Influência do pulso de inundação na composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das fontes primárias de energia na planície de inundação do rio Paraguai (Pantanal – MS)

DÉBORA FERNANDES CALHEIROS

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutora em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro – 2003

Influência do pulso de inundação na composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das fontes primárias de energia na planície de inundação do rio Paraguai (Pantanal – MS)

DÉBORA FERNANDES CALHEIROS

Bióloga

Orientador: Prof. Dr. **LUIZ ANTONIO MARTINELLI**

Co-Orientador: Prof. Dr. **MARCELO ZACHARIAS MOREIRA**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutora em Ciências, Área de Concentração: Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Outubro – 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Seção Técnica de Biblioteca

Calheiros, Débora Fernandes

Influência do pulso de inundação na composição isotópica ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$) das fontes primárias de energia na planície de inundação do rio Paraguai (Pantanal – MS) / Débora Fernandes Calheiros. - - Piracicaba, 2003.

164p. : il.

Tese (doutorado) -- Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2003.

Bibliografia.

1. Cadeia trófica 2. Carbono 3. Ciclo hidrológico 4. Isótopos estáveis 5. Nitrogênio 6. Peixes de água doce 7. Rios – Pantanal
I. Título

CDD 574 (817.1)

Dedico esta pesquisa ao rio Paraguai e à sua comunidade ribeirinha, em especial à comunidade da Baía do Castelo.

Que o Pantanal, um lugar "onde não se passa a régua", possa ser conservado saudável e majestoso, refletindo a complexidade e a harmonia da vida, apesar da vaidade de muitos...*

E que isso se dê para todos, mas em especial para os que lá vivem, conhecem e respeitam profundamente suas lentas e sinuosas águas.

* Trecho de frase do poeta sul-matogrossense, Manoel de Barros.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha Instituição, EMBRAPA, e à minha Unidade, EMBRAPA Pantanal, pela oportunidade de aperfeiçoamento acadêmico e profissional por meio deste treinamento em pós-graduação.

Especialmente, ao Prof. Dr. Luiz Antonio Martinelli, pela oportunidade de sua orientação e pelo apoio fundamental para meu crescimento profissional e para que esta pesquisa pudesse ser realizada.

Ao co-orientador, Prof. Dr. Marcelo Zacharias Moreira, pela coordenação do projeto junto ao órgão de fomento e pela importante contribuição em todas as fases da pesquisa.

Aos também pesquisadores do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP, Prof. Dr. Plínio B. de Camargo e ao Dr. Alex V. Krush, ambos pelo apoio na fase inicial do projeto, e ao Dr. Jean P. H. B. Ometo, na fase final. A reconhecida excelência do orientador Prof. Martinelli, bem como de todo o grupo liderado pelo Prof. Dr. Reynaldo L. Victória, sobre a biogeoquímica da Amazônia e sobre o método isotópico em estudos ecológicos foi fator fundamental na escolha do LEI-CENA para a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Stephen K. Hamilton, da Kellogg Biological Station - Michigan State University (KBS-MSU) nos EUA, pela contribuição fundamental neste estudo, participando como co-orientador não oficial, e por me receber durante o Doutorado Sanduíche, como orientador estrangeiro. Seu conhecimento sobre o funcionamento ecológico dos rios e áreas inundáveis do Pantanal foi de enorme influência na escolha do tema da tese.

À Suzanne J. Sippel, pelo total apoio durante minha estadia na KBS, sempre com muito carinho e amizade.

Aos funcionários do Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP: Neusa M^a. Augusti, M^a. Antonia Z. Perez, José A. Bonassi, Geraldo Arruda Jr., Edmar Mazzi, Fabiana C. Fracassi, às estagiárias Alexandra A. Montebello, Andréa D. da Silva e Patrícia A. Montebello.

Aos funcionários do CENA: Geraldo Brancalion, pela assistência com as figuras, o motorista José L. Ramalho, as bibliotecárias Marília R. G. Henyei, Raquel C. T. Carvalho, e Cleide A. Ferraz, além das “meninas” da Seção de Pós-graduação Alzira F. Adão, Cláudia M. F. Correa, Neuda F. de Oliveira e M^a. Regina S. Rodrigues.

A todos os funcionários da Embrapa Pantanal, que trabalharam direta ou indiretamente para que esta pesquisa fosse realizada, dividindo com eles os seus possíveis méritos. Particularmente ao pessoal do Laboratório de Limnologia: Neusa O. S. Galvão, M^a. Davina R. dos Santos e Egídia A. Costa pela parte laboratorial de preparo e análise de amostras; aos pilotos Waldomiro L. Silva, Isaac T. de Carvalho,

pela inestimável contribuição e apoio nos trabalhos de campo, além de Luiz F. Espinoza (“Barriga”), Antonio Arantes, Oslain D. Branco, J. Augusto D. da Silva, Francisco R. Ferreira, Admar Rodrigues, Gentil C. B. Sobrinho, Wilson S. Batista e Rosangela G. do Prado na área de apoio à pesquisa.

Aos pesquisadores da Embrapa Pantanal: MSc. Márcia D. de Oliveira, pelo imenso apoio e por literalmente “tocar o barco”; MSc. Suzana M^a. de Salis, pela identificação taxonômica das plantas e pela parte de fitossociologia desta pesquisa; Dr. Agostinho C. Catella e Dra. Emiko K. Resende, pela sugestões na escolha das espécies de peixes a serem estudadas e na identificação das mesmas e ao MSc. Carlos R. Padovani pelos dados referentes às fotos de satélite.

Aos estagiários, bolsistas do CNPq, Elizangela V. da Silva e Viviane R. de Miranda pelo auxílio nas coletas e no preparo das amostras e em especial ao MSc. Domingos S. Barbosa, pela sua excelente e fundamental contribuição na fase de coletas bem como na identificação dos invertebrados aquáticos.

Ao pescador, responsável pela captura de peixes, Sr. Américo de Souza, com apoio do piloto Waldomiro L. Silva, e ao Sr. Vinino Silva, morador da ilha do Castelo, que muito nos auxiliou na amostragem e na nomenclatura popular das plantas aquáticas.

Aos professores Dra. Andréia Tucci (EESC-USP), pela identificação das algas, ao Dr. Kennedy F. Roche (UFMS), pela identificação do zooplâncton, ao Dr. Gerd O. Brandorff (Alemanha) pela especial assistência na amostragem inicial dos grupos zooplantônicos, e ao Prof. Dr. Paulo C. Boggiani (USP) pelo auxílio na compreensão da geologia isotópica da região. Sou grata, particularmente, à Profa. Ana Cristina B. Oliveira (UFAM) pelos valiosos e pacientes comentários.

Aos alunos e funcionários da KBS em Michigan (EUA), pelo apoio e amizade, em especial ao Diretor Prof. Dr. Michael J. Klug, e à Madhav Mochavaram, David Weed, Pam Woodruff, Claire McSwiney, Tara Darcy e Meg Duffy.

Aos bons amigos da pós-graduação: Miriam Falótico, Ana Cristina Oliveira, Raimundo Nonato, Vânia Korman, Cleber Salimon, Elektra Rocha, Luis F. Pires, Marysol Schuler, Fernando Fernandes e Ana B. Fernandes, além do pessoal da animadíssima sala de estudos Sandra Furlan, Simone Vieira, Daniela Silva, Andréia Tomazelli, Marcos Salomão, Gabriela Nardoto e Luis F. Charbel, nessa Piracicaba que passei a adorar tanto...

Aos amigos Gláucia H. F. Seixas & João A. A. Soares, pelo apoio “logístico” e pelo porto, sempre seguro, em Campo Grande.

A toda a comunidade da Baía do Castelo, especialmente ao Sr. Sebastião R. de Oliveira e Sra. Rosa S. de Oliveira e também ao casal Sr. Sebastião D. de Araújo e Sra. Antonia R. M. Araújo e, por fim, ao Sr. José de Souza Brandão, que com enorme sensibilidade e conhecimento muito me ensinaram sobre o sistema Pantanal e sobre a simplicidade e tranquilidade da vida.

Esta pesquisa teve o apoio fundamental das agências financiadoras: Projeto de Auxílio à Pesquisa (FAPESP, nº. 99/09665-6), da Bolsa de Doutorado (CNPq, nº. 141193/2000-0) e da Bolsa de Estudos no Exterior (CNPq/Modalidade Sanduíche, nº. 200811/01-0), além da EMBRAPA (Sub-Projeto: 01.1999.572.03, 1999-2001).

Por fim, agradeço ao meu filho, Lucas, e aos meus pais, por tudo...

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS	xvi
RESUMO.....	xvii
SUMMARY	xix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Objetivo	5
1.2 Hipótese científica	5
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1 Carbono.....	12
2.2 Nitrogênio	20
3. METODOLOGIA.....	26
3.1 Descrição da área de estudo.....	26
3.2 O método de isótopos estáveis	35
3.3 Compartimento abiótico.....	37
3.3.1 Água	37
3.3.2 Sedimento	38
3.4 Compartimento biótico.....	39
3.4.1 Produtores primários	39
a) Plantas vasculares	39
b) Algas	40
Sestônicas.....	40
Epifíticas.....	43
Filamentosas	45

3.4.2 Consumidores	45
a) Invertebrados	46
Planctônicos	46
Epifíticos	46
Bentônicos	47
b) Peixes	48
4. RESULTADOS	49
4.1 Compartimento abiótico	49
4.1.1 Água	49
4.1.2 Sedimento	62
4.2 Compartimento biótico	62
4.2.1 Produtores primários	62
a) Plantas vasculares	62
b) Algas	67
Sestônicas & Epifíticas	67
Filamentosas	78
4.2.2 Consumidores	80
a) Invertebrados	80
Filtradores	81
Coletores por reunião	84
Raspadores	86
Predadores	86
b) Peixes	88
5. DISCUSSÃO	89
5.1 Interferências na determinação do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em algas	91
5.2 Fontes de CID e a sazonalidade do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em algas	98
5.3 Fontes de NID e a sazonalidade do sinal de $\delta^{15}\text{N}$ em algas	108
5.4 Fontes de produção fototrófica	112

5.5 Alternativa à produção fototrófica	118
5.6 Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em zooplâncton: evidências para as hipóteses levantadas.....	126
5.7 Peixes detritívoros	133
5.8 O ambiente heterotrófico	140
5.9 Recomendações.....	147
6. CONCLUSÕES	149
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	151

LISTA DE FIGURAS

		Página
1	Esquema dos dois sítios bioquímicos importantes de carboxilação em algas, com fixação líquida do CO ₂ apenas no Ciclo de Calvin (1) e o processo de β-carboxilação é feito por meio da FEP-carboxilase (2) e da FEP-carboxiquinase (3); ver mais detalhes no texto. RuBP= ribulose-1,5-bifosfato carboxilase (Rubisco); FEP= fosfoenolpiruvato; Co A= Coenzima A; OAA= oxaloacetato.	18
2	Localização da bacia do Alto Paraguai no Brasil, evidenciando as áreas de planalto em sua borda leste (clara) e a de planície ou Pantanal (sombreada); a seta indica a área de amostragem (baía do Castelo, MS) marcada por um círculo. Baseado em Silva & Abdon (1998).	27
3	Área do Pantanal, no centro da América do Sul, destacando os principais rios e as sub-regiões no Brasil, incluindo a do rio Paraguai com suas grandes lagoas à margem direita (áreas mais escuras); a seta aponta a lagoa marginal sob estudo (baía do Castelo, MS). Baseado em Hamilton et al. (1996).	28
4	Vista aérea de trecho do rio Paraguai em direção norte, rumo à baía do Castelo (Pantanal – MS), durante a cheia de 1995, considerada a terceira maior cheia do século pela régua de Ladário. Observa-se um meandro fluvial com suas margens cobertas por manchas de mata ciliar estreita, seguida e entre-meada por áreas de campo limpo, totalmente inundadas.	30
5	Imagem de satélite do trecho do rio Paraguai (à direita) e da baía do Castelo (Pantanal – MS), com a área de inundação contígua, identificando os pontos numerados de coleta (círculos rosa) e os pontos de amostragem da vegetação, na seca (asterisco rosa) e na cheia (transecto, em branco, entre pontos 8 e 4); a área mais elevada à esquerda apresenta sinais de desmatamento	32
6	Acima: vista da borda final (sudoeste) da baía do Castelo (Pantanal, MS), próximo ao ponto 1. Observar os morros ao fundo e o mais próximo com cobertura de mata decídua, a formação homogênea da palmeira carandá (<i>C. alba</i>) e o tapete de macrofitas (<i>E. azurea</i> e <i>E. crassipes</i>) estão também evidentes. Abaixo: planície de inundação no ponto 2, com vista para o norte. As	

	gramíneas semi-aquáticas do tipo C_3 predominam, principalmente <i>Oryza sp</i> (verde claro), com manchas mais escuras de <i>E. crassipes</i> na borda. No horizonte, observa-se a linha de morros que circundam a baía.	33
7	Esquema dos procedimentos de amostragem de seston e epifíton e do preparo das amostras no campo e no laboratório, resultando em sub-amostras de seston pré- e pós-centrifugação, MOP_{Total} epifítica e sestônica, e, posterior à centrifugação em solução de sílica coloidal, em frações Leve e Pesada; C:Clor identifica amostras predominantemente algais ($MOPa= alga$) ou não ($MOPad= detrito$).	42
8	Variação unimodal do nível limnimétrico do rio Paraguai medido na régua de Ladário – MS (pelo VI Distrito Naval da Marinha do Brasil) nos anos hidrológicos estudados (1997 a 2001).	50
9	Variação sazonal dos valores de condutividade elétrica dos pontos (1, 5 e 6) ao longo da baía do Castelo (Pantanal – MS) e do rio Paraguai (Pto.8), entre ago./98 a set./99.	51
10	Variação sazonal dos gases respiratórios CO_2L e OD na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e set./99, nos pontos 1 (A) 5 (B) 6 (C) e 8 (D).	53
11	Variação sazonal dos valores de CO_2L em comparação com os de pH na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e set./99, nos pontos 1 (A) 5 (B) 6 (C) e 8 (D).	54
12	Variação sazonal das concentrações (mg/L) de CO_2 (símbolo escuro) e alcalinidade (HCO_3^- , símbolo claro) na baía do Castelo (Pantanal, - MS), nos pontos 1 (A), 5 (B) e 6 (C), e no rio Paraguai (D, ponto 8), ente ago/98 e set./99.	55
13	A: Variação do nível limnimétrico do rio Paraguai, no período de ago/98 a set./99, com a correspondente variação da razão média CO_2/HCO_3^- na baía do Castelo (Pantanal - MS); B: Variação do sinal de $\delta^{13}C$ -CID comparado aos valores da razão CO_2/HCO_3^- no rio Paraguai à montante de Corumbá (MS) entre abr./00 e fev./01	56
14	Relação entre $\delta^{13}C$ do CID e pH no canal principal do rio Paraguai, à montante de Corumbá (MS), durante o período de abr./00 a fev./01	57
15	Variação do sinal isotópico de carbono ($\delta^{13}C\%$) da ΣCID e de suas frações (CO_2L) e (HCO_3^-), calculados a partir do pH, temperatura e do respectivo fracionamento isotópico, cole-	

	tados no rio Paraguai, num ponto entre a cidade de Corumbá e a baía do Castelo, durante abr./00 e fev./01	58
16	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do carbono orgânico particulado (COP) dos pontos 1 (A), 5 (B) e 8 (C), coletados na baía do Castelo (Pantanal – MS) entre ago./98 a set./99	59
17	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ do carbono orgânico particulado (COP) dos pontos 1 (A), 5 (B) e 8 (C) em comparação com os valores correspondentes de CO_2 livre da baía do Castelo (Pantanal – MS), durante o período de set./98 a set./99	60
18	Variação sazonal dos valores de NID, como NO_3^- e NH_4^+ , no rio Paraguai, num ponto bem próximo à montante da cidade de Corumbá (MS), e à jusante da baía do Castelo, no período de ago./98 a dez./00.	61
19	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da matéria orgânica do sedimento superficial (MOS) dos pontos 4 (A) e 6 (B), coletados na baía do Castelo (Pantanal – MS) entre set./98 a set./99	63
20	Distribuição das frequências de valores de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e $\delta^{15}\text{N}$ (B) de plantas vasculares, terrestres e aquáticas, coletadas na baía do Castelo (Pantanal – MS) em dez./97 (seca) e jun.-jul./98 (cheia).	66
21	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das frações Leve e Pesada da Matéria Orgânica Particulada Total ($\text{MOP}_{\text{Total}}$) sestônica (SL e SP), do ponto 7 (A e B), e epifítica (EL e EP), do ponto 2 (C e D), antes da seleção por C:Clor <100, coletada na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e out./99; as linhas tracejadas delimitam a fase de enchente-cheia.	70
22	Variação sazonal de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e $\delta^{15}\text{N}$ (B) das amostras de seston pré- e pós-centrifugação contínua referentes ao ponto 7, coletadas na baía do Castelo (Pantanal - MS) durante o período de out./98 a set./99	71
23	Variação temporal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, de <i>alga</i> (MOPa) sestônica (C:Clor < 100) e dos valores de clorofila- <i>a</i> correspondentes (A) dos dois locais de amostragem (pontos 4 e 7) em conjunto (observar escala alterada dos meses) e (B) apenas do ponto 7, coletada na baía do Castelo (Pantanal, MS), entre set./98 a set./99	73

24	Variação sazonal (A) da concentração de clorofila- <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) no ponto 7, em contraste com a do nível do rio Paraguai (Ladário, MS) e com a dos valores médios da razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$; e (B) das composições isotópicas $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em $\text{MOP}_{\text{Total}}$ do ponto 7; observar que as amostras consideradas <i>alga</i> ($\text{C:Clor} < 100$) estão identificadas pelo símbolo escuro, para ambos os isótopos.....	74
25	Composição isotópica média de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes primárias ($\text{MOPa} = \text{alga}$, $\text{MOPad} = \text{detrito}$, plantas C_3 e C_4 , algas filamentosas (clorofíceas – Chlo. e cianobactérias – Cya.) e de todos os consumidores analisados (ver identificação na Tabela 1). Notar triângulo teórico formado pelas composições isotópicas das fontes primárias consideradas (C_3 , C_4 e MOPa), corrigidas para um nível trófico ($+1,0\text{‰} = \delta^{13}\text{C}$ e $+3,4\text{‰} = \delta^{15}\text{N}$), segundo Phillips (2001). Barras de erro, para as fontes primárias são ± 1 erro padrão da média. Os Chironomidea bentônicos (no.12) são mostrados à direita em destaque.....	76
26	Composição isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos produtores primários vasculares C_3 (quadrado vazio) e C_4 (triângulo vazio) e das algas epifíticas e sestônicas (círculo preto) classificadas como <i>alga</i> (MOPa) pela razão $\text{C:Clor} < 100$, amostrados na baía do Castelo (Pantanal – MS), entre dez./97 a set./99.....	77
27	Variação sazonal da composição isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ de <i>alga</i> no ponto 7 em relação aos níveis de CO_2L dos pontos 1(A) e 5 (B) e das concentrações correspondentes de clorofila- <i>a</i> também comparadas aos valores de CO_2L dos pontos 1 (C) e 5 (D), amostrados entre set./98 e set./99 na baía do Castelo (Pantanal – MS).	79
28	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (círculo claro) e $\delta^{15}\text{N}$ (escuro), em ‰, dos consumidores invertebrados filtradores (a, b), coletores (c) e predadores (d, e, f), coletados na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre set./98 a dez./99.....	82
29	Variação sazonal dos grupos zooplanctônicos observada entre out./98 e out./99, na baía do Castelo (Pantanal – MS), sendo: (A) variação dos copépodos, indicando a presença de rotíferos, em função do nível do rio Paraguai; (B) dos filtradores (calanóides e cladóceros) em comparação com os valores de clorofila- <i>a</i> ; (C) dos ciclopóides (predadores) em relação aos cladóceros (onívoros filtradores) e também clorofila- <i>a</i>	83

30	Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e $\delta^{15}\text{N}$ (B) do zooplâncton (quadrado) e das possíveis fontes planctônicas: alga (triângulo) do ponto 7 e COP (círculo) do ponto 5, coletados na baía do Castelo (Pantanal - MS), durante o período de set./98 a out./99.....	85
31	Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de (A) zooplâncton e organismos bentônicos; (B) filtradores (sestônicos e epifíticos) e organismos bentônicos amostrados entre set./98 e set./99; (C) incluindo os peixes detritívoros, amostrados entre julho/98 a set./98., na baía do Castelo (Pantanal - MS). As respectivas regressões e os dados estatísticos são mostrados no gráfico.....	87

LISTA DE TABELAS

Página

1	Valores máximos, mínimos e médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (‰) dos organismos amostrados na baía do Castelo (Pantanal, MS) identificados por números, respectivos habitats (EPI= epífiton; PL= plâncton; BE= bentos) e grupos funcionais (COL RE= coletor por reunião; COL FI= coletor Filtrador; PR= predador; RA= raspador); período total de coletas entre dez./97 a dez./99.....	68
---	--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

$\delta^{13}\text{C}$ - Composição isotópica de carbono

$\delta^{15}\text{N}$ - Composição isotópica de nitrogênio

ALC - alcalinidade

CID - Carbono Inorgânico Dissolvido

COD - Carbono Orgânico Dissolvido

CO_2L - gás carbônico livre

COND - condutividade

COP - Carbono Orgânico Particulado

IVC - Índice de Valor de Cobertura

MO - Matéria Orgânica

MOD - Matéria Orgânica Dissolvida

MOP - Matéria Orgânica Particulada

MOP_{Total} - Matéria Orgânica Particulada Total

MOPa - Matéria Orgânica Particulada algácea = *alga*

MOPad - Matéria Orgânica Particulada algácea + detrital =
detrito

MOS - Matéria Orgânica do Sedimento

NID - Nitrogênio Inorgânico Dissolvido

OD - oxigênio dissolvido

PDB - *Belemnitella americana*, Formação PeeDee, Cretáceo, Carolina do Sul,
EUA (padrão internacional para análise de $\delta^{13}\text{C}$)

ΣCID - Somatório das formas de Carbono Inorgânico Dissolvido

ΣNID - Somatório das formas de Nitrogênio Inorgânico Dissolvido

**INFLUÊNCIA DO PULSO DE INUNDAÇÃO NA COMPOSIÇÃO
ISOTÓPICA ($\delta^{13}\text{C}$ E $\delta^{15}\text{N}$) DAS FONTES PRIMÁRIAS DE ENERGIA NA
PLANÍCIE DE INUNDAÇÃO DO RIO PARAGUAI (PANTANAL – MS)**

Autora: DÉBORA FERNANDES CALHEIROS

Orientador: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO MARTINELLI

Co-Orientador: Prof. Dr. MARCELO ZACHARIAS MOREIRA

RESUMO

A cadeia trófica do Pantanal foi investigada durante um ciclo hidrológico completo (1998-99) por meio da utilização do método de isótopos estáveis múltiplos ($\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$), com o objetivo de identificar as fontes primárias de carbono que regem o fluxo de energia do sistema. Os produtores e consumidores primários foram amostrados em um lago marginal (baía do Castelo), representativo da planície de inundação do rio Paraguai, sendo: algas (sestônicas e epifíticas), plantas vasculares (emergentes, submersas e terrestres), invertebrados (epifíticos, planctônicos e bentônicos) e peixes detritívoros adultos. A maioria das plantas vasculares pertenceu ao grupo fisiológico de plantas C_3 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{médio}} = -29,5\text{‰}$), com espécies C_4 ($\delta^{13}\text{C}_{\text{médio}} = -12,3\text{‰}$) em menor abundância. Algas e detritos presentes nas amostras de epifíton e seston foram separados para análise isotópica por gradiente de densidade por centrifugação em solução de sílica coloidal. Os valores da razão C:Clor <100 de cada fração (leve e pesada) e de cada compartimento (epifítico e sestônico), indicaram as amostras relativamente puras em algas (MOPa = *alga*), cuja composição isotópica variou entre -34,5 e -26,9‰ (média $\pm$ dp = $-29,3 \pm 1,7\text{‰}$) para $\delta^{13}\text{C}$ e entre -2,1 e 6,0‰ (média = $2,1 \pm 2,0\text{‰}$) para $\delta^{15}\text{N}$. Não houve diferença significativa entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* e plantas C_3 .

O sinal de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* apresentou-se mais enriquecido ($\Delta^{13}\text{C}$ = apenas -8,3‰) do que o de outras áreas de inundação tropicais da América do Sul, o que poderia ser resultado de uma limitação da disponibilidade do CO_2 ou assimilação de ambas as fontes de CID (CO_2 e/ou HCO_3^-). Valores baixos e negativos de $\delta^{15}\text{N}$ indicaram fixação de N_2 por Cyanobacteria e os valores mais altos se devem, provavelmente, a fontes mais enriquecidas, como NH_4^+ . Um claro padrão sazonal, relacionado ao ciclo hidrológico e às variações na disponibilidade de fontes inorgânicas, foi observado para *alga* (para ambos os isótopos), mostrando valores mais empobrecidos durante o período de enchente-cheia e o oposto na fase de vazante-seca, e que se refletiu na variação dos sinais de zooplâncton e de outros consumidores primários e secundários. Surpreendentemente, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos consumidores primários foram muito mais empobrecidos do que os valores de *alga*, variando de -43 a -20‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e de -2 a 12‰ para $\delta^{15}\text{N}$. Estes resultados somente poderiam ser possíveis se uma fonte de carbono mais negativa, possivelmente bactérias metanotróficas, estivessem envolvidas, o que é reforçado pelos valores observados para os chironomídeos bentônicos ($\delta^{13}\text{C}$ = de -62 a -49‰; $\delta^{15}\text{N}$ = -5,3 a -0,8‰). Assim, o balanço de evidências sugere uma combinação de ambas as fontes autotróficas (foto e quimioautotróficas) sustentando as cadeias alimentares do Pantanal do rio Paraguai, com o ramo metanotrófico da alça microbiana sendo provavelmente um elo de ligação alternativo entre CH_4 e o ciclo do carbono orgânico, diretamente para os níveis metazoários superiores.

**SEASONAL PATTERN DETERMINING PRIMARY ENERGY SOURCES $\delta^{13}\text{C}$
AND $\delta^{15}\text{N}$ IN THE PARAGUAY RIVER FLOODPLAIN TROPHIC WEB,
PANTANAL WETLAND - BRAZIL**

Author: DÉBORA FERNANDES CALHEIROS

Adviser: Prof. Dr. LUIZ ANTONIO MARTINELLI

Co-Adviser: Prof. Dr. MARCELO ZACHARIAS MOREIRA

SUMMARY

The food web of the Pantanal wetland in Brazil was investigated during a complete hydrologic cycle (1998-99) using a multiple stable isotope approach ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) with the goal of identifying the primary carbon sources, which drive the system energy flux. The sampling was done in a representative marginal lake (Baía do Castelo) of Paraguay River floodplain and the sampled primary producers and consumers were algae (sestonic and epiphytic), vascular plants (emergent, submersed and terrestrial), invertebrates (epiphytic, planktonic and benthic), and mature detritivorous fish. The majority of vascular plants belonged to the physiological group of C_3 plants ($\delta^{13}\text{C}_{\text{mean}} = -29.5\text{‰}$), besides C_4 species ($\delta^{13}\text{C}_{\text{mean}} = -12.3\text{‰}$) with lower abundance. Algae and detritus from epiphyton and seston samples were separated for isotopic analysis by density gradient centrifugation in a colloidal silica solution. C:Chlor <100 ratio values (from both epiphytic and sestonic samples, light and heavy fractions), indicated relatively pure algae (POMa = *algae*) with signatures of -34.5 to -26.9‰ (mean $\pm$ SD = $-29.3 \pm 1.7\text{‰}$) for $\delta^{13}\text{C}$ and -2.1 to 6.0‰ (mean = $2.1 \pm 2.0\text{‰}$) for $\delta^{15}\text{N}$. There was no significant difference between $\delta^{13}\text{C}$ from *algae* and C_3 plants. The $\delta^{13}\text{C}$ of *algae* was more enriched ($\Delta^{13}\text{C} =$ only -8.3‰) than other tropical South American floodplains and could be a result from

limiting of CO₂ availability or uptaking both DIC sources (CO₂ and/or HCO₃⁻). Low and negative values of $\delta^{15}\text{N}$ denoted N₂-fixing by Cyanobacteria and higher values were probably related to more enriched DIN sources, as NH₄⁺. Clear seasonal pattern, related to the hydrologic cycle and variations of inorganic sources availability, was observed for *algae* (for both isotopes), showing more depleted values during rising-flood period and the opposite in the falling-dry, that reflected in the mixing zooplankton signals as well in the other primary and secondary consumers. Surprisingly the $\delta^{13}\text{C}$ values of the primary consumers were much more depleted than the values of the *algae*, ranging from -43 to -20‰ for $\delta^{13}\text{C}$ and from -2 to 12‰ for $\delta^{15}\text{N}$. These results would only be possible if a more depleted source of carbon, possibly methanotrophic bacteria, were also involved, which is strengthened by the values of benthic chironomidae ($\delta^{13}\text{C}$ range= -62.4 to -49.4‰; $\delta^{15}\text{N}$ = -5.3 to -0.8‰). Thus the balance of evidence suggests a combination of both autotrophic sources (photo and chemoautotrophic) in sustaining the food webs of Pantanal wetland (mainly Pantanal of Paraguay river), with the methanotrophic branch of microbial loop being probably an alternative link between CH₄ and organic carbon cycle directly through metazoan levels.

1. INTRODUÇÃO

A pesca é uma das principais atividades econômicas do Pantanal. É baseada na exploração dos grandes estoques das espécies de valor comercial, mantidos fundamentalmente devido à alta qualidade e à alta produtividade do sistema, resultante da integridade dos processos hidrológicos (pulsos de inundação) e ecológicos.

As comunidades ribeirinhas tradicionais, assim como os pescadores profissionais e o setor de pesca turística, dependem essencialmente dos recursos pesqueiros (Calheiros et al., 2000; Catella, 2001), que, por sua vez, dependem da qualidade ambiental do sistema rio-planície. Em todo o Pantanal, o desembarque pesqueiro profissional foi estimado em torno de 7.000 t, numa média entre os anos de 1979 a 1989. Uma vez que o uso de redes e tarrafas é proibido no Estado de Mato Grosso do Sul (desde 1983) e em Mato Grosso (desde 1995), a pesca esportiva tendeu a suplantá-la e as estimativas mais altas de captura total da região giram em torno de 5.000 t (Catella, 2001). Em Mato Grosso do Sul, onde há estatísticas mais precisas, a pesca esportiva representou 80% de todo pescado capturado em 1998, cerca de 1.540 t (Catella et al., 2001).

A deficiência de informações sobre biologia e estrutura da comunidade de peixes e sobre o papel ecológico que tais recursos podem desempenhar na ciclagem de energia e nutrientes, impossibilita a elaboração de um plano de manejo mais eficaz dos recursos pesqueiros do Pantanal (EMBRAPA, 1993). Desta forma, estudos que venham suprir esta lacuna sobre fluxos de energia na

teia alimentar aquática que sustentam esses recursos são de extrema importância (EMBRAPA, 2000).

Por outro lado, a conservação de um ecossistema só pode ocorrer se houver um bom nível de informação sobre a sua estrutura e funcionamento, bem como sobre suas inter-relações com a biota. Assim, estudos que aumentem a compreensão de como se processam as interações ecológicas entre meio abiótico (fluxos de matéria e energia) e biótico (relações tróficas) são extremamente necessários.

Porém, o papel da planície de inundação na regulação das características hidrológicas, ecológicas e biogeoquímicas desse sistema tem estado cada vez mais sujeito a alterações graças a ações antrópicas, principalmente as relacionadas a ações de regulação do regime hidrológico (barragens, dragagens, retificação de curvas) que têm aumentado significativamente nos últimos anos.

Além disso, nas últimas três décadas toda a bacia do Alto Paraguai (BAP), onde se insere o Pantanal, tem sofrido pressões de desenvolvimento econômico nos padrões tradicionais cada vez maiores, acarretando perdas ambientais muitas vezes irreversíveis. São exemplos dessas intervenções antrópicas os processos de assoreamento relacionados ao mau uso dos recursos solo-água, principalmente no planalto circundante, devido: à expansão da área agrícola (monoculturas de soja e milho em conjunto com pastagens degradadas), à mineração (ouro e diamante), ao aumento dos desmatamentos e queimadas inclusive nas áreas de planície, contaminação por metais pesados (mercúrio, referente à mineração de ouro), pesticidas (principalmente herbicidas) e efluentes urbanos. O exemplo mais grave é o processo de assoreamento do rio Taquari (MS), com perdas expressivas na produção pesqueira (Catella, 2001) e na navegabilidade.

O rio Paraguai, uma das melhores vias navegáveis em seu estado natural, sofreu aumento expressivo da navegação por volta de 1995, após o processo de privatização do setor. Além do significativo aumento no tráfego, passou a ser realizada, muitas vezes, de forma irresponsável, por meio de embarcações

desproporcionais à largura do rio, principalmente em seu trecho norte. Estas ações provocam choques e desmoronamentos dos diques marginais e da mata ciliar, acarretando impactos nas características geomorfológicas de um dos trechos considerados chave na regulação hidrodinâmica do sistema (WWF, 2001) e que margeia duas áreas de conservação: Estação Ecológica de Taiaçu e o Parque Nacional do Pantanal Mato-grossense, o qual é também um sítio Ramsar.

Todos esses impactos antrópicos têm ainda grande potencial de agravamento com a adoção de opções de desenvolvimento simplificadas e tradicionais numa área considerada Patrimônio Nacional pela Constituição Brasileira de 1988, Patrimônio da Humanidade e Reserva da Biosfera pela UNESCO em 2000, e que, portanto, mereceria um olhar diferenciado e mais cuidadoso. São exemplos: o Projeto da Hidrovia, com grandes impactos potenciais nos pulsos de inundação (intensidade e duração) com previsão de aumento das vazões e diminuição da área inundada em grande parte do sistema (Hamilton, 1999), com os conseqüentes impactos na produção pesqueira (Catella, 2001); implantação de um Pólo Siderúrgico e Petroquímico em Corumbá (MS), subsidiado por termelétrica movida a gás natural boliviano (Gasoduto Brasil-Bolívia) e pelas reservas de minério de ferro e manganês, além de projetos de implantação do mesmo tipo de indústria pesada em Puerto Quijarro, no lado boliviano da fronteira.

Na parte norte do Pantanal, além da degradação das áreas de nascentes, incluindo a do rio Paraguai, causada pela mineração de diamante e da ameaça do aumento da produção de soja nas áreas de planalto, impactos na hidrodinâmica já são observados no rio Cuiabá, devido ao barramento gerado pela Usina Hidroelétrica de Manso, cujos efeitos negativos já se manifestaram na diminuição observada do desembarque pesqueiro em Cuiabá (Catella, 2001).

A maioria dessas ações tem acontecido na área do planalto circundante, mas com fortes influências na planície. A somatória de tais ações, em termos

temporais e espaciais, gera alterações no funcionamento hidrodinâmico de rios e lagoas marginais e na qualidade da água com reflexos, a médio e longo prazos, na natureza e abundância relativa das fontes de carbono. Afeta, portanto, diretamente as relações tróficas e, em particular, a oferta de itens alimentares para os peixes, influenciando, conseqüentemente, a biodiversidade, a produção pesqueira e a saúde ambiental como um todo.

O conhecimento sobre a incorporação de carbono e nitrogênio na cadeia trófica aquática das áreas inundáveis do Pantanal, com ênfase na comunidade de peixes detritívoros, contribui para a compreensão de como se processa o fluxo de energia neste sistema, aumentando o conhecimento sobre sua ecologia, além de embasar formas para o seu manejo e conservação e, por conseguinte, para a conservação de seus recursos pesqueiros. Uma vez identificadas as rotas, a importância das fontes de energia para a comunidade de peixes será conhecida e a necessidade da manutenção da integridade do sistema e das relações tróficas, demonstrada.

1.1 Objetivo

Investigar como se processa o fluxo de energia na planície de inundação do Pantanal do rio Paraguai, identificando as principais fontes de carbono primárias para alguns consumidores da cadeia trófica aquática, particularmente para peixes detritívoros, com o intuito de contribuir para um manejo racional dos recursos hídricos e pesqueiros da região.

1.2 Hipótese Científica

As microalgas do epifíton e do fitoplâncton são as principais fontes de carbono autotrófico para as cadeias alimentares que sustentam os peixes e outros organismos na planície de inundação do rio Paraguai. Embora as plantas vasculares sejam componentes dominantes, elas têm menor importância como base de cadeia e no fluxo de carbono.

2. REVISÃO DE LITERATURA

As áreas úmidas das regiões tropicais são ecossistemas de importância regional e global quanto aos ciclos biogeoquímicos e hidrológico. A planície de inundação de grandes rios sustenta a maior parte da diversidade biológica e da produção nestes ecossistemas (Jepsen & Winemiller, 2002; Junk et al., 1989; Power et al., 1995; Sparks, 1995) e para entender melhor as interações ecológicas entre o sistema e a biota é necessário avaliar os processos de troca de energia e a estrutura da cadeia trófica dessas comunidades aquáticas. Essas interações tróficas são altamente complexas e podem ainda ser influenciadas pela sazonalidade hidrológica e pela produtividade do sistema (Jepsen & Winemiller, 2002; Lowe-McConnell, 1987).

O ciclo anual de cheia e seca é o fenômeno ecológico mais importante da planície de inundação de um rio, pois controla sua estrutura e funcionamento, desempenhando papel preponderante na ciclagem de nutrientes e disponibilidade de água, proporcionando um ambiente de alta produtividade primária e secundária. As áreas de inundação são consideradas *ecótonos*, ou seja, zonas de transição entre os sistemas aquático e terrestre, caracterizados por alta biodiversidade e produtividade, esta decorrente da manutenção de um estado inicial de sucessão (Bayley, 1989; Hamilton et al., 1996; Junk et al., 1989). Praticamente todas as espécies aquáticas e terrestres de uma área úmida, incluindo os seres humanos, dependem da duração, da magnitude e da recorrência das enchentes, respondendo com adaptações biológicas, ecológicas e comportamentais (Calheiros et al., 2000; Junk et al., 1989).

As variações do nível da água e do período de inundação provocam uma série de transformações nas características limnológicas dos corpos d'água, causadas por interações entre os ambientes terrestre e aquático. Promovem, por exemplo, o aumento ou diminuição da transparência da água, do potencial hidrogeniônico, da condutividade elétrica, da concentração de gases dissolvidos (oxigênio, gás carbônico e metano), de nutrientes (nitrogênio, carbono e fósforo), da matéria orgânica e do material em suspensão, dentre outros (Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1997; Oliveira & Calheiros, 2000). Influenciam, segundo Tundisi & Matsumura-Tundisi (1985) e Da Silva (1990), a ciclagem de nutrientes e a transferência de energia entre os elos da cadeia trófica, que são os fatores que mediam as interações entre os ambientes terrestre e aquático em áreas inundáveis.

Nesses sistemas, a produção primária de plantas emergentes e de algas epifíticas, nas submersas, é muitas vezes maior do que a proveniente das plantas terrestres ou do fitoplâncton pelágico. A influência dessa comunidade pertencente à zona de transição terra-água, como macrófitas e organismos associados (algas, bactérias, fungos e protozoários = perifíton, aqui denominados como epifíton), é muito importante para o metabolismo do sistema, pois controla os ciclos de nutrientes, sua disponibilidade e sua reciclagem (Wetzel, 1992).

Entretanto, há controvérsias sobre a importância trófica das plantas vasculares em planícies de inundação tropicais, em especial as macrófitas, de grande abundância e biomassa (Bayley, 1989; Goulding et al., 1988; Junk, 1984), bem como em ambientes temperados (France, 1995c). Segundo Bayley (1989), as plantas vasculares têm papel importante no fluxo de carbono em águas continentais tropicais. Porém, estudos de Araújo-Lima et al. (1986) e Hamilton et al. (1992) apresentaram fortes evidências de que as microalgas (fitoplâncton e epifíton), apesar da predominância das plantas vasculares, tanto vivas como na forma de detritos, são mais importantes como base de energia nessas cadeias tróficas. De acordo com estes autores, o carbono orgânico de

origem fitoplanctônica e epifítica é a fonte de energia predominante para muitos animais aquáticos, contrariando as interpretações tradicionais sobre o funcionamento dos sistemas de áreas inundáveis tropicais, com conseqüências no manejo de seus recursos pesqueiros.

Em áreas úmidas, há também uma forte natureza heterotrófica, freqüentemente regida pelos processos de decomposição e respiração (aeróbicos e anaeróbicos) favorecidos pela presença de áreas submersas (Hamilton et al., 1995), onde o consumo, na maioria das vezes, excede a produção ($P/R < 1$) (Finlay, 2001; Hamilton & Lewis, 1992; Thorp & Delong, 2002). Esses processos geram uma via alternativa para a oferta de matéria orgânica e o aporte dos nutrientes resultantes pode ser tão grande ou até maior do que a entrada via água de inundação (Junk, 1993).

As áreas inundáveis, além de grande produção, caracterizam-se também pelo acúmulo de matéria orgânica, devido ao caráter inerentemente sedimentar (Junk, 1984; Hamilton & Lewis, 1992). Rios com planícies aluviais, como o rio Paraguai, têm uma produção de matéria orgânica muito maior do que os consumidores podem assimilar. Este excesso, o detrito orgânico, sustentaria os grupos de peixes detritívoros que respondem por 60% da biomassa total (Prochilodontidae, Curimatidae e Loricariidae) do rio Paraná, em seus trechos médio e inferior (Cordiviola de Yuan, 1992; Neiff, 1990).

Segundo Bowen (1983), cerca de 50% da ictiomassa dos principais rios da América do Sul seriam espécies detritívoras/iliófagas, representantes das famílias Prochilodontidae e Curimatidae. Esses grupos exploram como recurso alimentar essa via alternativa, livre e direta, que é a grande massa de matéria orgânica decomposta (detrito) presente na zona litoral de rios e lagos e aquela formada na planície no período de inundação; utilizam também o epifíton, muito abundante nessas mesmas regiões. Catella & Petrere (1996) observaram que, em um lago perene do Pantanal do rio Aquidauana, cerca de 47% da biomassa total de peixes são formadas pelos Curimatidae e cerca de 13% pelos Loricariidae. A determinação das fontes de energia para este grupo pelos

métodos tradicionais, como a análise do conteúdo estomacal, torna-se difícil devido à grande quantidade de sedimento e detritos animais e vegetais (Almeida et al., 1993; Araújo-Lima et al., 1986; Gerking, 1994).

Ainda Bowen (1983), considerando a relação entre fluxo de energia e ciclagem de elementos em sistemas neotropicais, reconheceu que a ligação principal dar-se-ia por meio da participação de comunidades de peixes na cadeia alimentar detrital. Para Catella & Petrere (1996), a importância de incorporação do detrito diretamente para a dieta dos peixes é uma estratégia para encurtar as cadeias alimentares resultando em aumento de eficiência da comunidade, evidenciado pela alta biomassa de peixes detritívoros, muito importante em termos ecológicos.

Uma outra característica que diferencia os sistemas tropicais dos temperados é a elevada biomassa de detritívoros e piscívoros, associada à alta diversidade de suas espécies como também o elevado nível de onivoria. Os carnívoros, como nível trófico subsequente, têm sua energia proveniente dessa grande biomassa de detritívoros, como também dos herbívoros e onívoros. (Agostinho et al., 1997; Catella & Petrere, 1996, Jepsen & Winemiller, 2002; Lowe-McConnell, 1987; Winemiller & Jepsen, 1998).

Uma outra característica que diferencia os sistemas aquáticos tropicais, e seus sistemas terrestres associados, é a ampla e variada oferta de itens alimentares. Em decorrência desta gama variada de dietas potenciais, estudos que identifiquem as fontes de energia que realmente contribuem para a produção secundária são muito importantes. Segundo Araújo-Lima et al. (1986), para realizar um manejo efetivo das populações de peixes, é necessário compreender os fatores que controlam sua produção, ou seja, a disponibilidade de energia.

A metodologia de isótopos estáveis tem sido amplamente empregada em estudos de cadeia trófica e baseia-se na comparação da razão isotópica de carbono ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$) e nitrogênio ($^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$) do material em estudo com a das suas possíveis fontes alimentares. É utilizada para determinar as fontes de carbono

(energia) assimiladas, não apenas ingeridas, e para identificar as complexas interações (elos) relacionadas ao fluxo de energia nos ecossistemas, por meio da razão dos isótopos de carbono - $\delta^{13}\text{C}$ (Araújo-Lima et al., 1986; Cole et al., 2002; DeNiro & Epstein, 1978; Finlay, 2001; Forsberg et al., 1993; Fry & Sherr, 1984; Hamilton et al., 1992; Michener & Schell, 1994; Peterson & Fry, 1987; Post, 2002; O'Reilly et al., 2002), bem como a estrutura trófica da rede alimentar por meio do posicionamento ou nível trófico dos consumidores, utilizando a razão isotópica de nitrogênio - $\delta^{15}\text{N}$ (Adams & Sterner, 2000; DeNiro & Epstein, 1981; Fry et al., 1999; Minagawa & Wada, 1984; Vander Zanden & Rasmussen, 1999).

Isótopos estáveis oferecem ainda a vantagem de integrar dietas em relação ao tempo, em contraste com a análise de conteúdo estomacal ou a observação direta da alimentação, refletindo dietas de longo e curto prazos, respectivamente em tecidos de conversão (“turnover”) lenta e rápida (Fry & Sherr, 1984; Gerking, 1994; Grey et al., 2001; Michener & Schell, 1994; Peterson & Fry, 1987; Rau et al., 1983). As variações naturais dos isótopos estáveis também têm sido largamente utilizadas na determinação das fontes de energia que sustentam a produção pesqueira visando o uso racional dos estoques (Dufour & Gerdeaux, 2001; Fry, 1983; Keough et al., 1996; Kline et al., 1998; Winemiller & Jepsen, 1998) e como indicadoras de processos ecológicos (químicos ou biológicos), como a ciclagem de elementos (Albuquerque & Mozeto, 1997; Lajtha & Michener, 1994; Peterson & Fry, 1987).

Em áreas de inundação tropicais da América do Sul, foram realizados estudos isotópicos em cadeias alimentares principalmente no rio Amazonas (Adis & Victória, 2001; Araújo-Lima et al., 1986; Benedito-Cecílio & Araújo-Lima, 2002; Benedito-Cecílio et al., 2000; Forsberg et al., 1993; Leite et al., 2002; Padovani, 1994; Waickman, 1996; Yossa et al., 1998), na bacia do rio Paraná (Vaz et al., 1999) e no rio Orinoco, na Venezuela (Hamilton et al., 1992; Hamilton & Lewis, 1992; Lewis et al., 2001). No Pantanal, a única pesquisa empregando isótopos estáveis em estudos de cadeia trófica foi realizada por

Wantzen et al. (2002) em outra sub-região do Pantanal ao norte (sub-região Cuiabá, de acordo com Hamilton et al., 1996); há ainda o trabalho com enfoque paleolimnológico de Bezerra (1999) em sedimentos. Estudos ecológicos utilizando o método de isótopos estáveis nesta vasta área úmida são, portanto, extremamente necessários para aumentar a compreensão de como as cadeias tróficas são sustentadas.

Em estudos ecológicos e de dieta, o método isotópico é baseado no princípio de que há uma cinética de fracionamento isotópico em processos bioquímicos, na qual o substrato é enriquecido e o produto é empobrecido em isótopos pesados quando o substrato é infinito, desde que os isótopos leves são preferencialmente assimilados e excretados pelos organismos (Goericke et al., 1994; Yoshinari & Koike, 1994).

Entretanto, há alguns fatores limitantes na utilização da relação isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ como traçadora do carbono ao longo da cadeia alimentar, por exemplo: a alteração da composição isotópica do material vegetal decomposto, embora de baixo valor ($< 2\text{‰}$); a alta variabilidade sazonal comparada com a necessidade de acurácia na determinação do valor de $\delta^{13}\text{C}$ das fontes primárias para aplicação em modelos de mistura; a ocorrência de sobreposição de valores isotópicos entre as fontes criando dificuldades de interpretação; a possibilidade de existência de mais de três fontes primárias de carbono envolvidas; a variabilidade individual e inter-específica para os valores isotópicos em relação à dieta (fracionamento assimilativo), embora também considerada de baixa influência (entre 0,7 e 2‰); a variação do sinal isotópico entre os diferentes tecidos do consumidor além de diferentes taxas de conversão de cada tecido (fracionamento metabólico), por exemplo o tecido gorduroso é mais negativo e a taxa de conversão é mais rápida (DeNiro & Epstein, 1978; Fry & Sherr, 1984; Michener & Schell, 1994; Phillips, 2001; Post, 2002; Vander Zanden & Rasmussen, 2001).

O uso de outros traçadores isotópicos, abordagem denominada “múltiplos traçadores”, como as razões isotópicas entre $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$; $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ e $^2\text{H}/^1\text{H}$, é

recomendado para auxiliar na interpretação, acrescentando outras informações (Fry & Sherr, 1984; Michener & Schell, 1994).

No presente trabalho, fez-se uso também das razões isotópicas de nitrogênio. Porém, seu emprego no estudo de cadeias tróficas igualmente apresenta fatores limitantes ao método, muitas vezes similares aos encontrados para o carbono: variabilidade individual e inter-específica para os valores isotópicos em relação à dieta (fracionamento assimilativo); alta variabilidade sazonal; variação do sinal isotópico entre os diferentes tecidos, bem como componentes bioquímicos como aminoácidos e lipídeos e catabólitos como fezes e urina, devido a excreção preferencial de nitrogênio ^{15}N -empobrecido; além de diferentes taxas de conversão de cada tecido, provavelmente devido ao fracionamento isotópico metabólico durante o processo de desaminação e transaminação de aminoácidos (Michener & Schell, 1994; Minagawa & Wada, 1984; Vander Zanden & Rasmussen, 2001).

Além disso, para ambos os isótopos devem-se levar em conta também outros fatores, como as possíveis variações relacionadas ao estresse nutricional; fase de reprodução; comportamento migratório (espécies migratórias podem ter sinal diferente das fontes existentes no local onde foram coletadas), bem como o estágio de desenvolvimento do organismo (Benedicto-Cecílio & Araújo-Lima, 2002; Michener & Schell, 1994; Vander Zanden & Rasmussen, 2001).

2.1 Carbono

A utilização das variações naturais dos isótopos estáveis de carbono como traçadoras da origem e do destino (fluxo) da matéria orgânica e indicadoras de processos ecológicos (químicos ou biológicos), como ciclagem de elementos e estrutura trófica, tem se mostrado uma ferramenta versátil em estudos ecológicos (Lajtha & Michener, 1994; Peterson & Fry, 1987). As variações naturais dos isótopos estáveis de carbono têm sido usadas para estudos em

ambientes de água doce, por exemplo, em amostras de sedimento para detectar diferenças entre o material orgânico de origem terrestre e aquática (Albuquerque & Mozeto, 1997; Victória et al., 1992) e entre as fontes e os consumidores da região litoral e pelágica (France, 1995a; Post, 2002).

No estudo de dietas ou cadeias alimentares, a composição de isótopos estáveis do carbono do tecido muscular dos peixes é comparada com a composição isotópica de suas possíveis fontes de alimento, admitindo que o sinal isotópico de carbono dos animais reflete o de sua dieta. Em geral, ocorre um pequeno enriquecimento de carbono dos animais em relação à dieta, sendo na maioria dos casos da ordem de 1‰, por absorção e liberação preferencial de um ou outro isótopo, e com tendência a aumentos cumulativos em ^{13}C com aumento do nível trófico (DeNiro & Epstein, 1978; Fry & Sherr, 1984; Peterson & Fry, 1987; Post, 2002; Vander Zanden & Rasmussen, 2001).

Esta transferência conservativa do carbono é, portanto, uma característica útil para traçar cadeias alimentares em sistemas onde há fontes com diferenças significativas nos valores isotópicos (DeNiro & Epstein, 1978). Estes autores observaram uma variação nos valores do chamado fracionamento trófico ($\Delta = \delta^{13}\text{C}_{\text{animal}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{dieta}}$) entre -0,6 e 2,7‰; Vander Zanden & Rasmussen (2001) obtiveram valores de fracionamento trófico entre -0,56 e 0,70‰ ($\Delta_{\text{médio}} = 0,05 \pm 0,63\%$) para amostras de trutas obtidas em diferentes lagos. Entretanto, estes mesmos autores observaram que os valores obtidos em experimentos de laboratório foram bem mais variáveis (entre -2,1 a 2,8‰, $\Delta_{\text{médio}} = 0,47 \pm 1,23\%$) e que organismos herbívoros apresentaram valores de fracionamento significativamente inferiores do que os não-herbívoros. Já Post (2002) observou uma variação bem maior, entre -3 e 4‰, com $\Delta_{\text{médio}}$ de $0,39 \pm 1,3\%$.

A composição isotópica dos produtores primários é determinada pela composição isotópica da sua fonte de carbono e também pela forma com que o CO_2 atmosférico é fixado. Assim, no caso das plantas terrestres, a composição isotópica da principal fonte que controla o ciclo de carbono na natureza, o CO_2 atmosférico, é praticamente constante (-7,8‰). Plantas C_3 (valor médio de

$\delta^{13}\text{C} = -27\text{‰}$) são mais empobrecidas em ^{13}C do que as plantas C_4 (valor médio de $\delta^{13}\text{C} = -12\text{‰}$) (Farquhar et al., 1989; Keeley & Sandquist, 1992; Lajtha & Marshall, 1994; Martinelli et al., 1991).

C_3 refere-se à via fotossintética (Calvin) de fixação do carbono, característica da maioria das plantas. Nelas a fixação se dá pela redução do CO_2 a fosfoglicerato, um composto de 3 átomos de carbono, via bifosfato ribulose carboxilase (Rubisco ou RuBP), no mesófilo foliar; neste processo o fracionamento assimilativo é por volta de 29‰. Esta enzima discrimina contra moléculas de $^{13}\text{CO}_2$, resultando nos valores relativamente baixos de $\delta^{13}\text{C}$ para plantas C_3 . A via fotossintética C_4 é a via do ácido dicarboxílico (Hatch-Slack), comum entre as gramíneas tropicais, onde operam dois sistemas de carboxilase: o primeiro na fixação do CO_2 ainda no mesófilo pela fosfoenolpiruvato carboxilase (FEP), reduzindo-o a malato ou aspartato, ambos compostos com 4 átomos de carbono, os quais são posteriormente transportados para as células da bainha e clivados em CO_2 e outros compostos; o CO_2 assim produzido é fixado pela RuBP. A enzima FEP não discrimina o ^{13}C (fracionamento por volta de -6‰) como a RuBP carboxilase, então as plantas C_4 têm relativamente $\delta^{13}\text{C}$ mais positivos. Assim, plantas C_3 e C_4 apresentam valores de $\delta^{13}\text{C}$ suficientemente distintos de forma a não sofrer sobreposição o que favorece a utilização do método de isótopos estáveis para distinguí-las como fontes diferenciadas (Boutton, 1991; Farquhar et al., 1989; Keeley & Sandquist, 1992; Lajtha & Marshall, 1994; O'Leary 1988).

Há ainda plantas que apresentam o sistema CAM (sigla em inglês para "Metabolismo do Ácido Crassuláceo"), representadas pelas cactáceas e euforbiáceas, que minimizam as perdas de água fixando o CO_2 à noite por meio da enzima FEP carboxilase formando oxaloacetato que é posteriormente reduzido e estocado como malato. Ao amanhecer, elas fecham seus estômatos e descarboxilam o malato, refixando o CO_2 liberado via enzima Rubisco. O malato armazenado à noite mostra a mesma discriminação das plantas C_4 , resultando em $\delta^{13}\text{C}$ similares. Contudo, sob certas condições ambientais ou de

acordo com a fase de desenvolvimento, algumas espécies são capazes de mudar para o modo fotossintético C_3 , fixando o CO_2 durante o dia por meio da enzima RuBP. As plantas CAM apresentam uma faixa de variação entre -28 e -10‰ para o sinal isotópico de carbono (Boutton, 1991; Farquhar et al., 1989).

A composição isotópica dos grupos de plantas vasculares terrestres mostra variações geográficas e sazonais, devido às diferentes vias bioquímicas do processo de fotossíntese e às condições ambientais (Farquhar et al., 1989; Martinelli et al., 1991). Entretanto, os fatores principais que contribuem para o fracionamento total, que diferencia a composição isotópica da planta de sua fonte de carbono inorgânico, seriam a diferença entre a difusividade do CO_2 contendo ^{12}C e ^{13}C através do estômato (com fracionamento de cerca de 4‰) e os respectivos fracionamentos assimilativos (Farquhar et al., 1989; Lajtha & Marshall, 1994).

Por outro lado, as plantas aquáticas mostram maior variabilidade em seu conteúdo isotópico. Em ambientes aquáticos, o sinal isotópico da fonte inorgânica de carbono ou ΣCID (carbono inorgânico dissolvido) pode variar substancialmente e depende de quanto o CO_2 atmosférico está em equilíbrio com a massa d'água; das taxas de fotossíntese e respiração sazonais; da entrada de CO_2 proveniente da decomposição de detritos terrestres ou alóctones (empobrecidos ou enriquecidos em ^{13}C) presentes no sistema, e da contribuição da dissolução de rochas calcárias ^{13}C -enriquecidas (Boutton, 1991; Finlay, 2001; Hecky & Hesslein, 1995; Keeley & Sandquist, 1992; Martinelli et al., 1991). Portanto, a composição isotópica e a concentração do CO_2 dissolvido, ambas com maior variabilidade no ambiente aquático, vão determinar a composição isotópica também variável dos produtores primários (Fry & Sherr, 1984; Keeley & Sandquist 1992; Martinelli et al., 1991; O'Leary, 1988).

Segundo Boutton (1991), em um trabalho de revisão, com exceção de poucas espécies de plantas aquáticas submersas que apresentam o sistema CAM de fixação de carbono, os organismos fotossintéticos de água doce

parecem apresentar a via C_3 . As macrófitas têm valores extremamente variáveis de $\delta^{13}C$, entre -50 a -10‰, entretanto a maioria varia na faixa de -30 a -12‰. Os organismos planctônicos apresentam geralmente valores reduzidos em ^{13}C e variam de -30 a -25‰ em rios e entre -42 a -26‰ em lagos, refletindo os valores mais negativos de ΣCID . Os sedimentos de lagos refletem a variabilidade isotópica dos produtores primários, variando de -35 a -15‰ e nos rios de -30 a -26‰. A ΣCID varia entre -10 e -5‰ em rios e entre -15 e -6‰ em lagos; os valores mais negativos relacionam-se à maior contribuição de CO_2 ^{13}C -empobrecido derivado da decomposição da matéria orgânica terrestre.

Além do sinal isotópico do ΣCID , as razões para essa variabilidade não são bem compreendidas, mas estão provavelmente relacionadas a uma série de fatores que atuam em conjunto, como: a fonte preferencial de carbono (CO_2 ou HCO_3^- , este sendo mais enriquecido de -11 a -7‰) assimilada pela planta; a taxa de difusão do CO_2 , mais lenta na água do que no ar; a ocorrência de mecanismos de transporte ativo pela membrana celular e/ou de concentração das fontes de carbono; a ocorrência de camadas limitantes de pouco fluxo na superfície das células ou folhas (formando uma zona diferenciada em termos de concentração de carbono e de seu sinal isotópico com o restante da coluna d'água), ou ainda agravadas em ambientes com pouco fluxo de água. Todos estes fatores, associados ainda aos espécie-específicos, causam diferentes fracionamentos durante a assimilação e o metabolismo dos nutrientes (fotossíntese) e também durante os processos catabólicos (respiração e excreção) resultando no sinal isotópico final do produtor primário. Nos casos onde há limitações na fonte de carbono (camadas limitantes e baixo fluxo), por exemplo, a discriminação isotópica é reduzida (Boutton, 1991; Farquhar et al., 1989; Finlay, 2001; Goericke et al., 1994; Keeley & Sandquist, 1992; O'Leary 1988).

De acordo com Keeley & Sandquist (1992), todas as vias fotossintéticas estão presentes em ambientes de água doce (C_3 , C_4 e CAM) e mesmo levando-se em conta a fonte de carbono, não é possível distinguir estes grupos por meio

das razões isotópicas. Plantas aquáticas C_3 são menos negativas que as terrestres C_3 e podem cair dentro da faixa de variação para espécies C_4 . Segundo, O'Leary (1988), isso dar-se-ia principalmente devido à difusão do CO_2 no meio aquático, que é freqüentemente um fator limitante.

As algas fixam CO_2 por meio da RuBP carboxilase, podendo apresentar, portanto, valores de fracionamento isotópico (20‰ ou mais) e de $\delta^{13}C$ semelhantes aos das plantas terrestres C_3 , principalmente quando o carbono está prontamente disponível e o ambiente apresenta-se bem misturado, como em corpos d'água com grande fluxo; já em condições de CO_2 limitante o fracionamento será menor, podendo aproximar-se de 0‰ (O'Leary, 1988). Goericke et al. (1994) cita fracionamentos isotópicos relativos à fixação do carbono, sendo que as bactérias fotossintéticas apresentam valores por volta de 19 a 23‰, com diferenças da ordem de 10‰ em relação às plantas terrestres, e de 21,5‰ para as cianobactérias e sugere, ainda, que valores entre 20 a 30‰ seriam apropriados para o fracionamento em algas verdes.

Contudo, anda segundo Goericke et al. (op. cit.), além da Rubisco duas outras enzimas também podem estar envolvidas no processo de carboxilação em microalgas: FEP-carboxilase (FEP) e FEP-carboxiquinase (FEPC), sendo que FEP usa HCO_3^- como fonte de carbono inorgânico e FEPC usa CO_2 como substrato. Em Cianobactérias e Clorofíceas apenas FEP está presente; tanto FEP como FEPC são encontradas em Dinofíceas, Crysofíceas e Cryptofíceas. Nas diatomáceas planctônicas ambas enzimas são encontradas, enquanto nas bentônicas apenas FEP. Como comentado anteriormente, FEP é a enzima responsável pela fixação inicial do carbono em plantas terrestres C_4 . Entretanto, para as microalgas marinhas, o consenso aponta para uma via bioquímica tipicamente C_3 , uma vez que o CO_2 seria inicialmente incorporado pela enzima Rubisco e o produto resultante apresenta 3 carbonos. Os compostos de três carbonos formados saíam do cloroplasto e seriam convertidos, por fim, em fosfoenolpiruvato (Figura 1).

Figura 1 – Esquema dos dois sítios bioquímicos importantes de carboxilação em algas, com fixação líquida do CO_2 apenas no Ciclo de Calvin (1) e o processo de β -carboxilação feito por meio da FEP-carboxilase (2) e da FEP-carboxiquinase (3); ver detalhes no texto. RuBP- ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase (Rubisco); FEP- fosfoenolpiruvato; Co A- Coenzima A; OAA – oxaloacetato. Baseado em Goericke et al. (1994).

A partir desta fase duas vias metabólicas poderiam ocorrer: uma em que o fosfoenolpiruvato, que é substrato para ambas as enzimas FEP e FEPC, é convertido em oxaloacetato (OAA), com a participação de CO_2 , ou outra via em que ele é descarboxilado para produzir Acetil-coenzima A. Posteriormente, OAA seria incorporado em um ciclo metabólico onde carbono-estrutural é formado para participar em sínteses bioquímicas de aminoácidos, entre outras. Para cada carboxilação, descarboxilações ocorreriam resultando em uma fixação líquida nula. Em muitas algas, neste processo de descarboxilação as moléculas de CO_2 produzidas sofreriam um processo de troca semelhante ao que ocorre em plantas C_4 . As vias catabólicas respiratórias envolvidas parecem, no entanto, não afetar expressivamente a composição isotópica das algas uma vez que o carbono que entra nas vias catabólicas é freqüentemente metabolizado completamente a CO_2 e o fracionamento resultante é nulo (Goericke et al., 1994).

Ainda de acordo com as informações obtidas em Goericke et al. (1994), o fator de fracionamento da FEP, usando HCO_3^- como substrato, seria da ordem de 2‰ em pH 7,5, enquanto que o fator de fracionamento da FEPC usando CO_2 variaria provavelmente entre 30-40‰. Este amplo fracionamento para FEPC implica que o sinal da razão isotópica para algas usando esta enzima não seria tão afetado por ele, uma vez que é similar ao fracionamento causado pela fixação prévia via Rubisco (29‰). Contudo a fixação do bicarbonato via FEP leva a um enriquecimento de ^{13}C nas algas na proporção da razão das atividades da Rubisco e da FEP-carboxilase.

Assim, todos esses elementos apresentados anteriormente a respeito das diferentes vias enzimáticas de fixação de CID e dos vários fracionamentos possíveis citados por diferentes autores, podem ser responsáveis pela grande variação observada no $\delta^{13}\text{C}$ da matéria orgânica particulada (POC) ou mesmo em amostras mais puras de algas.

No Pantanal, ocorre um fenômeno natural de alteração na qualidade da água, denominado regionalmente como “dequada”, fortemente relacionado ao

pulso de inundação, em que os níveis de CO_2 dissolvido tornam-se muito elevados (>20 mg/L) e podem persistir por mais de dois meses (Calheiros & Ferreira, 1997; Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1997; Oliveira & Calheiros, 2000). Apresenta-se, então, como um fator particular e muito interessante de variação da composição isotópica dos produtores primários aquáticos.

Este fenômeno, que de acordo com sua magnitude pode provocar mortandade de peixes, é resultado da expressiva interação terra-água durante a fase de enchente, que promove a conseqüente decomposição das plantas terrestres recém submersas, gramíneas em sua maioria, além das plantas aquáticas mortas desenvolvidas da fase de cheia anterior. Caracteriza-se por mudanças na cor (aumento do carbono orgânico dissolvido), diminuição do oxigênio dissolvido e aumento da condutividade elétrica, alcalinidade e das concentrações de nutrientes, como nitrogênio e fósforo, além do metano e gás carbônico (Calheiros & Ferreira, 1997; Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1995, 1997; Oliveira & Calheiros, 2000). Hamilton et al. (1995), observaram supersaturação de CO_2 em águas da planície pantaneira, enquanto o rio Amazonas é supersaturado em CO_2 por um fator de 10 (Richey et al., 1990).

O aumento da pCO_2 proveniente dessa alta atividade de decomposição tende a alterar o sinal isotópico do CO_2 , tornando-o mais negativo (Finlay, 2001; Fry & Sherr, 1984; Rau, 1978). Esta variação seria, então, incorporada pelos produtores primários aquáticos submersos tendo o potencial de atuar como um traçador natural do fluxo do carbono entre os níveis tróficos subseqüentes, principalmente para os consumidores primários.

2.2 Nitrogênio

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo dos sistemas aquáticos, em geral atuando, juntamente com o fósforo, como fator limitante à taxa de conversão entre CO_2 e matéria orgânica, ou seja limitante da

produção primária dos ecossistemas; participa ainda na formação de biomassa, por meio das proteínas (Esteves, 1988). Por outro lado, a energia requerida para o ciclo do nitrogênio provém dos produtores primários que fixam o carbono inorgânico (Yoshinari & Koike, 1994).

Diferentes espécies de plantas apresentam diferenças inerentes em relação ao fracionamento do nitrogênio durante a absorção e também nos processos metabólicos que ocorrem antes do transporte do elemento para a região foliar, apresentando uma variação de $\delta^{15}\text{N}$ de cerca de 2‰ entre as diferentes partes da planta. Geralmente usa-se uma amostra composta de tecidos foliares de várias partes do dossel (Lajtha & Marshall, 1994).

Outras fontes de variação para o sinal isotópico de ^{15}N entre espécies diferentes são as relacionadas às variações em micro-escala no solo, diferenças metabólicas e na profundidade da raiz. Segundo vários autores citados por Lajtha & Marshall (op. cit.), espécies com raiz profunda têm possibilidade de acesso a regiões mais antigas de solo quando comparadas a espécies com raízes mais superficiais, pois tanto a idade do solo quanto a profundidade podem levar a diferenças em $\delta^{15}\text{N}$. Por outro lado, devido aos repetidos ciclos de mineralização, nitrificação, imobilização, denitrificação e absorção pelas plantas que promovem múltiplos fracionamentos, há dificuldades em se traçar o nitrogênio fixado através do ecossistema.

O método que utiliza $\delta^{15}\text{N}$ para a estimativa da fixação de N_2 em sistemas terrestres é baseado no fato de que no solo o nitrogênio é geralmente mais abundante em ^{15}N do que o N_2 atmosférico, de tal modo que plantas que utilizam o nitrogênio do solo (nitrogênio inorgânico como amônia ou nitrato) são mais enriquecidas em ^{15}N do que plantas que obtêm o nitrogênio da atmosfera por meio da fixação simbiótica, a qual não é considerada um processo fracionante. As plantas podem ser classificadas, portanto, como fixadoras e não-fixadoras do nitrogênio atmosférico. (DeNiro & Epstein, 1981; Lajtha & Marshall, 1994). Martinelli et al. (1992), observaram valores médios de 2‰ para plantas fixadoras e de 3,5‰ para as não-fixadoras na várzea do Amazonas,

sendo que os valores variaram muito entre as espécies e entre os períodos de inundação. Para esses autores, esta variação elevada reflete mudanças na especiação química e na composição isotópica do nitrogênio do solo e sedimento, além de mudanças fisiológicas no metabolismo do nitrogênio nas plantas.

O nitrogênio está presente nos ambientes aquáticos sob várias formas: íons amônio, nitrato e nitrito, amônia, óxido nitroso, nitrogênio molecular, nitrogênio orgânico dissolvido e particulado. Dentre estes, os íons nitrato e amônio representam as principais fontes de nitrogênio para os produtores primários. Além das formas inorgânicas os produtores podem assimilar também as formas orgânicas de nitrogênio dissolvidas, como uréia e aminoácidos, entre outros. A lise celular, a decomposição e a excreção de algas e macrófitas aquáticas são as principais fontes dessa fração. Somente quando as formas inorgânicas de nitrogênio apresentam-se em concentrações muito baixas as formas orgânicas são aproveitadas. O aproveitamento secundário ou re-utilização da amônia excretada por zooplâncton, por exemplo, ou da produzida na mineralização do nitrogênio orgânico particulado (NOP) na coluna d'água, são outras fontes de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) disponível para as algas (Esteves, 1988; Goericke et al., 1994; Leggett et al., 2000; Rolff, 2000).

A assimilação do íon amônio é energeticamente mais viável do que a do nitrato, pois já está em forma reduzida. Entretanto, sua concentração na camada eufótica, onde se encontra o fitoplâncton, é, em geral, muito baixa. Deste modo, o nitrato constitui a principal fonte de nitrogênio para os produtores primários aquáticos (Esteves, 1988). Contudo, Gu et al. (1997) encontraram evidências de que o íon amônio era responsável por 53% das taxas de assimilação do fitoplâncton em um lago eutrófico da Flórida (EUA), sendo a mais importante fonte de N, seguido pelo nitrato (19%), uréia (16%) e N_2 (12%).

No ambiente aquático, algumas bactérias e as algas cianofíceas (planctônicas, epifíticas e bentônicas) também possuem a capacidade de fixação do nitrogênio molecular transformando-o em proteínas. Ecologicamente,

a fixação é muito importante, pois torna disponível para o sistema o nitrogênio atmosférico inerte (Esteves, 1988; Goericke et al., 1994; Martinelli et al., 1992; Rolff, 2000). As bactérias têm importância na fixação de N_2 principalmente no sedimento e no epífiton. Algumas espécies de macrófitas aquáticas possuem algas ou bactérias fixadoras que mantêm uma relação simbiótica ou semi-simbiótica com as mesmas, como é o caso da cianofícea *Anabaena azollae* que vive em simbiose com as macrófitas do gênero *Azolla* (Esteves, 1988; Heckman, 1998). As cianofíceas bentônicas, epifíticas e as simbióticas apresentam maior taxa de fixação do que as planctônicas. No entanto, estas podem ser consideradas como as responsáveis pela fixação da maior parte do nitrogênio, devido à abundância e ao volume que ocupam no sistema (Esteves, 1988).

Em nenhum ciclo biogeoquímico os microorganismos têm maior participação do que no ciclo do nitrogênio. Neste ciclo, podem ser encontrados representantes de quase todos os tipos de grupos fisiológicos (autotróficos, heterotróficos, aeróbios, anaeróbios) que tomam parte em quatro processos básicos, tanto no sistema terrestre quanto no aquático: amonificação (mineralização), nitrificação, denitrificação e nitrato-amonificação (Esteves, 1988).

O N_2 entra no ciclo de nitrogênio dos ecossistemas aquáticos por meio da atividade de microrganismos fixadores e retorna à atmosfera pelo processo de denitrificação. Em ambientes com baixos níveis de oxigênio há produção de N_2 por denitrificação, evidenciando que as taxas de transformação de muitos compostos nitrogenados dependem muito das concentrações de oxigênio dissolvido (Yoshinari & Koike, 1994).

No processo de fixação biológica, um valor médio estimado para a discriminação (fator de fracionamento) do ^{15}N em relação ao ^{14}N no oceano é muito baixo ou nulo, dentro do limite do erro experimental ($\pm 1,0005$). As reações de denitrificação, nitrificação, volatilização e mineralização são fracionantes, promovendo alta variabilidade de $\delta^{15}N$. No processo de nitrificação

($\text{NH}_4^+ \rightarrow \text{NO}_3^-$) e denitrificação ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$), os substratos N-amônio e N-nitrato tornam-se enriquecidos com nitrogênio pesado e os valores de fracionamento, para ambos os processos, estão por volta de 1,020, ou 20‰, para ambiente marinho (Wada & Hattori, 1976).

Por outro lado, de acordo com uma revisão feita por Goericke et al. (1994), pode ocorrer ampla variação no fracionamento isotópico em algas durante a assimilação das diferentes formas de nitrogênio. Como para carbono, vários fatores interferem na assimilação das formas de DIN e nos fracionamentos envolvidos: zonas limitantes com implicações na difusão, concentração de DIN no sistema e variações características das diferentes espécies. Entretanto, na natureza, é muito difícil ocorrer condições que permitam o fracionamento, uma vez que o nitrogênio é, em geral, limitante e praticamente não há discriminação entre os isótopos (Goericke et al., 1994).

A composição isotópica de nitrogênio nos organismos também reflete a da dieta, desde que as potenciais fontes de alimento tenham diferentes valores de $\delta^{15}\text{N}$. Em geral, o animal apresenta comparativamente valores mais enriquecidos, pois parecem incorporar ^{15}N preferencialmente a ^{14}N . Além disso, também parece haver excreção preferencial de nitrogênio ^{15}N -empobrecido, usualmente na forma de uréia e amônia (DeNiro & Epstein, 1981; Minagawa & Wada, 1984; Post 2002; Vander Zanden & Rasmussen, 2001). Entretanto, há menos estudos sobre dietas e a variação da razão isotópica do nitrogênio em comparação ao carbono (Michener & Schell, 1994).

Ainda segundo DeNiro & Epstein (1981), as variações naturais de $\delta^{15}\text{N}$ podem ser usadas para estimar o uso relativo de fontes de alimento provenientes de plantas fixadoras e não-fixadoras, ou de organismos aquáticos e terrestres, fornecendo informações complementares sobre a dieta. Entretanto, o método apresenta problemas quando utilizado em ambientes sujeitos ao uso de fertilizantes químicos, que alteram a distribuição dos isótopos de nitrogênio.

Em estudos de dieta, DeNiro & Epstein (1981) observaram enriquecimento médio em ^{15}N de $3,0 \pm 2,6\text{‰}$ no sinal isotópico de animais em relação à dieta.

Minagawa & Wada (1984) encontraram enriquecimento de $3,4 \pm 1,1\text{‰}$ no sinal de $\delta^{15}\text{N}$ por nível trófico, independente do habitat. Peterson & Fry (1987) citam estudos que mostraram em média 3 a 5‰ mais pesados do que o nitrogênio da dieta, com média geral de 3,2‰. Desta forma, se o fracionamento isotópico trófico do nitrogênio, geralmente ocorre e se a magnitude é comum a muitos animais (como se pode notar pelos valores similares obtidos pelos autores citados acima), a composição isotópica de nitrogênio pode identificar as relações tróficas entre os organismos (níveis tróficos) e, por conseguinte, a estrutura da cadeia alimentar (Minagawa & Wada, 1984).

Vander Zanden & Rasmussen (2001), em um estudo bem detalhado, observaram um enriquecimento trófico, ou fracionamento trófico (Δ), em $\delta^{15}\text{N}$ entre presa e predador muito similar ($\Delta_{\text{médio}} = 3,49 \pm 0,23\text{‰}$) estimado para amostras de trutas de diferentes lagos, mas observaram que tais resultados foram significativamente maiores do que os obtidos em estudos de laboratório ($\Delta_{\text{médio}} = 2,69 \pm 2,11\text{‰}$) e que os valores estimados para carnívoros foram maiores dos que os de herbívoros. Além disso, os fracionamentos obtidos para invertebrados foram significativamente mais variáveis do que os de peixes, estimativas de laboratório mais variáveis que as de campo e herbívoros mais variáveis do que os carnívoros. Post (2002), por sua vez, obteve uma média surpreendentemente igual ($\Delta_{\text{médio}} = 3,4 \pm 0,98\text{‰}$) à de Minagawa & Wada (1984).

3. METODOLOGIA

3.1 Descrição da área de estudo

Inserida na bacia do Alto Paraguai (BAP), cuja área total é de aproximadamente 360.000 km² (Figura 2), a planície pantaneira, ou Pantanal, é considerada uma das maiores áreas úmidas do planeta (Figura 3), totalizando cerca de 138.000 km² (Hamilton et al., 1996; Silva & Abdon, 1998), sendo 65% em território do Estado de Mato Grosso do Sul. O Pantanal caracteriza-se por um complexo de deltas internos (Welcomme, 1985), apresentando forte influência do regime hidrológico e um alto grau de contato rio-planície (“efeito de planície”) em comparação com a maioria dos rios, resultando em alta produtividade primária e secundária (Calheiros & Hamilton, 1998; Da Silva, 2000; Hamilton et al., 1997; Junk et al., 1989; Oliveira & Calheiros, 2000; Power et al., 1995). Há ainda a ocorrência de ciclos plurianuais, quando se alternam períodos de anos mais secos com períodos mais úmidos (Tucci & Genz, 1997).

Apresenta uma produção pesqueira elevada (estimada em cerca de 7.000 t/ano) e ainda pouco explorada (Catella, 2001) com alta diversidade de espécies (264 espécies, Britski et al., 1999). Além do papel fundamental na cadeia trófica aquática, os peixes têm um papel ecológico significativo também para as cadeias terrestres, sendo alimento importante para vários mamíferos, répteis, e principalmente para aves, tanto para espécies da região quanto para muitas espécies migratórias (Catella & Petrere, 1996; Mourão et al., 1994; Santos et al., 1996).

Figura 2 – Localização da bacia do Alto Paraguai no Brasil, evidenciando as áreas de planalto em sua borda leste (clara) e a de planície ou Pantanal (sombreada); a seta indica a área de amostragem (baía do Castelo, MS) marcada por um círculo. Baseado em Silva & Abdon (1998).

Figura 3 – Área do Pantanal, no centro da América do Sul, destacando os principais rios e as sub-regiões no Brasil, incluindo a do rio Paraguai com suas grandes lagoas à margem direita (áreas mais escuras); a seta aponta a lagoa marginal sob estudo (baía do Castelo, MS). Baseado em Hamilton et al. (1996)

Circundada por um planalto cristalino, com cotas que variam entre 600 e 700 m, a bacia sedimentar do Pantanal, com cotas inferiores a 200 m, recebe água e sedimentos das áreas elevadas, sendo preenchida com sedimentos arenosos com espessura de até 500 m (Godoi Filho, 1986). É uma região relativamente plana e de baixas declividades no sentido leste-oeste, apenas 30-50 cm/km, e menores ainda, 3-15 cm/km, no sentido norte-sul, resultando em geomorfologias muito meândricas (Carvalho, 1986; PCBAP, 1997).

A litologia é constituída por sedimentos aluviais que ocorrem em fases argilosa e arenosa, de forma alternada e descontínua, com plena dominância de solos hidromórficos (Amaral Filho, 1986). As áreas que contêm mais argila são as áreas sujeitas ao sobrefluxo dos rios e áreas mais arenosas são observadas na parte superior de leques aluviais e nas áreas mais sujeitas a inundação (alagamento) por chuvas locais. Os espessos depósitos aluviais são derivados em grande parte de arenitos facilmente erodíveis, sobretudo no lado leste da bacia, enquanto rochas calcárias estão presentes, principalmente, nas partes oeste e sul (PCBAP, 1997).

A pluviosidade anual média está em torno de 1.295 mm, com inverno seco e verão chuvoso, sendo o período de maior concentração pluvial entre novembro e março e o menor entre junho e agosto. As temperaturas são elevadas, com média anual de cerca de 25°C, com máximas absolutas de 40°C e mínimas absolutas atingindo 0°C (Soriano, 1997; PCBAP, 1997). A concentração de chuvas no verão, associada à uniformidade topográfica e aos pequenos desníveis do relevo, além da predominância de litologias sedimentares recentes, dificultam o escoamento das águas superficiais. Isto promove inundações periódicas anuais e plurianuais e faz com que a onda de cheia, formada no trimestre janeiro-março na parte norte, como também pelas chuvas locais, se desloque lentamente pelo rio Paraguai rumo ao sul, demorando até seis meses para sair do território brasileiro e chegando a inundar até 70% de toda a planície. Áreas significativas da região podem ficar submersas por 4 a 8 meses a cada ano (Figura 4), com profundidades variando

de poucos centímetros a mais de 2 m na área inundada (Carvalho, 1986; PCBAP, 1997). O rio Paraguai, o principal canal de drenagem da bacia, flui pela sua borda oeste recebendo água dos vários tributários bem como da drenagem difusa proveniente da extensa área de inundação (Figuras 2 e 3). É um rio com alta sinuosidade em seu trecho norte, que diminui após receber o rio São Lourenço, na divisa entre os Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.

Ecologicamente, o Pantanal é um elo de ligação entre vários biomas como a floresta Amazônica, o Cerrado, a Mata Atlântica e o Chaco boliviano e paraguaio, apresentando espécies características desses vários ambientes (Prance & Schaller, 1982).

Figura 4 – Vista aérea de trecho do rio Paraguai em direção norte, rumo à baía do Castelo (Pantanal – MS), durante a cheia de 1995, considerada a terceira maior cheia do século pela régua de Ladário. Observa-se um meandro fluvial com suas margens cobertas por manchas de mata ciliar estreita, seguida e entremeada por áreas de campo limpo, totalmente inundadas. Foto: Márcia D. de Oliveira

A planície pantaneira pode ser subdividida em 10 sub-regiões, segundo Hamilton et al. (1996) levando em conta o nível e a duração da inundação. A sub-região do rio Paraguai, ou Pantanal do rio Paraguai, é uma delas, com

cerca de 12% (16.258 km²) da área total, sendo uma das sub-regiões classificadas como de alta inundação. Trata-se, na verdade, de uma planície flúvio-lacustre formada por sedimentos dos rios Paraguai e Cuiabá (Figura 3).

Esta pesquisa foi realizada numa região representativa do Pantanal do rio Paraguai, localizada ao norte da cidade de Corumbá no Estado de Mato Grosso do Sul, compreendendo uma lagoa marginal denominada baía do Castelo (18°34'38"S e 57°34'00"W) e a planície de inundação contígua ao rio Paraguai (Figura 5). É uma lagoa relativamente grande (9,6 km² de água aberta), que pertence a uma série de grandes lagoas ao longo da margem direita do rio Paraguai (Figuras 3 e 5). Sua área total de drenagem é 1.078 km², incluindo 196 km² da planície circundante.

Em função da posição da baía do Castelo, pode-se dizer que suas águas recebem influências de duas distintas unidades carbonáticas, ou seja, do Grupo Corumbá, aflorante nas morrarias que circundam e limitam a baía de norte a sudoeste, e do Grupo Araras, com exposições a 150 km a nordeste, na Serra homônima. O Grupo Corumbá (Almeida, 1965) apresenta dolomitos (Formação Bocaina) com composição isotópica de carbono (padrão PDB) próxima a 0 ‰ e calcários calcíticos pretos (Formação Tamengo), muito solúveis e ricos em matéria orgânica, com valores predominantemente positivos e relativamente elevados, com predomínio de +2 a +3‰, com porções onde atinge valores ao redor de + 5 ‰ (Boggiani, 1998, Gaucher et al., 2003). No Grupo Araras (Almeida, 1964), com exposições a nordeste, afloram calcários calcíticos com valores de $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}$ negativos (predomínio de valores -2‰) cobertos por dolomitos com valores próximos a zero a levemente positivos no topo (Alvarenga et al., 2003).

A área de planalto residual a sudoeste mostra alteração resultante da ocupação humana (Figura 5) como desmatamento, uso de gramíneas exóticas e pecuária, ocupando apenas 21% da área total da baía (224 km²). De um modo geral, a vegetação na planície ao redor da baía é uma mistura de tipos de

Figura 5 – Imagem de satélite do trecho do rio Paraguai (à direita) e da baía do Castelo (Pantanal – MS), com a área de inundação contígua, identificando os pontos numerados de coleta (círculos rosa) e os pontos de amostragem da vegetação, na seca (asterisco rosa) e na cheia (transecto, em branco, entre pontos 8 e 4); a área mais elevada à esquerda apresenta sinais de desmatamento. IMAGEM LANDSAT ETM 7, de 24/05/2000; composição colorida (5R, 4G, 3B); órbita/ponto: 227/73.

Figura 6 – **Acima:** vista da borda final (sudoeste) da baía do Castelo (Pantanal – MS), próximo ao ponto 1. Observar os morros ao fundo e o mais próximo com cobertura de mata decídua, a formação homogênea da palmeira carandá (*C. alba*) e o tapete de macrófitas (*E. azurea* e *E. crassipes*) estão também evidentes. Foto: Márcia D. de Oliveira. **Abaixo:** planície de inundação no ponto 2, com vista para o norte. As gramíneas semi-aquáticas do tipo C₃ predominam principalmente *Oryza sp* (verde claro), com manchas mais escuras de *E. crassipes* na borda do lago. No horizonte, observa-se a linha de morros que circundam a baía. Foto: Débora F. Calheiros.

cerrado, com campos inundáveis de vegetação herbácea até arbórea-arbustiva e extensas áreas com palmeiras da espécie *Copernicia alba* ou carandazal (Calheiros & Hamilton, 1998) e formações arbóreas como o cambarazal, com maior abundância da espécie *Vochysia divergens* (Figura 6). Apresenta ainda capões de mata nas áreas pouco mais elevadas e mata decídua nas mais altas e rochosas. Durante a inundaço, plantas aquticas emersas, flutuantes e semi-aquticas colonizam a maior parte da plancie inundada, apresentando espcies como: *Nymphaea sp.*, *Eichhornia azurea*, *E. crassipes*, *Oryza spp.* e *Polygonum spp.* (Figura 6). O rio Paraguai, em geral, apresenta manchas estreitas de mata ciliar, seguidas e entremeadas com campos inundveis devido baixa altura do dique marginal (Figura 4).

As profundidades, na cheia, alcanam de poucos centmetros a 2 m na rea de inundao, 6-8 m no canal principal da baa e 12-15 m neste trecho do rio Paraguai, sendo que os nveis da baa acompanham os do rio (Calheiros & Hamilton, 1998). Os nveis do rio Paraguai so medidos na rgua limnimtrica de Ladrio (1902'S e 5733'W), municpio ao lado de Corumb, instalada no VI Distrito Naval da Marinha do Brasil, e sob responsabilidade do Servio de Sinalizao Nutica do Oeste. A flutuao do rio neste ponto segue um perfil unimodal variando geralmente entre 2 e 5 m ao longo do ano, com o pico mximo ocorrendo entre maio e julho e o mnimo entre outubro e dezembro (Galdino & Clarke, 1995). No Pantanal sul, esta cota mxima ocorre cerca de trs meses aps o pico das chuvas, entre novembro e maro (Galdino & Clarke, 1995; Soriano, 1997), pois a extensa plancie de inundao e a morfologia mendrica do rio promovem o amortecimento do fluxo de enchente (Figura 4).

Sendo uma lagoa marginal, com ligao permanente com o canal principal do rio, suas caractersticas limnolgicas variam entre as fases de maior e menor troca/contato das guas do rio com a plancie. Estas variaes naturais relacionadas ao pulso de inundao resultam da interao inicial entre a gua de inundao e a terra previamente seca, a qual inicia o processo de decomposio da mteria orgnica submersa, principalmente vegetao

terrestre representada por gramíneas e plantas aquáticas mortas (da fase de cheia anterior). No começo da fase de inundação, a água entra pela boca, a leste da lagoa. À medida que a enchente avança, um grande volume de água proveniente do sobrefluxo do rio começa a atravessar gradativamente a planície ao norte, alcançando o lago (próximo aos pontos 6 até o 7, e ponto 4 – Figura 5) e provocando a mudança na direção do fluxo de água, que passa a sair do lago ao invés de entrar.

Os valores mínimos de condutividade são da ordem de 45 $\mu\text{S}/\text{cm}$ no começo da enchente e os máximos, próximos a 65 $\mu\text{S}/\text{cm}$, após a primeira entrada das águas da planície na baía, voltando a cair na fase de cheia plena. O gás carbônico livre pode apresentar valores acima de 20 mg/L (podendo atingir de 60 a 100 mg/L) durante a enchente e próximos a 5 mg/L nas demais fases. Os níveis de oxigênio, ao contrário, têm seus valores mínimos durante a fase de enchente (chegando a anoxia) e máximos desde a cheia plena até a seca (7 mg/L). O pH varia na faixa de 6,2 a 6,9, respectivamente nas fases de princípio da enchente e seca, quando apresenta valores mais alcalinos. A transparência por disco de Secchi tem sua variação na faixa de 0,45 m na seca a 0,85 m na cheia. Há também mudanças na cor (para águas pretas), relativas à maior entrada de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) e aumento de ácidos húmicos e fúlvicos, fruto da decomposição, além do aumento nas concentrações de outros nutrientes (N e P) e de metano (Calheiros & Ferreira, 1997; Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1997; Oliveira & Calheiros, 2000).

3.2 O método de isótopos estáveis

A aplicação da composição isotópica do carbono em estudos ecológicos é fundamentada na diferença isotópica existente entre os diversos componentes e compartimentos de um ecossistema. Os estudos sobre cadeia alimentar, onde a fonte de energia é representada pela troca de carbono, baseiam-se na

comparação da composição isotópica do carbono no material em estudo com as suas possíveis fontes alimentares (Fry & Sherr, 1984; Peterson & Fry, 1987).

A razão isotópica de um elemento é expressa pela relação entre o isótopo raro, em geral o isótopo mais “pesado”, e o isótopo mais abundante, chamado de “leve”. No caso do carbono e nitrogênio, estas razões são representadas por $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ e $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, respectivamente. Numa reação substrato-produto pode ocorrer o “fracionamento isotópico”, ou a discriminação de um isótopo em detrimento do outro, alterando a razão isotópica no processo. Como as variações naturais da razão dos isótopos estáveis são pequenas, é utilizada a notação “delta” (δ), que expressa o desvio relativo do valor obtido numa amostra comparada a um padrão internacional, em partes por mil (‰).

Os resultados são calculados pela equação:

$$\delta X (\text{‰}) = \{ [R_{\text{amostra}} / R_{\text{padrão}}] - 1 \} \times 1000$$

onde, X= ^{13}C ou ^{15}N , R= a relação $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, fornecendo portanto o valor de $\delta^{13}\text{C}$ ou $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente, da amostra em relação ao padrão. O padrão utilizado para o carbono foi o PDB e para o nitrogênio, o N_2 atmosférico.

As composições isotópicas de carbono e nitrogênio foram determinadas por meio de combustão em linha das amostras por CF-IRMS (do inglês “Continuous Flow - Isotopic Ratio Mass Spectrometry”), ou razão isotópica por espectrometria de massas em fluxo contínuo, em um analisador elementar Carlo Erba (CHN-1110) acoplado ao espectrômetro de massas Finnigan Delta Plus. Os gases CO_2 e N_2 liberados são purificados de outros subprodutos da combustão e são separados por cromatografia gasosa antes de serem injetados no espectrômetro de massas.

As análises isotópicas foram realizadas no Laboratório de Ecologia Isotópica do CENA-USP, com análises em duplicata para 10% das amostras, e com diferença máxima entre as réplicas de 0,3‰ para carbono e 0,5‰ para nitrogênio.

Os métodos de amostragem basearam-se em Hamilton et al. (1992) e Martinelli et al. (1991, 1998). As medidas isotópicas não foram corrigidas para o conteúdo de lipídeos.

3.3 Compartimento Abiótico

3.3.1 Água

As coletas de água foram realizadas mensalmente de out./1998 a set./1999 em três pontos dentro da baía do Castelo (pontos 1, 5 e 6) e um ponto no rio Paraguai (ponto 8) (Figura 5), sempre coletadas a 0,5 m de profundidade em águas abertas. Os parâmetros limnológicos avaliados em laboratório foram: alcalinidade de acordo com Gran (1952), gás carbônico livre (CO_2L), calculado indiretamente segundo Kempe (1982) adaptado por Hamilton et al. (1995), pH, e condutividade (COND); oxigênio dissolvido (OD) e temperatura foram medidos diretamente em campo com um aparelho YSI devidamente calibrado, munido de sensor para temperatura e outro polarográfico para OD.

Para a determinação do $\delta^{13}\text{C}$ do carbono inorgânico total (ΣCID) foram coletadas amostras nos pontos da baía do Castelo, apenas em abr./00 (época de dequada expressiva). Depois foram acompanhadas as variações mensais no rio Paraguai, em ponto à jusante da baía e próximo da cidade de Corumbá (10 min. à montante) durante o período de abr./00 a fev./01, totalizando nove coletas. Este ponto foi escolhido por representar o sinal isotópico do sistema rio-planície num trecho muito semelhante e sem interferências relacionadas à entrada de afluentes ou ações humanas. As amostras de água foram coletadas superficialmente com garrafa de Van Dorn, recebida em frascos de DBO sem bolhas e fixadas com 0,4 mL de HgCl_2 concentrado (Hellings et al., 1999; Quay et al., 1992) e enviados ao CENA-USP. No Laboratório de Ecologia Isotópica, os processos de extração do CID foram realizados em linha de vácuo, onde o CO_2 resultante foi quantitativamente contido por manta fria de nitrogênio líquido

e acondicionado em frasco de vidro selado para posterior análise em IRMS (Hellings et al., 1999).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ para CO_2 e HCO_3^- foram calculados a partir das concentrações de equilíbrio, do valor de $\delta^{13}\text{C}$ da ΣCID , dos valores de pH medidos no local e dos fatores de fracionamento isotópico de equilíbrio, com os respectivos valores de temperatura. Levando em conta o fator de fracionamento durante a reação de hidratação/dehidratação do CO_2 ($\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$), foi possível calcular o $\delta^{13}\text{C}$ para HCO_3^- , uma vez que $\Sigma\text{CID} = [\text{HCO}_3^-] + [\text{CO}_2]$, e desde que as concentrações de CO_3^{2-} podem ser consideradas irrelevantes (< 0,3%) neste sistema (Hamilton et al., 1995).

Para a determinação da concentração das formas dissolvidas inorgânicas de nitrogênio (NID , NH_4^+ e NO_3^-), amostras de água foram tomadas no mesmo local das amostras de CID (à montante de Corumbá) durante o período de ago./98 a out./99 e analisadas por colorimetria, utilizando o sistema de análise por injeção em fluxo ou FIA (Krug et al., 1983; Zagatto et al., 1981).

Amostras de água para determinação da composição isotópica da matéria orgânica particulada (COP), foram filtradas em filtros previamente calcinados (WHATMAN GF/F, 500°C / 5 h.), os quais foram posteriormente secos à 60°C e moídos até pó fino.

3.3.2 Sedimento

O sedimento superficial recentemente depositado (MOS, ou matéria orgânica do sedimento) foi coletado mensalmente, durante out./98 a set./99, usando uma bomba peristáltica acoplada a um funil e mantida na superfície do sedimento por meio de pesos. Foram dois pontos de coleta (Figura 5) ao longo da baía do Castelo (pontos 4 e 6), sendo que o ponto 4 localiza-se numa área de inundação aberta e o 6 num canal que drena a área de inundação. No laboratório as amostras foram filtradas em filtros calcinados WHATMAN GF/F, posteriormente secas à 60°C e moídas a pó fino.

3.4 Compartimento Biótico

3.4.1 Produtores Primários

Os produtores primários analisados foram os representantes de fitofisionomias importantes na área de entorno da baía do Castelo, como a mata ciliar, as formações arbóreas homogêneas (cambarazal e carandazal) e as gramíneas e arbustos do campo inundável (semi-aquáticas e terrestres). Plantas das matas decíduas, características das morrarias calcárias, foram amostradas anteriormente por Bezerra (1999). Em relação às plantas aquáticas, analisaram-se amostras de macrófitas (submersas, emergentes e flutuantes), algas filamentosas, e algas do epífiton e do fitoplâncton.

a. Plantas vasculares

A completa descrição da vegetação da região da baía do Castelo não havia sido realizada anteriormente. Desta forma, realizaram-se estudos florísticos e fitossociológicos durante as estações de seca (dez./97), nas áreas sujeitas à inundação para árvores, arbustos e gramíneas, e na de cheia (jul./98), para macrófitas aquáticas e semi-aquáticas.¹ As plantas arbustivas e arbóreas foram amostradas pelo método de transectos e as herbáceas, terrestres e aquáticas, em parcelas segundo Brower & Zar (1984) e analisadas através do programa FITOPAC 1.4 (Shepherd, 1988).

Na mata ciliar, em uma área à jusante da boca da baía, a amostragem para árvores e arbustos foi efetuada utilizando o método de quadrantes centrados (Brower & Zar, op.cit.), tomando pontos distanciados 10 m entre si, em três linhas transeccionais. Por ser caracteristicamente estreita, a mata ciliar do rio Paraguai foi amostrada em três transectos: um perpendicular ao rio (7 pontos) e dois paralelos, a partir de aproximadamente 5 m da margem do rio (um com 3 pontos e outro com 20 pontos), totalizando 30 pontos amostrados.

Foram incluídas árvores de CAP (circunferência à altura do peito) igual ou superior a 9 cm e os arbustos foram medidos por CAS (circunferência ao nível do solo). Os indivíduos com caules múltiplos tiveram anotadas todas as circunferências à altura do peito. Para a amostragem das herbáceas no campo inundável na fase de seca, como também para as aquáticas e semi-aquáticas na área inundada, o quadrado era lançado em um transecto até se obter 10 pontos ou mais, avaliando-se a porcentagem de cobertura de cada espécie presente. Na seca, a amostragem baseou-se em transectos nas áreas marginais do rio e da baía e através da planície em frente ao ponto 4 (Figura 5). Durante o período de inundação as plantas foram amostradas por meio de um longo transecto iniciado na margem do rio, percorrendo toda a planície (leste-oeste) chegando até a baía (do ponto 8 até o ponto 4, Figura 5).

O material botânico coletado foi depositado no herbário da EMBRAPA Pantanal. A identificação foi realizada com auxílio de bibliografia especializada, por comparação com material de herbário e por envio a especialistas.

Para as análises isotópicas de arbustos e árvores coletaram-se amostras de pelo menos cinco indivíduos por espécie, sendo separadas, em alguns casos, partes da planta (folhas, frutos ou flores) para análise. Também foram coletados cinco indivíduos/espécie no caso das herbáceas (gramíneas), sendo coletadas apenas as folhas. Folhas maduras e saudáveis foram escolhidas e embaladas em sacos plásticos ou de papel. No laboratório, as folhas das macrófitas foram lavadas em água de torneira. Todas as amostras foram secas à 60°C, passadas em moinho Manesco & Ranier com peneira de 1mm, ainda moídas em almofariz até pó fino e, por fim, estocadas para análise isotópica.

b. Algas

Algas sestônicas- Em planícies de inundação, a matéria orgânica particulada fina (MOP) em suspensão usualmente contém quantidades variáveis de algas e detritos. Pelo método baseado em Hamilton & Lewis

¹ Salis & Calheiros, dados não publicados.

(1992), tentou-se separar as frações de algas e detritos da MOP total para melhorar a estimativa das respectivas razões isotópicas.

Para obtenção de amostras de seston (fitoplâncton vivo + detrito orgânico), foram amostrados, mensalmente de outubro/98 a setembro/99, dois pontos de água aberta à montante e à jusante da região central do lago (pontos 4 e 7, Figura 5). Estes locais foram escolhidos, pois recebem as águas do começo da inundação com certa defasagem (ponto 7 antes do 4), uma vez que percorrem diferentes extensões da área de planície adjacente.

Vinte litros de água superficial foram recolhidos em tambor plástico, sendo previamente filtrados em peneira de 53 μm , para se reter grande parte do zooplâncton e detritos grosseiros. O tambor foi mantido em uma sala refrigerada até o dia seguinte.

Essa amostra de seston foi concentrada por centrifugação em fluxo contínuo, por meio de gotejamento de aproximadamente 10 litros, por 4 horas em média. Do material concentrado produzido (~20 mL), ou matéria orgânica particulada (MOP) sestônica, 4 sub-amostras de 5 mL foram centrifugadas em solução de sílica coloidal (LUDOX - TM 50, Sigma - Aldrich) com densidade de 1,16 g/mL, resultando na separação gravimétrica de duas frações: “leve”, ou sobrenadante, onde concentrou-se o material algáceo (fitoplâncton), e a “pesada”, ou precipitado, onde tendeu a depositar-se o detrito orgânico e as argilas, de acordo com Hamilton & Lewis (1992). As frações obtidas foram concentradas em filtros (WHATMAN GF/F - 0,7 μm , ou GELMAN A/E - 1,2 μm , ambos de 47 mm) previamente calcinados (500°C, 5 h.), secas à 60°C e maceradas até pó fino em almofariz para as análises isotópicas e elementares (Figura 7).

Foram separadas também sub-amostras de seston antes (amostra pré) e depois (amostra pós) da centrifugação em fluxo contínuo para estimar a eficiência da remoção do material sestônico (Figura 7).

Figura 7 - Esquema dos procedimentos de amostragem de seston e epifiton e do preparo das amostras no campo e no laboratório, resultando em sub-amostras de seston pré- e pós-centrifugação, $\text{MOP}_{\text{Total}}$ epifítica e sestônica, e, posterior à centrifugação em solução de sílica coloidal, em frações Leve e Pesada; C:Clor identifica amostras predominantemente algais ($\text{MOPa} = \text{alga}$) ou não ($\text{MOPad} = \text{detrito}$).

Algas epifíticas- As amostras de epifíton foram coletadas na mesma frequência que as de fitoplâncton, porém em quatro locais de remanso dentro da baía (pontos 1, 2, 3 e 6), coincidentes com as amostras de água e de MOS (Figura 5). Procurou-se coletar o material epifítico de maneira uniforme, amostrando nos diferentes tipos de plantas observadas em cada ponto. Por meio de lavagem com pequenas quantidades de água do local, a mistura de material epifítico foi removida das partes submersas das macrófitas (pecíolos e trama de raízes), nas áreas marginais ao lago e nas inundadas, sendo posteriormente filtrada numa seqüência de peneiras de 1000 e 250 μm de malha, para separar detritos grosseiros e macroinvertebrados. As amostras foram armazenadas em frascos de polietileno, sob baixas temperaturas até o dia seguinte. O mesmo procedimento de separação em frações leve e pesada descrito acima para MOP sestônica total foi aplicado posteriormente, com sub-amostragem para as análises isotópica, de clorofila-a e elemental (Figura 7).

A análise de clorofila-a foi realizada a fim de se obter a proporção aproximada de biomassa algácea no material coletado, tanto sestônico quanto epifítico. Para tanto, foram coletadas sub-amostras antes e depois da centrifugação contínua (amostras pré e pós) e depois da separação das fases leve e pesada. Para isso, sub-amostras foram filtradas em filtro WHATMAN GF/F ou GELMAN A/E (47mm, previamente calcinados), embaladas em saquinhos de papel alumínio, acondicionadas em frascos com material dessecante, hermeticamente fechados, e mantidas congeladas à -20°C . Sub-amostras dos filtros, na forma de pequenos círculos de cerca de 34 mm^2 (padronizando-se em 4 círculos ou 136 mm^2), foram retiradas para análise de clorofila-a pelo método fluorimétrico, após extração em metanol à frio (Welschmeyer, 1994) com leitura em Fluorímetro Turner, na Kellogg Biological Station - MSU, EUA. Os resultados de clorofila-a sestônica referem-se ao volume inicial de 10L concentrado como $\text{MOP}_{\text{Total}}$, considerando que o processo de centrifugação contínua tenha alcançado uma eficiência próxima a 100%.

Nos mesmos filtros amostrados para clorofila-a, outras sub-amostras foram retiradas para a análise elementar de C e N, também padronizados para 136 mm². Para tanto, utilizou-se um Analisador Elementar Carlo Erba (CHN 1110, também na Kellogg Biological Station).

De acordo com Hamilton & Lewis (1992), medidas de concentração de clorofila-a e nitrogênio em amostras de matéria orgânica servem como indicadores quando normalizadas pela concentração de carbono orgânico por meio das razões C:Clor e C:N, respectivamente. Clorofila-a serve como indicador da proporção relativa de matéria orgânica algácea nas amostras, uma vez que é rapidamente degradada fora de células vivas e normalmente compreende uma fração insignificante do carbono orgânico presente no detrito.

Valores da razão C:Clor em culturas de algas em laboratório podem variar de 14 a 58 (Reynolds, 1984). Por outro lado, o valor C:Clor= 50, geralmente usado para estimar carbono fitoplanctônico, pode não se aplicar em situações de limitação de nutrientes, quando esta razão poderia apresentar uma variação maior (Ahlgren, 1983). Uma revisão dos dados de C:Clor em ambientes marinhos e de água doce mostrou uma variação de valores entre 13 e 66 para amostras puras em algas e 75 a 100 para amostras de seston, com predominância de algas (Ahlgren, 1983; Reynolds, 1984; Riemann et al., 1989). Hamilton & Lewis (1992) obtiveram razões entre 29 e 114 em amostras da planície de inundação do rio Orinoco, separadas por gravimetria em sílica coloidal.

Com base nesse levantamento, neste trabalho, amostras com valores de C:Clor inferiores a 100 foram consideradas como frações de matéria orgânica particulada relativamente puras em algas (MOP algácea = MOPa = *alga*), enquanto amostras com C:Clor maiores do que 100 foram consideradas como frações de matéria orgânica particulada com predominância de detritos (MOP algas + detritos = MOPad = *detrito*).

As amostras de produtores primários não foram tratadas com ácido diluído, pois as águas superficiais da região, em geral, não são sujeitas à

precipitação de carbonatos (Hamilton et al., 1995). Além disso, acidificação pode provocar alterações nos valores isotópicos de nitrogênio (Bunn et al., 1995; Pinnegar & Polunin, 1999). Mesmo assim, alguns testes foram realizados para a presença de carbonatos inorgânicos que poderiam interferir na concentração e na razão isotópica de carbono (baseado em Hedges & Sterner, 1984). Um grupo representativo de amostras de seston e epifíton foi testado por acidificação em um frasco selado e medidas por cromatografia gasosa do CO₂ formado (“headspace”) foram realizadas. Não foram encontrados carbonatos acima do limite de detecção (0,006 mg CO₃-C), indicando uma contribuição insignificante para o carbono particulado total.

Algas filamentosas- Quando observados, agregados submersos de algas filamentosas foram coletados manualmente nos mesmos locais de amostragem do epifíton. No laboratório, o material foi lavado e examinado sob lupa e qualquer fragmento de invertebrados ou de plantas vasculares foi removido antes do procedimento padrão de secagem sobre filtros pré-calcinados à 60°C e moagem até pó fino.

3.4.2 Consumidores

Os consumidores foram classificados como consumidores primários e secundários. Para os propósitos deste estudo, consumidores primários são aqueles animais que reconhecidamente (ao menos em sistemas comparáveis) assimilam energia diretamente dos produtores primários ou de detritos. Assim, as espécies filtradoras, as raspadoras, e as quatro espécies de peixes detritívoros foram classificadas como consumidores primários. As espécies onívoras (basicamente coletores por reunião) e as predadoras foram classificadas como consumidores secundários.

a. Invertebrados

A fauna de macro-invertebrados epifíticos da baía do Castelo não tinha sido descrita anteriormente, assim, um estudo taxonômico foi realizado.²

Planctônicos- amostras de zooplâncton foram coletadas mensalmente (out./98 a set./99), concomitantemente com as amostras de microalgas, em um ponto central (Ponto 5) da baía do Castelo (Figura 5). A rede de plâncton, com 53 μ m de malha, foi passada sub-superficialmente com o barco à baixa velocidade em movimentos circulares, para obtenção de uma amostra concentrada. No laboratório, a amostra foi homogeneizada e recolhida em uma proveta de 1 litro coberta por folha de alumínio, permitindo que apenas 20% da parte superior da amostra ficasse exposta à luz. Este procedimento foi mantido por meia hora para que as algas presentes na amostra tendessem a se deslocar para a região iluminada da proveta e o zooplâncton (copépodos e cladóceros), de forma contrária, fosse induzido a migrar de acordo com o gradiente de luz para o fundo do recipiente, segundo o método descrito em Straskraba (1964).

Posteriormente, os organismos zooplanctônicos concentrados na parte escura do recipiente foram recolhidos do fundo da proveta por sucção e recebidos em filtro de fibra de vidro WHATMAN GF/F (previamente calcinados) para concentração do material e congelados. Quando outros materiais como algas filamentosas ou partes de animais fossem observados, tinha-se o cuidado de removê-los. De forma similar às demais amostras, posteriormente os filtros foram secos à 60°C e macerados a pó fino para a análise isotópica.

Epifíticos- macro-invertebrados epifíticos (fauna associada às raízes de macrófitas), dos quais fazem parte insetos aquáticos (fases adultas e larvais), moluscos, caranguejos e camarões, foram coletadas mensalmente, nos mesmos locais das coletas de epifíton (pontos 1, 2, 3 e 6, Figura 5), por meio de

² Barbosa & Calheiros, dados não publicados.

tela de malha de 1,0 mm colocada sob o banco de macrófitas, as quais eram então agitadas até que uma biomassa suficiente de invertebrados fosse coletada para as análises isotópicas.

Os organismos retidos na malha foram também triados em campo, em grupos afins e acondicionados em frascos a meio volume com água de torneira. No laboratório, os organismos epifíticos coletados foram mantidos por uma noite em água de torneira renovada para que esvaziassem o conteúdo estomacal. Amostras compostas, formadas por vários indivíduos dos diferentes locais, foram secas à 60°C e moídas a pó fino para análise isotópica. O número de animais amostrados variou de acordo com as fases hidrológicas.

Bentônicos- Os organismos bentônicos também foram coletados mensalmente (out./98 a set./99) por meio de draga de Petersen modificada, lançada repetidamente em diferentes pontos da baía a fim de se obter o maior número possível de organismos para análise isotópica. O sedimento da baía do Castelo é em geral formado por um lodo fino e anóxico. No campo, o sedimento amostrado foi lavado em peneiras de malhas de 1,0 mm e 0,5 mm e os organismos triados. Posteriormente, seguiam-se os mesmos procedimentos de limpeza do conteúdo estomacal, classificação taxonômica e preparação de amostras descritos acima.

Foram analisadas amostras totais dos organismos (corpo inteiro), exceto para camarões, caranguejos e moluscos, os quais tiveram, respectivamente, o exoesqueleto e a concha retirados, e apenas o tecido muscular foi analisado. Amostras de zooplâncton e de espécimes representativos dos macroinvertebrados foram preservadas em solução de formalina a 4% e álcool 70°GL, respectivamente, para identificação taxonômica. Os macroinvertebrados epifíticos e bentônicos foram identificados sob lupa, pelo menos em nível de Família de acordo com Merritt & Cummins (1996).

As amostras de seston e epifíton foram coletadas concomitantemente com as de zooplâncton, e no máximo em intervalos quinzenais com as de invertebrados epifíticos.

b. Peixes

Foram coletados peixes detritívoros de quatro espécies: *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847), ou curimatá (N= 20; Comprimento Total= $43,4 \pm 4,4$ cm; Peso= $1.271,1 \pm 449,8$ g), *Psectrogaster curviventris* (Eigenmann & Kennedy, 1903), ou sairu xororó (N= 21, CT= $15,6 \pm 0,9$ cm; P= $86,7 \pm 4,9$ g); *Potamorhina squamoralevis* (Braga & Azpelicuelta, 1983) ou sairu liso (N= 12; CT= $25,3 \pm 1,6$ cm; P= $233,4 \pm 49,1$ g) e *Liposarcus anisitsi* (Eigenmann & Kennedy, 1903), cascudo ou acari (N= 16; CT= $33,0 \pm 2,3$ cm; P= $496,9 \pm 134,7$ g).

As capturas foram realizadas na fase hidrológica entre cheia-vazante (jul./98 à set./98), por ser a fase em que os peixes retornam ao canal principal do rio, saindo das áreas inundadas onde se alimentaram por no mínimo 4 meses. A amostragem neste período evita a “memória isotópica” decorrente da dieta anterior (durante a estação seca), bem como aumenta a probabilidade de obter animais em equilíbrio isotópico com as dietas da fase de cheia, o principal período de crescimento.

Peixes adultos, medidos pelo comprimento total, foram capturados com tarrafa, rede de espera e de arrasto com distância de entre-nós entre 2-7cm, na área de planície entre o rio Paraguai e a baía do Castelo (entre os pontos 8 e 6), dentro do lago e em um braço do rio próximo à entrada da baía (ponto 9) (Figura 5). No laboratório, amostras de músculos de cada peixe (sem escamas, pele, ossos ou gordura macroscópica) foram retiradas preferencialmente da parte dorsal do corpo, secas à 60°C e moídas até pó fino.

4. RESULTADOS

A variação anual do nível limnimétrico do rio Paraguai, em Ladário, durante cada ano estudado (1997 a 2001) é mostrada na Figura 8. Durante o ano hidrológico de 1997-98, quando as plantas vasculares e os peixes foram amostrados, os níveis variaram entre 1,9 a 4,6 m (média= 3,3 m). No ano hidrológico seguinte, 1998-99, quando a maioria das amostragens foi realizada (algas, invertebrados, sedimento e água), os valores oscilaram entre 2,0 e 4,6m (média= 3,3 m), sendo felizmente muito similar ao ano anterior. O ciclo hidrológico subsequente, 1999-00, mostrou um período seco mais pronunciado (mínimo= 1,1 m) seguido de uma fase de enchente rápida que produziu condições favoráveis para a ocorrência do fenômeno da dequada (Calheiros & Hamilton, 1998). Por esta razão, durante o período de abr./00 a fev./01, amostras de água foram coletadas para análise de $\delta^{13}\text{C}$ do ΣCID a fim de se obter valores isotópicos extremos, devido ao aumento da participação do CO_2 livre isotopicamente bem mais empobrecido, resultante das taxas elevadas de decomposição na grande área recentemente submersa.

4.1 Compartimento Abiótico

4.1.1 Água

Algumas determinações limnológicas como temperatura, pH, condutividade, oxigênio dissolvido, gás carbônico livre e alcalinidade foram realizadas para caracterizar o sistema durante as campanhas de amostragem. As características físicas e químicas observadas foram típicas do sistema rio Paraguai-baía

do Castelo (Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1997). Em todo o sistema os valores de condutividade variaram entre 29,4 e 169,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, com os maiores valores ocorrendo no ponto 1, mais interno à baía e os menores, no próprio rio (ponto 8) e na área de inundação sob sua influência (ponto 6) (Figura 9). Durante todo o período de coletas a temperatura variou entre 18,0 e 33,3 $^{\circ}\text{C}$.

Figura 8 - Variação unimodal do nível limnimétrico do rio Paraguai medido na régua de Ladário – MS (pelo VI Distrito Naval da Marinha do Brasil) nos anos hidrológicos estudados (1997 a 2001).

Os valores de OD obtidos em todas as amostragens variaram de 0,1 a 8,7 mg/L e o CO_2 livre de 2,7 a 42,5 mg/L, ambos apresentando comportamento inverso (Figura 10). Os valores indicativos de anoxia ($< 1,0$ mg/L) foram mais pronunciados nos pontos 1 (local de remanso, no final do lago, onde predominam baixos fluxos de água) e 6, sendo que este sofre maior influência do rio, bem como da água de inundação que atravessa a área de planície próxima. Todo o sistema, incluindo o rio (ponto 8) e o ponto central da baía

(ponto 5, sujeito a ventos), estava anóxico entre os meses de abril e maio/99 (Figuras 5 e 10). Os pontos 1 e 5 são ilustrativos das condições extremas de concentração dos gases respiratórios passíveis de ocorrer na baía durante a dequada. O fenômeno da dequada ocorreu duas vezes durante o período estudado. O primeiro evento ocorreu entre abril-junho/99 e foi classificado como de moderada magnitude, pois se restringiu mais à área do lago. O outro, ocorrido em abril/00, teve uma abrangência bem maior, atingindo grande parte da planície de inundação à jusante de Corumbá, e foi classificado como de alta magnitude. Valores de CO_2L maiores do que 20 mg/L combinados com anoxia são associados a eventos de dequada de magnitude suficiente para provocar mortandade de peixes (Calheiros & Hamilton, 1998).

Figura 9 – Variação sazonal dos valores de condutividade elétrica dos pontos (1, 5 e 6) ao longo da baía do Castelo (Pantanal – MS) e do rio Paraguai (ponto 8), entre ago./98 a set./99.

O padrão marcadamente sazonal das águas do Pantanal também pode ser observado por meio da variação dos valores de pH que tendem a diminuir suas concentrações na fase de enchente-cheia, enquanto os de CO_2L , como visto, aumentam (Figura 11). Os pontos 8 e 6 foram os que apresentaram

valores de pH relativamente mais baixos em comparação com os pontos mais internos à baía (pontos 1 e 5). A comparação entre os valores de pH e CO_2L é importante para a compreensão do sinal isotópico do carbono do CID.

Os valores de concentração de CO_2L foram também comparados com os de HCO_3^- (Figura 12) para cada um dos pontos amostrados (pontos 1, 5, 6 e 8; Figura 5), sendo os mais contrastantes o ponto 1 (final da baía) e o 8 (rio) em relação às maiores diferenças na amplitude das concentrações. Houve um comportamento sazonal, seguindo as mudanças hidrológicas, mais pronunciado no ponto 1, que apresentou praticamente o dobro dos valores do ponto 5 e 6 e o triplo daqueles do rio (ponto 8). Porém, nos pontos 6 e 8 as concentrações de CO_2L aproximaram-se muito dos valores de HCO_3^- durante a fase de enchente, embora o ponto 1 chegasse a mostrar uma tendência à aproximação entre as duas concentrações no mês de maio/99, quando toda a baía estava sob dequada. Este comportamento sazonal é refletido nos valores correspondentes da razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$, média dos valores obtidos para todo o sistema rio-baía, atingindo valores acima de 0,5 durante a enchente (Figura 13a).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da ΣCID ($N=20$), coletados entre abr./00 e fev./01, oscilaram entre -17 e -11‰ (média ± 1 dp= $-15,4 \pm 1,5\text{‰}$) e apresentaram comportamento inverso aos da razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$, embora não significativo ($P > 0,05$) (Figura 13b). Ao se relacionar os valores de $\delta^{13}\text{C}$ da ΣCID com os de pH associados, somente nos pontos do rio, uma boa correlação linear foi observada (Figura 14) embora para um número pequeno de amostras ($r^2=0,459$; $P < 0,022$; $N=11$). Já os valores de CO_2L , calculados a partir dos fatores de fracionamento relativos à reação $\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$ (média= $8,7\text{‰}$, com temperaturas entre 18 e 31°C), variaram entre -23 e -18‰ (média= $-21,0 \pm 1,3\text{‰}$). O sinal de $\delta^{13}\text{C}$ do HCO_3^- , calculado a partir dos dados isotópicos do CID e CO_2 , variou de -14 a -10‰ (média= $-11,9 \pm 1,2\text{‰}$) (Figura 15).

Figura 10– Variação sazonal dos gases respiratórios CO₂L e OD na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e set./99, nos pontos 1 (A) 5 (B) 6 (C) e 8 (D).

Figura 11 - Variação sazonal dos valores de CO₂L em comparação com os de pH na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e set./99, nos pontos 1 **(A)** 5 **(B)** 6 **(C)** e 8 **(D)**.

Figura 12 – Variação sazonal das concentrações (mg/L) de CO₂L (símbolo escuro) e alcalinidade (HCO₃⁻, símbolo claro) na baía do Castelo (Pantanal - MS), nos pontos 1 (A), 5 (B) e 6 (C), e no rio Paraguai (D, ponto 8), ente ago/98 e set./99.

Figura 13 – **A**: Variação do nível limnimétrico do rio Paraguai, no período de ago/98 a set./99, com a correspondente variação da razão média $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ na baía do Castelo (Pantanal - MS); **B**: Variação do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ -CID (‰) comparados aos valores da razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ no rio Paraguai, à montante de Corumbá (MS), entre abr./00 e fev./01.

Neste período de coletas de CID, as concentrações correspondentes de CO_2 livre, variaram de 2,2 a 26,6 mg/L e as de pH entre 6,3 e 7,2.

Figura 14 – Relação entre $\delta^{13}\text{C}$ do CID e pH no canal principal do rio Paraguai, à montante de Corumbá (MS), durante o período de abr./00 a fev./01.

Os valores isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de COP para os pontos mais internos e contrastantes da baía (pontos 1 e 5) e para o rio (ponto 8) (Figura 16), também seguiram de certa forma o padrão sazonal, com valores mais negativos ou empobrecidos na enchente-cheia e o oposto na vazante-seca, principalmente no ponto 5. Os sinais isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ de COP como um todo ($N=70$) variaram entre -39 e -22‰ (média= $-29,6 \pm 2,9\text{‰}$) e entre -0,4 e 5,7‰ (média= $2,7 \pm 1,4\text{‰}$), para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente.

A composição isotópica de carbono em especial foi variável entre os pontos de coleta. O ponto 5 mostrou valor médio ($-29,0 \pm 1,9\text{‰}$) e faixa de variação menor comparada ao do ponto 1 (média= $-32,2 \pm 3,0\text{‰}$), o qual oscilou em um nível bem mais empobrecido em ^{13}C , apresentando os valores mais negativos durante águas altas. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do rio Paraguai (ponto 8), variaram em uma faixa mais enriquecida ainda ($-27,2 \pm 1,7\text{‰}$). O ponto 1, como visto, é um local com baixa renovação de água que favorece a ocorrência de concentrações de CO_2 mais elevadas e valores de COP relativamente mais ^{13}C -empobrecidos praticamente durante todo o ano. Um exemplo é o valor mais

negativo (-39,2‰) obtido durante a estação seca (set./98), que coincidiu com o valor mais negativo de *alga* (-34,5‰), em amostra de epifíton; 70% das amostras de COP investigadas (N= 26) neste ponto foram inferiores a -30‰. Porém, embora a análise gráfica do comportamento sazonal entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de COP e os de CO_2L correspondentes sugira uma correlação negativa (Figura 17), não houve significância ($P > 0,05$) entre eles. Apenas um pequeno número de resultados isotópicos de COP do ponto 6 foram obtidos, não podendo ser utilizados em uma análise sazonal.

As razões isotópicas de nitrogênio das amostras de COP, por sua vez, mostraram claro padrão sazonal apenas para os pontos 5 e 8, já que o ponto 1 apresentou muitas oscilações, mas variando em uma faixa de amplitude tipicamente mais empobrecida (Figura 16).

Figura 15 – Variação do sinal isotópico de carbono ($\delta^{13}\text{C}$ ‰) da ΣCID e de suas frações (CO_2L) e (HCO_3^-), calculados a partir do pH, temperatura e do respectivo fracionamento isotópico, coletados no rio Paraguai, num ponto entre a cidade de Corumbá e a baía do Castelo, durante abr./00 e fev./01.

Figura 16 - Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do carbono orgânico particulado (COP) dos pontos 1 (A), 5 (B) e 8 (C), coletados na baía do Castelo (Pantanal – MS), entre set./98 e set./99.

Figura 17 – Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ do carbono orgânico particulado (COP) dos pontos 1 (A), 5 (B) e 8 (C) em comparação com os valores correspondentes de CO_2 livre da baía do Castelo (Pantanal – MS), durante o período de set./98 a set./99.

As concentrações das diferentes frações de NID variaram entre 1,2 e 12,0 $\mu\text{g/L}$ para NH_4^+ e entre 6,5 e 122,8 $\mu\text{g/L}$ para NO_3^- . Entretanto, como houve falha na seqüência de dados no período de ago./98 a out./99 (fase I), dados referentes à seqüência de nov./99 a dez./00 (fase II) foram incluídos para melhor visualização do padrão sazonal das respectivas concentrações, apenas sugerido na fase anterior (Figura 18). Na segunda fase, as concentrações variaram (em $\mu\text{g/L}$) entre 1,2 e 12,4 para amônio e entre 2,8 a 170,5 para nitrato. As concentrações de N_{Total} foram muito semelhantes entre as fases, variando entre 240 a 800 $\mu\text{g/L}$ na fase I e entre 190 a 800 $\mu\text{g/L}$ na fase II. O padrão sazonal das frações de NID, em geral, caracterizou-se por um aumento das concentrações durante a fase de vazante-seca e um declínio pronunciado na fase de enchente-cheia.

Figura 18 – Variação sazonal dos valores de NID, como NO_3^- e NH_4^+ no rio Paraguai, num ponto bem próximo à montante da cidade de Corumbá (MS), e à jusante da baía do Castelo, no período de ago./98 a dez./00.

4.1.2 Sedimento

A variação sazonal não foi tão evidente para ambas as razões isotópicas nas amostras de matéria orgânica do sedimento recém depositada (MOS), tanto no ponto 4 como no 6. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ mostraram menor variação sazonal no ponto 6 (próximo ao rio, apenas 3‰) do que no ponto 4 (região interna da baía, ~7‰), ambos apresentando valores ^{13}C -empobrecidos no período de águas altas (Figura 19). Para $\delta^{15}\text{N}$, o padrão observado foi o oposto, com variação mais ampla para o ponto 6, incluindo um valor negativo (-0,09‰) e os valores do ponto 4, ao contrário, tendendo ao enriquecimento em ^{15}N no início da enchente. A variação geral dos dados foi entre -28,2 e -20,1‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e entre -0,1 e 3,3‰ para $\delta^{15}\text{N}$. Os valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente, foram $-25,0 \pm 1,8\text{‰}$ e $2,2 \pm 1,0\text{‰}$, para o ponto 4, e $-27,5 \pm 0,8\text{‰}$ e $1,2 \pm 0,7\text{‰}$, para o ponto 6.

4.2 Compartimento Biótico

4.2.1 Produtores Primários

a. Plantas Vasculares

Como visto, foram amostradas as várias fitofisionomias da baía: as formações homogêneas (cambarazal e carandazal), a mata ciliar e as gramíneas, arbustos e macrófitas aquáticas do campo inundável. A mata decídua já havia sido amostrada por Bezerra (1999), que observou somente uma composição de plantas C_3 variando de -32,0 a -26,8‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e de 6,0 a 14,7‰ para $\delta^{15}\text{N}$, incluindo ainda duas espécies de cactáceas (CAM) uma com valor de $\delta^{13}\text{C}$ igual a -13,5‰ e de $\delta^{15}\text{N}$ de 14,0‰, *Aporocactus flagelliformis* (L.) Lem., e a outra, *Pereskia sacharosa* Gris., com valores mais empobrecidos -27,8‰ e 11,7‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, respectivamente.

Figura 19 - Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ da matéria orgânica do sedimento superficial (MOS) dos pontos 4 (A) e 6 (B), coletados na baía do Castelo (Pantanal – MS) entre set./98 a set./99.

Dados fitossociológicos foram analisados para árvores e arbustos do cambarazal e mata ciliar por meio de um programa computacional específico (Shepherd, 1988). No Cambarazal, foram amostrados 76 indivíduos de 10 espécies e, como o próprio nome já indica, domina a árvore cambará (*Vochysia divergens* Pohl), baseado nos valores de Índice do Valor de Cobertura (IVC), que é a somatória da densidade relativa e da dominância relativa. Assim sendo, *V. divergens* apresentou uma cobertura maior (IVC= 112), seguida por *Inga vera* spp. *affinis* (DC) T.D. Penn (IVC= 29) e pelas espécies *Eugenia pseudoverticillata* S. Moore (IVC= 20) e *Licania parvifolia* Hub. (IVC= 9). Nesta área havia muitas árvores mortas, possivelmente por corte seletivo de madeira com IVC= 16.

Na mata ciliar, 120 árvores de 18 espécies foram mensuradas e foram 92 os arbustos amostrados, pertencentes a 15 espécies. Neste ambiente, quanto aos indivíduos arbóreos, *Inga vera* spp. *affinis* predominou (IVC= 81), seguida de *Vitex cymosa* Bert. (IVC= 23), *Myrcia fallax* (L.C. Rich.) DC. (IVC= 17), *Sapium obovatum* Klotzsch (IVC= 15) e *Crataeva tapia* L. (IVC= 13). Também havia muitas árvores mortas, provavelmente devido à inundação freqüente (ICV= 13). Já quanto aos arbustos, *Bonafousia siphilitica* (L.f.) L. Allorge (IVC= 62), *Myrcia fallax* (IVC= 57), *Lacistema* sp. (IVC= 13), *Crataeva tapia* L. (IVC= 12) e *Pouteria glomerata* (Miq.) Radlk. (IVC= 10) foram as espécies com maior cobertura.

Áreas homogêneas denominadas “carandazal”, em que predominavam palmeiras da espécie *Copernicia alba* Morong (carandá), também foram observadas na área de inundação.

O número total de espécies de gramíneas, plantas herbáceas, arbustos, e macrófitas aquáticas e semi-aquáticas em processo de desidratação ou senescência, observadas na área de inundação na fase de seca foi 34. Durante o período de inundação foram amostradas plantas aquáticas (emergentes, flutuantes e submersas) e semi-aquáticas (N= 56), que colonizavam grande parte da planície de inundação.

A espécie com maior cobertura na estação seca foi a gramínea *Oryza* spp., abrangendo cerca de 23% da área investigada. As outras espécies foram: *Aspilia latissima* Malme (14%), *Polygonum acuminatum* H.B.K. (10%), *Oxycarium cubense* (Poepp. & Kük.) Lye (8,5%), *Leersia hexandra* Sw. (8%), *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms (5,4%), *Ipomoea carnea* ssp. *fistulosa* (Mart. ex Choisy) D.F. (5,4%) e *Panicum elephantipes* Nees (5%, planta C₄). Na fase de cheia, as espécies mais abundantes foram: *E. crassipes* (com maior cobertura= 16%), *Hymenachne amplexicaules* (Rudge) Nees (14%), *P. acuminatum* (8%), *Oryza glumaepatula* Steud. (7%), *A. latissima* (6%), *Eichhornia azurea* (Sw.) Kunth (5%), *Cissus spinosa* Camb. (4%) e *Paspalum repens* Berg. (3,5%), esta última também do grupo C₄.

Pela análise fitossociológica constata-se, portanto, que a maioria das espécies amostradas pertenceu ao grupo fisiológico C₃ (Figura 20), inclusive aquelas amostradas por Bezerra (1999). As plantas C₃ apresentaram também a maior cobertura, abrangendo 100% nas fitofisionomias do cambarazal e mata ciliar e cerca de 90% no campo inundável, tanto na seca quanto na cheia. As plantas C₄ corresponderam à menor proporção da cobertura vegetal investigada por meio dos transectos em ambas as fases de seca (6%) e cheia (7%). Apenas 6 espécies de plantas C₄ foram amostradas: *P. elephantipes*, *P. repens*, *Echinochloa polystachya* (H.B.K.) Hitchc., *Luziola subintegra* Swallen, *Andropogon bicornis* L. e *Cyperus cf. digitatus* Roxburgh. Bezerra (1999) cita ainda duas espécies de plantas C₄ na baía do Castelo não amostradas neste trabalho, provavelmente por apresentarem baixa cobertura: a gramínea, *Imperata tenuis* Hack. ($\delta^{13}\text{C} = -14,3\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 1,0\text{‰}$), e a ciperácea, *Cyperus giganteus* Vahl. ($\delta^{13}\text{C} = -12,1\text{‰}$ e $\delta^{15}\text{N} = 3,1\text{‰}$).

Foram analisadas isotopicamente 88 espécies. Na Figura 20, pode-se observar a distribuição em termos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos valores das plantas vasculares, terrestres e aquáticas, coletadas na baía do Castelo, evidenciando a distinção do sinal do carbono entre plantas de metabolismo fotossintético C₃, com valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -33,5 a -25,4‰ (média= $-29,5 \pm 1,6\text{‰}$) e de $\delta^{15}\text{N}$ de

Figura 20 – Distribuição das frequências de valores de $\delta^{13}\text{C}$ (**A**) e $\delta^{15}\text{N}$ (**B**) de plantas vasculares, terrestres e aquáticas, coletadas na baía do Castelo (Pantanal – MS) em dez./97 (seca) e jun.-jul./98 (cheia).

-2,0 a 9,9‰ (média= $3,5 \pm 2,2\text{‰}$), e plantas do ciclo C_4 (apenas 6 espécies), cujos valores de $\delta^{13}\text{C}$ variaram entre -15,3 a -11,4‰ (média = $-12,3 \pm 1,0\text{‰}$) e os de $\delta^{15}\text{N}$ de -1,3 a 6,9‰ (média= $4,0 \pm 2,3 \text{‰}$) (Tabela 1). Pode-se observar também a presença de grupos de plantas fixadoras de N_2 (valores baixos e/ou negativos de $\delta^{15}\text{N}$) e de não-fixadoras.

Em particular, os valores isotópicos das partes emergentes de macrófitas em conjunto com as macrófitas flutuantes não diferiram da faixa de variação

total das plantas vasculares C_3 , com valores de $\delta^{13}C$ entre -32,2 a -26,9‰ (média= $-29,1 \pm 1,0$ ‰) e para $\delta^{15}N$ entre -1,0 a 9,9‰ (média= $4,1 \pm 2,6$ ‰). Um fato interessante foi que 38% das espécies C_3 (31 espécies) mostraram valores empobrecidos em ^{13}C (< -30 ‰) e destas, 23% (7 espécies) pertenceram às espécies de árvores e arbustos mais abundantes da mata ciliar. Além disso, entre essas 31 espécies ^{13}C -empobrecidas, apenas três eram aquáticas: *Salvinia auriculata* Aubl. (emergente, -30‰), *Discolobium pulchellum* Benth. (semi-aquática, -31‰) e *Nymphaea* cf. *oxypetala* Planch. (submersa, -32‰).

b. Algas

Medidas de carbono e clorofila indicaram que a separação, via gradiente de densidade em sílica coloidal, entre microalgas e detritos componentes dos compartimentos seston e epifítton não teve a eficiência esperada em grande parte das amostras. As razões Carbono:Clorofila (C:Clor) indicaram a presença relativamente expressiva de matéria orgânica algácea (baixos valores de C:Clor) em ambas as frações resultantes. A matéria orgânica particulada (MOP) sestônica e epifítica e as respectivas frações de MOP foram, deste modo, denominadas mais apropriadamente como “leve” e “pesada”, ao invés de “algácea” e “detrital” como proposto pelo método (Hamilton & Lewis, 1992). A observação de algumas amostras por microscopia óptica confirmou contaminação por detritos amorfos na fração leve e presença de algas, como diatomáceas e euglenas, na fração pesada.

Os sinais isotópicos dos valores de MOP_{Total} (sem separação por C:Clor <100) variaram, em geral, entre -35,7 e -23,8‰ para carbono e entre -2,8 e 8,4‰ para nitrogênio (Figura 21). O padrão sazonal foi muito consistente tanto para amostras sestônicas como para as epifíticas, em suas frações leve e pesada, bem como para ambos os isótopos estáveis analisados, mostrando claramente valores mínimos no período de enchente-cheia, entre janeiro e junho/99, como resposta diferenciada de cada compartimento ao início e declínio das condições de dequada.

Tabela 1 – Valores máximos, mínimos e médios de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos organismos amostrados na baía do Castelo (Pantanal – MS) identificados por números, incluindo os respectivos habitats (EPI = epífiton; PL= plâncton; BE= bentos) e grupos funcionais (COL RE= coletor por reunião; COL FI= coletor Filtrador; PR= predador; RA= raspador), sendo o período total de coletas entre dez./97 e dez./99.

Grupo	Táxon	Ident.	N	δ ¹³ C (‰)			δ ¹⁵ N (‰)			Habitat	Grupo Func.
				Mín.	Máx.	Média	Mín.	Máx.	Média		
Produtores Primários											
Árvores, arbustos, gramíneas		C3	141	-33,5	-25,4	-29,5	-2,0	9,9	3,5		
Gramíneas		C4	12	-15,3	-11,4	-12,3	-1,3	6,9	4,0		
Chlorophyta Filamentosa		Chlo.	14*	-36,9	-23,8	-30,7	-4,8	9,0	4,7		
Cyanobacteriales Filamentosa		Cya.	8*	-29,2	-24,3	-26,8	-6,3	1,4	-1,3		
MOP Algácea** (alga)		MOPa	33	-34,5	-26,9	-29,3	-2,1	6,0	2,1 ^a		
MOPAlgas+Detritos** (detrito)		MOPad	97	-35,7	-23,8	-28,4	-2,8	8,4	2,9 ^b		
Epifítica			78	-35,7	-26,2	-28,6	-2,8	6,4	2,7		
Sestônica			19	-29,6	-23,8	-27,2	0,3	8,4	3,6		
alga (ponto 7)				-33,3	-26,9	-29,2	-2,1	4,8	2,6		
COP (ponto 5)				-32,5	-26,0	-29,0	1,5	5,0	3,1		
Invertebrados											
Hydrophilidae		1	9*	-35,9	-31,6	-34,2	2,6	4,7	3,4	EPI	COL - PR
Dystiscidae		2	8*	-34,2	-30,9	-33,0	4,6	6,5	5,4	EPI	PR
Gyrinidae		3	3*	-34,8	-32,0	-33,3	5,5	6,7	6,3	EPI	PR
Naucoridae		4	9*	-39,4	-29,6	-33,9	3,6	6,2	4,8	EPI	PR
Belostomatidae	Belostoma sp.	5	10*	-34,2	-29,6	-31,7	5,1	9,4	6,3	EPI	PR
Gerridae		6	8*	-40,1	-29,5	-35,6	5,7	7,3	6,4	EPI	PR
Libellulidae		7	9*	-36,7	-32,0	-34,8	4,3	6,4	5,6	EPI	PR
Aeshnidae		8	5*	-37,2	-31,2	-33,3	5,8	7,8	6,8	EPI	PR
Coenagrionidae		9	7	-35,6	-33,3	-34,3	5,2	6,5	5,9	EPI	PR
Culicidae		10	6*	-42,5	-36,5	-38,9	2,8	4,8	4,0	EPI	COL RE
Chironomidae		11	3*	-36,5	-29,8	-33,5	4,0	8,4	6,0	EPI	COL RE
Chironomidae		12	72	-62,4	-49,4	-55,5	-5,3	-0,8	-3,1	BE	COL RE
Baetidae		13	9*	-39,0	-30,9	-36,5	2,7	7,5	5,1	EPI	COL FI - COL RE
Baetidae		14	3*	-38,0	-34,4	-36,4	4,9	6,3	5,5	EPI	COL FI
Ephemeridae	Campsurus sp.	15	105	-41,4	-34,3	-38,7	3,4	5,9	4,8	BE	COL RE
Cycletheriidae		16	7*	-39,3	-34,4	-38,0	-2,1	11,5	4,1	EPI	COL FI
Palemonidae	Macrobrachium sp	17	50	-31,6	-31,0	-31,3	8,8	9,0	8,9	EPI	COL RE
Trichodactylidae	Trichodactylus sp	18	32	-32,3	-26,6	-30,0	3,2	8,7	6,0	EPI	COL RE
Zooplâncton		19	16*	-42,7	-31,6	-36,5	3,7	10,3	6,3	PL	COL FI
Ampulariidae	Pomacea linearis	20	48	-30,9	-28,3	-29,6	2,4	5,2	3,8	EPI	RA
	Pomacea scalaris	21	17	-29,9	-27,5	-28,4	3,1	5,8	4,5	EPI	RA
Ancylidae	Gundlachia sp	22	9	-31,6	-19,8	-26,3	4,9	6,2	5,5	EPI	RA
Mytilidae	Limnoperna fortunei***	23	20			-34,5			5,0	BE	COL FI
Peixes											
Prochilodontidae	P. lineatus	24	20	-36,9	-25,8	-33,0	6,0	9,2	7,3	BE	COL RE
Curimatidae	P. curviventris	25	21	-39,0	-29,9	-37,2	7,1	8,8	8,0	BE	COL RE
	P. squamorailevis	26	12	-38,3	-34,8	-36,9	6,1	8,1	7,1	BE	COL RE
Loricariidae	L. anisitsi	27	16	-35,7	-33,1	-34,3	6,3	8,7	7,2	BE	RA

*No. de amostras compostas com vários organismos

**Predominante

***espécie exótica

^a N=29

^b N=96

Parece acontecer ainda uma certa defasagem no princípio da ocorrência dos valores mínimos de $\delta^{13}\text{C}$ entre o seston (janeiro e fevereiro) e o epifíton (maio e junho).

O sinal médio das amostras pré-centrifugação, foi de $-28,9 \pm 2,3\text{‰}$ para $\delta^{13}\text{C}$ (variando entre $-33,3$ e $-24,6\text{‰}$) e $3,0 \pm 1,6\text{‰}$ (entre $-0,5$ e $5,5\text{‰}$) para $\delta^{15}\text{N}$, apresentando valores isotópicos de carbono um pouco mais negativos do que as amostras “pós”, resultantes da maior presença de algas, e valores de nitrogênio bem variáveis. As amostras pós-centrifugação, que representam também a fração detrital do seston, variaram de $-31,2$ a $-25,5\text{‰}$ (média= $-28,2 \pm 1,5\text{‰}$) para $\delta^{13}\text{C}$ e entre $-2,1$ e $6,3\text{‰}$ (média= $2,6 \pm 2,0\text{‰}$) para $\delta^{15}\text{N}$. Na Figura 22, pode-se observar a variação dos valores isotópicos dessas sub-amostras para o ponto 7. Entre as sub-amostras houve diferenças nos valores de C:Clor, sendo mais baixos nas amostras pré-centrifugação (média= $163,0 \pm 70,6$, variando de 71 a 341) e mais altos ($353,4 \pm 176,3$, entre 116 e 756) nas amostras pós-centrifugação.

As amostras de clorofila-*a* e CN foram analisadas somente após 4 a 20 semanas e os dados de clorofila, em particular, poderiam ter sofrido alterações devido às condições de transporte e demora no processamento. Entretanto, esta possibilidade foi refutada, uma vez que os resultados apresentaram boa consistência não indicando perda de qualidade. A variação temporal dos valores de clorofila-*a* das amostras de *alga* dos diversos pontos de amostragem sugeriu uma correlação com os respectivos valores de $\delta^{13}\text{C}$, embora não tenha sido significativa ($P > 0,05$). Por outro lado, ambas variáveis foram analisadas independentemente, a partir de sub-amostras diferentes e por diferentes equipamentos, sendo, portanto, um forte indicativo quanto à qualidade dos dados (Figura 23a,b). Além disso, os dados de clorofila-*a* variaram entre 0,2 e 2,0 $\mu\text{g/L}$, sendo compatíveis com os valores obtidos em outra pesquisa na mesma baía (Oliveira & Calheiros, 2000).

Figura 21 - Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das frações Leve e Pesada da Matéria Orgânica Particulada Total ($\text{MOP}_{\text{Total}}$) sestônica (SL e SP), do ponto 7 (**A** e **B**), e epifítica (EL e EP), do ponto 2 (**C** e **D**), antes da seleção por $\text{C:Clor} < 100$, coletada na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre ago./98 e out./99; as linhas tracejadas delimitam a fase de enchente-cheia.

Figura 22 - Variação sazonal de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e $\delta^{15}\text{N}$ (B) das amostras de seston pré- e pós-centrifugação contínua referentes ao ponto 7, coletadas na baía do Castelo (Pantanal - MS) durante o período de out./98 a set./99.

A razão C:Clor foi útil para distinguir amostras com contaminação por detrito. As razões C:Clor < 100 foram consideradas indicativas de amostras relativamente puras em algas (MOPa= *alga*), enquanto aquelas com C:Clor > 100 foram consideradas indicativas de contaminação elevada por detrito e classificadas como predominantemente detritais (MOPad= *detrito*). Em geral, os valores de C:Clor variaram entre 30 e 648, em ambas as frações (leve e pesada) e em ambos os compartimentos, sendo que 26% das amostras apresentaram razões menores do que 100, 62% das quais pertenceram a amostras sestônicas.

As amostras predominantemente algáceas não mostraram diferenças significativas (Teste - *t*, $P > 0,05$), tanto para $\delta^{13}\text{C}$ quanto para $\delta^{15}\text{N}$, entre as frações leve e pesada, para cada compartimento em separado. Quando os valores isotópicos das amostras de *alga* (fração leve mais a pesada) do epifítton e do seston foram contrastados, também se mostraram similares ($P > 0,05$). Desta forma, os valores de *alga* foram combinados e considerados como uma única categoria geral de MOP algáceo, variando entre -34,5 e -26,9‰ (média= $-29,3 \pm 1,7\%$) para $\delta^{13}\text{C}$ e de -2,1 a 6,0‰ (média= $2,1 \pm 2,0\%$) para $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 1). Excetuando o valor -34,5‰ de $\delta^{13}\text{C}$, por ter ocorrido uma única vez, o valor seguinte mais negativo da faixa de variação passa a ser -31,1‰.

Somente o compartimento sestônico apresentou a proporção mais alta (54%) de amostras consideradas *alga* pela razão C:Clor, das quais a maior parte (40%) pertenceu ao ponto 7. Destas amostras de MOP_{Total} sestônica do ponto 7, 70% foram classificadas como *alga*, sendo possível, então, valer-se da variação sazonal dos dados isotópicos e de clorofila (Figuras 23b e 24a,b). As amostras com valores de C:Clor > 100 (representando misturas de MOP algáceo + detritos= *detrito*) variaram entre -35,7 e -23,8‰ para a razão isotópica de carbono e entre -2,8 e 8,4‰ para a de nitrogênio, para ambas as frações leve e pesada e para ambos os compartimentos, epifítico e sestônico.

Figura 23 - Variação temporal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, de *alga* (MOPa) sestônica (C:Clor < 100) e dos valores de clorofila-*a* correspondentes **(A)** dos dois locais de amostragem (pontos 4 e 7) em conjunto (observar escala alterada dos meses) e **(B)** apenas do ponto 7, coletada na baía do Castelo (Pantanal – MS), entre set./98 a set./99.

Figura 24 – Variação sazonal (**A**) da concentração de clorofila-a (µg/L) no ponto 7, em contraste com a do nível do rio Paraguai (Ladário – MS) e com a dos valores médios da razão CO₂/HCO₃⁻; e (**B**) das composições isotópicas δ¹³C e δ¹⁵N em MOP_{Total} do ponto 7; observar que as amostras consideradas *alga* (C:Clor < 100) estão identificadas pelo símbolo escuro, para ambos os isótopos.

Como para *alga*, as amostras de *detrito* não mostraram diferenças significativas, para ambos os isótopos, entre as frações leve e pesada de cada compartimento em separado. Entretanto, amostras de *detrito* do epifítion (fração leve + pesada) foram significativamente diferentes em $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ ($P < 0,0003$ e $P < 0,05$, respectivamente) comparadas com as de *detrito* sestônico (Tabela 1).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* foram significativamente diferentes daqueles de *detrito*, tanto para as amostras epifíticas ($P < 0,05$) quanto sestônicas ($P < 0,0001$). Para $\delta^{15}\text{N}$, os dados de *alga* mostraram diferença estatística ($P < 0,05$) apenas para *detrito* sestônico (Tabela 1, Figura 25).

Por outro lado, houve uma sobreposição entre os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ das plantas C_3 e aqueles de *alga* (significativamente semelhantes, $P > 0,05$) (Figura 26), mas houve diferença significativa quando comparadas com os sinais de *detrito* ($P < 0,0001$), tanto epifítico quanto sestônico. Plantas C_3 comparadas com *alga* e plantas C_3 com *detrito* epifítico mostraram diferença significativa em seus valores de $\delta^{15}\text{N}$ ($P < 0,0003$ e $P < 0,003$, respectivamente), em oposição à plantas C_3 comparadas com *detrito* sestônico ($P > 0,05$).

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* foram observados excepcionalmente empobrecidos ($< -30\text{‰}$) apenas em seis ocasiões. O primeiro e o mais empobrecido valor de $\delta^{13}\text{C}$ ocorreu na fase de descida das águas ($-34,5\text{‰}$, set./98) em amostra de epifítion, no ponto com baixo fluxo de água (ponto 1). Os outros três valores relativamente mais negativos ocorreram durante o período de enchente (fev./99) nos dois locais onde amostras sestônicas foram coletadas ($-32,8\text{‰}$ - ponto 4; $-30,8$ e $-33,3\text{‰}$ - ponto 7). Quando a massa de água passa por sobre o dique marginal do rio atravessando a planície, à montante da entrada principal da baía, estes locais são os primeiros a recebê-la, lavando a terra seca e a vegetação e promovendo os primeiros efeitos da dequada; dependendo do nível do rio, esta massa de água pode alcançar consecutivamente os pontos 7, 4 e, por fim, os pontos 2 e 1 (Figura 5). Cabe lembrar que nessas ocasiões as concentrações dos gases respiratórios estavam bem contrastantes,

Figura 25 - Composição isotópica média de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes primárias (MOPa = *alga*, MOPad = *detrito*, plantas C_3 e C_4 , algas filamentosas (clorofíceas – Chlo. e cianobactérias – Cya.) e de todos os consumidores analisados (ver identificação na Tabela 1). Notar triângulo teórico formado pelas composições isotópicas das fontes primárias consideradas (C_3' , C_4' e MOPa') corrigidas para um nível trófico ($+1,0\text{‰} = \delta^{13}\text{C}$ e $+3,4\text{‰} = \delta^{15}\text{N}$), segundo Phillips (2001). Barras de erro, para as fontes primárias são ± 1 erro padrão da média. Os Chironomidea bentônicos (no.12) são mostrados à direita em destaque.

(OD= 1,5mg/L e CO₂L= 24,7mg/L, em set./98, e OD= 0,14mg/L e CO₂L= 20,3mg/L em fev./99), evidenciando a influência das condições de dequada considerada de moderada à baixa magnitude. Os últimos dois casos aconteceram, respectivamente, para algas sestônicas (-30,3‰, novamente no ponto 7) durante a dequada de abr./99, restrita à região do lago (OD= 0,07 mg/L e CO₂L= 24,9 mg/L), e no ponto 2 para amostras epifíticas (-31,1‰) em jun./99, já no final do fenômeno (OD= 0,64 mg/L e CO₂L= 18,7 mg/L) (Figura 21).

Figura 26 - Composição isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos produtores primários vasculares C₃ (quadrado vazio) e C₄ (triângulo vazio) e das algas epifíticas e sestônicas (círculo preto) classificadas como *alga* (MOPa) pela razão C:Clor < 100, amostrados na baía do Castelo (Pantanal – MS), entre dez./97 a set./99.

Igualmente ao que ocorreu com as amostras de COP, embora os gráficos de variações sazonais tenham sido sugestivos de correlação negativa entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* (ponto 7) e os de CO₂L, não houve significância ($P > 0,05$) (Figura 27). Também não foi significativa a correlação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* do ponto 7 e os de clorofila-*a* correspondentes, nem destes com os valores de concentração de CO₂L (Figuras 23b e 27).

Durante o começo da enchente, um valor negativo de $\delta^{15}\text{N}$ foi encontrado na amostra de *alga* sestônica do ponto 4 (-0,95‰, fev./99). Contudo, a composição isotópica de nitrogênio apresentou maior incidência de valores negativos durante o período de dequada de abril-maio/99, principalmente nas amostras de *detrito* epifíticas dos pontos 1, 2 e 3 (-2,3 a -0,1‰). Nesta fase, esta particularidade ocorreu novamente em amostras de *alga* sestônica, mas no ponto 7 (-2,1 e -0,7‰). A Figura 21, embora mostrando sinais de $\text{MOP}_{\text{Total}}$, antes da separação pela razão C:Clor <100, mostra alguns desses valores ^{15}N -empobrecidos para amostras de *detrito* epifítico (ponto 2) e na Figura 24b o de *alga* sestônica do ponto 7.

Os valores para a relação C:N de amostras de *alga* variaram entre 5,5 e 14,3 (N= 33), e os de *detrito* entre 5,1 e 16,0 (N= 97), não apresentando diferenças significativas ($P > 0,05$).

Algas Filamentosas- O sinal isotópico de $\delta^{13}\text{C}$ das algas filamentosas variou numa faixa similar à das microalgas, entretanto apresentando sinais de nitrogênio mais variáveis (Figura 25). As algas filamentosas do grupo das clorofíceas variaram numa faixa mais ^{13}C -empobrecida, entre -36,9 e -23,8‰ (média= $-30,7 \pm 4,3\%$) para $\delta^{13}\text{C}$ e de -4,8 a 9,0‰ (média= $4,7 \pm 3,6\%$) para $\delta^{15}\text{N}$; o valor negativo para a razão isotópica de nitrogênio foi observado em uma única ocasião (ago./99).

Inversamente, para as algas filamentosas do grupo das cianobactérias coloniais, os valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ foram comuns, sendo que o valor mais negativo aconteceu em abr./99, e os relativamente mais positivos foram encontrados apenas duas vezes, coincidindo com os eventos de dequada de maio/99 e abril/00. A razão isotópica de nitrogênio variou de -6,3 a 1,4‰ (média= $-1,3 \pm 2,3\%$) e para carbono a variação se deu em um patamar mais enriquecido, entre -29,2 e -24,3‰ (média= $-26,8 \pm 1,6\%$) (Tabela 1, Figura 25). Entretanto, os dois grupos não apresentaram uma abundância expressiva ao longo da baía, sendo mais freqüentemente encontradas apenas em três pontos (1, 3 e 6).

Figura 27 - Variação sazonal da composição isotópica de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* no ponto 7 em relação aos níveis de CO_2 dos pontos 1 (A) e 5 (B) e das concentrações correspondentes de clorofila-a também comparadas aos valores de CO_2 dos pontos 1 (C) e 5 (D), amostrados entre set./98 e set./99 na baía do Castelo (Pantanal – MS).

4.2.2 Consumidores

A faixa de variação geral para todos os consumidores estudados (N=226), com exceção dos Chironomídeos bentônicos, esteve entre -43 e -20‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e para $\delta^{15}\text{N}$, entre -2 a 11,5‰, com médias de $-34,1 \pm 3,6\text{‰}$ e $5,9 \pm 1,8\text{‰}$, respectivamente.

a. Invertebrados

Os invertebrados estudados do epifítton e do plâncton (Tabela 1, Figura 25), coletados ao longo de um ciclo hidrológico, pertenceram aos grupos:

- Classe Insecta com as Ordens: Coleoptera (Hydrophilidae, Dytiscidae, Gyrinidae), Hemiptera (Naucoridae, Belostomatidae, Gerridae), Odonata (Anisoptera e Zygoptera), Diptera (Culicidae e Chironomidae), e Ephemeroptera (Ephemeridae, Baetidae);
- Classe Gastropoda com as Ordens: Mesogastropoda (Ampulariidae - *Pomacea linearis*, *Pomacea trapezialis*), e Basommatophora (Ancylidae - *Gundlachia sp*);
- Classe Bivalvia com a Ordem: Filibranchiata (Mytilidae - *Limnoperna fortunei* – espécie exótica);
- Classe Crustacea com as Ordens: Conchostraca (Cyclestheriidae), Decapoda (Palemonidae - *Macrobrachium sp* e Trichodactylidae - *Trichodactylus sp*), Copepoda (Cyclopoida e Calanoida) e Cladocera.
- Filo Rotífera (*Brachionus calyciflorus*).

Os invertebrados são os que apresentaram os valores mais extremos e, portanto, determinaram a variação dos sinais isotópicos dos consumidores estudados, variando entre os mesmos -43 a -20‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e entre -2 a 11,5‰ para $\delta^{15}\text{N}$, exceptuando-se os efemerópteros e chironomídeos do bentos. Se

não incluirmos o zooplâncton, os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ passariam a variar entre -42 a -20‰ e os de $\delta^{15}\text{N}$ não se alterariam.

Os invertebrados amostrados nos compartimentos planctônicos, epifíticos e bentônicos foram re-classificados de acordo com os grupos funcionais de alimentação relacionados aos níveis tróficos que ocupam, como proposto por Cummins & Merritt (1996), para melhor interpretar os respectivos papéis na cadeia alimentar: filtradores, raspadores, coletores por reunião e predadores (carnívoros). Certos grupos como coleópteros (Hidrophilidae), decápodos e gastrópodes, podem alimentar-se esporadicamente de animal morto.

Para alguns invertebrados a seqüência temporal, embora incompleta, sugeriu um padrão sazonal (Figura 28) com os valores mais negativos também coincidindo com a fase de dequada (enchente-cheia).

Filtradores– Os organismos classificados como “coletores por filtração” apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ na faixa de -42,7 a -31,6‰ e de -2,1 a 11,5‰ para $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 1, Figura 25). Este grupo, que é considerado como algívoro, tendeu a ser muito mais empobrecido em ^{13}C (em cerca de 5 to 8‰) do que a fonte potencial (*alga*). Mas quanto aos valores de $\delta^{15}\text{N}$, em média, o fracionamento trófico foi de 3,4‰.

Para o zooplâncton, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram em geral muito empobrecidos, com valores médios de $-36,5 \pm 2,9\text{‰}$, e de $6,3 \pm 1,9\text{‰}$ para $\delta^{15}\text{N}$, sendo que cerca de 70% das razões isotópicas de carbono mostraram sinais menores do que -34‰ (Tabela 1, Figuras 25 e 28a). O valor de $\delta^{13}\text{C}$ particularmente negativo (-42,7‰) foi obtido durante um aumento expressivo da biomassa destes animais (“floração”), visível a olho nu no ponto 1 (maio/99), onde situações de anoxia e valores mais altos de CO_2 livre ocorrem frequentemente. Sem esta única observação, o valor mínimo de $\delta^{13}\text{C}$ passa a ser -39,4‰, que é ainda bem empobrecido.

A covariação sazonal de ambos os isótopos estáveis foi muito marcante, com os valores mais baixos ocorrendo durante as fases de águas altas e os

Figura 28 - Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (círculo claro) e $\delta^{15}\text{N}$ (escuro), em ‰, dos consumidores invertebrados filtradores (a, b), coletores (c) e predadores (d, e, f), coletados na baía do Castelo (Pantanal - MS), entre set./98 a dez./99.

Figura 29 - Variação sazonal dos grupos zooplancctônicos observada entre out./98 e out./99, na baía do Castelo (Pantanal – MS), sendo: **(A)** variação dos copépodos, indicando a presença de rotíferos, em função do nível do rio Paraguai; **(B)** dos filtradores (calanóidas e cladóceros) em comparação com os valores de clorofila-a; **(C)** dos ciclopóidas (predadores) em relação aos cladóceros (onívoros filtradores) e também clorofila-a.

maiores durante o período seco (Figuras 28 e 29).

Os diferentes grupos zooplancônicos apresentaram uma clara dinâmica sazonal em termos de densidade de organismos com expressivas mudanças na estrutura da comunidade, relacionadas aos períodos hidrológicos. Os cladocera foram os que predominaram na fase de enchente e os rotífera foram observados em abundância apenas durante a floração mencionada acima (Figura 29).

Compararam-se os valores de ambas as razões isotópicas de zooplâncton, o único consumidor com série temporal completa, com a variação sazonal dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das possíveis fontes planctônicas, *alga* do ponto 7 e COP do ponto 5 (Figura 30). Observa-se que seus sinais isotópicos de carbono estão muito distantes dos de suas fontes potenciais ($>> 1\text{‰}$), porém os de nitrogênio, não.

Os outros grupos taxonômicos de filtradores (Tabela 1, Figura 25) que também apresentaram sinais de $\delta^{13}\text{C}$ bem empobrecidos foram: os conchostracas (crustáceos da Família Cyclestheriidae), uma espécie de molusco bivalve originário da Ásia (*Limnoperna fortunei*) e os efemerópteras larvais (Baetidae), apenas encontrados na fase de vazante e dentro de pedaços de troncos flutuantes (escavadores de madeira). Estes efemerópteras só foram observados na vazante (out.-nov./98) e mostraram valores muito negativos de $\delta^{13}\text{C}$ (-38 a -34‰). Os valores extremos de $\delta^{15}\text{N}$, de todos os consumidores estudados, foram observados nos conchostracas (entre -2,1 e 11,5‰), ambos obtidos durante o período de dequada de abril-maio/99 (Figura 28b).

Coletores por Reunião- Este grupo foi considerado como onívoro e incluiu espécies da Ordem Diptera e Ordem Ephemeroptera; os pertencentes ao taxa Baetidae podem também ser classificados como “coletores por filtração”, ou filtradores (Tabela 1, Figura 25). Os decápodos *Macrobrachium* sp. (camarões) e *Trichodactylus* sp. (caranguejos) são considerados onívoros, mas podem explorar também a matéria orgânica do detrito.

Figura 30– Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ (A) e $\delta^{15}\text{N}$ (B) do zooplâncton (quadrado) e das possíveis fontes planctônicas: *alga* (triângulo) do ponto 7 e COP (círculo) do ponto 5, coletados na baía do Castelo (Pantanal - MS), durante o período de set./98 a out./99.

Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ para os invertebrados onívoros epifíticos (exceptuando-se os bentônicos) variaram entre -42,5 a -26,6‰ e de 2,7 a 8,9‰, respectivamente.

Os culicídeos apresentaram sinais de carbono variando numa faixa de valores muito ^{13}C -empobrecida, como também os efemerópteros (Baetidae); a variação temporal dos culicídeos sugere um padrão sazonal (Tabela 1, Figura 28c).

Por outro lado, os valores mais enriquecidos em ^{15}N , muitas vezes mais altos dos que os dos insetos carnívoros, foram observados em *Macrobrachium* sp e nos chironomídeos epifíticos em uma ocasião (Tabela 1, Figura 25).

Os Ephemeroptera do bentos apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -41,4 e -34,3‰ (média= $-38,7 \pm 2,8\text{‰}$) e entre 3,4 e 5,9‰ (média= $4,8 \pm 1,0\text{‰}$) para $\delta^{15}\text{N}$. Já para os Chironomidae bentônicos os valores observados foram os mais ^{13}C e ^{15}N -empobrecidos de todos os consumidores analisados: variando de -62,4 a -49,4‰ (média= $-55,5 \pm 4,9\text{‰}$) para $\delta^{13}\text{C}$ (com o valor mais negativo ocorrendo em fev./99) e de -5,3 a -0,8‰ (média= $-3,1 \pm 1,5\text{‰}$) para $\delta^{15}\text{N}$ (Tabela 1, Figura 25).

Os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do zooplâncton em conjunto com os organismos bentônicos mostraram uma forte correlação linear (Figura 31a). Ao comparar novamente os organismos bentônicos com todo o grupo dos filtradores, a correlação linear foi mantida (Figura 31b).

Raspadores- Este grupo funcional foi representado pelos moluscos das Famílias Ampullaridae e Ancyliidae. Alimenta-se primariamente de epífiton que se desenvolve sobre as macrófitas vivas, segundo Heckman (1998) (Tabela 1, Figura 25). O valor de $\delta^{13}\text{C}$ mais enriquecido entre esses consumidores (-19,8‰) ocorreu apenas uma vez (março/99) para o molusco *Gundlachia sp.*. Excluindo este valor, o seguinte mais alto passa a ser -25,4‰. Apenas esta espécie parece ser dependente das fontes primárias consideradas, caindo dentro do triângulo teórico de Phillips (2001) (Figura 25).

Predadores— Este grupo funcional foi composto por insetos pertencentes a várias famílias, mostrando sinais da razão isotópica de carbono entre -40,1 e -29,5‰, e para a razão de nitrogênio entre 3,6 e 9,4‰. Em média, as razões isotópicas foram muito similares dentro do grupo, exceto para a espécie de hemíptera, *Belostoma sp.*, que apresentou valor médio relativamente ^{13}C -enriquecido e para o coleóptera da família Hydrophilidae que mostrou sinal médio de $\delta^{15}\text{N}$ mais elevado (Tabela 1, Figura 25).

Foi possível reconhecer mesmo entre alguns grupos de invertebrados carnívoros certa tendência a comportamento sazonal das razões isotópicas du-

Figura 31 – Valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de **(A)** zooplâncton e organismos bentônicos; **(B)** filtradores (sestônicos e epifíticos) e organismos bentônicos amostrados entre set./98 e set./99; **(C)** incluindo os peixes detritívoros, amostrados entre julho/98 a set./98., na baía do Castelo (Pantanal - MS). As respectivas regressões e os dados estatísticos são mostrados no gráfico.

rante o evento de dequada, quando valores mais leves foram observados para ambos os isótopos (Figura 28d-f).

b. Peixes

Para os peixes detritívoros como um todo (N= 69), os dados isotópicos oscilaram entre -38,9 e -25,8‰ para $\delta^{13}\text{C}$ e entre 5,9 e 9,2‰ para $\delta^{15}\text{N}$, com médias de $-35,3 \pm 2,7\text{‰}$ e $7,5 \pm 0,8\text{‰}$, respectivamente. A espécie *Prochilodus lineatus* mostrou o valor médio mais ^{13}C -enriquecido, incluindo o mais pesado de -25,8‰, que pode indicar alguma contribuição das gramíneas C_4 isotopicamente mais pesadas em sua dieta. Os Curimatidae (*Psectrogaster curviventris* e *Potarmorhina squamora levis*) apresentaram valores e médias mais negativos. *Liposarcus anisitsi* apresentou a menor variação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ (2,6‰) seguido por *P. squamora levis* (3,5‰); *P. lineatus* e *P. curviventris* mostraram maior amplitude (11,1‰ e 9,1‰) (Tabela 1, Figura 25).

Quando, aos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos filtradores e dos organismos bentônicos, acrescentamos os sinais dos peixes detritívoros a correlação linear significativa também é mantida, embora de forma não tão robusta (Figura 31c).

5. DISCUSSÃO

A maioria dos consumidores primários e secundários estudados mostrou um significativo decréscimo nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ em relação ao grupo de plantas vasculares (Figura 25). Esse resultado foi análogo ao observado por Araújo-Lima et al. (1986) e Hamilton et al. (1992), em outras áreas de inundação tropicais da América do Sul (Amazonas e Orinoco, respectivamente). Estes estudos, além de outros no rio Amazonas (Benedito-Cecílio et al., 2000; Forsberg et al., 1993; Padovani 1995) e na bacia do rio Paraná (Vaz et al., 1999), como também em lagos e rios de regiões temperadas (Finlay, 2001; Hecky & Hesslein, 1995), concluíram que as algas constituem a principal fonte de energia para as cadeias alimentares nesses ambientes de água doce.

Com base nesses trabalhos, aventou-se a hipótese que o mesmo padrão ocorreria no Pantanal do rio Paraguai. Porém, o fato da maioria dos consumidores primários estudados, como também os secundários, mostrarem um sinal isotópico de carbono expressivamente empobrecido também com relação à fonte *alga* (MOPa) apresentou-se como uma característica surpreendente deste ambiente, contradizendo a idéia de que somente as algas seriam a base da cadeia trófica na planície de inundação do rio Paraguai (Figura 25).

Na verdade, de acordo com o modelo de Phillips (2001), apenas uma espécie de gastrópode (*Gundlachia sp.*) dependeria das fontes primárias consideradas, visto que foi a única posicionada dentro da área do triângulo teórico (Figura 25).

As áreas de inundação caracterizam-se pela significativa contribuição do CO_2 respiratório proveniente da decomposição da matéria orgânica de plantas

C₃ (Finlay, 2001; Keeley & Sandquist, 1992; Martinelli et al., 1991; Rau, 1978) e, portanto mais empobrecido em ¹³C, o que promove o decréscimo do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em plantas aquáticas submersas (Figuras 15 e 21). Em geral, as águas do Pantanal são supersaturadas em CO₂, como nos rios Orinoco e Amazonas (Hamilton et al., 1995; Richey et al., 1990). Não obstante, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ das *algas* sestônicas e epifíticas apresentaram valores entre -31 e -27‰, mais enriquecidos do que nas outras planícies de inundação tropicais mencionadas (Figuras 25 e 26).

Por exemplo, nas várzeas do rio Amazonas, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de amostras de fitoplâncton, na forma de COP, variaram aproximadamente entre -40 e -27‰ (Araújo-Lima et al., 1986; Forsberg et al., 1993). Na área de inundação do rio Orinoco, foram encontrados valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -38 e -34‰ para fitoplâncton propriamente dito, obtido em amostras de seston com elevada concentração de algas (Hamilton et al., 1992). Em outra sub-região do Pantanal (sub-região Cuiabá), Wantzen et al. (2002) observaram em amostras de COP, tanto sestônicas quanto epifíticas, uma faixa de variação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ mais próxima (-33 a -26‰) àquela obtida no presente trabalho, embora ainda empobrecida.

Como é amplamente conhecido e adotado, o fracionamento trófico do isótopo de carbono entre um organismo e sua dieta ($\Delta_{\text{médio}} = \delta^{13}\text{C}_{\text{animal}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{dieta}}$) é pequeno, sendo os animais em geral enriquecidos por apenas $0,8 \pm 1,1\text{‰}$, (DeNiro & Epstein, 1978). Quando o fator de fracionamento foi estimado a partir dos valores médios dos consumidores estudados em relação à fonte alimentar *algas*, ou mesmo plantas C₃ (devido à sobreposição de valores de $\delta^{13}\text{C}$, Figura 26), a maioria dos fracionamentos resultantes foi negativa. Excluindo os gastrópodes ($\Delta_{\text{médio}} = +0,9\text{‰}$) e os decápodos ($\Delta_{\text{médio}} = -0,8\text{‰}$), que tiveram baixos valores de $\delta^{13}\text{C}$, próximos ou dentro da faixa proposta por DeNiro & Epstein (op. cit.), e os chironomídeos bentônicos, que, ao contrário, apresentaram um valor muito distante ($\Delta_{\text{médio}} = -26,0\text{‰}$), os demais consumidores

primários e secundários mostraram fracionamentos entre -9,6 e -2,4‰ (Tabela 1, Figura 25).

As plantas C_4 também não parecem ser uma das principais fontes de carbono no sistema baía do Castelo - rio Paraguai, considerando sua baixa proporção de cobertura vegetal e o pequeno número de espécies. Todos os consumidores mostraram fracionamentos tróficos também muito distantes ($\Delta_{\text{médio}} = -30,6$ a $-7,4\text{‰}$) quando comparados às plantas C_4 (Figura 25).

Portanto, de uma forma geral, os fracionamentos tróficos apresentaram-se muito distantes do limite mínimo proposto por DeNiro & Epstein (1978) para consumidores primários, ou mesmo de um fracionamento indicativo de consumo secundário (por volta de 2‰), com poucas evidências, portanto, de uma ligação trófica exclusiva ou principal entre os consumidores e as fontes primárias potenciais (*algas*, plantas C_3 e C_4) quando se analisa os dados isotópicos de carbono.

Contudo, uma vez que esses fracionamentos tróficos tão negativos foram consequência dos sinais caracteristicamente ^{13}C -enriquecidos observados em *algas*, é importante iniciar a discussão abordando esta peculiaridade.

5.1 Interferências na determinação do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em algas

Muitos fatores podem comprometer a determinação da razão isotópica de carbono das plantas aquáticas, em particular o das algas. De acordo com Boon & Bunn (1994) e Finlay (2001), a estrutura de cadeias tróficas aquáticas pode ser interpretada incorretamente se variações espaciais e temporais na composição isotópica dos produtores primários não forem consideradas, uma vez que a variabilidade do sinal isotópico de algas e dos consumidores é muito grande. Segundo Finlay (2001) e France (1995b), a alta variabilidade dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ de algas e consumidores contrasta com a necessidade de valores isotópicos realmente confiáveis para o bom emprego do método isotópico em cadeias alimentares.

Na verdade, grande parte dos trabalhos usa o sinal médio do Carbono Orgânico Particulado (COP) ou inferem o valor do $\delta^{13}\text{C}$ das algas a partir dos valores isotópicos de carbono de herbívoros ou da fonte de carbono inorgânica. Isto se dá porque é extremamente difícil isolar amostras puras de microalgas dos outros componentes da matéria orgânica ou mesmo de heterótrofos para análises isotópicas, e este tem sido o obstáculo principal para determinar o papel destes importantes produtores primários (Finlay, 2001; Hessen et al., 2003; Michener & Schell, 1994). Contudo, Hamilton & Lewis (1992) conseguiram separar o sinal das algas daqueles dos detritos e alguns outros estudos obtiveram resultados satisfatórios aproveitando a ocorrência de florações de algas (Fry & Wainright, 1991; Keough et al., 1996; Rolff, 2000).

Não só as variações espaciais mencionadas acima, mas também as temporais (sazonais) podem promover flutuações na composição isotópica dos produtores primários. A estrutura das cadeias tróficas pode ser interpretada incorretamente se tais variações não forem levadas em consideração (Boon & Bunn, 1994; O'Reilly et al., 2002). Com base nestas considerações, amostras do seston e do epifítton foram investigadas mensalmente durante um ciclo hidrológico na tentativa de documentar as influências das mudanças sazonais e espaciais ao longo de locais representativos do lago (quatro áreas de remanso - pontos 1, 2, 3 e 6, e duas áreas de água aberta - pontos 4 e 7, Figura 5).

Deve-se salientar aqui que, apesar de ter-se considerado as variações espaciais e temporais, o número relativamente pequeno de amostras classificadas como *alga*, selecionadas pela razão C:Clor <100, dificultou a observação de padrões sazonais. Contudo, este padrão relacionado à variação hidrológica foi bem evidente para ambas as frações de $\text{MOP}_{\text{Total}}$ (leve e pesada, sem a distinção por C:Clor <100) em ambos os compartimentos (sestônico e epifítico), tanto para os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ quanto para os de $\delta^{15}\text{N}$ (Figura 21).

Uma alternativa foi substituir *alga* (MOPa) por COP, amplamente adotado na literatura como indicativo do sinal isotópico de carbono fitoplanctônico (Araújo-Lima et al., 1986; Finlay, 2001; Forsberg et al. 1993; Michener & Schell,

1994; Wantzen et al., 2002). Desta forma, foi possível obter a série temporal completa, mas potencialmente incluindo amostras “contaminadas” por detrito, bem como por organismos como bactérias, protozoários e zooplâncton, em proporções desconhecidas (Figura 16). Nos lagos de várzea da região Amazônica o fitoplâncton chega a corresponder a 60% do COP (Araújo-Lima et al. 1986), enquanto em lagos da Noruega a apenas 40% (Hessen et al., 2003).

Uma outra alternativa ainda melhor foi empregar a fração leve da MOP_{Total} sestônica das amostras do ponto 7, que apresentou 70% das amostras classificadas como *alga*. Com isso, pôde-se contar com a sazonalidade dos dados isotópicos de fonte primária algácea, assim como com a dos de clorofila (Figura 24).

É interessante ressaltar que as amostras de MOP_{Total} sestônica demonstram responder mais rapidamente aos efeitos da enchente (com a ocorrência de valores isotópicos mais negativos) do que as epifíticas (Figura 21). Também foi interessante que o maior número de amostras de MOP predominantemente algáceas (classificadas por $C:Clor < 100$) tenha sido observado em amostras sestônicas (61%), contra apenas 39% nas epifíticas. Talvez como resultado do maior “efeito de planície” atribuído ao Pantanal (Hamilton et al. 1995, 1997), a matéria orgânica detrital finamente trabalhada, típica de planícies de inundação (Lowe-McConnell, 1987), presente tanto na coluna d’água como depositada sobre as raízes das macrófitas, tenha sido um dos fatores que dificultaram a separação entre as frações “algal” e “detrital”, principalmente no epifíton, e a obtenção de um maior número de amostras predominantemente algáceas. Segundo Hamilton ³, essa influência da planície de inundação no fracionamento e retrabalhamento do material particulado, seria bem maior no Pantanal do que na planície do rio Orinoco, por exemplo, onde essa interferência na separação entre as frações de algas e detritos não ocorreu.

³ Hamilton, S.K., comunicação pessoal.

Um tipo de detrito na forma coloidal é geralmente observado durante as fases de enchente nas águas deste trecho do rio Paraguai. Esses agregados de matéria orgânica presentes na coluna d'água sofrem sedimentação à medida que o fluxo diminui ao entrar no lago ou quando da passagem pelas raízes dos tapetes de macrófitas flutuantes. Porém, este material em suspensão pode mascarar ou obscurecer significativamente o sinal isotópico dos produtores primários, principalmente quando se considera apenas o COP como sinal representativo de fitoplâncton (Grey et al., 2001; Hessen et al., 2003). Segundo Kerner et al. (2003), o processo de agregação gradativa do COD (com sinal de $\delta^{13}\text{C} \cong -28\text{‰}$, característico da vegetação C_3 predominante) é fracionante, pois as micropartículas resultantes presentes no material em suspensão apresentaram valores de $\delta^{13}\text{C}$ bem mais enriquecidos (-23 a -21‰).

Esse sinal isotópico de carbono enriquecido poderia, assim, prevalecer na composição resultante em COP, contudo não nas amostras de *alga*, como evidenciados pela razão C:Clor. Todavia, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* do ponto 7 não mostraram diferenças significativas ($P > 0,05$) quando comparados com os resultados de COP do ponto 5, mas foram significativamente diferentes com os do ponto 1 ($P < 0,02$), graças à fase de enchente-cheia ($P < 0,006$). Essa semelhança observada nos sinais isotópicos se deve à sobreposição entre a grande maioria dos valores de *alga* e os de plantas C_3 (Figura 26).

Deve-se levar em conta também que a produção e biomassa algácea de rios e de seus sistemas de inundação são em geral consideradas como subestimadas (Hamilton et al., 1992) devido à forte pressão predatória (via pastejo ou “grazing”) (Bunn & Boon, 1993; Finlay, 2001). Desta forma, as estimativas de biomassa de algas estão sujeitas a esse tipo de erro, e, portanto, a determinação do sinal isotópico também, além das dificuldades inerentes à separação das algas dos demais componentes do seston ou do epifíton (Finlay, 2001; Hessen et al., 2003; Michener & Schell, 1994).

Por outro lado, nas amostras de seston parece ter havido uma pré-seleção de algas durante o processo de concentração do material particulado ($\text{MOP}_{\text{Total}}$)

por centrifugação contínua. Esta hipótese se fundamenta nas diferenças observadas nos valores de C:Clor, que foram menores nas sub-amostras de pré-centrifugação e maiores nas de pós-centrifugação. Isto, além de demonstrar a boa eficiência no processo de concentração de algas sestônicas, evidencia também que parte dos detritos presentes neste compartimento provavelmente pertence a faixas de tamanho muito pequenas, não tendo sido retidos no processo de centrifugação e, portanto, eliminados da amostra a ser preparada para análise isotópica.

Na verdade, é possível ainda que o processo de concentração por centrifugação em fluxo contínuo tenha selecionado as algas maiores e/ou mais pesadas e relativamente enriquecidas em ^{13}C , como as diatomáceas (Fry & Wainright, 1991), em detrimento das menores (nanoplancônicas) e mais empobrecidas (Goericke et al., 1994). Porém, os resultados dessas sub-amostras mostrariam se uma possível perda de material empobrecido para o material pós-centrifugação tivesse ocorrido. As amostras “pós” foram mais ^{13}C -enriquecidas quando comparadas às “pré”, como era esperado, devido à menor quantidade de algas, embora apenas levemente, porém não indicando perda de quantidades expressivas de material empobrecido em ^{13}C . Pelo contrário, detectou-se a presença de matéria orgânica empobrecida em ^{15}N em algumas amostras “pós” (Figura 22).

Perdas de matéria orgânica mais empobrecida em ^{13}C durante o procedimento de centrifugação contínua também poderiam ser investigadas utilizando os dados de COP (Figura 16), pelo menos para o compartimento sestônico, já que essas amostras não foram centrifugadas, apenas filtradas em filtros de mesma abertura de poro. Como visto, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de COP no ponto 5 (centro do lago, muito influenciado por ventos freqüentes) foi semelhante aos de *alga*. Contrariamente, o ponto 1 (local de remanso ou baixo fluxo de água) apresentou em geral valores particularmente empobrecidos em ^{13}C e significativamente diferentes dos de *alga*, muitas vezes alcançando valores bem negativos, como o mínimo de -39,2‰ obtido em set./98, e que

coincidiu com o valor mais negativo observado em amostra de *alga* epifítica (-34,5‰). Assim, a observação de valores de $\delta^{13}\text{C}$ mais negativos detectados tanto em COP quanto em *alga*, descartou mais uma vez a possibilidade de que o processo de centrifugação contínua causasse a perda de material mais empobrecido.

A assimilação e/ou alimentação seletiva de componentes algais mais facilmente digeríveis, ou mesmo dessas algas menores e potencialmente mais leves (nanoplanctônicas), também poderiam explicar as discrepâncias observadas entre os sinais de carbono de *alga* e os dos consumidores bem mais ^{13}C -empobrecidos (Bunn & Boon, 1993; Finlay, 2001; Hart et al., 2000). Outras fontes diminutas de carbono, que podem ocorrer tanto no seston quanto no epifíton, são os organismos heterotróficos, como bactérias, que tendem a ter valores de $\delta^{13}\text{C}$ semelhantes aos do COD e origem alóctone ou autóctone (Bastviken et al., 2003). No caso da Amazônia, o COD, proveniente das macrófitas C_4 predominantes nos lagos de várzea, foi considerado a fonte de carbono para as bactérias, por se tratar de uma matéria orgânica mais lábil (Quay et al., 1992; Waichman, 1996). No presente trabalho, o bacterioplâncton teria, portanto, composição de $\delta^{13}\text{C}$ semelhante à de plantas C_3 ou das algas.

A matéria orgânica do sedimento recentemente depositada (MOS), resultante da sedimentação de partículas de COP incluindo fitoplâncton, também não mostrou valores mais negativos, sendo na verdade relativamente ^{13}C -enriquecidos. Isto poderia refletir uma mistura de detritos C_4 e C_3 , ou resultar de uma possível formação de CO_3^{2-} durante a decomposição da matéria orgânica, como reportado por Lojen et al. (1997). O valor isotópico de carbono mais negativo de MOS foi de apenas -26,8‰, mostrando um certo padrão sazonal apenas para os valores de $\delta^{13}\text{C}$ do ponto 4 (Figura 19).

Um outro fator que poderia potencialmente alterar os valores isotópicos de *alga* seria uma possível contaminação das amostras por carbonatos, tipicamente enriquecidos em ^{13}C . Entretanto, baseado nas relações C:Clor, a contaminação por carbonatos parece não ter ocorrido, como também não foram

detectados nas análises realizadas em um número representativo de amostras tanto de *alga* quanto de *detrito*. Segundo Hamilton et al. (1995), em geral há supersaturação de CO₂ nos ambientes aquáticos do Pantanal e a precipitação de calcita não é observada.

A qualidade das análises de clorofila-*a* poderia igualmente ser questionada. Além da pequena quantidade de amostra concentrada em algumas amostras de seston, o entupimento dos filtros causado pela sílica coloidal diminuiu a massa de carbono filtrada em ambas as amostras (seston e epifíton), aumentando, portanto, a possibilidade de erros. Porém, a razão C:Clor <100 foi um parâmetro efetivo que permitiu obter sinais isotópicos confiáveis, embora em apenas 26% das amostras potencialmente algáceas (Figura 23).

Por outro lado, a partir dos valores médios de $\delta^{13}\text{C}$ do CO₂ dissolvido (entre -24 e -18‰, média= $-21,0 \pm 1,3\text{‰}$) e do fator de discriminação ou de fracionamento metabólico para ¹³C ($\Delta = \delta^{13}\text{C}_{\text{planta}} - \delta^{13}\text{C}_{\text{fonte de carbono}}$) de -20‰, geralmente adotado para plantas terrestres C₃ (Farquhar et al., 1989; Keeley & Sandquist, 1992; Kerner et al. 2003), poder-se-ia estimar que o valor previsto para *alga* na baía do Castelo deveria estar ao redor de -41‰. Contudo, o valor obtido foi -29,3‰, indicando um fator de discriminação de apenas -8,3‰. Keeley & Sandquist (1992) relatam que os valores de $\Delta^{13}\text{C}$ de plantas aquáticas C₃ são freqüentemente bem menos negativos, inclusive caindo dentro da gama observada para plantas aquáticas C₄. As macrófitas aquáticas C₃, por exemplo, podem apresentar fracionamentos tão altos quanto +4,2 e -5,9‰, dependendo da fonte de CID que utilizam.

O'Leary (1988) cita experimentos em laboratório onde algas mostraram fracionamentos isotópicos que variavam com a concentração de CO₂ no ambiente: quando o CO₂ é limitante para a fotossíntese os fracionamentos isotópicos são pequenos (aproximando-se de 0‰), mas podem ser tão grandes quanto -20‰ ou mais quando a concentração de CO₂ é alta. Deines (1980) menciona experimentos com resultados semelhantes relacionados ao suprimento de CO₂: com o decréscimo da disponibilidade o fracionamento

decrece do valor máximo para um mínimo (6‰, -8‰ ou 0‰, em diferentes experimentos), o qual seria atingido quando o suprimento de CO₂ estivesse reduzido ao valor limite requerido para a manutenção do crescimento.

No ambiente natural, os fracionamentos isotópicos podem oscilar em torno de toda esta gama de valores, sendo que grande parte desta oscilação provavelmente é devida às variações na disponibilidade de CO₂. Cole et al. (2002), estimaram o fracionamento da assimilação fotossintética de ¹³C-CO₂ pelo fitoplâncton também em níveis bem mais baixos (~ -6‰) do que os normalmente estimados pelos modelos fisiológicos (~ -20‰), numa condição similar de lago de baixa alcalinidade e rico em CO₂, o que ele classificou como surpreendente e de difícil explicação.

Portanto, com base nessa discussão, os procedimentos de amostragem e de preparo de amostras não parecem ter causado alterações nos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* e estes, embora mais enriquecidos que os de outras áreas de inundação de grandes rios tropicais, são compatíveis com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de CID medidos neste estudo, considerando a possível variabilidade nos valores dos fracionamentos assimilativos.

5.2 Fontes de CID e a sazonalidade do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em algas

Outros fatores envolvidos na alteração do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ em algas são o tipo de fonte de carbono inorgânico dissolvido e a variação do sinal isotópico desta fonte.

Comparado com plantas terrestres, pouco é conhecido sobre os fracionamentos isotópicos produzidos pelos processos bioquímicos e fisiológicos em plantas aquáticas. As plantas terrestres, emergentes e flutuantes utilizam gás carbônico atmosférico que varia relativamente pouco em sua composição isotópica. Por outro lado, a composição isotópica de carbono dos autótrofos submersos é muito mais variável por causa das mudanças na proporção relativa das fontes de carbono que determinam a concentração final

de cada uma delas e a razão isotópica resultante (Farquhar et al., 1989; Keeley & Sandquist, 1992). A composição isotópica do carbono inorgânico total (ΣCID) é variável em ambientes aquáticos devido às diferentes influências e à tendência ao equilíbrio entre as espécies: HCO_3^- derivado de rochas calcárias (+1‰) e CO_2 derivado da respiração (até -30‰), além do CO_2 proveniente da atmosfera (~ -7‰). A razão entre CO_2 e HCO_3^- é uma função do pH e da concentração de carbono inorgânico total, os quais, por sua vez, são controlados pelas fontes de alcalinidade provenientes de processos de intemperismo nas rochas, pelas taxas fotossintética e respiratória, pela turbulência no sistema (Keeley & Sandquist, 1992; Quay et al., 1992), bem como pela taxa de metanogênese (Lojen et al., 1997; Hamilton et al., 1995).

Há também a influência da limitação na difusão do CO_2 , que pode reduzir o fracionamento isotópico do carbono durante a fixação, sendo particularmente maior em ambientes aquáticos, como também há a ocorrência de diferentes mecanismos fisiológicos de concentração de CO_2 intracelular (Farquhar et al., 1989; Finlay 2001; Keeley & Sandquist, 1992; Matsuda et al., 1998; van Hunnik et al., 2002). A limitação na difusão do CO_2 pode ser criada tanto adjacente às folhas ou organismos quanto, numa escala maior, num ambiente de resistência à difusão afetado por velocidade de correntes (Finlay, 2001; Hecky & Hesslein, 1995; Keeley & Sandquist, 1992).

Apesar de alguns autores relatarem que a forma de carbono inorgânico assimilada não é a mesma para todas as espécies aquáticas (Farquhar et al., 1989; Keeley & Sandquist, 1992; Matsuda et al., 1998; van Hunnik et al., 2002), o CO_2 livre é em geral citado como a forma de carbono inorgânico mais utilizada pelas plantas submersas quando em maiores concentrações, comparativamente ao HCO_3^- (Finlay, 2001; Keeley & Sandquist, 1992). Como regra geral em ambientes de água doce, o CO_2 dissolvido é a fonte mais disponível de carbono para as plantas aquáticas não requerendo gasto de energia para sua assimilação (Hecky & Hesslein, 1995). A maior parte desse CO_2 dissolvido é proveniente da respiração do carbono orgânico originário do

detrito da serapilheira da vegetação C_3 circundante, apresentando valores de $\delta^{13}C$ relativamente mais negativos (Finlay, 2001; Fry & Sherr, 1989; Hecky & Hesslein, 1995; Keeley & Sandquist, 1992).

Durante a fotossíntese, a assimilação de CO_2 pode exceder as taxas de entrada via atmosfera, diminuindo as concentrações de CO_2 livre para valores abaixo do equilíbrio (Hamilton et al., 1995; Hecky & Hesslein, 1995), potencialmente resultando em produtos fotossintéticos isotopicamente mais pesados (Hecky & Hesslein, 1995). Por sua vez, a diminuição das concentrações de CO_2 livre poderia favorecer a troca pelas algas para a utilização do HCO_3^- como reação ao aumento da demanda (Hecky & Hesslein, 1995; Keeley & Sandquist, 1992). Porém, não é conhecido a que concentração de CO_2 certas espécies de algas trocam sua fonte inorgânica para HCO_3^- e a presença de uma camada limitante mais espessa ao redor da folha/célula pode agravar a deficiência em CO_2 , favorecendo o uso do bicarbonato (Hecky & Hesslein, 1995). Taxas elevadas de entrada de CO_2 ^{13}C -empobrecido no sistema, proveniente da respiração em geral e da decomposição microbiana, tornam a matéria orgânica fotossintetizada isotopicamente mais leve (Hecky & Hesslein, 1995). A respiração deste carbono previamente fixado contribui ainda mais para o acúmulo de CO_2 o qual tende a escapar para a atmosfera (Hamilton et al., 1995; Hecky & Hesslein, 1995; Quay et al., 1992). Assim, ambos os processos (respiração e produção) podem alterar o $\delta^{13}C$ do CO_2 bem como sua concentração (Hecky & Hesslein, 1995).

Nos sistemas aquáticos do Pantanal, durante os eventos de dequada um enorme suprimento de CO_2 respiratório é fornecido para a coluna d'água (Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1995, 1997). Na verdade, tanto em áreas de águas abertas como nas vegetadas e inundadas do Pantanal, o completo equilíbrio atmosférico do CO_2 é muito improvável. O equilíbrio entre as pressões parciais de CO_2 do ar e o CO_2 dissolvido é rompido freqüentemente durante o período de águas altas, particularmente durante a fase de enchente, devido ao elevado grau de contato do rio com as áreas da planície circundante,

promovendo altas taxas de decomposição e resultando quase sempre em supersaturação; durante a fase de seca a tendência é apresentar valores de CO_2 mais próximos do equilíbrio (Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1995, 1997). Esta característica de alteração sazonal relacionada ao pulso de inundação (Figura 8) é acompanhada por outras alterações físico-químicas no sistema, como diminuição da condutividade, do oxigênio dissolvido e ligeiramente do pH, como se pode constatar nas Figuras 9, 10 e 11, respectivamente, além do próprio CO_2L , num comportamento inverso de aumento de concentrações (Figura 10).

Os valores de pH na baía do Castelo e no rio Paraguai variaram entre 6,2 e 7,3, mesmo em períodos de dequada. Nestas condições de pH, o HCO_3^- é o íon principal no equilíbrio de carbonato (ΣCID) (Figuras 11 e 12). Uma característica peculiar em grande parte do Pantanal do rio Paraguai, comparado com outros ambientes de planícies inundáveis tropicais, como Orinoco e Amazonas, e provavelmente com os outros pantanais ou sub-regiões do Pantanal, seria a influência direta de formações calcárias superficiais presentes em grande parte da bacia de drenagem, inclusive localmente, aflorantes nos morros que circundam a baía (Almeida, 1965; Alvarenga et al., 2003), contribuindo para uma maior variação nas concentrações de HCO_3^- . Segundo Boggiani (1998), calcários calcínicos pretos (Formação Tamengo) altamente solúveis formam a cadeia de morros que limita a baía.

Aproximadamente 50% dos dados obtidos para a razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ ($N=101$), tiveram valores inferiores a 0,50, e ocorreram geralmente durante as fases hidrológicas de vazante e seca. As razões mais altas (alcançando até 1,55) ocorreram, em geral, quando eventos de dequada estavam começando e/ou já aconteciam (enchente e cheia), concomitantemente com valores de pH ligeiramente menores (Figuras 11 e 13a). Ao se avaliar a concentração das espécies de CID em cada ponto amostral (Figuras 5 e 12), é possível observar que houve uma aparente sazonalidade, acompanhando as mudanças hidrológicas, mais pronunciada no ponto 1 (o mais interno da baía e

caracteristicamente com maiores concentrações de CO_2L ao longo do ano), que apresentou também os valores mais elevados de HCO_3^- (Figura 12a). Os pontos 6 (ponto mais externo à baía) e 8 (rio), também mostraram uma elevação pronunciada de CO_2 concomitante à queda da concentração de HCO_3^- na dequada de 1999, chegando praticamente a se igualarem (Figura 12c,d). O ponto 5, localizado na parte central do lago e que é caracterizado por apresentar menores níveis de anoxia associados à ação de ventos, mostrou valores de CO_2L que oscilaram em um patamar caracteristicamente mais baixo, contudo sem chegar a se aproximar dos de HCO_3^- (Figura 12b).

No rio Amazonas, Quay et al. (1992) observaram faixas de valores de $\delta^{13}\text{C}\text{-CID}$ semelhantes às deste trabalho, bem como uma boa correlação entre estes sinais isotópicos e os valores de pH correspondentes, porém os valores mais empobrecidos ocorrendo, ao contrário, durante a fase de vazante. Os autores sugerem que a concentração de CID no canal principal do rio é decorrência das entradas via tributários, levando em conta ou não o fluxo de CID proveniente da planície, o que é surpreendente quando se considera as altas taxas de respiração observadas no rio. Os mesmos autores chegaram à conclusão que a concentração do CO_2 dissolvido estava em equilíbrio dinâmico com sua evasão para a atmosfera e corroboraram esta hipótese comparando os sinais isotópicos do CO_2 respirado com os do CO_2 perdido por evasão, calculados a partir do fracionamento de equilíbrio (ϵ) da reação $\text{CO}_2 \leftrightarrow \text{HCO}_3^-$ e por medidas em campo. Os valores resultantes foram similares aos obtidos para o Pantanal: $\epsilon = 8,7\text{‰}$; $\delta^{13}\text{C}\text{-CO}_2\text{resp.} = -21,0\text{‰}$, para um valor médio de $\delta^{13}\text{C}\text{-CID}$ de $-15,4\text{‰}$; e $\delta^{13}\text{C}\text{-CO}_2\text{evad.} = -22,0\text{‰}$, considerando-se um fracionamento de -1‰ durante a passagem do gás carbônico da água para a atmosfera.

Os autores também observaram que quanto maior a razão de $\text{CO}_2\text{:HCO}_3^-$, em consequência do aumento do CO_2 produzido durante a respiração, menor o valor de $\delta^{13}\text{C}\text{-CID}$, em função do pH. Igualmente nossos dados corroboraram esta proposição, uma vez que foi obtida uma boa correlação linear ($r^2 = 0,459$; $P < 0,022$; $N = 11$) entre os valores de $\delta^{13}\text{C}\text{-CID}$ e pH no rio (Figura 14) e os

valores da razão $\text{CO}_2:\text{HCO}_3^-$ mostraram-se inversamente relacionados aos de $\delta^{13}\text{C}$ -CID (Figura 13b), embora não de forma significativa ($P > 0,05$).

Comparando os resultados de Quay et al. (1992), com os obtidos no Pantanal do rio Paraguai, o fato de valores mais empobrecidos em ^{13}C ocorrerem na enchente, no sistema sob estudo, já demonstra uma diferença quanto ao grau de influência de planície entre os dois sistemas, uma vez que não há contribuição de tributários com águas mais ácidas como no rio Amazonas. No Pantanal, a predominância na planície de inundação de vegetação de fácil decomposição como as gramíneas C_3 , promovem este empobrecimento em ^{13}C apenas pela elevação do suprimento de CO_2L respiratório, e este efeito é levado às áreas à jusante e às lagoas marginais à medida que a enchente avança.

Assim, por um lado, os pontos 1 e 5 exemplificam a hipótese de Quay et al. (op. cit.) sobre o equilíbrio dinâmico entre CO_2 respirado e evadido, com a participação do HCO_3^- , maximizada talvez neste caso, pelo contato direto com as rochas calcárias e associada ao maior tempo de residência. Por outro, a maior influência do CO_2L parece evidente nos pontos 6 e 8, devido aos menores valores de HCO_3^- e de pH durante o período de dequada (Figuras 11 e 12).

Cabe lembrar, que moradores locais da baía do Castelo, mencionam a presença de ressurgências cársticas próximas ao ponto 1, ou seja, condutos de água subterrâneos que afloram na lagoa após percorrerem internamente as rochas calcárias, o que pode ser constatado nas pelos maiores valores de alcalinidade e de condutividade (Figuras 9 e 12).

Todos esses aspectos discutidos anteriormente têm implicações expressivas na interpretação do sinal isotópico de carbono algáceo observado neste estudo, evidenciando um claro padrão sazonal. Assim, na fase de vazante-seca, o CO_2 apresenta maior tendência ao equilíbrio atmosférico e, portanto, sinais isotópicos de carbono mais enriquecidos resultando em sinais

algáceos também mais enriquecidos. Do mesmo modo o bicarbonato pode estar envolvido, talvez sendo a espécie de carbono inorgânica assimilada por parte das microalgas, ou, ainda, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ observados podem ser resultantes de uma assimilação conjunta de ambos CO_2 e HCO_3^- (Keeley & Sandquist, 1992; Matsuda et al., 1998; van Hunnik et al., 2002). Por outro lado, Segundo Keeley & Sandquist (1992) e Cole et al. (2002), os valores do fator de discriminação para o isótopo ^{13}C poderiam ser tão baixos quanto os obtidos neste estudo. Para Keeley & Sandquist (op. cit.), isto pode ocorrer se for assumido que uma proporção da assimilação do carbono é realizada com a utilização de ambas as fontes. Além de ocorrer no período de vazante-seca, esta característica parece acontecer igualmente em determinadas seções da baía, como no ponto 5, onde a concentração de CO_2 respiratório tende a ser mais baixa devido a maior turbulência e o sinal de $\delta^{13}\text{C}$ mostra-se enriquecido; isso também se relaciona com os valores de OD mais elevados ao longo do ciclo hidrológico neste ponto (Figuras 10 e 17).

Como discutido, os valores de $\delta^{13}\text{C}$ empobrecidos observados nas fases hidrológicas de enchente e cheia, em amostras de COP e em *alga* do ponto 7 ou em áreas do lago propensas a maiores níveis de CO_2 ao longo do ano (pontos 1 e 6), estariam relacionados a maior participação relativa do CO_2 respiratório na determinação da composição isotópica das algas (Figuras 16 e 24b). Entretanto, apenas em seis ocasiões valores de *alga* foram mais negativos do que -30‰. Em quatro destes casos, as algas sestônicas (dos pontos 4 e 7) podem ter respondido aos efeitos do aumento de CO_2 (Figura 24b, para o ponto 7) devido ao evento de dequada (fev./99 e abril/99). Os outros dois casos não corresponderam a um aumento na razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ e tratavam de amostras de $\text{MOP}_{\text{Total}}$ epifítica dos pontos 1 e 2 (set./98 e jun./99, respectivamente) (Figura 21).

Como mencionado anteriormente, a insuficiência de dados de *alga* não permitiu que se observasse uma variação sazonal e espacial, mas foi suplantada pela substituição por COP. Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de COP foram

comparados com os valores de CO_2L nos pontos 1 e 5, uma vez que esses locais mostraram comportamentos diversos quanto a esse parâmetro, além do ponto 8 (rio). Os padrões sugeriram uma correlação sazonal inversa: valores mais altos de CO_2 , associados ao aumento do nível de água, parecem corresponder aos sinais mais baixos de $\delta^{13}\text{C}$ (Figura 17). Contudo, as correlações não foram significativas ($P > 0,05$).

Mas pode-se inferir que elementos presentes em COP, provavelmente algas, foram capazes de apresentar valores mais negativos, como os obtidos em outros ambientes tropicais, respondendo ao balanço entre as concentrações de CO_2L e bicarbonato quando este foi igual ou maior do que 0,5, o que equivale neste caso a um aumento do CO_2 respiratório.

A mesma característica foi observada quando a variação sazonal da fração leve das amostras de *alga* do ponto 7, foi comparada com a razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ e com os valores de CO_2L , tendo a vantagem de se analisar também os dados de clorofila-*a*, um parâmetro crucial (Figuras 23a,b e 27). Os resultados sugeriram novamente uma correlação positiva entre os dados da razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ ou de CO_2L e os de clorofila-*a* com a elevação do nível da água, e todos indicando correlação inversa com os valores de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga*. Contudo, essas evidências não se consolidaram como sendo significantes ($P > 0,05$). Nossa hipótese era de que os valores isotópicos das algas se tornassem mais ^{13}C -empobrecidos com o aumento na proporção de CO_2 orgânico e respiratório presente na coluna d'água assim como com o aumento na produção de algas. Talvez, obtendo-se maior número de amostras coletadas em espaço de tempo mais curto, condizente com a dinâmica do sistema e da comunidade planctônica, poder-se-ia corroborar essa idéia.

Oliveira & Calheiros (2000) observaram durante a mesma fase um aumento na densidade fitoplanctônica em quase duas vezes, com os valores de clorofila-*a* alcançando um máximo de $5,0 \mu\text{g/L}$. A fase de inundação é caracterizada por um aumento da disponibilidade de matéria orgânica e nutrientes (N e

P) no lago, promovendo o aumento da produção e também o fenômeno da dequada (Calheiros & Hamilton, 1998; Oliveira & Calheiros, 2000).

Finlay (2001) e Finlay et al. (1999) ressaltam a necessidade de se entender os fatores que controlam o $\delta^{13}\text{C}$ das algas em ecossistemas lóticos. Para esses autores, em rios maiores e mais produtivos os fatores mais importantes envolvidos na composição isotópica final de algas são os efeitos de suprimento e demanda de carbono (limitação de carbono), que podem ser mais significativos do que as mudanças nos sinais das fontes de CO_2 . Ambos os estudos sugeriram que efeitos de limitação de carbono sobre a assimilação deste elemento pelas algas resultam em enriquecimento nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das algas, ou como resultado da velocidade de corrente, que afeta as densidades da camada limitante sobre células/folhas, ou como resultado de uma demanda maior em sistemas mais produtivos. Porém, nossos dados não se adequaram a esta teoria, muito provavelmente por ela estar baseada em dados provenientes de sistema lóticos de pequeno a médio porte (até 4.000 km^2).

Na fase de alta produção (enchente) e, portanto, de maior demanda de CO_2 , todo o sistema foi mais negativo nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ das algas, enquanto na fase de vazante-seca valores mais baixos de biomassa fitoplanctônica foram associados a valores isotópicos enriquecidos (Figuras 21 e 24). A fase de enchente-cheia é muito influenciada pelos efeitos da dequada, e supondo até mesmo que os efeitos da extensão da camada limite devido à expressiva demanda de CO_2L poderiam atuar, tais efeitos foram totalmente suplantados pelas contribuições extremas de CO_2 respiratório, não se aplicando à lógica: alta produção = alta demanda de CO_2 = sinais de $\delta^{13}\text{C}$ mais positivos em algas. A dinâmica de carbono na baía do Castelo é completamente alterada por causa da dequada, quando o equilíbrio de carbonatos sofre a influência do CO_2L respiratório (Figuras 12 e 13b) e as diferenças espaciais, antes observáveis, tendem à homogeneização.

Os baixos valores de clorofila-*a*, durante a maioria do ciclo hidrológico (Figura 24), nos permitem inferir sobre baixas taxas de produção, mudando principalmente nas fases de enchente quando maior nível de nutrientes, em conjunto com o aumento na concentração de CO₂ livre, promovem o aumento da densidade e da biomassa de algas, o que está de acordo com o observado por Oliveira & Calheiros (2000). De modo oposto à teoria de Finlay (op. cit.), quando a fase de alta produção aconteceu, o CO₂ livre também aumentava (com seu sinal $\delta^{13}\text{C}$ empobrecido) resultando em valores isotópicos mais negativos para as algas. Do mesmo modo, o local que apresentou caracteristicamente águas com menor fluxo (ponto 1), apresentou também os valores mais baixos de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga* e COP e o local de maior turbulência (ponto 5), ao contrário do esperado por esta teoria, apresentou valores mais enriquecidos. Ao que parece, nas áreas de inundação do rio Paraguai, um ambiente em geral rico em CO₂ (Hamilton et al., 1995), a turbulência teria um papel importante, mas relacionado a diminuir a proporção relativa do CO₂L respiratório frente ao CO₂ atmosférico e, por conseguinte, influenciar o sinal de $\delta^{13}\text{C}$ da fonte de CO₂.⁴

Assim, baseado em todos os aspectos discutidos até agora, as hipóteses aventadas para explicar a sazonalidade do sinal isotópico de carbono algáceo seriam: um possível uso diferenciado e sazonal das fontes de CID (CO₂ e/ou HCO₃⁻), a sazonalidade na mudança do sinal de $\delta^{13}\text{C}$ do CO₂L, ou mesmo a interferência da variação do suprimento de CO₂ nos valores de fracionamento (maior suprimento= maior fracionamento e vice-versa). Seja pela ação de uma ou do conjunto dessas possibilidades, a variação da concentração de CO₂L e da razão CO₂/HCO₃⁻ teve correspondência evidente, porém não significativas, com o pulso de inundação, com os valores mais negativos e mais positivos dos produtores primários como *alga* (Figura 24), ou das amostras indicativas do sinal algáceo como COP (Figura 17) e MOP_{Total} (Figura 21), chegando até a

⁴ Hamilton, S.K., comunicação pessoal.

atingir os consumidores primários e secundários (Figura 28), como também com os de $\delta^{13}\text{C}$ do CID e CO_2 (Figuras 13 e 15).

Esses eventos mostram que o conjunto de condições desencadeadas pela subida das águas e pela dequada promove sinais de $\delta^{13}\text{C}$ mais empobrecidos, que passam a atuar como um traçador destas alterações isotópicas que se propagam ao longo da cadeia alimentar.

5.3 Fontes de NID e a sazonalidade do sinal de $\delta^{15}\text{N}$ em algas

Os efeitos do ciclo de nitrogênio inorgânico no $\delta^{15}\text{N}$ da biota devem também ser levados em conta. A variabilidade sazonal nos valores isotópicos de nitrogênio dos produtores primários será refletida em todos os níveis subseqüentes da cadeia trófica com implicações para a estimativa de posição trófica relativa dos consumidores de níveis mais altos (Leggett et al., 2000; O'Reilly et al., 2002).

Algas podem usar NH_4^+ , NO_2^- e NO_3^- como fontes de nitrogênio inorgânico dissolvido (NID) além de nitrogênio dissolvido orgânico, como aminoácidos liberados por células planctônicas na forma de exudatos (Goericke et al., 1994; Rolff, 2000). Além do sinal de nitrogênio inorgânico utilizado por algas, o valor de $\delta^{15}\text{N}$ da base de cadeia alimentar é uma função da composição de espécies, do nível de discriminação durante a assimilação do nutriente, e das condições de crescimento, esta associada às concentrações relativas de nitrogênio inorgânico dissolvido no sistema. Mas desde que nutrientes nitrogenados normalmente ocorrem sob baixas concentrações em condições naturais, os efeitos de fracionamento relativos à assimilação raramente são observados. Como para o carbono, a barreira de difusão devido à camada limite, adjacente à superfície da célula, pode contribuir significativamente para o nível de fracionamento (Finlay, 2001; Goericke et al., 1994; Hecky & Hesslein, 1995; O'Reilly et al., 2002). Desta forma, mudanças sazonais na dinâmica do NID, uma vez influenciada pela biogeoquímica do sistema, como também a

sucessão de espécies, são potencialmente responsáveis pela variação das composições isotópicas dos consumidores primários.

De acordo com Leggett et al. (2000), o íon amônio disponível é derivado em grande parte dos sedimentos e da regeneração de produtos de excreção algais e zooplancônicos. Enquanto a coluna d'água permanece oxigenada, muito do NH_4^+ produzido é oxidado a NO_2^- e NO_3^- e ao longo deste processo de nitrificação os fracionamentos poderiam alcançar até -35‰. O NH_4^+ produzido por mineralização da matéria orgânica teria provavelmente valores de $\delta^{15}\text{N}$ característicos do sedimento superficial do qual foi gerado. O sinal de nitrogênio do material orgânico do sedimento (MOS) pode ser estimado das assinaturas de invertebrados bentônicos. Neste estudo, os efemerópteros do bentos variaram entre 3,4 e 5,8‰ o que produziria valores estimados de $\delta^{15}\text{N}$ da MOS entre 0,0 a 2,4‰, considerando um fracionamento trófico de 3,4‰ (Minagawa & Wada, 1984). Contudo, os valores mensurados de $\delta^{15}\text{N}$ para a MOS variaram entre -0,6 e 4,8‰, portanto, tendendo a ser mais enriquecidos.

Além disso, o sinal isotópico do NH_4^+ excretado poderia ser calculado usando a composição de zooplâncton através do ajuste pelo fracionamento associado à assimilação e pelo enriquecimento trófico (Leggett et al., 2000). Levando-se em conta apenas o enriquecimento trófico de 3,4‰ (Minagawa & Wada, op.cit.), e sendo a faixa de variação de $\delta^{15}\text{N}$ para zooplâncton entre 3,7 e 10,3‰, os possíveis valores para o NH_4^+ -regenerado na baía do Castelo poderiam estar em torno de 0,3 e 6,9‰.

Em geral, NH_4^+ é a fonte de NID preferida para a assimilação do nitrogênio em ambientes aquáticos. Hamilton et al. (2001) não acharam nenhuma evidência para uma assimilação significativa de NO_3^- pela biota durante um estudo de enriquecimento isotópico *in situ*, provavelmente porque a assimilação de NH_4^+ é energeticamente mais compensatória do que a de NO_3^- (Peterson et al. 2001).

No período de ago./98 a dez./00, as concentrações de NH_4^+ apresentaram um forte padrão sazonal e muito similar para NO_3^- (Figura 18), mostrando

valores mais altos durante o período de vazante-seca e os mais baixos no período seguinte de enchente-cheia. As concentrações das formas de NID tendem a diminuir bruscamente na fase de enchente provavelmente devido ao efeito de diluição associado ao aumento de assimilação por produtores primários durante a fase de enchimento, como confirmado pelos dados de clorofila-a (Figura 24). Deste modo, o NO_3^- , a fonte com maior disponibilidade e relativamente mais ^{15}N -empobrecida, poderia ser um dos fatores envolvidos na diminuição do sinal de $\delta^{15}\text{N}$ nos produtores primários durante a fase de alta produção.

Quando se examinou a provável perda de frações nanoplanctônicas durante a centrifugação de fluxo-contínuo (Figura 22), contrariamente ao que foi observado para os sinais isotópicos de carbono, foi encontrado um inesperado material orgânico de $\delta^{15}\text{N}$ negativo. Contudo, Leggett et al. (2000), estudando o lago Ontário (Canadá), observaram que as células nanoplanctônicas (material particulado coletado em filtros GF/F= < 20 μm), apresentaram valores de $\delta^{15}\text{N}$ muito mais altos do que as de tamanhos maior. Desta forma, células menores usariam principalmente NH_4^+ , em vez da fonte inorgânica $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$, e as maiores usariam esta fonte relativamente mais ^{15}N -empobrecida.

Os resultados de $\delta^{15}\text{N}$ das amostras “pré” e “pós” variaram de -0,5 a 5,5‰ e de -2,1 e 6,3‰, respectivamente (Figura 22). Este material bem negativo parece estar presente também na amostra original (amostra “pré”, com um valor de $\delta^{15}\text{N}$ de -0,5‰), como também nas frações de *alga* do ponto 7, leve (-2,1‰) e pesada (-0,7‰).

A única fonte tão empobrecida em $\delta^{15}\text{N}$, capaz de originar valores negativos, seria a originada por meio de fixação biológica do nitrogênio atmosférico, via bactérias simbiotes em plantas leguminosas, pelas cianobactérias planctônicas e pelas bactérias fixadoras picoplanctônicas.

Por outro lado, quando uma floração de algas acontece, um rápido uso da provisão de NID pode ocorrer em um primeiro momento, com alta discriminação fitoplanctônica, resultando em baixos valores de $\delta^{15}\text{N}$ algáceos e deixando o

estoque restante de NID ^{15}N -enriquecido. Enquanto tal estoque de NID enriquecido diminui a discriminação pelas algas se torna menor, resultando em um sinal de $\delta^{15}\text{N}$ mais positivo (Leggett et al., 2000; O'Reilly et al., 2002; Rolff, 2000).

As condições resultantes dos eventos de dequada, como no caso dos isótopos de carbono, também parecem influenciar a ocorrência de valores mais empobrecidos e até negativos de $\delta^{15}\text{N}$. A maioria dos valores negativos de $\delta^{15}\text{N}$ aconteceu durante o período de enchente-cheia sob influência da dequada de 1999 (Março-Maio), incidindo em amostras de $\text{MOP}_{\text{Total}}$, e de *alga* epifítica sestônica (Figuras 21 e 24), como também nas de COP e MOS (Figuras 16 e 19). Do mesmo modo os consumidores, o zooplâncton em particular, apresentaram razões mais empobrecidas para $\delta^{15}\text{N}$ durante o período de dequada (Figura 28); durante esta fase mesmo os chironomídeos bentônicos mostraram os valores observados mais baixos de $\delta^{15}\text{N}$.

Como para o carbono, essas mudanças nos valores de $\delta^{15}\text{N}$ dos produtores primários durante a fase de dequada alcançam também os níveis tróficos imediatamente superiores, como zooplâncton e invertebrados, caracterizando o sinal empobrecido como um traçador destas alterações que se propagam ao longo da cadeia alimentar.

Contudo, resta a pergunta: quais fontes primárias de carbono e nitrogênio poderiam estar envolvidas no sistema de áreas inundáveis Baía do Castelo-Pantanal do Rio Paraguai? As hipóteses alternativas são discutidas a seguir.

5.4 Fontes de produção fototrófica

As amostras designadas como *alga* mostraram valores ^{13}C -enriquecidos que se sobrepuseram aos das plantas C_3 (Figura 26), o grupo predominante em toda a planície do Pantanal do rio Paraguai. Este fato frustrou a possibilidade de distinção entre estas duas fontes potenciais de energia, que é a premissa básica para se usar o método de isótopos estáveis na estimativa dos componentes da dieta (DeNiro & Epstein, 1978). Porém tais coincidências na composição isotópica podem ocorrer (Finlay, 2001; Fry & Sherr, 1989; Keeley & Sandquist, 1992). Esta sobreposição também impediu uma possível distinção entre as fontes terrestres e as aquáticas e mesmo entre as pelágicas e as litorâneas.

Embora os valores isotópicos de carbono dessas fontes tenham se sobreposto, os respectivos dados de $\delta^{15}\text{N}$ foram significativamente diferentes ($P < 0,05$), o que permitiria aplicar o modelo de mistura linear⁵ (dois isótopos, três fontes) proposto por Phillips (2001) e Phillips & Gregg (2001) e quantificar a contribuição das fontes reconhecidamente participantes nesta cadeia (*alga* e plantas C_3 e C_4) para os seus consumidores. Porém, ao se correlacionar os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de todos os organismos analisados, os sinais isotópicos dos consumidores posicionaram-se fora da área do triângulo (Figura 25) delimitada pelas razões isotópicas das fontes, corrigidas pelos respectivos fracionamentos tróficos, a saber: 1‰ para carbono e 3,4‰ para nitrogênio, respectivamente segundo DeNiro & Epstein (1978) e Minagawa & Wada (1984). Assim, os dados do presente trabalho não satisfizeram o postulado básico do modelo: exceder os limites do triângulo é uma indicação ou de que pode haver outras fontes de alimento não incluídas ou de que os fatores de correção trófica não são estimados adequadamente. Por conseguinte, essas fontes primárias não poderiam ser consideradas como as únicas fontes primárias principais deste sistema.

⁵ Phillips, D.L., comunicação pessoal.

Hamilton et al. (1992) concluem que na planície do rio Orinoco a dependência sobre as algas (com valores variando entre -23 e -33‰ para epifíton e de -34 a -38‰ para amostras de seston), poderia explicar a variação dos sinais de $\delta^{13}\text{C}$ dos consumidores (-25 a -42‰) em grupos taxonômicos semelhantes aos analisados para o Pantanal. Nesta pesquisa, contudo, a fonte primária principal de carbono para os consumidores permanece incerta.

Como comentado anteriormente, uma explicação alternativa é a de que as espécies de algas nanoplanctônicas (2-20µm) poderiam ser seletivamente predadas pelos consumidores. As espécies do nanoplâncton (Classes Cryptophyceae e Euglenophyceae) são dominantes na baía do Castelo na fase de alta produção (enchente), como reportado por Oliveira & Calheiros (2000) num estudo realizado em 1996, ano em que a dequada foi mais forte que a de 1999. Tais algas são reconhecidas como sendo mais comestíveis e tendem também a ser mais ^{13}C -empobrecidas, comparadas com as formas maiores e dificilmente ingeridas e/ou digeridas, as quais, em geral, são mais enriquecidas devido à sua relação superfície/volume menor (Fry & Sherr, 1984; Fry & Wainright, 1991; Goericke et al., 1994; Grey et al., 2001; Michener & Schell, 1994; Rolff, 2000).

As algas das Classes Cryptophyceae e Euglenophyceae foram representadas por espécies nanoplanctônicas flageladas características de condições heterotróficas (Oliveira & Calheiros, 2000). Porém, apesar deste tipo de alga apresentar potencialmente valores ^{13}C -empobrecidos, devido ao seu tamanho menor, podem, por outro lado, apresentar tendências heterotróficas, gerando perdas de carbono empobrecido durante a respiração, resultando em um enriquecimento em ^{13}C (Rolff, 2000).

Por outro lado, Goericke et al. (1994) menciona que algas dos grupos das cianobactérias e das clorofíceas teriam apenas o sistema enzimático FEP no processo de β -carboxilação e, neste caso, utilizar-se-iam de HCO_3^- . Já as criptofíceas, crisofíceas e as diatomáceas planctônicas apresentariam ambos os sistemas FEP e FEPC (usa o CO_2), enquanto que as diatomáceas

bentônicas apenas o FEP (Figura 1). Estes fatos teriam implicações no sinal isotópico final do produtor primário.

Os outros grupos mais abundantes na fase de enchente foram Chlorophyceae e Cyanobacteria. No período de vazante, Oliveira & Calheiros (2000) mencionam que a dominância de Cryptophyceae diminui sendo substituída por Bacillariophyceae e Cyanobacteria e também Crysophyceae, em todo o sistema lago-rio. As oscilações hidrológicas, associadas às condições de dequada, promovem alterações na estrutura e na dinâmica das comunidades aquáticas (Calheiros & Ferreira, 1997), não somente nas comunidades de algas, como mencionado acima (Oliveira & Calheiros, op. cit.), mas também nas comunidades zooplanctônicas⁶ e bentônicas⁷, pela predominância de espécies e formas de desenvolvimento mais resistentes às condições de anoxia.

A possibilidade de que o processo de centrifugação contínua não tenha amostrado essas algas mais ^{13}C -empobrecidas foi refutada, como visto, comparando-se as sub-amostras “pré” e “pós das amostras de *alga* do ponto 7 (Figura 22). Ao contrário dos valores de $\delta^{13}\text{C}$, as sub-amostras apresentaram sinais de $\delta^{15}\text{N}$ inesperadamente tão empobrecidos que chegaram a ser negativos.

Ao contrário do afirmado para isótopos de carbono, as células menores (< 20 μm), apresentam valores de $\delta^{15}\text{N}$ muito mais enriquecidos que as células maiores (Leggett et al., 2000). Isto implica em diferenças na composição das espécies nas diversas frações do material particulado, tanto em termos do grau de fracionamento e/ou quanto da fonte de nitrogênio utilizada: células menores usariam principalmente NH_4^+ ^{15}N -enriquecida e as maiores usariam uma fonte relativamente mais empobrecida como $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$. Esses autores também observaram criptofitas e crisofitas na fração nanoplanctônica, como observado na baía do Castelo por Oliveira & Calheiros (2000), bem como dinoflagelados.

⁶ Calheiros & Brandorff, dados não publicados.

⁷ Pereira, Barbosa & Calheiros, em preparação.

Os únicos componentes fitoplanctônicos que poderiam mostrar a forte depleção observada em $\delta^{15}\text{N}$ seriam as algas do grupo das Cyanobacteria, que se caracterizam por apresentar espécies com tamanhos muito diferentes, desde espécies nanoplanctônicas até colônias filamentosas (Reynolds, 1984; Rolff, 2000), as quais têm a habilidade de fixar nitrogênio da atmosfera (por meio de células diferenciadas nas filamentosas, os heterocistos). Considera-se, por outro lado, que as cianobactérias tenham um sinal isotópico de carbono enriquecido devido ao uso de HCO_3^- , por meio de um eficiente mecanismo de concentração de carbono (Goericke et al., 1994; Kaplan et al., 1991). Entretanto, Rolff (2000) comenta que a informação sobre $\delta^{13}\text{C}$ em cianobactérias é escassa e contraditória e observa que, em seu estudo, as cianobactérias sempre foram mais empobrecidas do que outras amostras fitoplanctônicas coletadas concomitantemente. Outras fontes com valores tão negativos de $\delta^{15}\text{N}$ poderiam ser as bactérias picoplanctônicas por meio da fixação de N_2 ou pelo uso secundário de nitrogênio empobrecido fixado pelas cianobactérias (Goericke et al., 1994; MacGregor et al., 2001; Rolff, 2000).

O fenômeno de floração de algas é peculiar, pois ilustra a elevada dinâmica do compartimento planctônico, tanto em termos de disponibilidade e uso das fontes inorgânicas, e dos fracionamentos relacionados, como da estrutura das comunidades envolvidas. Como visto para NID, as formas de CID e NID são prontamente utilizados na primeira etapa da floração, caracterizada por uma discriminação elevada das algas em detrimento dos isótopos pesados, deixando o estoque remanescente das fontes inorgânicas relativamente enriquecido. À medida que a floração continua, a demanda por essas fontes permanece alta e a discriminação contra o isótopo pesado diminui, enquanto o estoque remanescente diminui, resultando em um sinal de $\delta^{15}\text{N}$ de algas mais enriquecido (Leggett et al., 2000; O'Reilly et al., 2002; Rolff, 2000). Ao mesmo tempo, à medida que as fontes de NID são consumidas durante a floração de algas, a população de zooplâncton aumenta e o suprimento de nitrogênio pode ter a prevalência do nitrogênio amoniacal mais empobrecido excretado pelos

próprios ou pela eliminação direta pelas células de cianobactérias da floração (Rolff, 2000).

Um outro aspecto que poderia ser levado em consideração está relacionado ao uso secundário de formas regeneradas de nitrogênio orgânico mais enriquecido, que pode acontecer por meio da ingestão de bactérias ou ciliados pelas algas mixotróficas flageladas. Isso faria parte da cadeia alimentar microbiana ou alça microbiana (“microbial loop”) e representa uma via complexa de enriquecimento isotópico em nitrogênio para o zooplâncton (Leggett et al., 2000).

Os valores de $\delta^{15}\text{N}$ baixos e/ou negativos observados em *alga* do ponto 7, COP e MOS, além dos consumidores, durante a fase de subida das águas (Figuras 16, 19 e 24), poderiam ser explicados até agora devido a um mistura de fontes de NID ^{15}N -empobrecidas: a contribuição do nitrogênio atmosférico fixado através das cianobactérias, ou o uso secundário (reassimilação) de NH_4^+ regenerado e mais empobrecido, provido pela excreção das algas e do zooplâncton, ou ainda por NO_3^- empobrecido, derivado da nitrificação (Leggett et al., 2000; Rolff, 2000).

Embora tenha sido possível examinar, em duas oportunidades, amostras de cianobactérias coletadas diretamente de florações (passando apenas por filtragem e secagem), não houve evidências de valores negativos e os valores de $\delta^{13}\text{C}$ foram variáveis. A primeira floração foi observada durante uma amostragem preliminar (abril/98, ponto 5) e apresentou um valor empobrecido de $\delta^{13}\text{C}$ (-34,5‰) e um sinal expressivamente alto para $\delta^{15}\text{N}$ (8,0‰); a razão $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ estava aumentando (0,45) neste local, enquanto o resto do lago já apresentava razões mais altas (0,53 a 0,94). A outra floração aconteceu no Ponto 4, em março/99, e resultou em um valor de composição isotópica menor, mas ainda positivo para o nitrogênio (0,49‰), talvez indicativo de fixação, e um valor não tão empobrecido para carbono (-29,7‰).

A identificação microscópica da primeira floração revelou tratar-se de um florescimento de algas microplanctônicas filamentosas pertencentes ao grupo

das cianobactérias, particularmente das espécies *Anabaena solitaria* e *Anabaena sp.*, entre outras espécies como *Microcystis aeruginosa*, *Microcystis sp.*, *Aphanocapsa sp.*, *Pseudanabaena mucicula* e de outros grupos como Bacillariophyceae (*Aulacoseira sp1* e *sp2*, etc) e Chlorophyceae (*Volvox sp.*, etc). Por causa da presença de grande quantidade de heterocistos nos organismos do gênero *Anabaena*, baixos valores isotópicos de nitrogênio (próximos à zero) eram esperados nesta amostra. Hamilton & Lewis (1992) também encontraram valores baixos de $\delta^{15}\text{N}$ e os relacionaram à fixação de N_2 por esse grupo de algas, porém eles não observaram valores negativos. Entretanto, segundo MacGregor et al. (2001) a formação de heterocistos bem como sua atividade só é iniciada em resposta a uma limitação de nitrogênio no meio, relativa ao fósforo (Marino et al., 2002).

Baseado nas proposições discutidas acima, a observação de valores mais baixos de $\delta^{15}\text{N}$ e de $\delta^{13}\text{C}$ obtidos durante o período de enchente e inundação plena nas amostras de *alga* e COP, não parece estar relacionada com as espécies flageladas nanoplânctônicas, o grupo taxonômico mais abundante nesse período (Oliveira & Calheiros, 2000). Esses valores empobrecidos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ poderiam ser causados principalmente pela presença de cianobactérias, embora não tenham sido tão abundantes durante essa fase (Oliveira & Calheiros, op. cit.). Células maiores são propensas a apresentar valores de $\delta^{15}\text{N}$ mais empobrecidos e as diatomáceas, pertencentes ao grupo das Bacillariophyceae, são relativamente grandes e utilizam o NO_3^- como sua principal fonte de NID (Fry & Wainright, 1991). Este grupo, geralmente encontrado no bentos e epifiton, foi observado em amostras planctônicas durante os períodos de enchente e inundação plena na baía do Castelo, contudo também em baixas densidades relativas (Oliveira & Calheiros, 2000).

Durante a descida das águas até a fase de seca, uma contribuição crescente de algas flageladas nanoplânctônicas poderia ter causado, o enriquecimento de *alga* e COP tanto para $\delta^{13}\text{C}$ como para $\delta^{15}\text{N}$ (Figuras 16 e

24). As grandes diatomáceas, em geral mais enriquecidas em ^{13}C , são relativamente mais abundantes durante a vazante (Oliveira & Calheiros, op. cit.).

Em geral, as algas filamentosas macroscópicas do grupo das clorofíceas e das cianobactérias foram encontradas apenas em três locais ao longo da baía do Castelo, não sendo sugestivo, portanto, de uma alta importância para o fluxo de energia deste sistema.

Porém, até esta fase da discussão há na verdade poucas evidências que indiquem uma fonte primária de carbono tão empobrecida capaz de causar os sinais observados na maioria dos consumidores, incluindo os primários e alguns consumidores secundários, do sistema baía do Castelo – rio Paraguai (Figura 25). Parece improvável que *alga* sozinha, pudesse responder por esta depleção generalizada em ^{13}C . Outra possibilidade, embora especulativa neste momento, seria a contribuição de bactérias metanotróficas (BM), que poderiam ter um papel importante na cadeia alimentar do Pantanal, como considerado também por Bunn & Boon (1993), Jones et al. (1999) e Kiyashko et al. (2001) para outros ambientes.

5.5 Alternativa à produção fototrófica

O metano é muito abundante nas áreas inundadas do Pantanal, sendo responsável por 10% do fluxo difusivo de carbono total (Hamilton et al., 1995). É altamente ^{13}C -empobrecido, variando de -45 a -66‰ e com média de -55‰ (Smith et al., 2000). Bactérias metano-oxidantes têm $\delta^{13}\text{C}$ de 10-20‰ mais negativos do que o metano, de forma que os valores de biomassa dessas células podem alcançar -64‰ para um valor respectivo de metano de -52‰ (Zyakun et al.⁸, citados por Fry & Sherr, 1984). Provavelmente para as

⁸ Zyakun, A.M.; Bondar, V.A.; Namsaraev, B.B. Fractionation of methane carbon isotopes by methane-oxidizing bacteria. In: **Forschungsheft C360, Reaktor der Bergakademie Freiberg**. Leipzig: VEB Deutscher Verlag für Grundstoff Industrie, 1981. p.19-27.

condições do Pantanal, os valores de BM estariam dentro desta mesma faixa de variação.

A metanogênese não só pode acontecer em sedimentos anóxicos, mas também sob baixos níveis de oxigênio na coluna d'água (Bastviken et al., 2003), os quais ocorrem com frequência no Pantanal, particularmente durante a subida das águas (eventos de dequada). Biofilmes e agregados coloidais podem também promover metanogênese, sendo que os agregados são mais freqüentes durante as enchentes. Portanto, CH₄ é uma fonte de energia importante e amplamente disponível, da qual dependem quimioautótrofos muito específicos como BM.

Usando um simples balanço de massas entre os possíveis sinais isotópicos de CH₄ e o valor obtido para *detrito* (como MOPad estimado como uma média entre valores epifíticos e sestônicos = -28‰) como a segunda fonte, como proposto por Bunn & Boon (1993), o sinal de carbono das BM variaria entre -44,0 e -33,4‰ (média = -38,7‰) se elas assimilassem 50% (Bact₅₀) de cada fonte ou entre -61,0‰ e -40,9‰ (média = -51,0‰) se elas assimilassem 95% (Bact₉₅) de CH₄ (assumindo um fracionamento de 1‰). Bunn & Boon (1993) chegaram a valores de $\delta^{13}\text{C}$ de -43‰ (usando 50% de CH₄) e -58‰ (para 95% de CH₄) para as BM.

A composição isotópica de carbono dos Chironomidea bentônicos (Tabela 1, Figura 25) pode ser explicada somente através do consumo de uma fonte muito empobrecida como as BM, como indicado por Bunn & Boon (1993) e Kiyashko et al. (2001), o qual observou um padrão semelhante de chironomídeos ¹³C-empobrecidos no Lago Biwa (Japão) que foi atribuído às BM. É provável que estas bactérias variem entre os valores calculados no balanço de massas acima. Contudo os valores extremamente negativos de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ dos Chironomidea sugerem valores ainda mais negativos para as mesmas, assumindo uma variação trófica de +1‰ e +3,4‰, respectivamente para as razões de carbono e nitrogênio (DeNiro & Epstein, 1978; Minagawa & Wada, 1984).

O fracionamento trófico entre chironomídeos e os valores estimados para BM, -39‰ e -51‰, foram de -16 e -4‰, respectivamente. Já os valores extremamente negativos de $\delta^{15}\text{N}$ (-5,3 a -0,8‰) sugerem alimentação direta sobre BM, sem elos tróficos intermediários incluindo ingestão de protistas ou metazoários da meiofauna, por exemplo. Por outro lado, poder-se-ia supor a ocorrência de uma possível simbiose com estas bactérias, mas a grande variação nos valores de $\delta^{13}\text{C}$, como também nos de $\delta^{15}\text{N}$, afastam a idéia de uma relação simbiótica obrigatória (Kiyashko et al., 2001).

Portanto, os chironomídeos são um indicador que BM, e, por conseguinte metano, estariam envolvidos na cadeia alimentar do Pantanal. Em publicação recente, Bastviken et al. (2003) encontraram padrões semelhantes aos do presente trabalho em lagos da Suécia no inverno, com o zooplâncton sendo bem mais negativo que o COP (considerado como o sinal do fitoplâncton), cuja faixa de valores foi de -35 a -30‰. Estes autores também chegaram à conclusão que as BM podem significar uma fonte de alimento expressiva para zooplâncton e que a oxidação por metano representa um elo potencialmente importante de ligação de carbono e energia entre os compartimentos bentônico e pelágico. Estes autores são os únicos, até onde se pode afirmar, que enfocaram diretamente o papel das bactérias metanotróficas na cadeia trófica, por meio de estimativas de produção microbiana (incluindo produção primária) em conjunto com medidas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$, e puderam chegar a tais conclusões com maior embasamento.

As bactérias metanotróficas se apresentam, então, como sendo a fonte mais empobrecida em $\delta^{13}\text{C}$ e a alternativa às cianobactérias quanto aos valores de $\delta^{15}\text{N}$, responsável pelos valores tão negativos observados nos consumidores. Embora os sinais de $\delta^{15}\text{N}$ dos consumidores tenham sido normalmente enriquecidos, a tendência decrescente para os valores isotópicos durante o período de enchente foi evidente com diferenças expressivas entre os sinais. Essas diferenças foram mais pronunciadas nos filtradores (6‰ para

zooplâncton e tão alta quanto 14‰ para os conchostracas) e chironomídeos do bentos (6‰) do que nos onívoros (2‰ para Culicídeos) ou até mesmo predadores, os quais apresentaram diferenças muito similares, variando entre 0,7 e 1,9‰. Apenas os conchostracas apresentaram valores negativos (abril/99) refletindo uma dependência direta sobre uma fonte de nitrogênio muito negativa durante a dequada (Figura 28b).

Igualmente, Bunn & Boon (1993) encontraram valores muito leves de $\delta^{13}\text{C}$ para consumidores primários como zooplâncton, bivalves, decápodos (camarões) e chironomídeos do epifítton (Baetidae e Chironominae) e para os secundários como ninfas de libélula (Anisoptera e Zygoptera), besouros (Gyrinidae e Dytiscidae), como também para os hemípteros da família Belostomatidae (coincidentemente apresentando valores menos ^{13}C -empobrecidos, atípicos para o restante do grupo). Wantzen et al. (2002) encontraram uma faixa de variação um pouco mais positiva para os invertebrados aquáticos (entre -36 e -25‰) e bem semelhante para peixes detritívoros (-28 a -36,5‰) na sub-região de Cuiabá (Figura 3), indicando contribuição parcial de uma fonte adicional mais negativa, pela utilização do carbono respirado durante o período de águas altas pelas algas ou BM. Jones et al. (1999), por sua vez, concluíram que o fitoplâncton não explicaria adequadamente a tendência de empobrecimento observada nos valores de $\delta^{13}\text{C}$ zooplânctônicos e propuseram que estes organismos estariam se alimentando (pastando) seletivamente sobre BM. Bastviken et al. (2003) observaram sinais de zooplâncton entre -42 e -25‰ e também concluíram por uma parcela de contribuição das BM na dieta desses consumidores. Hessen & Nygaard (1992) observaram que a fixação de carbono através dos metanotróficos poderia ser da mesma ordem de magnitude do que a produção secundária bacteriana e conseqüentemente contribuiria significativamente para a nutrição do zooplâncton.

Hadas et al. (2001) relatam a influência das bactérias quimioautotróficas, tanto diretamente quanto indiretamente (através da cadeia trófica microbiana),

como fontes de carbono ^{13}C -empobrecidas para o zooplâncton, mas relacionando com outro grupo de bactérias, as bactérias enxofre-oxidantes, que oxidam H_2S . No Pantanal, contudo, os níveis de H_2S não são detectáveis (Calheiros & Hamilton, 1998).

Como nos lagos ricos em COD, estudados por Jones et al. (1999), a baía do Castelo, como também todo o sistema rio-baía, é rica em COD durante o período de enchente com evidentes mudanças na cor da água (Calheiros & Hamilton, 1998). Desta forma, durante esta fase hidrológica o sistema é provido por um maior suprimento de matéria orgânica alóctone e níveis de oxigênio suficientemente baixos, condições básicas para uma metanogênese expressiva (Bastviken et al., 2003).

Deste modo, bactérias metanogênicas deveriam compor uma fração importante do bacterioplâncton para que os organismos filtradores pudessem assimilar esta fonte ^{13}C -empobrecida. Calheiros⁹ observou uma elevada concentração de bacterioplâncton nas águas da baía do Castelo, dentre as maiores citadas na literatura para planícies de inundação, sendo o pico de concentração coincidente com o período de dequada e com valores elevados COD.

Considerando que a maioria dos consumidores se posicionou fora da área do triângulo (Figura 25) delimitada pelas razões isotópicas das fontes de energia (corrigidas pelos fracionamentos tróficos), como previamente discutido, é possível supor que BM tenha realmente um importante papel como fonte básica de nitrogênio e energia. Assim, um balanço de massas simples (uma fonte - dois isótopos) foi aplicado para *alga* ($\delta^{13}\text{C}$ -29‰) e bactérias metanotróficas ($\delta^{13}\text{C}$ considerados como -39‰ e -51‰, respectivamente para 50% e 95% de uso dos valores médios de CH_4) para se estimar a importância potencial desses organismos para os consumidores. Os filtradores tiveram seus valores de $\delta^{13}\text{C}$ médios entre -38 e -34‰ e os peixes detritívoros entre -37 e -33‰. Deste modo, os filtradores poderiam ter assimilado o carbono originário

⁹ Calheiros, dados não publicados.

de Bact₅₀ numa faixa entre 50 e 80% e de Bact₉₅ entre 20 e 40%; para peixes detritívoros a faixa de incorporação de carbono proveniente de Bact₅₀ poderia estar entre 40 e 80% e para Bact₉₅ entre 20 e 40%. Para invertebrados onívoros a porcentagem de participação de Bact₅₀, como fonte primária de carbono em conjunto com *alga*, variaria entre 100 e 50% e para Bact₉₅ entre 20 e 50%, com exceção dos gastrópodes (0% para ambos os casos) e decápodos (20% e 10%, respectivamente). Para os invertebrados predadores a importância potencial das BM como um componente da mistura de fontes primárias, pode ser notada também. Para eles a faixa de variação usando-se Bact₅₀ esteve entre 80 e 40% e para Bact₉₅ entre 20 e 30%. Para os próprios organismos bentônicos, a dieta teria a participação de fontes enriquecidas como *alga*, quando em conjunto com Bact₉₅, apenas na proporção de 5% para o valor mais enriquecido dos chironomídeos (-49,4‰) e de 30 a 60% para a faixa de variação dos efemerópteros; quando se compara com uma dieta composta de *alga* e Bact₅₀, apenas o valor mais enriquecido dos efemerópteros teria participação de 50% (Tabela 1).

Portanto, os peixes detritívoros e a maioria dos invertebrados estudados na baía do Castelo parecem incorporar direta e/ou indiretamente quantidades expressivas de energia proveniente de BM. Contudo essas porcentagens são muito grandes e há poucas evidências na literatura de que BM possam ter tanta importância em cadeias tróficas. Bastviken et al. (2003), por exemplo, concluem que os sinais observados de zooplâncton só poderiam ser explicados se uma fração de 5 a 15% de MB fizesse parte da dieta, adotando uma faixa de variação para o $\delta^{13}\text{C}$ das algas (ou COP) entre -40 e -30‰, mas um sinal de BM muito mais negativo (-86‰).

A relação entre os valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ do zooplâncton com os organismos bentônicos mostraram uma correlação fortemente positiva, o mesmo ocorrendo quando se relaciona todos os organismos filtradores, porém menor quando se incluem os peixes detritívoros, porém todas sugestivas de uma linha de mistura entre duas fontes distintas de alimento (Kiyashko et al.,

2001). A primeira fonte poderia ser algas e a segunda é desconhecida, mas se caracteriza por valores isotopicamente mais leves que poderiam ser provenientes de cianobactérias ou BM (Figura 31a,b,c). Todavia, não houve correlação entre as razões isotópicas de carbono e nitrogênio nos outros grupos, embora grande número deles mostrou padrão isotópico sazonal (Figura 28).

Portanto, a incorporação direta de uma fonte alternativa de carbono como o metano, originada principalmente de fontes alóctones, pelos níveis tróficos metazoários via BM seria possível na planície de inundação do Pantanal. Isto poderia ocorrer tanto através dos compartimentos bentônicos (chironomídeos e bivalves) como planctônicos (zooplâncton) como epifíticos (conchostracas, efemerópteras e larvas de dípteros), ligando ainda o metano biogênico aos níveis tróficos superiores (peixes detritívoros) (Tabela 1, Figuras 25 e 28).

Assim, de acordo com Bunn & Boon (1993), de fato é difícil considerar que o funcionamento das cadeias alimentares nesse tipo de ambiente não possa utilizar uma outra fonte tão grande e facilmente disponível como CH_4 .

Porém, se está claro que neste sistema os valores mais baixos observados para os consumidores primários, muito mais empobrecidos do que os valores obtidos para *alga*, demonstram que eles estão utilizando outras fontes de carbono isotopicamente mais leves e em proporções expressivas, por que não se encontrou evidências desses valores tão negativos tanto em amostras de *alga* quanto em COP que poderiam ser indicativas de algas muito empobrecidas ou BM?

Do mesmo modo, os valores de C:N das amostras de *alga* foram altos, não indicando a presença animal ou de bactérias. Os valores da razão C:N variaram, em geral, de 5,5 (uma única vez, ago./99) e 6,2, como valores mínimos, a 14,3, considerando-se ambas as frações, e não indicaram predominância de biomassa animal (como protozoários, zooplâncton ou insetos) ou bactérias, para os quais os valores estariam na faixa de 4 a 6 (Andersen & Hessen, 1991; Hamilton et al. 2001). Elser et al. (2000), citam

valores de 10,2 para o seston (considerando que as algas representariam 70% da biomassa) e de 6,3 para zooplâncton (excluindo os predadores, mas mantendo os copépodos que são capazes de discriminar partículas) e 6,5 para insetos herbívoros terrestres. Hamilton & Lewis (1992), observaram que as amostras com predominância de algas, indicado pelos baixos valores de C:Clor, apresentavam uma variação da relação C:N entre 5,8 e 8,7, sendo muito similares às amostras detritais (entre 5,6 e 8,5).

Provavelmente, filtradores ou detritívoros, que ingerem matéria orgânica particulada fina proveniente da coluna d'água aberta ou nos sedimentos, estariam assimilando seletivamente algas e/ou bactérias em grau elevado para apresentar sinais muito mais ^{13}C -empobrecidos do que os das outras fontes nas quais esperar-se-ia que se alimentassem. Como visto, semelhante ao reportado por Jones et al. (1999), na baía do Castelo foi observada uma elevação na densidade do bacterioplâncton, associada ao aumento nos valores de COD durante as fases de inundação e cheia.

Com base em toda a argumentação até então realizada, conclui-se que as amostras de *alga* que mostraram razões isotópicas baixas ou negativas para nitrogênio podem conter abundância em cianobactérias N_2 -fixadoras e as amostras de COP também podem englobar outra fonte ^{15}N -empobrecida como as bactérias metanotróficas, ambas fontes podendo mostrar valores mais negativos também para carbono. O fato de sinais negativos de $\delta^{15}\text{N}$ terem sido encontrados em ambas as frações (leve e pesada) e sub-amostras (“pré” e “pós”) na fase de dequada de abr./99 (Figuras 21 e 22) sugere que fontes muito empobrecidas em ^{15}N de vários pesos e tamanhos estariam envolvidas nesta fase.

5.6 Variação sazonal dos valores de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em zooplâncton: evidências para as hipóteses levantadas

A marcante variabilidade temporal nos sinais do zooplâncton sintetiza a influência da sazonalidade isotópica das fontes inorgânicas para os produtores primários e destes para os consumidores. O zooplâncton mostra evidências claras de que havia se alimentado de fonte ou fontes de composição isotópica mais empobrecida, tanto para carbono como para nitrogênio, durante a subida das águas e na inundação plena e o oposto acontecendo nas fases de descida das águas e de seca (Figura 28a).

Deve-se salientar inicialmente que as amostras de zooplâncton obtidas eram uma mistura de grupos filtradores onívoros e predadores, ou seja, tanto consumidores de primeiro como de segundo grau (Figura 29). Rotíferos são citados como de ocorrência preferencial sob condições heterotróficas alimentando-se de bactérias (Margalef, 1983; Reynolds, 1984) e durante episódios de floração de microalgas (como observado no presente trabalho), quando apresentam rápido crescimento em densidade (Heckman, 1998). A faixa de tamanho de seus itens alimentares pode variar de pequenos micrômetros (detritos, bactérias e algas) a grandes diatomáceas e clorofíceas, sendo que o gênero observado, *Brachionus*, também é citado como capaz de se alimentar de euglenas. Cladóceros são primariamente filtradores, apresentando também grande variação no tamanho das partículas ingeridas: detrito, bactérias e fitoplâncton, especialmente nanoplâncton. Copépodos do grupo dos Calanóidas também são filtradores onívoros, geralmente pastando sobre partículas maiores (fitoplâncton e ocasionalmente detrito), mas com tendência a serem mais seletivos (em termos de tamanho e valor nutricional) do que os cladóceros. Os náuplios de ambos os grupos de Copépodos (Calanoida e Cyclopoida) alimentam-se de partículas menores, sendo menos seletivos do que os estágios mais desenvolvidos. Os ciclopóidas geralmente são predadores seletivos, preferencialmente sobre outros microcústáceos, e os maiores podem

alimentar-se de larvas de dípteros, de oligoquetas e chironomídeos (Margalef, 1983; Reynolds, 1984).

Por outro lado, a ocorrência de episódios de aumento expressivo de densidades populacionais (ou “blooms”) exemplifica detalhadamente particularidades das relações tróficas. O sinal mais empobrecido do $\delta^{13}\text{C}$ zooplancônico (-42,7‰) foi observado durante um evento de alta densidade desses organismos (“bloom”), no ponto 1 durante a fase de dequada de maio/99, com os valores de gases respiratórios característicos de dequada (0,97mg/L para OD, 34,4mg/L para CO_2) (Figuras 10 e 28a). Este sinal extremamente negativo mostra um fracionamento isotópico muito grande (12 a 14‰) dos valores de *alga* (-28,7 e -30,4‰) obtidos, respectivamente, nos pontos 4 e 7 de coleta de seston. Durante esta amostragem todo o lago apresentava valores de $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ mais altos do que 0,5 (entre 0,6 a 1,3, Figura 13a). Neste caso, parece evidente que *alga* não poderia definitivamente ser a fonte principal da dieta. O “bloom” mostrou um valor de $\delta^{15}\text{N}$ relativamente baixo (4,2‰) e os grupos taxonômicos presentes eram das Ordens Copepoda (principalmente Calanoida) e Cladocera, em proporções semelhantes, além da presença de uma espécie de rotífero (*Brachionus calyciflorus*).

Outro “bloom” zooplancônico aconteceu durante uma amostragem preliminar (ponto 1, abril/98) com valores de $\delta^{13}\text{C}$ também empobrecidos (-40,9‰). Simultaneamente uma floração ocorria no ponto 5, com dominância de microalgas filamentosas do grupo das Cyanobacteria (*Anabaena solitaria* e *Anabaena sp.*), apresentando um valor bem negativo (-34,5‰) para $\delta^{13}\text{C}$ (com razões $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$ iguais a 0,53 e 0,45 para cada local) e bem enriquecido para $\delta^{15}\text{N}$ (8,0‰), como visto anteriormente. Se compararmos o sinal de carbono do zooplâncton com o obtido na amostra praticamente pura de cianobactérias, embora provenientes de locais diferentes, o fracionamento isotópico resultante apresenta um valor menor, contudo ainda elevado (6,4‰). Esta floração de zooplâncton produziu, ao contrário da anterior, um sinal de $\delta^{15}\text{N}$ mais alto (11,5‰) e foram observados, através de lupa em uma sub-amostra coletada

antes do procedimento que induzia a migração, muitos rotíferos coloniais, cladóceros e principalmente copépodos (tanto adultos como náuplios).

A floração de zooplâncton de abril/98 apresentou valor elevado de $\delta^{15}\text{N}$, um mês característico de depleção nos valores isotópicos, por indicar que o zooplâncton estaria se alimentando de fontes muito enriquecidas em ^{15}N , confirmada pela alta razão isotópica de nitrogênio, as quais poderiam ser tanto fontes animais (protozoários ou outros grupos de zooplâncton) e bactérias heterotróficas, bem como cianobactérias, cujo valor de $\delta^{15}\text{N}$ estava bem elevado em local relativamente próximo (ponto 5). Já as fontes primárias de carbono poderiam ser provenientes também das cianobactérias, devido ao valor empobrecido de carbono apresentado na floração em questão, em conjunto com as bactérias metanotróficas, uma vez que o valor de carbono apresentado pelo zooplâncton foi ainda mais empobrecido do que o das cianobactérias. Por sua vez, na coleta de maio/99, a dieta também parece tender a uma combinação de bactérias metanotróficas e cianobactérias devido ao sinal baixo de $\delta^{13}\text{C}$, mas com uma proporção menor de animais, uma vez que o $\delta^{15}\text{N}$ não foi tão alto.

Esses resultados levam a se pensar em assimilação diferenciada de C e N em relação às diferentes fontes como também em fracionamentos diferenciados. De fato, de acordo com Adams & Sterner (2000), dependendo da qualidade da dieta (C:N), o fator de fracionamento trófico pode apresentar grande variação e conseqüentemente influenciar o sinal de $\delta^{15}\text{N}$, sendo que ambos são inversamente relacionados ao conteúdo de nitrogênio da dieta. Além disso, estimativas de fracionamento estão sujeitas a outros tipos de incerteza e podem variar dependendo de fatores fisiológicos e ambientais, além daqueles já discutidos, como: estado nutricional do consumidor, eficiência de assimilação, tamanho, idade, ontogenia da dieta e condições de estresse de água ou alimento (Adams & Sterner, 2000; Minagawa & Wada, 1984).

Tanto as amostras de *alga* do ponto 7 quanto as de COP (ponto 5) apresentaram uma variação sazonal para os valores de $\delta^{13}\text{C}$, porém sendo

significativamente semelhantes ($P > 0,05$), contudo com sinais bem enriquecidos comparados aos do zooplâncton (-42,7 a -31,6‰), resultando em fracionamentos tróficos muito distantes. Ambas as fontes potenciais devem possuir fator(es) em comum que os torna mais negativos durante a fase de águas altas, provavelmente algas utilizando CO_2 respiratório, mas que não refletiram os valores tão mais leves do zooplâncton (Figura 30).

Quanto ao nitrogênio, como é amplamente reconhecido, animais também refletem o $\delta^{15}\text{N}$ de suas dietas, mostrando um padrão bem geral de enriquecimento de $+3,0 \pm 2,6\text{‰}$, segundo DeNiro & Epstein, (1981) ou de $+3,4 \pm 1,1\text{‰}$, de acordo com Minagawa & Wada (1984), ou até mesmo de $+3,5 \pm 0,2\text{‰}$ (Vander Zanden & Rasmussen, 2001). Os valores zooplanctônicos de $\delta^{15}\text{N}$ mostraram-se enriquecidos em relação aos de *alga* do ponto 7 e COP o ponto 5 (também considerados semelhantes, $P > 0,05$), porém com valores de enriquecimento por nível trófico correspondendo melhor aos sinais de COP do que com os de *alga* (Figura 30), adotando-se a faixa de variação entre 1,3 e 5,3‰ de (Minagawa & Wada, op. cit.).

Comparando-se cada fracionamento trófico entre os valores correspondentes de nitrogênio de *alga* e zooplâncton, os fracionamentos resultantes só foram compatíveis com a faixa de fracionamentos adotada em três amostras (meses) durante o período de vazante-seca ($\Delta = 2,1, 1,9$ e $5,1\text{‰}$) e em duas durante a fase de enchente-cheia ($\Delta = 2,6$ e $1,7\text{‰}$). Estes episódios coincidem com os picos de produção fitoplanctônica na baía do Castelo, que são observados durante as fases de enchente e vazante (Oliveira & Calheiros, 2000), evidente nos dados de clorofila-*a* (Figura 23). Na fase de enchente, o lago recebe os nutrientes provenientes da lixiviação do solo e da vegetação da planície. Durante a vazante, a água drenada da planície de inundação alcança o lago, também trazendo grande quantidade de nutrientes. Em ambas as fases, aumentos de produção fitoplanctônica são observados (Calheiros & Hamilton, 1998; Hamilton et al., 1997; Oliveira & Calheiros, 2000). Comparando-se agora os valores de $\delta^{15}\text{N}$ de zooplâncton com as amostras de COP (Figura 30), o fator

de fracionamento calculado para nitrogênio cai dentro ou bem próximo à faixa de fracionamento tradicional de Minagawa & Wada (1984) para todas as amostras, com exceção para os meses de junho (0,0‰) e setembro (6,2‰).

Desta forma, os resultados sugerem que as amostras mistas de zooplâncton têm uma correspondência maior com os dados de COP, o qual compreende potencialmente detritos, bactérias e animais (protozoários e outras formas de zooplâncton), do que os de *alga*. Na verdade, uma vez que as amostras de zooplâncton são uma mistura de consumidores primários e secundários, ambas as fontes autotróficas e heterotróficas, com carbono de origem autóctone e alóctone, respectivamente, poderiam potencialmente estar envolvidas e sendo utilizadas à medida de sua disponibilidade.

Grey et al. (2001) acharam um padrão sazonal semelhante entre os valores isotópicos mais leves de carbono e nitrogênio do zooplâncton durante o período mais produtivo (julho-outubro) e os mais enriquecidos no período de maior estresse (nov.-maio) no lago Ness (Escócia). Contudo, os autores relacionaram os sinais mais empobrecidos de carbono zooplânctônico (mínimo = -31‰) aos sinais do fitoplâncton, enquanto durante a fase menos produtiva os sinais destes consumidores foram considerados como dependentes da MOP alóctone mais pesada, através de ligações com elos microbianos heterotróficos. Assim, ao contrário dos dados obtidos na baía do Castelo, eles obtiveram um padrão sazonal em que há uma clara mudança na origem das fontes de zooplâncton (tanto para $\delta^{13}\text{C}$ como para $\delta^{15}\text{N}$), de alóctone para autóctone durante o período mais produtivo.

É importante ressaltar que o uso de uma abordagem que não leva em conta a sazonalidade, como adotada em muitos trabalhos, como mencionado por Bunn & Boon (1993) e O'Reilly et al. (2002), o zooplâncton, pelo contrário, se mostra dependente de fonte algácea para nitrogênio: considerando apenas a variação de seus valores de $\delta^{15}\text{N}$ (entre 3,8 e 10,3‰) e apenas o valor médio de fracionamento trófico de 3,4‰, os valores resultantes para $\delta^{15}\text{N}$ das fontes

potenciais ficam entre 0,4 e 6,9‰, cuja maioria entra na faixa de valores obtida para *alga* do ponto 7 (-2,1 a 6,0‰).

Entretanto, como discutido acima, todas essas afirmações que consideram fracionamentos tróficos para zooplâncton têm alta probabilidade de estarem incorretas, uma vez que estes consumidores, na verdade, se alimentam sobre múltiplos níveis tróficos e com fontes de variadas razões C:N. Usando tais fatores de fracionamento fixos ou pré-estabelecidos não se pode determinar com segurança as associações tróficas para um grupo tão heterogêneo.

Os valores mais altos das razões isotópicas de nitrogênio zooplânctônico no período seco (entre 6,2 e 10,3‰) poderiam estar relacionados a um número maior de ciclopóidas predadores. Contudo, esta hipótese não foi confirmada, sendo os calanóidas (filtradores onívoros) o grupo de copépodos predominante entre setembro e dezembro (Figuras 28a e 29). Na realidade, os ciclopóidas foram relativamente mais abundantes na fase de enchente-cheia, entre janeiro e junho, com uma queda expressiva apenas em maio, suplantado pelos calanóidas. Esta fase coincide com valores de $\delta^{15}\text{N}$ de *alga* do ponto 7 mais empobrecidos e até negativos (Figura 30), sendo mais uma evidência da possível contribuição de cianobactérias, mas também de BM.

Os cladóceros, também considerados como filtradores onívoros, foram o grupo que predominou sobre todos os demais durante a ocorrência dos valores mais empobrecidos da amostra mista de zooplâncton (entre 3,7 e 5,7‰), no período de enchente-cheia (fev.-jul./99). Este fato é uma forte indicação de que seriam eles os responsáveis pelo perfil isotópico resultante; apenas na amostragem de maio/99 os calanóidas, que são filtradores mais seletivos, dominaram. Portanto, os filtradores são os principais responsáveis pelos sinais mais empobrecidos observados (Figuras 28a e 29).

Com base no argumento prévio sobre o sinal isotópico de cada fonte primária potencial e o agora relacionado à prevalência do sinal de onívoros filtradores, associado em menor proporção aos predadores, é possível apoiar a hipótese de que a fonte de carbono durante o período de enchente-cheia, na

verdade, seja uma mistura de fontes composta por cianobactérias N_2 -fixadoras e algas nanoplanctônicas, além de outros grupos de microalgas que teriam utilizado fontes empobrecidas de CID e NID. Outro item de dieta potencialmente envolvido na mistura poderia ser as bactérias metanotróficas. Na fase de vazante-seca, o cenário mais provável seria a utilização de fontes mais enriquecidas, tanto para $\delta^{13}C$ quanto para $\delta^{15}N$, presentes em *alga* e/ou COP durante este período de estresse, as quais poderiam ser também espécies nanoplanctônicas flageladas, que com a possibilidade de mudança para metabolismo heterotrófico podem tornar-se potencialmente enriquecidas para carbono, além de grandes diatomáceas ^{13}C -enriquecidas.

O grupo das Cyanobacteria é freqüentemente considerado potencialmente indigesto ou tóxico para o zooplâncton e, portanto, não poderia ser uma fonte alimentar importante. Porém, Rolff (2000) associou os baixos valores de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ do zooplâncton, particularmente rotíferos e cladóceros, com a assimilação de carbono e nitrogênio cianobacterianos empobrecidos, refletindo consumo direto ou consumo secundário de bacterio-, fito- ou zooplâncton que teriam utilizado nitrogênio empobrecido resultante da atividade das cianobactérias. Como discutido anteriormente, as cianobactérias foram um táxon abundante durante as fases de enchente e vazante dentro da baía do Castelo, mas que em geral foi suplantado por, ou encontrava-se mais ou menos em equilíbrio com, Cryptophytes, Euglenophytes, Bacillariophytes e Chrysophytes (Oliveira & Calheiros, 2000). Contudo, todas estas taxa têm o potencial para serem mais ^{13}C - e ^{15}N -enriquecidos.

Assim, constata-se que a estrutura clássica de cadeia trófica não é apropriada ou não explica adequadamente o compartimento planctônico altamente dinâmico, tanto em termos de variação na composição e estrutura das espécies, quanto na concentração e especiação de fontes inorgânicas de DIC e NID, e os fracionamentos (assimilativo e trófico) correspondentes. Para tanto, uma abordagem que leve em consideração o tamanho das partículas é

mais pertinente, como Margalef (1983) sugeriu nos anos 80, nomeando como “macrófagos” os organismos que se alimentam de partículas de tamanho grande e como “micrófagos”, os que alimentam de partículas menores; uma abordagem semelhante também foi seguida por Rolf (2000) para as comunidades do plâncton marinho. Neubert et al. (2000) também aborda a questão da importância do tamanho na estrutura da cadeia trófica, que reflete probabilidades heterogêneas de predação seriam mais eficientes do que os modelos clássicos e homogêneos hierarquia trófica (“modelo em cascata”).

5.7 Peixes detritívoros

Segundo Agostinho et al. (1997), espécies de peixes detritívoras são as espécies que exploram o fundo, ingerindo detrito pouco particulado, associado a restos e excrementos de invertebrados e as iliófagas as espécies que exploram o fundo ou o epifítton, ingerindo grandes quantidades de sedimento finamente particulado, juntamente com microrganismos e algas. Desta forma, tanto *P. lineatus* como *L. anisitsi* podem ser classificadas como iliófagas. Contudo, para efeito deste trabalho, usaremos apenas o termo “detritívoros”.

Os fracionamentos tróficos calculados entre o valor médio de *alga* e os peixes detritívoros amostrados, para ambas as razões isotópicas de carbono e nitrogênio, também resultaram em valores negativos e muito diferentes da faixa de variação proposta por DeNiro & Epstein (1978) e Minagawa & Wada (1984), respectivamente para $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$. Dos 63 espécimes amostrados, apenas dois apresentaram valores que coincidiram com a faixa adotada para $\delta^{13}\text{C}$, enquanto para $\delta^{15}\text{N}$ apenas três indivíduos. Assim, para os peixes detritívoros uma fonte muito ^{13}C -empobrecida também estaria envolvida, sugerindo a contribuição das bactérias metanotróficas na dieta destes metazoários. Como visto anteriormente, para esses peixes a faixa de incorporação de carbono

proveniente de Bact₅₀ poderia estar entre 40 e 80% e para Bact₉₅ entre 20 e 40%.

No Pantanal, há estudos prévios da composição da dieta de detritívoros por meio da análise do conteúdo estomacal, em outra sub-região (Figura 5) denominada Pantanal do rio Miranda (Almeida et al., 1993; Pereira & Resende, 1998). No presente trabalho, fez-se uso destes dados para comparação com as medidas isotópicas das quatro espécies analisadas.

Foram descritos itens em comum na dieta, como grandes quantidades de detrito, além de algas, em menor proporção, e invertebrados (rotíferos e protozoários, como as tecamebas). As algas encontradas, em geral, pertenceram aos mesmos grupos (Bacillariophyceae, Cyanobacteria e Euglenophyceae) encontrados por Oliveira & Calheiros (2000) no fitoplâncton. As algas do grupo das Chlorophyceae também foram observadas, mas apenas no conteúdo estomacal das espécies *Potamorhyna squamoralevis* e *Liposarcus anisitsi* (Almeida et al., 1993; Pereira & Resende, 1998).

Prochilodus lineatus apresentou em seu conteúdo estomacal além de detrito e algas, durante todas as fases hidrológicas, ocasionalmente zooplâncton, ovos, fungos, insetos, tecamebas, material de plantas vasculares e nematóides. Nas áreas de inundação, há uma sazonalidade na sua dieta, sendo que os estômagos cheios são encontrados mais freqüentemente no período de enchente-cheia, diminuem na vazante e aumentam novamente, mas em menor proporção, no período seco. Almeida et al. (1993), observaram vinte seis Famílias de algas em seu conteúdo estomacal e Bacillariophyceae e Cyanobacteria foram as mais abundantes, sendo que as diatomáceas foram encontradas durante todo o ciclo hidrológico, enquanto as cianobactérias somente em águas altas. Pereira & Resende (1998) também descreveram as algas do conteúdo estomacal de *P. lineatus* e encontraram representantes dos mesmos grupos, Bacillariophyceae e Cyanobacteria, além das

Euglenophyceae. Estes peixes sempre são observados comendo detritos, florações algais e sugando o epifíton sobre as raízes de macrófitas.

Bayo & Cordiviola de Yuan (1996) consideram que as clorofíceas e cianobactérias constituem uma importante porção da dieta de *P. lineatus*. Entretanto, medidas de clorofila-*a* no estômago e intestino confirmaram que em geral não são assimiladas e que, portanto, a digestão é limitada (Bayo & Cordiviola de Yuan¹⁰, citados por Bayo & Cordiviola de Yuan, 1996).

Esta espécie mostrou os valores mais ¹³C-enriquecidos em média (-33‰), quando comparada às demais espécies estudadas, e o valor mais alto (-25,8‰) que possivelmente indica alguma contribuição de fontes C₄ em sua dieta (Tabela 1, Figura 25). *P. lineatus* mostrou, então, uma ampla variação de valores em sua dieta, evidenciada na diferença entre os sinais isotópicos de carbono obtidos (11,1‰).

Os espécimes de *Psectrogaster curviventris* também foram analisados por Pereira & Resende (1998), que observaram em seus estômagos as algas pertencentes aos mesmos grupos citados anteriormente. Os espécimes de *P. curviventris* mostraram valores entre -39,0 e -29,9‰, sendo a segunda maior amplitude de variação dos sinais de carbono (9,1‰), mas com o sinal médio mais negativo (~ -37‰) (Tabela 1, Figura 25).

Uma outra espécie investigada considerada como detritívora foi *Potamorhyna squamoralevis*. Pereira & Resende (1998) observaram novamente os mesmos grupos de algas encontrados nas espécies anteriores, incluindo-se as do grupo Chlorophyceae. Seus valores de composição isotópica de carbono variaram relativamente pouco (3,5‰), entretanto apresentou o valor médio também o mais empobrecido (~ -37‰) (Tabela 1, Figura 25).

¹⁰ Bayo, V.; Cordiviola de Yuan, E. Ácidos graxos de *Prochilodus lineatus* (Val.) (Pisces, Curimatidae). **Revue Hydrobiologie Tropical**, v.25, p.153-157, 1992.

Wantzen et al. (2002) estudaram duas espécies de detritívoros semelhantes às deste estudo *P. curviventris* e *P. squamorailevis*, e observaram que *P. curviventris* apresentou valores mais empobrecidos em ^{13}C na fase de cheia em relação à de seca, variando de -36 a -28‰, porém com os valores mais negativos ainda enriquecidos se comparados com os obtidos no presente trabalho. Já *P. squamorailevis* coletado apenas na cheia mostrou valores entre -33 e -28‰, bem mais enriquecidos que os valores obtidos no Pantanal o rio Paraguai, para a mesma fase. A faixa de valores obtida para *P. curviventris* alcançou sinais mais enriquecidos, provavelmente por causa da fase de seca da amostragem (Tabela 1, Figura 25).

Liposarcus anisitsi é considerada mais uma espécie raspadora de fundo e das raízes das macrófitas removendo a comunidade epifítica, ou seja, iliófaga, alimentando-se preferencialmente de algas (Agostinho et al., 1997; Bowen, 1983; Heckman, 1998; Pereira & Resende, 1998). Pereira & Resende (1998) observaram as quatro famílias de algas, mas com maior diversidade de gêneros para as Chlorophyceae e Bacillariophyceae, preferencialmente grupos epifíticos e/ou bentônicos e não característicos de condições heterotróficas. Sua faixa de variação para a composição isotópica de carbono foi a mais baixa (2,6‰) e a média foi a segunda mais enriquecida (-34‰) (Tabela 1, Figura 25).

Todas as espécies, com exceção para *Potamorhyna squamorailevis*, foram citadas como apresentando também rotíferos e/ou protozoários (tecamebas) em seus conteúdos estomacais, sendo que os espécimes de *L. anisitsi* apresentaram o maior número de grupos de rotíferos e tecamebas (Pereira & Resende, 1998). Porém essa característica não se refletiu diretamente em valores mais ^{15}N -enriquecidos para nenhuma das espécies, com médias entre 7 e 8‰. Apenas *P. lineatus* mostrou uma variação pouco maior entre seus valores de nitrogênio (3,2‰), as demais espécies foram muito semelhantes (entre 1,7 e 2,4‰).

Porém, mesmo se fossem considerados apenas os valores mais baixos de $\delta^{13}\text{C}$ de *alga*, entre -33,3 e -28,6‰ (média= -29,9‰), os quais foram obtidos quando as concentrações relativamente mais altas de CO_2L aconteceram (fev.-maio/99, Figura 27) e que representariam a dieta potencial para os peixes coletados durante a fase hidrológica subsequente (cheia-vazante), ainda assim os peixes detritívoros não poderiam ter sua fonte de carbono condicionada apenas às algas porque a maioria dos valores de fracionamento foram negativos, adotando-se os limites entre -0,6 e 2,7‰ (DeNiro & Epstein, 1978). Usando apenas o valor mais leve de *alga*, os valores de fracionamento trófico variaram ainda entre -8,6 a -3,1‰. Os valores médios de nitrogênio dos peixes detritívoros como um todo, foram mais altos que 7,0‰, o que indica que eles não poderiam obter suas fontes de nitrogênio apenas pelo consumo direto das algas (Tabela 1) e, portanto, outras fontes devem estar envolvidas para produzir esses sinais mais enriquecidos. Como para o carbono, usando-se apenas os valores de *alga* para $\delta^{15}\text{N}$, obtidos durante a fase de enchente-cheia (variando entre -2,1 e 4,8‰), para todas as espécies de peixe estudadas somente com o valor mais alto (4,8‰) os fracionamentos tróficos (Δ = entre 2,3 e 3,2‰) cairiam na faixa de variação entre 1,3 e 5,3‰ encontrada por Minagawa & Wada (1984). Isto é uma indicação de que os peixes poderiam depender da fonte de nitrogênio proveniente de *alga* nesta fase. Aplicando-se os valores mínimo e médio de $\delta^{15}\text{N}$ da fonte *alga*, os fracionamentos tróficos possíveis variaram de 5,7 a 10,1‰, implicando na ocorrência de 1,7 a 3,0 níveis tróficos dentre os peixes detritívoros. Os rotíferos e protozoários reportados por Pereira & Resende (1998) em seus conteúdos estomacais, como também as bactérias heterotróficas, devem estar envolvidos na determinação dos níveis tróficos mais elevados.

Uma observação interessante na pesquisa de Pereira & Resende (1998) é que o índice alimentar (IA) calculado para cada item ingerido sempre apresentou uma grande proporção de “areia e detrito” (~ 0,9), mas às vezes a proporção apresentava uma diminuição até a faixa de 0,7 devido à participação

mais expressiva do item “algas e outros” durante o período estudado (set./89 até nov./90). O aumento da participação das algas aconteceu principalmente durante os meses de vazante e seca (set.–dez.), quando os valores de *alga* e zooplâncton tendem a enriquecer em $\delta^{13}\text{C}$ (Figura 30). Por outro lado, o item algas também chegou a aumentar sua fração na dieta durante o período de enchente-cheia, principalmente para a espécie *Liposarcus anisitsi*. Esta espécie foi a que apresentou participação das algas (IA entre 0,10 e 0,25) durante a maior parte do ciclo estudado por Pereira & Resende (1998), seguida por *Psectrogaster curviventris*; nas outras duas espécies a participação das algas foi bem menos expressiva.

Estes resultados levam a supor que durante o período de estresse proporcionado na fase de seca, com maior restrição alimentar, os consumidores primários exploram mais as algas como uma fonte de alimento e, durante o período de águas altas, com a maior disponibilidade de opções de alimento, tanto os peixes detritívoros quanto o zooplâncton e outros filtradores poderiam suprir-se de uma dieta mais diversificada. De acordo com Resende et al. (1995) e Almeida et al. (1993), a porcentagem mais alta de estômagos cheios e com maior teor de matéria orgânica foi observada durante a estação de enchente-cheia e os principais táxons de algas ingeridos pelos peixes detritívoros foram classificados principalmente como epifíticos e bentônicos como os grupos Oedogoniales, Zygnematales, Chlorococcales e Bacillariophyceae, as quais são algas fixas ou de baixa motilidade, propensas à sedimentação.

Peixes detritívoros têm adaptações morfológicas, histológicas e comportamentais diferenciadas para destinar e absorver os detritos em seu trato digestivo (Bayo & Cordiviola de Yuan, 1996; Bowen, 1983), e são observados preferencialmente nos trechos médios e inferiores dos rios, onde as partículas detritais finas se acumulam (Lowe-McConnell, 1987).

Catella (1992), estudando duas espécies de detritívoros iguais às deste trabalho, numa lagoa marginal ao rio Aquidauana (sub-região de Aquidauana, Figura 5), observou que *P. curviventris* apresentou uma porcentagem menor de

MO (média= $19,8 \pm 8,6\%$) do que *P. squamorealevis* ($28,7 \pm 1,9\%$) e com maior coeficiente de variação, 43,4% e 6,5%, respectivamente. O autor sugere que essas diferenças resultem de especializações no processo de seleção do detrito, provavelmente forrageando em substratos diferentes, ou por meio de modos distintos de adquirir e processar o alimento através de aparatos bucais e digestivos adaptados ao teor de MO disponível e/ou assimilada, sendo que *P. squamorealevis* foi classificada pelo autor como uma espécie de hábitos alimentares mais especializados em altos teores de MO e *P. curviventris* como uma espécie mais generalista. Segundo Yossa & Araújo-Lima (1998), baseando-se no conteúdo de matéria orgânica (MO) e de proteína bruta dos estômagos, como também da taxa de assimilação e digestibilidade, as diferenças observadas entre duas espécies de detritívoros da Amazônia parecem estar relacionadas às suas habilidades diferenciadas de seleção e de aproveitamento dos componentes detritais.

Os dados isotópicos de $\delta^{13}\text{C}$ corroboraram a classificação de Catella (1992), uma vez que, embora as médias tenham sido semelhantes e as mais negativas, a variação dos sinais apresentados por *P. squamorealevis* foi bem menor (3,5‰), denotando uma alimentação mais homogênea comparada com os 9,1‰ de *P. curviventris*, como já mencionado. Com base nestas premissas, pode-se inferir que *P. lineatus* seja o mais generalista dos peixes detritívoros estudados e *L. anisitsi* o mais especialista, o qual muitas vezes é considerado como algívoro. Contudo, Pereira & Resende (1998) observaram teores de MO bem variáveis para as mesmas espécies estudadas, dependendo da época do ano e do ambiente amostrado na área de inundação do rio Miranda (MS): entre 5 e 50% para *P. lineatus*, entre 10 e 60% para *P. curviventris*, entre 15 e 80% para *P. squamorealevis* e entre 30 e 55% para *L. anisitsi*, o que colocaria *P. squamorealevis* numa condição de espécie generalista e confirmaria *L. anisitsi* como especialista.

Cabe lembrar, que os dados de peixes detritívoros deste trabalho se reportam apenas ao período hidrológico entre cheia-vazante. A espécie *P. lineatus*, por exemplo, é uma espécie migratória e, segundo Benedito-Cecílio & Araújo-Lima (2002), diferentes habitats dentro da área de deslocamento espacial da espécie podem promover diferenças no sinal de $\delta^{13}\text{C}$ para uma espécie de peixe detritívoro da Amazônia.

5.8 O ambiente heterotrófico

Ambientes aquáticos, como a planície de inundação do Pantanal, são em geral heterotróficos devido aos baixos valores da relação entre produção primária e metabolismo heterotrófico ($P/R < 1$) (Finlay, 2001; Hamilton et al., 1992). Não há dados sobre taxas fotossintéticas fitoplanctônicas (líquida e total) no Pantanal, mas é possível presumir que esta relação tenda a valores negativos na maioria do ciclo sazonal, uma vez que as taxas respiratórias suplantariam em muito qualquer taxa fotossintética.

Thorp & Delong (2002) discutem tais aspectos sobre o enfoque do que seria o paradoxo da heterotrofia em rios, questionando sobre como a biomassa animal fluvial pode ser suprida principalmente pela produção autotrófica autóctone se o ecossistema como um todo é heterotrófico. Os autores propuseram uma revisão de seu Modelo de Produtividade de Rios (MPR), cujo princípio é: “a fonte primária que suporta a produção geral dos metazoários e a diversidade de espécies nos níveis tróficos médios a superiores da maioria dos rios ($\geq 4^{\text{a}}$ ordem) é a produção primária autóctone que entra nas cadeias alimentares através das vias algas-herbívoros e dos decompositores”. De acordo com eles, a via dos decompositores (alça microbiana) processaria a maioria do carbono transportado, alóctone e autóctone, e junto com a respiração algal, seria a principal responsável pelo estado de heterotrofia de um rio. A produção de biomassa dos níveis tróficos médios a superiores seria suportada principalmente por uma via de herbivoria (algas-herbívoros), por

microalgas fitoplanctônicas e bentônicas, e a via dos decompositores contribuiria timidamente para os fluxos de energia. O carbono alóctone é predominantemente refratário, enquanto o carbono proveniente das algas, embora muito menos abundante, é comumente mais lábil e digestivo, contendo mais energia por unidade de massa e seria preferido pelos metazoários.

Para o Pantanal, esse modelo parece não se adequar inteiramente, uma vez que com os dados obtidos tornou-se difícil definir qual fonte de energia, algas ou plantas vasculares, é mais importante ou suporta a cadeia alimentar aquática, considerando-se todo o ciclo sazonal. A hipótese de que haveria uma contribuição muito importante de bactérias metanotróficas para os primeiros níveis da cadeia trófica somado ao fato de que os peixes detritívoros são essenciais para a produtividade dos peixes de níveis tróficos superiores nos grandes rios tropicais, representam fatores que implicariam num papel mais expressivo da via decompositora. A possibilidade de uma ligação direta entre o carbono de origem alóctone, via metanogênese e bactérias metanotróficas (Bunn & Boon, 1993; Jones et al., 1999; Kiyashko et al., 2001), e a cadeia dos metazoários (zooplâncton e invertebrados do epífiton além dos peixes detritívoros) não foram, portanto, considerados no modelo MPR.

No Pantanal, diferentemente de outras grandes planícies de inundação, a extensa interação rio-planície contribui basicamente com um tipo de biomassa alóctone que não é tão refratária, pelo contrário muito mais facilmente decomposta, como as gramíneas em conjunto com as plantas aquáticas mortas ou em processo de senescência devido à estação de seca anterior. O fenômeno da dequada é um indicativo da rapidez do processo de decomposição: a onda de água de dequada vinda do Pantanal norte pode alcançar nosso local de amostragem (cerca de 300 km) em questão de semanas nos anos de inundação rápida e elevada.

Os resultados obtidos sugerem fortemente que ambas as estruturas tróficas, autotrófica (fotoautotrófica- ou fitoplanctônica clássica, e quimioautotróficas) e heterotrófica, sejam complementares e de um modo bem

equilibrado considerando-se todo o ciclo hidrológico. Defasagens no tempo de incorporação da energia proveniente dos processos de decomposição (matéria orgânica em maior quantidade, porém mais refratária) e/ou de produção autóctone (com menor quantidade, mas disponível mais rapidamente) podem coexistir numa cadeia trófica, como proposto por Richey et al. (1990), mas certamente a biota deve, de alguma forma, fazer uso de ambas.

No Pantanal, a riqueza na produção de metano, com influências nos elos metanotróficos da cadeia, como também a riqueza em gás carbônico respiratório proveniente da decomposição heterotrófica, e a importância da detritívoria (principalmente dos peixes detritívoros) para os níveis tróficos superiores apóiam esta idéia, embora os resultados obtidos forneçam apenas evidências circunstanciais para tal. O ramo metanotrófico da alça microbiana seria uma conexão alternativa de energia, unindo uma fonte volumosa de CH_4 através de um ciclo de carbono orgânico diretamente para os metazoários com uma eficiência relativa de um ou dois níveis dentro da cadeia trófica. Catella & Petrere (1996), salientam que o detrito como item da dieta de peixes é uma estratégia para encurtar as cadeias alimentares, aumentando a eficiência da comunidade e, conseqüentemente, a biomassa de peixes.

Em qualquer cadeia trófica, raramente há mais do que quatro ou cinco elos, uma vez que cadeias longas são ineficientes porque proporções elevadas de energia potencial são perdidas a cada nível. Em comunidades tropicais, muitos tipos de peixes são especializados em se alimentar nos níveis tróficos inferiores (detrito e seus microrganismos, perifíton, fitoplâncton), em contraste com ecossistemas onde estas fontes são convertidas indiretamente em comida para os peixes através dos invertebrados, como é mais freqüente em sistemas temperados (Lowe-McConnell, 1987).

Independentemente da importância do carbono algal em sistemas de inundação, como salientado por Araújo-Lima et al. (1986) e Hamilton et al. (1992), o detrito é uma rica fonte de alimento devido à presença de bactérias, protozoários e compostos orgânicos. Na verdade, detrito é conceituado como

matéria orgânica morta em vários estados de decomposição, sendo uma complexa mistura de vários itens: fragmentos de plantas e animais, sedimento, matéria orgânica já processada em diversos tamanhos de partículas, algas, bactérias, protozoários, pequenos invertebrados como organismos bentônicos (microcrustáceos e insetos) (Wotton, 1990).

Além disso, microfilmes superficiais de lipídios, proteínas (como aminoácidos), esteróis, álcoois gordurosos e carboidratos solúveis, que fazem parte de uma MOD menos refratária, podem ser agregados por efeitos de borbulhamento ou turbulência, causando floculação da MOD. Tais processos de agregação fazem parte de um mecanismo para a formulação de fontes de detrito particulado potencialmente nutritivas para os organismos detritívoros. Este COD pode ter em sua composição, além dos compostos refratários solo-derivados, principalmente os resultantes da produção autóctone do fitoplâncton e epifítton, como também exudatos extracelulares (carboidratos e aminoácidos dissolvidos) provenientes de plantas e animais mortos ou vivos, inclusive exudatos liberados pelos vastos tapetes de macrófitas. Os micróbios aderidos à superfície das partículas aumentam ainda mais o valor nutritivo do detrito (Wotton, 1990).

Um tipo de agregado coloidal de detritos finos é observado com grande abundância na coluna d'água nas águas de enchente. Estes agregados, ou "suspensóides", são na verdade uma matriz complexa de comunidades microbianas e materiais orgânicos (detrito, fragmentos celulares e polímeros extracelulares) e inorgânicos. Eles podem ser concebidos como micro-ecossistemas individuais, com papel ecológico significativo dentro de qualquer sistema aquático, uma vez que podem influenciar a qualidade da água como um todo por causa das atividades físico, químico e biológicas que apresenta (Droppo et al., 1997). São estruturas amorfas com grandes áreas superficiais que facilitam a aderência de microrganismos, íons e metais e promovem processos de nitrificação, denitrificação, oxidação de metano e metanogênese (Wotton, 1990). Este material em suspensão diferenciado, com a possibilidade

de conter organismos heterotróficos (bactérias sestônicas), e talvez metanotróficos, em sua estrutura pode ser uma das causas da manutenção dos efeitos da dequada em toda a coluna d'água, principalmente no rio, por meses e provavelmente promovendo a disponibilidade de CH_4 em toda a coluna d'água. Devem também apresentar um sinal de $\delta^{13}\text{C}$ comparável com o de plantas C_3 , a fonte dominante na área para a formação de MOP Grosseira, MOP Fina e MO Dissolvida (MOD).

Por outro lado, de acordo com Bowen (1984), dois tipos de detrito mantêm duas cadeias tróficas diferentes: o detrito “morfo” (partículas $> 100\ \mu\text{m}$) que suporta a cadeia alimentar detrito-micróbio-animal, enquanto partículas “amorfas” (precipitados orgânicos, $< 50\ \mu\text{m}$) sustentam os consumidores primários em uma cadeia alimentar formada por MOD-detrito-animal, não requerendo um intermediário microbiano. Já segundo Kerner et al. (2003), a MOD se organizaria seqüencialmente em agregados de baixo peso molecular (sub-coloidais) até alto peso molecular (coloidais) e posteriormente em micropartículas ($> 0,2\ \mu\text{m}$) semelhantes a micelas. Este processo de agregação abiótico pode ser tão rápido quanto o crescimento bacteriano na formação de partículas entre $0,4$ e $0,8\ \mu\text{m}$, cuja faixa de tamanho é semelhante à do picoplâncton ($0,2$ a $1,2\ \mu\text{m}$). Ainda segundo Kerner et al. (op. cit.), a composição química destas micropartículas (DNA, lipídeos e açúcares), inclusive com semelhanças na relação C:N ($4,1$ a $6,8$), e a semelhança de tamanhos sugere seu uso potencial como alimento alternativo para os consumidores planctônicos das bactérias, evidenciado pelas diferenças do $\delta^{13}\text{C}$ entre o picoplâncton e as micropartículas.

Esses autores consideram ainda que esta via direta entre MOD e os níveis tróficos superiores, sem passar pela alça microbiana (como também proposto por Bowen, 1984, 1987), implica em questionamentos sobre os conceitos atuais de conversão de carbono em sistemas aquáticos, ou seja, uma quantidade significativa de COD pode ser transformada em micropartículas por agregação e não apenas por processos heterotróficos. Essas partículas podem ser,

inclusive, confundidas com bactérias, por causa da semelhança na composição química.

A grande biomassa de peixes detritívoros, uma característica de rios neotropicais com extensas planícies de inundação, é sugestiva do potencial da própria qualidade do detrito (Catella & Petrere, 1996; Lowe-McConnell, 1987; Agostinho et al., 1997). DeAngelis (1992), salienta o importante papel do detrito na dinâmica de nutrientes de um ecossistema, com implicações relacionadas à estabilidade do sistema. Um compartimento detrital volumoso e relativamente constante resguarda a biota contra maiores flutuações na disponibilidade de nutrientes, contribuindo positivamente para a resiliência do sistema a perturbações que afetem a biota. As contribuições de nutrientes provenientes do detrito, de disponibilidade constante e do próprio local, permitem tanto aos autótrofos quanto aos níveis tróficos mais altos se recuperarem mais depressa do que se fossem oferecidas somente fontes externas e limitantes de nutrientes.

Por outro lado, as próprias populações podem afetar processos em um ecossistema já que os consumidores podem transportar nutrientes entre habitats com implicações nos ciclos biogeoquímicos e nas cadeias alimentares, como na estrutura da comunidade fitoplanctônica, por exemplo. Assim, peixes detritívoros podem agir como bombeadores de nutrientes, transportando nutrientes (no processo de excreção) como nitrogênio e fósforo, dos habitats bentônicos para os pelágicos. As taxas em que estes compostos são bombeados dependem muito da composição de nutrientes do detrito (Vanni, 1996).

A biogeoquímica do sistema, regulada pelo ciclo hidrológico, estabelece as flutuações nas composições isotópicas e nas concentrações das fontes de CID (inclusive metano) e de NID, assim como de seus respectivos fatores de fracionamento associados à assimilação fotossintética pelos produtores primários. Somando-se a isso a complexidade e a dinâmica da comunidade planctônica, refletida na sucessão de espécies, bem como a forte interação com

o compartimento detrital, como observado na planície inundável do Pantanal, fica difícil compreender o sistema e suas complexas interações (Bunn & Boon, 1993; Jones et al., 1999; Kiyashko et al., 2001; Leggett et al., 2000; O'Reilly et al., 2002; Rolff, 2000).

De acordo com Rolff (2000), visto que a comunidade fitoplanctônica é uma sucessão contínua de espécies que usam recursos com composições isotópicas variáveis, um estado de equilíbrio entre consumidores primários e suas fontes de alimento nunca vai, por definição, acontecer. Isto implica que a utilização de uma faixa comum e fixa de fracionamentos isotópicos por nível trófico tanto para carbono quanto para nitrogênio é limitada, em um sistema tão dinâmico como a planície inundável do Pantanal. Por outro lado, o fato de que praticamente todos os consumidores estudados terem se posicionado fora do triângulo na correlação de dados entre $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ (Figura 25), após a correção dos valores isotópicos das fontes primárias pelos respectivos fracionamentos tróficos, é uma indicação de que outras fontes de energia não amostradas neste estudo podem estar envolvidas ou de que os fatores de correção trófica não são estimados adequadamente (Phillips, 2001).

Uma descrição mais detalhada das variações espaciais e temporais (ciclos sazonais) da biota, considerando tamanho e composição taxonômica, como também das fontes inorgânicas envolvidas na base da cadeia alimentar, que controlam os sinais de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ das fontes primárias, é recomendada para se alcançar interpretações ainda mais realistas e específicas do ecossistema em questão. A amostragem de organismos poderia ter sido feita com uma frequência maior, compatível com as causas potenciais de alteração isotópica, tanto metabólicas quanto ambientais. Fica evidente que cálculos mais precisos dos fatores de fracionamento espécie-específicos em condições ambientais diferentes são extremamente importantes e devem ser enfocados em futuros estudos. Em planícies de inundação tropicais, o papel da via detrital parece ainda subestimado pelos estudos de ecologia isotópica. Desta forma, pesquisas mais completas investigando a possível ligação direta entre fontes alóctones e a

cadeia trófica dos metazoários (peixes planctônicos e detritívoros), por meio da contribuição do metano e dos grupos metanotróficos, são necessárias. Porém, neste estudo não foi possível determinar a contribuição de cada fonte potencial na dieta dos consumidores por meio das razões de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ apenas, assim um terceiro isótopo estável, como deutério, poderia ajudar na interpretação.

Assim, a abordagem clássica de níveis tróficos fixos e de fatores de fracionamento trófico pré-estabelecidas, pode não ser aplicável quando grupos de bactérias picoplanctônicas, especialmente metanotróficas, estão envolvidos, como também uma alta variabilidade de fontes de NID e CID e de grupos taxonômicos, tanto para razões isotópicas de carbono como para as de nitrogênio. Os consumidores planctônicos do sistema baía do Castelo – rio Paraguai parecem alimentar-se de maneira oportuna em uma cadeia alimentar não-estruturada, na qual o tamanho das partículas é na verdade o fator mais importante para a compreensão do fluxo de matéria e energia sendo representativos de grupos tróficos, como sugerido por Rolff (2000) para a comunidade de plâncton marinho.

5.9 Recomendações

Como recomendação para futuros estudos isotópicos no Pantanal, na tentativa de responder as questões aqui levantadas, pode-se sugerir estudos:

- de cadeia trófica, porém empregando compostos purificados específicos como aminoácidos e ácidos graxos, por meio de métodos isotópicos e/ou métodos biomoleculares, resultando em maior refinamento e definição da posição trófica e da origem e do fluxo das fontes envolvidas na base da cadeia como tem sido utilizado recentemente (Cifuentes & Salata, 2001; Créach et al., 1999; McClelland & Montoya, 2002);

- com utilização de um terceiro traçador isotópico, como o hidrogênio, para estimar o papel das bactérias metanotróficas em relação ao fitoplâncton (Fry & Sherr, 1984);
- de determinação de fracionamento isotópico assimilativo quanto à variação das fontes inorgânicas de CID, para as espécies de algas representativas dos grupos identificados como de maior importância, ou seja, nanoplanctônicas flageladas e diatomáceas, bem como das cianobactérias;
- isotópicos sobre a dinâmica da participação das cianobactérias na fixação do N_2 -atmosférico e sua incorporação nas formas de NID, em produtores e consumidores planctônicos.

6. CONCLUSÃO

A sazonalidade foi marcante para todos os compartimentos estudados, tanto o abiótico (CO_2L , OD, CID e NID) quanto o biótico (algas e invertebrados) o que se refletiu em mudanças: no tipo de fontes inorgânicas e de seus sinais isotópicos, nas fontes primárias de carbono e nitrogênio (mudanças na estrutura das comunidades de algas e possível participação das bactérias metanotróficas) e de seus respectivos fracionamentos assimilativos, bem como nas comunidades de consumidores e dos fracionamentos tróficos envolvidos.

O sinal de $\delta^{13}\text{C}$ das amostras predominantemente algáceas mostrou um fracionamento isotópico de apenas -8,3‰ em relação à fonte inorgânica (CO_2), o que poderia ser resultado de uma limitação da disponibilidade do CO_2 ou possível assimilação de ambas as fontes de CID (CO_2 e/ou HCO_3^-). Os valores de $\delta^{13}\text{C}$ dos consumidores primários foram muito mais empobrecidos do que os valores de *alga*, resultando em fracionamentos tróficos muito negativos. Deste modo, a hipótese de que as microalgas sejam a principal fonte de carbono autotrófico para o sistema baía do Castelo – rio Paraguai não foi completamente confirmada.

O balanço de evidências sugere um papel importante das fontes autóctones, como as microalgas (particularmente Cyanobacteria), na sustentação das cadeias tróficas aquáticas do Pantanal, mas como um componente de uma combinação de fontes, compartilhada muito provavelmente com as bactérias metanotróficas (quimioautotróficas). Estas bactérias foram consideradas a fonte de carbono principal para os chironomídeos, com indicações fortes de contribuição também na dieta de outros consumidores

(primários e secundários). O zooplâncton ilustrou o claro padrão sazonal que sugere a dependência de fonte ou fontes isotopicamente mais empobrecidas, tanto para $\delta^{13}\text{C}$ como para $\delta^{15}\text{N}$ durante o período hidrológico de enchente, como bactérias metanotróficas associadas a cianobactérias, e o oposto na fase de vazante-seca, como algas enriquecidas em ^{13}C e ^{15}N , bem como organismos animais. Os peixes detritívoros parecem também depender, de certo modo, da contribuição de fontes ^{13}C -empobrecidas.

Os resultados revelam participação significativa da via detrital como via alternativa de carbono na base da cadeia alimentar do Pantanal, conectando diretamente as fontes alóctones e autóctones, através da metanogênese e dos organismos metanotróficos, com os níveis mais altos dos metazoários, incluindo os peixes detritívoros. Porém, a estimativa da importância relativa das bactérias metanotróficas para as cadeias tróficas é um tópico que precisa ser melhor investigado. No levantamento bibliográfico realizado, apenas quatro trabalhos descrevem resultados semelhantes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, T.S.; STERNER, R.W. The effect of dietary nitrogen content on trophic level ^{15}N enrichment. **Limnology and Oceanography**, v.45, n.3, p.601-607, 2000.
- ADIS, J.; VICTÓRIA, R.L. C_3 or C_4 macrophytes: A specific carbon source for the development of semi-aquatic and terrestrial arthropods in central Amazonian River-Floodplains according to $\delta^{13}\text{C}$ values. **Isotopes Environmental Health Studies**, v.37, p.193-198., 2001.
- AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S.; GOMES, L.C.; BINI, L.M. Estrutura trófica. In: VAZZOLER, A.E.A.M.; AGOSTINHO, A.A.; HAHN, N.S. (Ed.) **A planície de inundação do alto rio Paraná: aspectos físicos, biológicos e socioeconômicos**. Maringá: EDUEM, 1997. p.229-248.
- AHLGREN, G. Comparison of methods for estimation of phytoplankton carbon. **Archives of Hydrobiology**, v.98, n.4, p.489-508, 1983.
- ALBUQUERQUE, A.L.S.; MOZETO, A.A. C:N:P ratios and stable carbon isotope compositions as indicators of organic matter sources in a riverine wetland system (Mogi-Guaçu river, São Paulo-Brazil). **Wetlands**, v.17, n.1, p.1-9, 1997.
- ALMEIDA, F.F.M. de. Geologia do centro-oeste mato-grossense. **Boletim da Divisão de Geologia e Mineralogia. DNPM**, v.215, p.1-137, 1964.
- ALMEIDA, F.F.M. de. Geologia da Serra da Bodoquena (Mato Grosso), Brasil. **Boletim da Divisão de Geologia e Mineralogia. DNPM**, v.219, p.1-96, 1965.
- ALMEIDA, V.L.L.; RESENDE, E K.; LIMA, M S.; FERREIRA, C.J.A. Dieta e atividade alimentar de *Prochilodus lineatus* (Characiformes, Prochilodontidae) no Pantanal do Miranda-Aquidauana, Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista UNIMAR**, v.15, p.125-141, 1993. Suplemento.
- ALVARENGA, C.J.S.; SANTOS, R.V.; DANTAS, E.L.; BROD, E.R.; GIOIA, S.M.C.L. C, O and Sr in the cap carbonate sequence overlying Sturtian-Rapitan and Varanger-Marinoan Glacial events in Brazil. In: SOUTH AMERICAN SYMPOSIUM ON ISOTOPE GEOLOGY, 4., Salvador, 2003. **Short papers**. Salvador, 2003. v.1, p.313-316.

- AMARAL FILHO, Z.P. Solos do Pantanal mato-grossense. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 1., Corumbá, 1986. **Anais**. Brasília: EMBRAPA, DDT, 1986. p.91-103. (Documentos, 5)
- ANDERSEN, T.; HESSEN, D.O. Carbon, nitrogen and phosphorus content of freshwater zooplankton. **Limnology and Oceanography**, v.36, n.4, p.807-814, 1991.
- ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; FORSBERG, B. R.; VICTÓRIA, R.; MARTINELLI, L. Energy sources for detritivorous fishes in the Amazon. **Science**, v.234, p.1256-1258, 1986.
- BASTVIKEN, D.; EJLERTSSON, J.; SUNDH, I.; TRANVIK, L. Methane as a source of carbon and energy for lake pelagic food webs. **Ecology**, v.84, n.4, p.969-981, 2003.
- BAYLEY, P.B. Aquatic environments in the Amazon basin, with an analysis of carbon sources, fish production and yield. **Canadian Fisheries and Aquatic Sciences**, v.106, p.399-408, 1989. / Apresentado ao International Large River Symposium. Proceedings.
- BAYO, V.; CORDIVIOLO DE YUAN, E. Food assimilation of a neotropical riverine detritivorous fish, *Prochilodus lineatus*, studied by fatty acid composition (Pisces, Curimatidae). **Hydrobiologia**, v.330, p.81-88, 1996.
- BENEDITO-CECÍLIO, E.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. Variation in the carbon isotope composition of *Semaprochilodus insignis*, a detritivorous fish associated with oligotrophic and eutrophic Amazonian rivers. **Journal of Fish Biology**, v.60, n.6, p.1603-1607, 2002.
- BENEDITO-CECÍLIO, E.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; FORSBERG, B.R.; BITTENCOURT, M.M.; MARTINELLI, L.A. Carbon sources of Amazonian fisheries. **Fisheries Management and Ecology**, v.7, p.305-315, 2000.
- BEZERRA, M.A.O. O uso de multi-traçadores na reconstrução do Holoceno no Pantanal Mato-Grossense, Corumbá, MS. São Carlos, 1999. 214p. Tese (Doutorado) – Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos.
- BOGGIANI, P.C. Análise estratigráfica da Bacia Corumbá (Neoproterozóico) – Mato Grosso do Sul. São Paulo, 1998. 181p. Tese (Doutorado) – Instituto de Geociências, Universidade de São Paulo.
- BOON, P.I.; BUNN, S.E. Variations in the stable isotope composition of aquatic plants and their implications for food web analysis. **Aquatic Botany**, v.48, p.99-108, 1994.
- BOUTTON, T.W. Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. In: COLEMAN, D.C.; FRY, B. (Ed.) **Carbon Isotope Techniques**. New York: Academic Press, 1991. cap. 11, p.173-185.

- BOWEN, S.H. Detritivory in neotropical fish communities. **Environmental Biology of Fishes**, v.9, n.2, p.137-144, 1983.
- BOWEN, S.H. Evidence of a detritus food chain based on consumption of organic precipitates. **Bulletin of Marine Science**, v.35, n.3, p.440-448, 1984.
- BOWEN, S.H. Composition and nutritional value of detritus. In: ICLARM CONFERENCE, 14., Manila, 1987. **Detritus and microbial ecology in aquaculture**; proceedings. Manila, 1987. p.192-216.
- BRITSKI, H. A.; SILIMON, K. Z. S.; LOPES, B. S. **Peixes do Pantanal**. Manual de Identificação. Brasília: Embrapa Produção da Informação, 1999. 184p.
- BROWER, J.E.; ZAR, J.H. **Field and laboratory methods for general ecology**. 2ed., Dubuque: Wm. C. Brown Publishers, 1984. 226p.
- BUNN, S.E.; BOON, P.I. What sources of organic carbon drive food webs in billabongs? A study based on stable isotope analysis. **Oecologia**, v.96, p.85-94, 1993.
- BUNN, S.E.; LONERAGAN, N.R.; KEMPSTER, M.A. Effects of acid washing on stable isotope ratios of C and N in penaeid shrimp and seagrass: Implications for food-web studies using multiple stable isotopes. **Limnology and Oceanography**, v. 40, n. 3, p.622-625, 1995.
- CALHEIROS, D.F.; FERREIRA, C.J.A. **Alterações limnológicas do rio Paraguai e o fenômeno natural de mortandade de peixes ("Dequada") no Pantanal Mato-grossense**. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1997. 48p. (Boletim de Pesquisa, 7)
- CALHEIROS, D.F.; HAMILTON, S.K. Limnological conditions associated with natural fish kills in the Pantanal wetland of Brazil. **Verhandlungen - Internationale Vereinigung fur Theoretische und Angewandte Limnologie**, v.26, p.2189-2193, 1998. / Apresentado ao 71. International Congress of Limnology e 3. Congresso Brasileiro de Limnologia, São Paulo, 1995.
- CALHEIROS, D.F.; SEIDL, A.F.; FERREIRA, C.J.A. Participatory research methods in environmental science: local and scientific knowledge of a limnological phenomenon in the Pantanal wetland of Brazil. **Journal of Applied Ecology**, v.37, p.684-696, 2000.
- CARVALHO, N.O. Hidrologia da Bacia do Alto Paraguai. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 1., Corumbá, 1986. **Anais**. Brasília: EMBRAPA, DDT, 1986. p.43-49. (Documentos, 5)
- CATELLA, A.C. Estrutura da comunidade e alimentação dos peixes da Baía da Onça, uma lagoa do Pantanal do rio Aquidauana. Campinas, 1992. 215p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas.

- CATELLA, A.C. A pesca no Pantanal de Mato Grosso do Sul, Brasil: Descrição, nível de exploração e manejo (1994-1999). Manaus, 2001. 351p. Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade do Amazonas.
- CATELLA, A.C.; PETRERE, M. Feeding patterns in a fish community of baia da Onça, a floodplain lake of the Aquidauana river, Pantanal, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v.3, p. 229-237, 1996.
- CATELLA, A.C.; ALBUQUERQUE; CAMPOS, F.L.R. **Sistema de controle da pesca de Mato Grosso do Sul** - SCPESCA/MS – 5, 1998. Corumbá: Embrapa Pantanal, 2001. 72p. (Boletim de Pesquisa, 22).
- COLE, J.J.; CARPENTER, S.R.; KITCHELL, J.F.; PACE, M.L. Pathways of organic carbon utilization in small lakes: Results from a whole-lake ^{13}C addition and coupled model. **Limnology and Oceanography**, v.47, n.6, p.1664-1675, 2002.
- CORDIVIOLA DE YUAN, E. Fish populations of lentic environments of the Parana River. **Hydrobiologia**, v.237, p.159-173, 1992.
- DA SILVA, C.J. Influência da variação do nível da água sobre a estrutura e funcionamento de uma área alagável do Pantanal Matogrossense (Pantanal de Barão de Melgaço, Municípios de Santo Antônio de Leverger e Barão de Melgaço - MT). São Carlos, 1990. 215p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de São Carlos.
- DA SILVA, C.J. Ecological basis for the management of the Pantanal – Upper Paraguay River Basin. In: SMITS, A.J.M.; NIENH, P.H.; LEUVEN, R.S.E.W. (Ed.) **New approaches to river management**. Leiden: Backhuys Publishers, 2000. p.97-117.
- DeANGELIS, D.L. **Dynamics of nutrient cycling in food webs**. London: Chapman & Hall, 1992. 270p.
- DEINES, P. The isotopic composition of reduced organic carbon. In: FRITZ, P.; FONTES, J.Ch. (Ed.) **Handbook of environmental isotope geochemistry**. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1980. cap.9, p.329-406. (The Terrestrial Environment - A, 1).
- DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.42, p.495-506, 1978.
- DeNIRO, M.J.; EPSTEIN, S. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.45, p.341-351, 1981.
- DROPPO, I.G.; LEPPARD, G.G.; FLANNIGAN, D.T.; LISS, S.N. The freshwater floc: A functional relationship of water and organic and inorganic floc constituents affecting suspended sediment properties. **Water, Air and Soil Pollution**, v.99, p.43-54, 1997.

- DUFOUR, E.; GERDEAUX, D. Contribution of stable isotopes to fish ecological studies. **CYBIUM**, v.25, n.4, p. 369-382, 2001.
- ELSER, J.J.; FAGAN, W.F.; DENNO, R.F.; DOBBERFUHL, D.R.; FOLARIN, A.; HUBERTY, A. Nutritional constraints in terrestrial and freshwater food webs. **Nature**, v.408, n.30, p.578-580, 2000.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Plano diretor do Centro de Pesquisa Agropecuária do Pantanal - CPAP**. Brasília: EMBRAPA-SPI, 1993. 41p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **II Plano diretor da Embrapa Pantanal: 2000-2003**. Corumbá: EMBRAPA Pantanal, 2000. 30p.
- ESTEVES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência; FINEP, 1988. 575p.
- FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.40, p. 503-537, 1989.
- FINLAY, J.C. Stable-carbon-isotope ratios of river biota: implications for energy flow in lotic food webs. **Ecology**, v.82, n.4, p.1052-1064, 2001.
- FINLAY, J.C.; POWER, M.E.; CABANA, G. Effects of water velocity on algal carbon isotope ratios: Implications for river food web studies. **Limnology and Oceanography**, v.44, n. 5, p.1198-1203, 1999.
- FORSBERG, B.R.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; MARTINELLI, L.A.; VICTÓRIA, R.L.; BONASSI, J.A. Autotrophic carbon sources for fish of the Central Amazon. **Ecology**, v.74, n.3, p. 643-652, 1993.
- FRANCE, R.L. Differentiation between littoral and pelagic food webs in lakes using stable carbon isotopes. **Limnology and Oceanography**, v.40, n.7, p.1310-1313, 1995a.
- FRANCE, R. Critical examination of stable isotope analysis as a means for tracing carbon pathways in stream ecosystems. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.52, p.651-656, 1995b.
- FRANCE, R.L. Stable isotopic survey of the role of macrophytes in the carbon flow of aquatic foodwebs. **Vegetatio**, v.124, n.67-72, 1995c.
- FRY, B. Fish and shrimp migrations in the Northern Gulf of Mexico analyzed using stable C, N and S isotope ratios. **Fishery Bulletin**, v.81, n.4, p.789-801, 1983.
- FRY, B.; SHERR, E.B. $\delta^{13}\text{C}$ measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. **Contributions in Marine Science**, v.27, p. 13-47, 1984.

- FRY, B.; SHERR, E.B. $\delta^{13}\text{C}$ Measurements as indicators of carbon flow in marine and freshwater ecosystems. In: RUNDEL, P.W.; EHLERINGER, J.R., NAGY, K.A. (Ed.) **Stable Isotopes in Ecological Research**. New York: Springer-Verlag, 1989. p.196-229. (Ecological Studies, 68)
- FRY, B.; WAINRIGHT, S.C. Diatom sources of ^{13}C -rich carbon in marine food webs. **Marine Ecology Progress Series**, v.76, p.149-157, 1991.
- FRY, B.; MUMFORD, P. L.; TAM, F.; FOX, D. D.; WARREN, G. L.; HAVENS, K. E. and STEINMAN, A. D. Trophic position and individual feeding histories of fish from Lake Okeechobee, Florida. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.56, p.590-600, 1999.
- GALDINO, S.; CLARKE, R.T. **Levantamento e estatística descritiva dos níveis hidrométricos do rio Paraguai em Ladário, MS - Pantanal**. Período 1900-1994. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1995. 72p. (Documentos, 14).
- GAUCHER, C.; BOGGIANI, P. C.; SPRECHMANN, P.; SIAL, A. N.; FAIRCHILD, T. R. Integrated correlation of Vendian to Cambrian Arroyo del Soldado and Corumbá Groups (Uruguay and Brazil): palaeogeographic, palaeoclimatic and palaeobiologic implications. **Precambrian Research**, v.120, n.3-4, p.241-278, 2003.
- GERKING, S.D. **Feeding ecology of fish**. San Diego: Academic Press, 1994. 416p.
- GODOI FILHO, J.D. Aspectos geológicos do Pantanal mato-grossense e de sua área de influência. In: SIMPÓSIO SOBRE RECURSOS NATURAIS E SÓCIO-ECONÔMICOS DO PANTANAL, 1., Corumbá, 1986. **Anais**. Brasília: EMBRAPA, DDT, 1986. p.63-76. (Documentos, 5)
- GOERICKE, R.; MONTROYA, J.P.; FRY, B. Physiology of isotopic fractionation in algae and cyanobacteria. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R.H. (Ed.) **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. cap.9, p.187-221.
- GOULDING, M.; LEAL CARVALHO, M.; FERREIRA, E. G. **Rio Negro, rich life in poor water**. The Hague: SPB Academic Publishing, 1988. 200p.
- GRAN, G. Determination of the equivalence point in potentiometric titrations. Part II. **Analyst**, v.77, p.661-671, 1952.
- GREY, J.; JONES, R. I.; SLEEP, D. Seasonal changes in the importance of the sources of organic matter to the diet of zooplankton in Lock Ness, as indicated by stable isotope analysis. **Limnology and Oceanography**, v.46, n.3, p.505-513, 2001.
- GU, B.; HAVENS, K.E.; SCHELSKE, C.L.; ROSEN, B.H. Uptake of dissolved nitrogen by phytoplankton in a eutrophic subtropical lake. **Journal of Plankton Research**, v.19, n.6, p.759-770, 1997.

- HADAS, O.; PINKAS, R.; EREZ, J. High chemoautotrophic primary production in Lake Kinneret, Israel: A neglected link in the carbon cycle of the lake. **Limnology and Oceanography**, v.46, n.8, p.1968-1976, 2001.
- HAMILTON, S.K. Potential effects of a major navigation project (the Paraguay-Paraná Hidrovia) on inundation in the Pantanal floodplains. **Regulated Rivers: Research and Management**, v.15, n.4, p.289-299, 1999.
- HAMILTON, S.K.; LEWIS JUNIOR, W.M. Stable Carbon and nitrogen isotopes in algae and detritus from the Orinoco river floodplain, Venezuela. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.56, p.4237-4246, 1992.
- HAMILTON, S.K.; LEWIS JUNIOR, W.M.; SIPPEL, S.J. Energy sources for aquatic animals in the Orinoco river floodplain: evidence from stable isotopes. **Oecologia**, v.89, p.324-30, 1992.
- HAMILTON, S.K.; SIPPEL, S.J.; MELACK, J.M. Oxygen depletion and carbon dioxide and methane production in waters of the Pantanal wetland of Brazil. **Biogeochemistry**, v.30, p.115-141, 1995.
- HAMILTON, S.K.; SIPPEL, S.J.; MELACK, J.M. Inundation patterns in the Pantanal wetland of South America determined from passive microwave remote sensing. **Archives of Hydrobiology**, v.137, n.1, p.1-23, 1996.
- HAMILTON, S.K.; SIPPEL, S.J.; CALHEIROS, D.F.; MELACK, J.M. An anoxic event and other biogeochemical effects of the Pantanal wetland on the Paraguay River. **Limnology and Oceanography**, v.42, p.257-272, 1997.
- HAMILTON, S.K.; TANK, J.L.; RAIKOW, D.F.; WOLLHEIM, W.M.; PETERSON, B.J.; WEBSTER, J.R. Nitrogen uptake and transformation in a midwestern U.S. stream: A stable isotope enrichment study. **Biogeochemistry**, v.54, p.297-340, 2001.
- HART, D. R.; STONE, L.; BERMAN, T. Seasonal dynamics of the Lake kinneret food web: The importance of the microbial loop. **Limnology and Oceanography**, v.45, n.2, p.350-361, 2000.
- HECKMAN, C.W. **The Pantanal of Poconé – Biota and Ecology in the Northern Section of the World's Largest Pristine Wetland**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1998. 622 p.
- HECKY, R.E.; HESSLEIN, R.H. Contributions of benthic algae to lake food webs as revealed by stable isotope analysis. **Journal of North America Benthological Society**, v.14, n.4, p.631-653, 1995.
- HEDGES, J.I.; STERNER, J.H. Carbon and nitrogen determinations of carbonate-containing solids. **Limnology and Oceanography**, v.29, n.3, p.657-663, 1984.

- HELLINGS, L.; DEHAIRS, F.; TACKX, M.; KEPPENS, E.; BAEYENS, W. Origin and fate of organic carbon in the freshwater part of the Scheldt Estuary as traced by stable carbon isotope composition. **Biogeochemistry**, v.47, p.167-186, 1999.
- HESSEN, D.O.; NYGAARD, K. Bacterial transfer of methane and detritus: implications for the pelagic carbon budget and gaseous release. **Archiv fur Hydrobiologie Beiheft Ergebn. Limnologie**, v.37, p.139-148, 1992.
- HESSEN, D.O.; ANDERSEN, T.; BRETTUM, P.; FAAFENG, B.A. Phytoplankton contribution to sestonic mass and elemental ratios in lakes: Implications for zooplankton nutrition. **Limnology and Oceanography**, v.48, n.3, p.1289-1296, 2003.
- JEPSEN, D.B.; WINEMILLER, K.O. Structure of tropical river food webs revealed by stable isotope ratios. **OIKOS**, v.96, p.46-55, 2002.
- JONES, R.I.; GREY, J.; SLEEP, D.; ARVOLA, L. Stable isotope analysis of zooplankton carbon nutrition in humic lakes. **OIKOS**, v.86, p.97-104, 1999.
- JUNK, W.J. Ecology of the várzea, floodplain of Amazonian white-water rivers. In: Sioli, H. (Ed.) **The Amazon**. Dordrecht: DR W. Junk Publishers, 1984. cap.8, p.215-243. (Monographiae Biologicae, 56)
- JUNK, W.J. Wetlands of tropical South America. In: WHIGHAM, D.F.; DYKYJOVÁ, D.; HEJNŠY, L. (Ed.) **Wetlands of the world: Inventory, ecology and management**, I. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. p.679-739.
- JUNK, W.J.; BAYLEY, P.B.; SPARKS, R.E. The flood pulse concept in river-floodplain systems. **Canadian Fisheries and Aquatic Sciences**, v.106, p.110-127, 1989. / Apresentado ao International Large River Symposium. Proceedings.
- KAPLAN, A.; SCHWARZ, R.; LIEMAN-HURWITZ, J.; REINHOLD, L. Physiological and molecular aspects of the inorganic carbon-concentrating mechanism in cyanobacteria. **Plant Physiology**, v.97, p.851-855, 1991.
- KEELEY, J.E.; SANDQUIST, D.R. Carbon: freshwater plants. **Plant, Cell and Environmet**, v.15, p.1021-1035, 1992.
- KEMPE, S. **Long-term records of CO₂ pressure fluctuations in fresh waters**. Hamburg: University of Hamburg, 1982. p.91-332. (SCOPE/UNEP Sonderband Heft, 52).
- KEOUGH, J.R.; SIERSZEN, M.E.; HAGLEY, C.A. Analysis of a Lake Superior coastal food web with stable isotope techniques. **Limnology and Oceanography**, v.41, n.1, p.136-146, 1996.
- KERNER, M.; HOHENBERG, H.; ERTI, S.; RECKERMANN, M.; SPITZY, A. Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. **Nature**, v.422, p. 150-154, 2003.

- KIYASHKO, S.I.; NARITA, T.; WADA, E. Contribution of methanotrophs to freshwater macroinvertebrates: evidence from stable isotope ratios. **Aquatic Microbial Ecology**, v.24, p.203-207, 2001.
- KLINE JUNIOR, T.C.; WILSON, W.J.; GOERING J.J. Natural isotope indicators of fish migration at Prudhoe Bay, Alaska. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.55, p.1494-1502, 1998.
- KRUG, F.J.; REIS, B.F.; GINÉ, M.F.; ZAGATTO, E.A.G.; FERREIRA, J.R.; JACINTHO, A.O. Zone trapping in the injection analysis: Spectrophotometric of flow level of ammonium ion in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v.151, p.39-48, 1983.
- LAJTHA, K.; MARSHALL, J.D. Sources of variation in the stable isotopic composition of plants. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R.H. (Ed.) **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. cap.1, p.1-21.
- LAJTHA, K.; MICHENER, R.H. (Ed.) **Stable isotopes in ecology and environmental science**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. 316p.
- LEGGETT, M. F.; JOHANNSSON, O.; HESSLEIN, R.; DIXON, D. G.; TAYLOR, W. D.; SERVOS, M.R. Influence of inorganic nitrogen cycling on the $\delta^{15}\text{N}$ of Lake Ontario biota. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v.57, p.1489-1496, 2000.
- LEITE, R.G.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M.; VICTORIA, R.L.; MARTINELLI, L.A. Stable isotope analysis of energy sources for larvae of eight fish species from the Amazon floodplain. **Ecology of Freshwater Fish**, v.11, n.1, p.56-63, 2002.
- LEWIS JUNIOR, W.M.; HAMILTON, S.K.; RODRIGUEZ, M.A.; SAUNDERS, J.F. III; LASI, M.A. Foodweb analysis of the Orinoco floodplain based on production estimates and stable isotope data. **Journal of North America Benthological Society**, v.20, n.2, p.241-254, 2001.
- LOJEN, S.; OGRINC, N.; DOLENEC, T. Carbon and nitrogen stable isotope fractionation in the sediment of Lake Bled (Slovenia). **Water, Air and Soil Pollution**, v.99, p.315-323, 1997.
- LOWE-McCONNELL, R.H. **Ecological studies in tropical fish communities**. Cambridge: Cambridge University Press. 1987. 382p.
- MacGREGOR, B.J.; VAN MOOY, B.; BAKER, B.J.; MELLON, M.; MOISANDER, P.H.; PAERL, H.W.; ZEHR, J.; HOLLANDER, D.; STAHL, D.A. Microbiological, molecular biological and stable isotopic evidence for nitrogen fixation in the open waters of Lake Michigan. **Environmental Microbiology**, v.3, n.3, p.205-219, 2001.
- MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Ediciones Omega S.A., 1983. 1010p.

- MARINO, R.; CHAN, F.; HOWARTH, R.W.; PACE, M. LIKENS, G.E. Ecological and biogeochemical interactions constrain planktonic nitrogen fixation in estuaries. **Ecosystems**, v.5, p. 719-725, 2002.
- MARTINELLI, L.A.; DEVOL, A.H.; VICTÓRIA, R.L.; RICHEY, J.E. Stable carbon isotope variation in C3 and C4 plants along the Amazon river. **Nature**, v.353, p.57-59, 1991.
- MARTINELLI, L.A.; VICTÓRIA, R.L.; TRIVELIN, P.C.O.; DEVOL, A.H.; RICHEY, J.E. ¹⁵N Natural abundance in plants of the Amazon River floodplain and potential atmospheric N₂ fixation. **Oecologia**, v.90, p.591-596, 1992.
- MARTINELLI, L.A.; ALMEIDA, S.; BROWN, I.F.; MOREIRA, M.Z.; VICTÓRIA, R.L.; STERNBERG, L.S.L.; FERREIRA, C.A.C.; THOMAS, W.W. Stable carbon isotope ratio of leaves, boles and fine litter in a tropical forest in Rondônia, Brazil. **Oecologia**, v.114, p.170-179, 1998.
- MATSUDA, Y.; BOZZO, G.G.; COLMAN, B. Regulation of dissolved inorganic carbon transport in green algae. **Canadian Journal of Botany**, v.76, p.1072-1083, 1998.
- MERRITT, R.W.; CUMMINS, K.W. (Ed.) **An introduction to the aquatic insects of North America**. 3.ed. Dubuque: Kendall/Hunt Publishing, 1996. 862p.
- MICHENER, R.H.; SCHELL, D.M. Stable isotope ratios as tracers in marine aquatic food webs. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R.H. (Ed.) **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. cap.7, p.138-157.
- MINAGAWA, M.; WADA, E. Stepwise enrichment of ¹⁵N along food chains: further evidence and the relation between $\delta^{15}\text{N}$ and animal age. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.48, p.1135-1140, 1984.
- MOURÃO, G.M. BAYLISS, P.; COUTINHO, M.E. Test of an aerial survey for caiman and other wildlife in the Pantanal, Brazil. **Wildlife Bulletin**, v.22, p.50-56, 1994.
- NEIFF, J.J. Ideas para la interpretación ecológica del Paraná. **Interiência**, v.15, n.6, p.424-441, 1990.
- NEUBERT, G.M.; BLUMENSHINE, S.C.; DUPLISEA, D.E.; JONSSON, T.; RASHLEIGH, B. Body size and food web structure: testing the equiprobability assumption of the cascade model. **Oecologia**, v.123, p.241-251, 2000.
- O'LEARY, M.O. Carbon isotopes in photosynthesis- Fractionation techniques may reveal new aspects of carbon dynamics in plants. **BioScience**, v.38, n.5, p.328-336, 1988.
- OLIVEIRA, M.D.; CALHEIROS, D.F. Flood pulse influence on phytoplankton communities of the south Pantanal floodplain, Brazil. **Hydrobiologia**, v.427, p.102-112, 2000.

- O'REILLY, C.M.; HECKY, R.E.; COHEN, A.S.; PLISNIER, P.D. Interpreting stable isotopes in food webs: Recognizing the role of time averaging at different trophic levels. **Limnology and Oceanography**, v.47, n.1, p.306-309, 2002.
- PADOVANI, C.R. Determinação das fontes autotróficas de carbono para camarões em um lago de várzea da Amazônia Central, utilizando isótopos estáveis de carbono. Manaus, 1992. 72p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Fundação Universidade do Amazonas.
- PCBAP. **Plano de Conservação da Bacia do Alto Paraguai**: Análise Integrada e Prognóstico da Bacia do Alto Paraguai. Brasília: Programa Nacional do Meio Ambiente (PNMA), 1997. v.3. 369p.
- PEREIRA, R.A.C.; RESENDE, E.K. **Peixes detritívoros da planície inundável do rio Miranda, Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brasil**. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1998. 50p. (Boletim de Pesquisa, 12)
- PETERSON, B.J.; FRY, B. Stable isotopes in ecosystem studies. **Annual Review on Ecology and Systematics**, v.18, p.293-320, 1987.
- PETERSON, B.J.; WOLLHEIM, W.M.; MULHOLLAND, P.J.; WEBSTER, J.R.; MEYER, J.L.; TANK, J.L.; MARTÍ, E.; BOWDEN, W.B.; VALETT, H.M.; HERSHEY, A.E.; McDOWELL, W.H.; DODDS, W.K.; HAMILTON, S.K.; GREGORY, S.; MORRALL, D.D. Control of nitrogen export from watersheds by headwater streams. **Science**, v.292, p.86-90, 2001.
- PHILLIPS, D.L. Mixing models in analyses of diet using multiple stable isotopes: a critique. **Oecologia**, v.127, p.166-170, 2001.
- PHILLIPS, D.L.; GREGG, J.W. Uncertainty in source partitioning using stable isotopes. **Oecologia**, v.127, p.171-179, 2001.
- PINNEGAR, J.K.; POLUNIN, N.V.C. Differential fractionation of $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ among fish tissues: implications for the study of trophic interactions. **Functional Ecology**, v.13, p. 225-231, 1999.
- POST, D.M. Using stable isotopes to estimate trophic position: Models, methods and assumptions. **Ecology**, v.83, n.3, p.703-718, 2002.
- POWER, M.E.; PARKER, G.; DIETRICH, W.E.; SUN, A. How does floodplain width affect floodplain river ecology? A preliminary exploration using simulations. **Geomorphology**, v.13, p.301-317, 1995.
- PRANCE, G.T.; SCHALLER, G.B. Preliminary study of some vegetation types of the Pantanal, Mato Grosso, Brazil. **Brittonia**, v.34, p.228-251, 1982.
- QUAY, P.D.; WILBUR, D.O.; RICHEY, J.E.; HEDGES, J.I.; DEVOL, A.H. Carbon cycling in the Amazon River: Implications from the ^{13}C compositions of particles and solutes. **Limnology and Oceanography**, v.37, n.4, p.857-871, 1992.

- RAU, G.H. Carbon-13 depletion in a subalpine lake: Carbon flow implications. **Science**, v.201, n.8, p.901-902, 1978.
- RAU, G.H.; MEARNS, A.J.; YOUNG, D.R.; OLSON, R.J.; SCHAFER, H.A.; KAPLAN, I.R. Animal $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ correlates with trophic level in pelagic food webs. **Ecology**, v.64, n.5, p.1314-1318, 1983.
- RESENDE, E.K.; CATELLA, A.C.; NASCIMENTO, F.L.; PALMEIRA, S.S.; PEREIRA, R.A.C.; LIMA, M.S.; ALMEIDA, V.L.L. **Biologia do Curimbatá (*Prochilodus lineatus*), Pintado (*Pseudoplatistoma corruscans*) e Cachara (*Pseudoplatistoma fasciatum*) na bacia hidrográfica do rio Miranda, Pantanal do Mato Grosso do Sul, Brasil**. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1995. 75p. (Boletim de Pesquisa, 2).
- REYNOLDS, C.S. **The ecology of freshwater phytoplankton**. Cambridge: Cambridge University Press, 1984. 384p.
- RICHEY, J.E.; HEDGES, J.I.; DEVOL, A.H.; QUAY, P.D.; VICTÓRIA, R.; MARTINELLI, L.; FORSBERG, B.R. Biogeochemistry of carbon in the Amazon River. **Limnology and Oceanography**, v.35, n.2, p.352-371, 1990.
- RIEMANN, B.; SIMONSEN, P.; STENSGAARD, L. The carbon and chlorophyll content of phytoplankton from various nutrient regimes. **Journal of Plankton Research**, v.11, n.5, p.1037-1045, 1989.
- ROLFF, C. Seasonal variation in $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ of size-fractionated plankton at a coastal station in the northern Baltic proper. **Marine Ecology Progress Series**, v.203, p.47-65, 2000.
- SANTOS, S.A.; NOGUEIRA, M.S.; PINHEIRO, M.S.; CAMPOS, Z.; MAGNUSSON, W.E.; MOURÃO, G.M. Diets of caiman *Crocodylus yacare* from different habitats in the Brazilian Pantanal. **Herpetological Journal**, v.6, p.111-117, 1996.
- SHEPHERD, G. **Programa FITOPAC**, versão 1.4: conjunto de programas automatizados para análise de dados fitossociológicos de levantamento de vegetação. (software). Campinas: Depto. Botânica, UNICAMP, 1988. 86p. + 1 disquete.
- SILVA, J.S.V.; ABDON, M.M. Delimitação do Pantanal brasileiro e suas sub-regiões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.33, p.1703-1711, 1998. Número especial.
- SMITH, L.K.; LEWIS JUNIOR, W.M.; CHANTON, J.P.; CRONIN, G.; HAMILTON, S.K. Methane emissions from the Orinoco River floodplain, Venezuela. **Biogeochemistry**, v.51, p.113-140, 2000.
- SORIANO, B.M.A. **Caracterização climática de Corumbá-MS**. Corumbá: EMBRAPA, CPAP, 1997. 25p. (Boletim de Pesquisa, 11)

- SPARKS, R.E. Need for ecosystem management of large rivers and their floodplains. **BioScience**, v.45, n.3, p.168-182, 1995.
- STRASKRABA, M. Preliminary results of a new method for the quantitative sorting of freshwater net plankton into main groups. **Limnology and Oceanography**, v.9, p.268-270, 1964.
- THORP, J.H.; DELONG, M.D. Dominance of autochthonous autotrophic carbon in food webs of heterotrophic rivers. **Oikos**, v.96, n.3, p.543-549, 2002.
- TUCCI, C.E.M.; GENZ, F. Caracterização hidrológica da BAP. In: Brasil. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. **Plano de Conservação da Bacia do Alto Paraguai (Pantanal)** – PCBAP. Diagnóstico dos meios físico e biótico: meio físico. Brasília, 1997. v.2, t.2, p.173-256.
- TUNDISI, J.G.; MATSUMURA-TUNDISI, T. The “Pantanal” wetlands at western Brazil. In: SAIJO, Y., TUNDISI, J.G., (Ed.) **Limnological Studies in Central Brazil** - Rio Doce Valley Lakes and Pantanal Wetland. Nagoya: Nagoya University, 1985. p.177-188.
- VAN HUNNIK, E. AMOROSO, G.; SULTEMEYER, D. Uptake of CO₂ and bicarbonate by intact cells and chloroplasts of *Tetradron minimum* and *Chlamydomonas noctigama*. **Planta**, v.215, n.5, p.763-769, 2002.
- VANDER ZANDEN, M.J.; RASMUSSEN, J.B. Primary consumer $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ and the trophic position of aquatic consumers. **Ecology**, v.80, n.4, p.1395-1404, 1999.
- VANDER ZANDEN, M.J.; RASMUSSEN, J.B. Variation in $\delta^{15}\text{N}$ and $\delta^{13}\text{C}$ trophic fractionation: Implications for aquatic food web studies. **Limnology and Oceanography**, v.46, n.8, p.2061-2066, 2001.
- VANNI, M.J. Nutrient transport and recycling by consumers in lake food webs: implications for algal communities. In: POLIS, G.A.; WINEMILLER, K.O. (Ed.) **Food Webs** - Integration of patterns and dynamics. New York: Chapman & Hall, 1996. cap.7, p.81-95.
- VAZ, M.M.; PETRERE Jr., M.; MARTINELLI, L.A.; MOZETO, A.A. The dietary regime of detritivorous fish from the river Jacaré Pepira, Brazil. **Fisheries Management and Ecology**, v.6, p.121-132, 1999.
- VICTÓRIA, R.L.; MARTINELLI, L.A.; TRIVELIN, P.C.O.; MATSUI, E.; FORSBERG, B.R.; RICHEY, J.E.; DEVOL, A.H. The use of stable isotopes in studies of nutrient cycling: Carbon isotope composition of amazon varzea sediments. **Biotropica**, v.24, n.2b, p.240-249, 1992.
- WADA, E.; HATTORI, A. Natural abundance of ^{15}N in particulate organic matter in the North Pacific Ocean. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, v.40, p.249-251, 1976.

- WAICHMAN, A.V. Autotrophic carbon sources for heterotrophic bacterioplankton in a floodplain lake of central Amazon. **Hydrobiologia**, v.341, p.27-36, 1996.
- WANTZEN, K.M.; MACHADO, F.A.; VOSS, M.; BORISS, H.; JUNK, W.J. Seasonal isotopic shifts in fish of Pantanal wetland, Brazil. **Aquatic Science**, v.64, p.239-251, 2002.
- WELCOMME, R.L. **River fisheries**. Roma: FAO, 1985. 330p. (Fisheries Technical Report, 262).
- WELSCHMEYER, N.A. Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments. **Limnology and Oceanography**, v.39, n.8, p.1985-1992, 1994.
- WETZEL, R.G. Gradient-dominated ecosystems: sources and regulatory functions of dissolved organic matter in freshwater ecosystems. **Hydrobiologia**, v.229, p.181-198, 1992.
- WINEMILLER, K.O.; JEPSEN, D.B. Effects of seasonality and fish movement on tropical river food webs. **Journal of Fish Biology**, v.53, p.267-296, 1998. Supplement.
- WOTTON, R.S. **The biology of particles in aquatic systems**. Boston: CRC Press, 1990. 303p.
- WORLD WIDE FUND FOR NATURE (WWF). **Retrato da navegação no Alto Rio Paraguai**: Relatório da expedição técnica realizada entre os dias 03 e 14 de novembro de 1999, no rio Paraguai, entre Cáceres (MT) e Porto Murtinho (MS). Brasília: WWF, 2001. 63p.
- YOSSA, M.I.; ARAÚJO-LIMA, C.A.R.M. Detritivory in two Amazonian fish species. **Journal of Fish Biology**, v.52, p.1141-1153, 1998.
- YOSHINARI, T.; KOIKE, I. The use of stable isotopes for the study of gaseous nitrogen species in marine environments. In: LAJTHA, K.; MICHENER, R.H. (Ed.) **Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1994. cap.6, p.114-137.
- ZAGATTO, E.A.G.; JACINTHO, A.O.; REIS, B.F.; KRUG, F.J.; BERGAMIN FILHO, H.; PESSENDA, L.C.R.; MORTATTI, J.; GINÉ, M.F. **Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo**. Piracicaba: CENA/USP, 1981. 45p.

ERRATA

Pág. 133 3º. Parágrafo (final) - onde se lê: "...sugerindo a contribuição das bactérias metanotróficas na dieta destes metazoários.", leia-se: "...sugerindo a contribuição direta e/ou indireta (através dos chironomídeos, por exemplo) das bactérias metanotróficas na dieta destes metazoários."

Pág. 150 Incluir em Referências Bibliográficas:

CIFUENTES, L.A.; SALATA, G.G. Significance of carbon isotope discrimination between bulk carbon and extracted phospholipid fatty acids in selected terrestrial and marine environments. **Organic Geochemistry**, v.32, p.613-621, 2001.

CRÉACH, V.; LUCAS, F.; DELEU, C.; BERTRU, G.; MARIOTTI, A. Combination of biomolecular and stable isotope techniques to determine the origin of organic matter used by bacterial communities: application to sediment. **Journal of Microbiological Methods**, v.38, p.43-52, 1999.

McCLELLAND, J.W.; MONTOYA, J.P. Trophic relationships and the nitrogen isotopic composition of amino acids in plankton. **Ecology**, v.83, n.8, p. 2173-2180, 2002.