismo e a estrutura das comunidades microbianas apresentam diferença nestas camadas (Ochs *et al.*, 1995; LaybournParry *et al.*, 1997). Além disso, em sistemas estratificados, a composição filogenéticas de microrganismos é distinta comparando as camadas óxicas e anóxicas (Konopka *et al.*, 1999; Humayoun *et al.*, 2003).

Uma alta diversidade microbiana é observada na degradação anóxica, devido ao variado pool de matéria orgânica presente nestas regiões. Taxas similares de degradação da matéria orgânica em condições óxicas e anóxicas podem ser explicadas pela qualidade desta, independentemente de qual acceptor de elétrons está em uso (Bastviken, 2002).

Neste trabalho avaliamos a estrutura e produção bacteriana ao longo de um perfil vertical em um dos maiores reservatórios brasileiros para geração de energia elétrica, o da Usina Hidrelétrica de Serra da Mesa. A profundidade máxima próxima à barragem é maior que 100 m e anoxia pode ser observada em grandes profundidades em algumas épocas do ano neste reservatório (De Fellipo *et al.*, 1999).

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no reservatório Serra da Mesa (13°49' S; 48°18' W), Goiás, localizado na região Centro-Oeste do Brasil, cujo clima é tropical chuvoso, com 1.785 Km<sup>2</sup> de área alagada e o volume de 55 Km<sup>3</sup>.

As coletas foram realizadas no mês de março de 2004, que é o período após as chuvas, no final do verão. A amostragem ocorreu em um ponto próximo à barragem

deste reservatório em diferentes profundidades. A determinação das profundidades levou em consideração a profundidade da zona eufótica medida pelo radiômetro (Li-Cor), assim além da subsuperfície, fundo (107m), foram selecionadas a profundidade limite da zona eufótica (12 m), metade desta (6m) e metade da zona afótica (47 m).

A temperatura (termômetro), as concentrações de oxigênio dissolvido na água (Roland *et al.*, 1999), de carbono orgânico dissolvido (analisador de carbono Phoenix 8000/Tekmar-Dohrmann), de nitrogênio amoniacal e de nitrato (Wetzel & Likens, 1991) foram determinadas para cada profundidade.

A produção bacteriana foi determinada pela incorporação de <sup>3</sup>H leucina utilizando o método de centrifugação (Kirchman, 2001). A estrutura da comunidade bacteriana foi determinada pela técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). As amostras foram fixadas com paraformaldeído 20% (concentração final 2%), filtradas em filtros brancos de policarbonato Millipore poro 0,2 µm e mantidos refrigerados a 4° C até a realização do processo de hibridização (Cottrell & Kirchman, 2000). Marcadores RNAr 16S foram utilizados para a identificação de alfa-proteobactérias, beta-proteobactérias, gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* (Tabela 4.1). Um marcador controle negativo (5'- 3CC TAG TGA CGC CGT CGA C - 3'), que não possui especificidade para nenhum grupo bacteriano. Dez campos aleatórios foram analisados em cada filtro com auxílio do microscópio de epifluorescência Olympus IX-71 equipado com os seguintes jogos de filtros Chroma U-N41007, U-MWU2, U-MWB2 e U-MWG2, no aumento de 1000x.

Tabela 4.1 - Marcadores específicos utilizados para análise da composição da comunidade bacteriana por FISH.

<b>Marcador</b>	<b>Especificidade</b>	<b>Seqüência (5'-3')</b>
<b>Alf968</b>	<b>Alfa-proteobactérias</b>	<b>GGTAAGGTTCTGCGTT</b>
<b>Bet42a</b>	<b>Beta-proteobactérias</b>	<b>GCCTTCCCCTTCGTTT</b>
<b>Gam42a</b>	<b>Gama-proteobactérias</b>	<b>GCCTTCCCCTTCGTTT</b>
<b>CF319a</b>	<b><i>Cytophaga-Flavobacter</i></b>	<b>TGGTCCGTGTCTCAGTAC</b>

A biomassa bacteriana total média foi determinada a partir da captura de imagem (câmera CCD refrigerada Evolution VF) e análise de cada célula (software Image Tool). O volume das células bacterianas foi calculado partir da área (Massana *et al.*, 1997) e, então, determinada a biomassa celular (Norland, 1993). A biomassa celular média da amostra foi determinada e multiplicada pela densidade bacteriana total da amostra, resultando na biomassa bacteriana média da amostra. Procedimento semelhante foi utilizado para determinação da biomassa bacteriana nos diferentes grupos analisados.

Os dados de composição da comunidade bacteriana foram comparados nas diferentes profundidades analisadas por ANOVA One Way, sendo considerado significativo para os valores de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

O perfil da barragem do reservatório foi dividido em camadas distintas em relação à concentração de oxigênio dissolvido na água. A primeira é uma camada óxica (da superfície até 12 m), seguida de uma camada de transição (de 12 até 47 m) e uma camada mais profunda, hipóxica (de 47 até 107 m). A maior concentração de oxigênio dissolvido na água ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ) foi encontrado na profundidade de 6 m e a menor

concentração ( $0,4 \text{ mg.L}^{-1}$ ) no fundo considerado anóxico. Maiores decréscimos na temperatura ocorreram nos primeiros 47 m de profundidade, de  $29,5$  para  $26,9 \text{ }^\circ\text{C}$ . O teor de carbono orgânico dissolvido foi maior na subsuperfície ( $1,3 \text{ mg.L}^{-1}$ ) e menor ( $0,6 \text{ mg.L}^{-1}$ ) na profundidade de 47 m (Fig. 4.1).

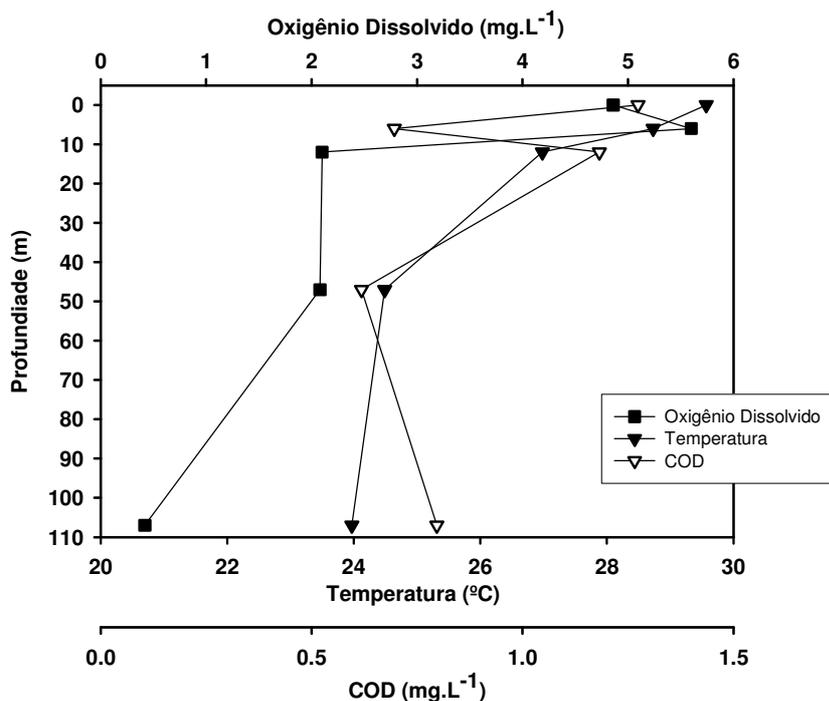


Fig. 4.1 – Temperatura ( $^\circ\text{C}$ ) e concentrações de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) e de carbono orgânico dissolvido (COD -  $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

A maior concentração de nitrogênio amoniacal ( $190 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ) foi encontrada na profundidade de 47 m, onde a concentração de oxigênio dissolvido foi de  $2 \text{ mg.L}^{-1}$ . A profundidade de 6 m apresentou a menor concentração de nitrogênio amoniacal ( $22 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ). O maior valor de nitrato ( $372 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$ ) foi encontrado na profundidade que é o limite da zona fótica (12 m), onde é observada, também, uma queda na concentração de oxigênio dissolvido na água ( $2 \text{ mg.L}^{-1}$ ) (Fig. 4.2).

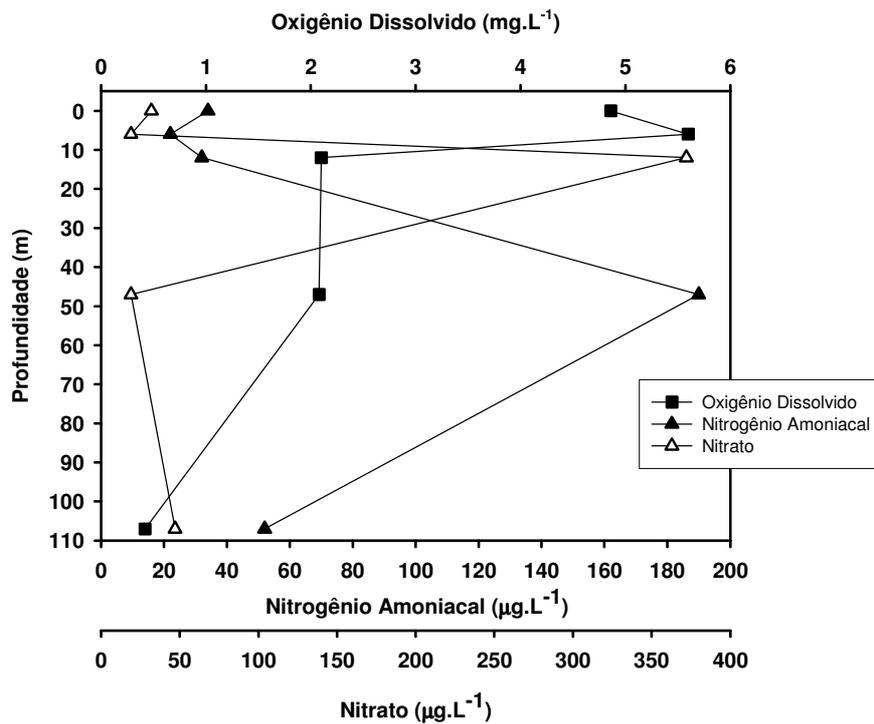


Fig. 4.2 – Concentrações de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ), de nitrogênio amoniacal ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) e de nitrato ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

O menor valor de densidade bacteriana ( $0,6 \text{ céls.} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ ) foi encontrado na profundidade de 6 m, onde foi registrada a maior concentração de oxigênio dissolvido ( $6 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Os maiores valores de densidade bacteriana foram encontrados no limite da zona fótica e no fundo anóxico, aproximadamente,  $1,2 \text{ céls.} \cdot 10^6 \cdot \text{mL}^{-1}$ . Quanto à distribuição da biomassa bacteriana no perfil analisado, os maiores valores de biomassa foram encontrados nas profundidades maiores que 12 m, onde foram encontradas bactérias com maior volume e menor alongação. A menor biomassa bacteriana ( $16 \mu\text{g C.L}^{-1}$ ) foi encontrada na subsuperfície com a presença de bactérias mais alongadas e com maior variação no volume das células (Fig. 4.3 e 4.5). Integrando as biomassas bacterianas deste perfil ( $4,5 \text{ mg C mm}^{-2}$ ) observamos que mais da metade desta biomassa encontra-se na camada hipóxica ( $2,5 \text{ mg C mm}^{-2}$ ).

As maiores taxas de produção bacteriana foram observados na subsuperfície (9,7  $\mu\text{g C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) e no fundo anóxico (5,1  $\mu\text{g C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) deste perfil. Menor produção bacteriana (0,1  $\mu\text{g C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) foi medida em 47 m de profundidade onde foi encontrada a maior concentração de nitrogênio amoniacal, menor de nitrato e de carbono orgânico dissolvido (Fig. 4.4).

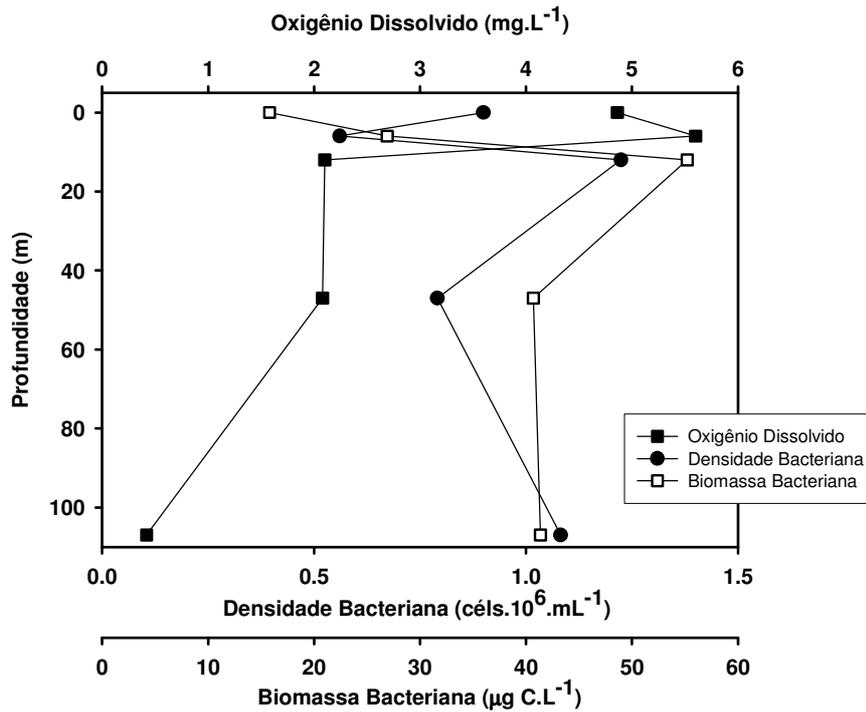


Fig. 4.3 – Densidade ( $\text{cél.s.10}^6.\text{mL}^{-1}$ ) e biomassa bacteriana ( $\mu\text{g C.L}^{-1}$ ) e concentração de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

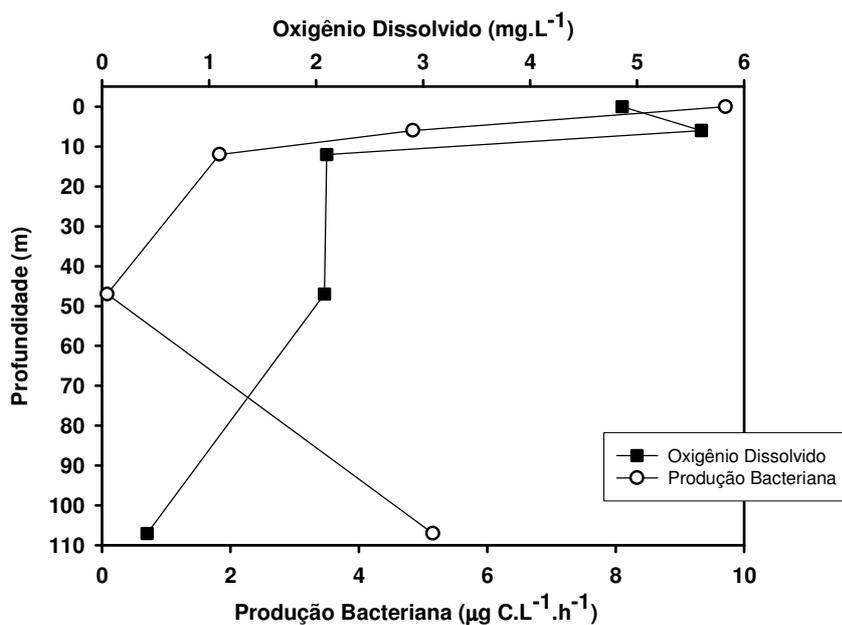


Fig 4.4 – Produção bacteriana ( $\mu\text{g C.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ) e concentração de oxigênio dissolvido na água ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

Em relação à alongação e biovolume bacterianos nas profundidades analisadas, pode-se observar uma maior alongação das células bacterianas com um menor volume celular na subsuperfície em relação às demais profundidades analisadas, onde a tendência das células bacterianas ter uma menor alongação e maior biovolume bacteriano (Fig. 4.5).

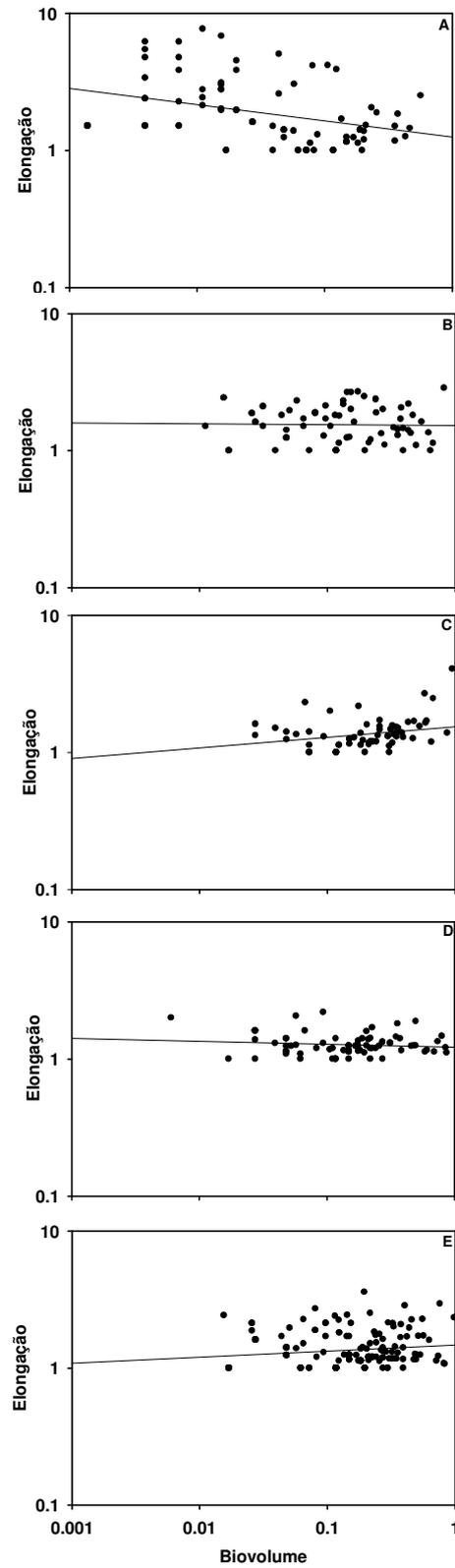


Fig. 4.5 - Elongação e volume das células bacterianas (escala logarítmica) na subsuperfície (A), 6 m (B), 12 m (C), 47 m (D) e 107 m (E) em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

A composição da comunidade bacteriana no fundo anóxico (107 m) diferenciou-se significativamente da composição encontrada nas profundidades de 6 e 47 m. Mesmas proporções (10%) de bactérias dos grupos alfa-, beta-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* foram encontradas na subsuperfície. Nesta camada a proporção do grupo gama-proteobactérias ficou abaixo do limite de proporção aceito para o controle negativo (< 0,1%). Na profundidade de maior concentração de oxigênio e menor densidade total de bactérias (6 m) bactérias dos grupos alfa e gama-proteobactérias foram proporcionalmente os maiores representantes (9%) e bactérias do tipo *Cytophaga-Flavobacter* os menores (3%) dos grupos avaliados. No limite da zona fótica (12 m), foi encontrada a maior densidade bacteriana, sendo esta comunidade representada principalmente pelas bactérias do tipo *Cytophaga-Flavobacter* (12 %). Aos 47 m de profundidade, onde menor taxa de produção bacteriana foi encontrada, mais de 80% das bactérias não pertencem a nenhum dos grupos avaliados neste estudo. Dos grupos avaliados, beta-proteobactérias foi o mais representativo (6%) nesta profundidade. Ao contrário da camada anterior, no fundo anóxico (107 m), metade das bactérias pertencia aos grupos bacterianos avaliados, com maior número de representantes do grupo alfa-proteobactérias (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Densidade bacteriana (célis.10<sup>6</sup>.mL<sup>-1</sup>) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* (% da densidade bacteriana total) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

Profundidade (m)	Total (Céls mL <sup>-1</sup> )	Alfa-	Beta-	Gama-	<i>Cytophaga- Flavobacter</i>	Outros
		Proteobactérias			% do total	
0	0.9	10 ± 2,2	10 ± 6,5	< 0.1	10 ± 3,4	70
6	0.6	9 ± 5,6	4 ± 0,4	9 ± 9,7	3 ± 2,0	75
12	1.2	10 ± 1,8	2 ± 2,4	8 ± 5,0	12 ± 2,0	68
47	0.8	4 ± 1,0	6 ± 1,7	3 ± 1,7	5 ± 0,6	82
107	1.1	16 ± 1,3	9 ± 1,0	11 ± 7,8	14 ± 4,1	50

Analisando a biomassa dos grupos mais representativos de cada profundidade, temos a maior proporção de bactérias do grupo alfa-proteobactérias em 6, 47 e 107 m de profundidade (respectivamente 9, 7 e 23%). A proporção de biomassa do grupo beta-proteobactérias foi semelhante à proporção de biomassa das alfas-proteobactérias na profundidade de 6 m. A biomassa deste grupo foi representativa também na subsuperfície (15%). Entretanto, as beta-proteobactérias foram as menos representativas em biomassa nas profundidades de 12 e 107 m. A biomassa do grupo gama-proteobactérias foi encontrada em menores proporções em comparação às demais subclasses bacterianas analisadas, na superfície e em 47 m. A biomassa de bactérias do tipo *Cytophaga-Flavobacter* foi representativa na subsuperfície, junto com a biomassa de beta-proteobactérias, e em 12 m (Tabela 4.3)

Tabela 4.3 – Biomassa bacteriana total ( $\mu\text{g C.L}^{-1}$ ) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* (% da biomassa bacteriana total) e de alfa-, beta- e gama-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* (% da densidade bacteriana total) ao longo de um perfil vertical em um ponto próximo à barragem do reservatório de Serra da Mesa em março de 2004.

Profundidade (m)	Total ( $\mu\text{g C L}^{-1}$ )	Alfa- Proteobactérias			<i>Cytophaga- Flavobacter</i>	Outros
		Beta-	Gama-	% do total		
0	16	15	20	< 0.1	20	65
6	27	9.2	9.2	4.9	2.7	72
12	55	9.3	1.5	5.5	11	78
47	41	7.5	6.0	1.5	4.8	84
107	41	23	9.1	13	13	42

## DISCUSSÃO

Nos ecossistemas aquáticos, baixas concentrações de nitrato nas camadas superficiais, como observado neste estudo, podem ser explicadas pela utilização deste composto nitrogenado pelo fitoplâncton e, portanto, acumulando nas regiões onde estes estão em menor densidade. O nitrogênio amoniacal da zona fótica pode ser assimilado pelo fitoplâncton antes da nitrificação pelas bactérias (Ward, 2000).

O número de bactérias ativas é mais variável que o número total de bactérias (Cottrell & Kirchman, 2004). A profundidade de 12 m apresentou o maior valor de densidade e biomassa bacteriana e uma baixa produção bacteriana. Isto sugere que estas bactérias têm um crescimento mais lento nesta zona de transição ou estas estão inativas. A diferença na produção bacteriana nas profundidades pode estar relacionada aos mecanismos de controles também diferentes sobre ela nas profundidades, já que isso favorece determinados grupos que tem diferentes estratégias de crescimento (Nurnberg & Shaw, 1998; Weinbauer & Höfle, 1998). Na profundidade limite da zona fótica, bactérias do tipo *Cytophaga-Flavobacter* foram as mais representativas e do grupo das beta-proteobactérias o menos representativo, quando comparados aos demais grupos. Este último grupo é um dos responsáveis pela oxidação do nitrito a nitrato. Entretanto, nesta profundidade foi encontrada a maior concentração de nitrato sugerindo que bactérias de outros grupos que são capazes de oxidar nitrito a nitrato estão atuando.

A produção bacteriana tende a ser mais alta nas profundidades próximas à superfície ou no fundo anóxico (Cole & Pace, 1995). A superfície e as profundidades de 6 e 107 m apresentaram as maiores taxas de produção bacteriana, mostrando que há uma comunidade microbiana aeróbica produzindo na zona fótica distinta da comunidade anaeróbica do fundo foi observada.

O perfil apresentou variações na densidade e na biomassa dos grupos analisados. Diferenças na composição da comunidade bacteriana comparando as camadas foram encontradas de acordo com a concentração de oxigênio dissolvido na água. Na subsuperfície, por exemplo, onde foi encontrada a maior concentração de carbono orgânico dissolvido, os grupos alfa- e beta-proteobactérias e *Cytophaga-Flavobacter* tiveram densidades semelhantes, no entanto as maiores biomassas estavam relacionadas aos dois últimos grupos. Aos 47 m, que apresentou a menor concentração de carbono orgânico dissolvido e menor taxa de produção bacteriana, o principal grupo encontrado na densidade foi o das beta-proteobactérias, no entanto a principal biomassa nesta profundidade estava relacionada às alfa-proteobactérias. Boucher *et al.* (2006) também encontraram diferenças na composição da comunidade comparando o hipolímnio e o epilímnio de dois lagos franceses.

Dentro do grupo das gama-proteobactérias existem espécies que são responsáveis pela oxidação do nitrito a nitrato. Sabe-se que as bactérias que oxidam nitrito são mais sensíveis à luz do que as que oxidam amônia (Vanzella *et al.*, 1989). Isto pode ser uma explicação para a baixa densidade das gama-proteobactérias encontrada na superfície.

Além disso, Nold & Zwart (1998) avaliando os padrões e as forças que governam as comunidades microbianas aquáticas apontam que este grupo bacteriano não é caracteristicamente abundante nas regiões óxicas. Entretanto, neste perfil, este grupo apresentou uma das maiores densidades na profundidade de 6 m, onde foi observada a maior concentração de oxigênio. Isso pode estar relacionado a diferenças filogenéticas dentro do próprio grupo.

A baixa densidade relativa dos grupos bacterianos avaliados nas profundidades deste reservatório pode ser explicada por problemas metodológicos (Bouvier & del

Giorgio, 2003), uso de marcadores moleculares que não atendem as variações específicas dos trópicos e/ou a presença de outros grandes grupos bacterianos, como *Archaea*. Bactérias do grupo *Archaea* são encontradas principalmente nas maiores profundidades, onde o metabolismo é anóxico (Lin *et al.*, 2006). Já Øvreås *et al.* (1997) compararam a distribuição vertical de microrganismos do domínio *Archaea* e *Bacteria* em um lago estratificado dividido em uma camada óxica e outra anóxica, rica em sulfeto. Estes autores encontraram uma maior quantidade de componentes do domínio *Bacteria* nas águas superficiais e do domínio *Archaea* nas camadas profundas. A uniformidade de espécies foi maior na zona óxica enquanto, a riqueza de espécies foi maior na zona anóxica.

Os diferentes controles sobre a comunidade bacteriana nas diferentes profundidades fazem com que a estrutura da comunidade bacteriana seja também diferente (Tammert *et al.*, 2005) e assim sendo encontradas diferenças morfológicas nas células bacterianas de uma camada para outra da coluna de água (Ramsing *et al.*, 1996). As células bacterianas do presente estudo apresentaram variações no seu volume e forma nas diferentes profundidades analisadas. As maiores elongações das células bacterianas foram encontradas nas camadas mais superficiais. Estes trabalhos sugerem que essa variação se dá pela diferença na pressão de predação. No entanto, dados de outros trabalhos mostram que as bactérias que são encontradas no hipólímnio são maiores que as encontradas no epilímnio (Kuuppoleinikki & Salonen, 1992; Cole *et al.*, 1993).

A estrutura e a produção da comunidade bacteriana foram diferentes nas profundidades analisadas, confirmando que nem todos os microrganismos têm a mesma participação na dinâmica das camadas, nem todos são abundantes e nem estão distribuídos uniformemente entre elas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BASTVIKEN, D., 2002, *Anoxic Degradation of Organic Matter in Lakes – Implications for Carbon Cycling and Aquatic Food Webs*, Ph.D. dissertation, Linköping University, Linköping, SE, Suécia.
- BOUCHER, D., JARDILLIER, L. & DEBROAS, D., 2006, “Succession of Bacterial Community Composition Over Two Consecutive Years in Two Aquatic Systems: a Natural Lake and a Lake-Reservoir”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 55, pp. 79-97.
- BOUVIER, T. & del GIORGIO, P., 2003, “Factors Influencing the Detection of Bacterial Cells Using Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH): A Quantitative Review of Published Reporters”, *FEMS Microbiology Ecology*, v. 44, pp. 3-15.
- COLE, J.J. & PACE, M.L., 1995, “Bacterial secondary production in oxic and anoxic freshwater”, *Limnology and Oceanography*, v. 40, pp. 1019-1027.
- COLE, J.J., PACE, M.L. CARACO, N.F. & STEINHART, G.S., 1993, “Bacterial Biomass and Cell Size Distribution in Lakes: More and Larger Cells in Anoxic Waters”, *Limnology and Oceanography*, v. 38, pp. 1627-1632.
- COTTRELL, M.T. & KIRCHMAN, D.L., 2000, “Community Composition of Marine Bacterioplankton Determined by 16S rRNA Gene Clone Libraries and Fluorescence In Situ Hybridization”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 66, pp. 5116-5122.
- COTTRELL, M.T. & KIRCHMAN, D.L., 2004, “Single-Cell Analysis of Bacterial Growth, Cell Size, and Community Structure in the Delaware Estuary”, *Aquatic Microbial Ecology*, v. 34, pp. 139-149.
- De FELLIPO, R., GOMES, E.L., LENZ-CÉSAR, J., SOARES, C.B.P. & MENEZES, C.F.S., 1999, “As Alterações na Qualidade da Água Durante o Enchimento do

- Reservatório de UHE Serra da Mesa – GO”, In: Henry, R. (eds.), *Ecologia de Reservatórios*. FUNDIBIO: FAPESP, pp. 321-346.
- HUMAYOUN, S.B., BANO, N. & HOLLIBAUGH, J.T., 2003, “Depth distribution of microbial diversity in Mono Lake, a meromictic soda lake in California”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 69, pp. 1030-1042.
- KIRCHMAN, D.L., 2001, “Measuring bacterial biomass production and growth rates from leucine incorporation in natural aquatic environments”, In: Paul, J.H. (eds.), *Methods in Microbiology – Marine Microbiology*, Academic Press, pp. 227-238.
- KONOPKA, A., BERCOT, T. & NAKATSU, C., 1999, “Bacterioplankton community diversity in a series of thermally stratified lakes”, *Microbial Ecology*, v. 38, pp. 126-135.
- KUUPPOLEINIKKI, P. & SALONEN, K., 1992, “Bacterioplankton in a Small Polyhumic Lake with an Anoxic Hypolimnion”, *Hydrobiologia*, v. 229, pp. 159-168.
- LAYBOURN-PARRY, J., JAMES, M.R., MCKNIGHT, D.M., PRISCU, J., SPAUDING, S.A. & SHIEL, R., 1997, “The Microbial Plankton of Lake Fryxell, Souther Victoria Land, Antarctica During the Summers of 1992 and 1994”, *Polar Biology*, v. 17, pp. 54-61.
- LIN, X.J., WAKEHAM, S.G., PUTMAN, I.F., ASTOR, Y.M., SCRATON, M.I., CHISTOSERDOV, A.Y. & TAYLOR, G.T., 2006, “Comparison of vertical distributions of prokaryotic assemblages in the anoxic Cariaco Basin and Black Sea by use of fluorescence in situ hybridization”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 72, pp. 2679-2690.
- MASSANA, R., GASOL, J.M., BJORNSEN, P.K., BLACK-BURN, N., HAGSTRÖM, A., HIETANEN, S., HYGUM, B.H., KUPARINEN, J. & PEDRÓS-ALIÓ, C., 1997,

“Measurement of Bacterial Size Via Image Analyses of Epifluorescence Preparations: Description of an Inexpensive System and Solutions to Some of the Most Common Problems”, *Scientia Marina*, v. 61, pp. 397-407.

NOLD, S.C. & ZWART, G., 1998, “Patterns and Governing Forces in Aquatic Microbial Communities”, *Aquatic Ecology*, v. 32, pp. 17-35.

NORLAND, S., 1993, “The Relationship Between Biomass and Volume of Bacteria”, In: Kemp, P.F., Sherr, B.F., Sherr, E.B. & Cole, J.J. (eds.), *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology*, Lewis Publishers, pp. 303-307.

NURNBERG, G.K. & SHAW, M., 1998, “Productivity of clear and humic lakes: nutrients, phytoplankton, bacteria”, *Hydrobiologia*, v. 382, pp. 97-112.

OCHS, C.A., COLE, J.J. & LIKENS, G.E., 1995, “Population-Dynamics of Bacterioplankton in an Oligotrophic Lake”, *Journal of Plankton Research*, v. 17, pp. 365-391.

ØVREAS, L., FORNEY, L., DAAE, F.L. & TORSKIV, V., 1997, “Distribution of bacterioplankton in meromictic Lake Sælenvannet, as determined by denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified gene fragments coding for 16S rRNA”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 63, pp. 3367-3373.

RAMSING, N.B., FOSSING, H., FERDELMAN, T.G., ANDERSEN, F. & THAMDRUP, B., 1996, “Distribution of bacterial populations in a stratified fjord (Mariager fjord, Denmark) quantified by in situ hybridization and related to chemical gradients in the water column”, *Applied and Environmental Microbiology*, v. 62, pp. 1391-1404.

ROLAND, F., CARACO, N. & COLE, J.J., 1999, “Rapid and precise determination of dissolved oxygen by spectrophotometry: Evaluation of interference from color and turbidity”, *Limnology and Oceanography*, v. 44, pp. 1148-1154.

- SHERR, E. & SHERR, B., 2000, "Marine Microbes: An Overview", In: Kirchman, D.L. (eds.), *Microbial Ecology of the Oceans*, Wiley-Liss, pp. 13-46.
- TAMMERT, H., KISAND, V. & NOGES, T., 2005, "Bacterioplankton abundance and activity in a small hypertrophic stratified lake", *Hydrobiology*, v. 547, pp. 83-90.
- VANZELLA, A., GUERREIRO, M.A. & JONES, R.D., 1989, "Effect of CO and the light on ammonium and nitrite oxidation by chemolithotrophic bacteria", *Marine Ecology – Progress Series*, v. 57, pp. 69-76.
- WARD, B.B., 2000, "Nitrification and the Marine Nitrogen Cycle", In: Kirchman, D.L. (eds.), *Microbial Ecology of the Oceans*, Wiley-Liss, pp. 427-454.
- WEINBAUER, M.G. & HÖFLE, M.G., 1998, "Distribution and life strategies of two bacterial populations in a eutrophic lake", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 64, pp. 3776-3783.
- WETZEL, R.G. & LIKENS, G.E., 1991, *Limnological Analyses*, Springer-Verlag, pp. 391.
- ZEHR, J.P. & WARD, B.B., 2002, "Nitrogen cycling in the ocean: New perspectives on processes and paradigms", *Applied and Environmental Microbiology*, v. 68, pp. 1015-1024.