

EXCREÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA DISSOLVIDA POR POPULAÇÕES FITOPLANCTÔNICAS MARINHAS EM BIOENSAIOS COM NUTRIENTES*

Armando Augusto Henriques VIEIRA¹ & Clovis TEIXEIRA²

¹ Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Federal de São Carlos

² Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo

Synopsis

Measurements of excreted dissolved organic matter (DOM) were carried out twice (in summer and winter) using natural phytoplankton populations from "Enseada do Flamengo" (Lat. 23°30'S - Long. 045°06'W) and enriched artificially with nutrients. The bioassays were carried out inoculating samples of an integral sea water in ten liters flasks, incubated "in situ". Measures were taken in populations growing in: integral "f" media, "f" - N, "f" - P, "f" - (N + P), "f" - (Vit. + Metal traces), and in a control without enrichment. The absolute amount of excreted DOM generally followed the quantity of total carbon assimilated. In the meantime, with the populations with nitrogen deficiency occurred an increase of relatives rates of excretion, not only due to the total carbon assimilation diminution, but effectively also to the absolute increase of the quantity of excreted DOM.

Introdução

O aumento das taxas de excreção de matéria orgânica dissolvida (MOD) em populações fitoplanctônicas marinhas, em direção às zonas oceânicas oligotróficas, é já um fato conhecido (Anderson & Zeutschel, 1970; Thomas, 1971; Choi, 1972; Berman & Holm-Hansen, 1974).

Contudo, poucos autores tentaram interpretar esse aumento. Fogg (1975), por exemplo, relaciona-o com as condições físicas e químicas ambientais: em águas oceânicas, principalmente à superfície, o baixo nível de nutrientes como nitrogênio e fósforo, a concentração saturante de O₂ e as altas intensidades luminosas, aumentariam a taxa de excreção, principalmente do ácido glicólico, como maneira das células eliminarem o excesso de carbono fotoassimilado e não aproveitado nos processos estruturais e energéticos. Steemann-Nielsen (1975) e Wangersky (1978) acham duvidosas as altas taxas de excreção em águas oligotróficas: um aumento na porcentagem de excreção derivada de um decréscimo global na produtividade sugere, pelo menos, a possibilidade de um pequeno e constante erro que incorreria nessas determinações. Quanto mais baixo o nível de produtividade, maior o valor

relativo desse erro. Os aspectos metodológicos das determinações da excreção por nós empregados, neste trabalho, foram já bem discutidos, em Vieira & Aidar-Aragão (1982).

O objetivo do presente trabalho foi fornecer dados que pudessem auxiliar no entendimento do fato da excreção aumentar em áreas oligotróficas.

Material e métodos

Foram efetuados dois experimentos, em ocasiões diferentes (23/07/77 e 23/03/78), com populações naturais da Enseada do Flamengo, Ubatuba (SP) (Lat. 23°30'S - Long. 045°06'W).

As medidas de excreção foram feitas em populações naturais que estavam sendo empregadas em bioensaios com nutrientes (Teixeira *et al.*, em preparação). Os experimentos de bioensaios foram montados da seguinte maneira: em seis balões de vidro "pyrex" de 10 l de capacidade, colocou-se, em cada um deles, 6l de água do mar integral. A seguir, as amostras nos balões foram enriquecidas com os componentes de meio "f" (Guillard & Ryther, 1962), da seguinte maneira: um balão recebeu todos os componentes do meio "f" e foi denominado COMPLETO. Dos outros cinco balões, um foi mantido sem enriquecimento e foi denominado CONTROLE. Dos quatro restantes, de cada um deles foi omitido um ou mais nutrientes do meio "f", a saber:

* Trabalho efetuado com apoio financeiro da FINEP. Sub-projeto Produtividade.

meio "f" menos nitrogênio (f-N), meio "f" menos fósforo (f-P), meio "f" menos nitrogênio e fósforo (f-(N+P)) e meio "f" menos vitaminas e metais traços (f-(VIT+MET. Traços)). Os seis balões ficaram expostos à luz solar durante a duração dos bioensaios, dentro de um tanque de vidro com água do mar corrente captada à superfície, para refrigeração. Para os experimentos de fixação de carbono, foi empregada a incubação simulada com luz incandescente em incubadeira provida com cinco lâmpadas incandescentes, de 200 W, que forneciam uma intensidade luminosa de aproximadamente 16.10^{15} quanta. cm^{-2} .seg. $^{-1}$.

No início dos experimentos, foi feita uma medida de fixação de carbono, nas frações particulada e dissolvida, que foi considerada como INICIAL. Para isso, uma alíquota de 700 ml foi retirada do balão CONTROLE e adicionado à mesma o $Na H^{14}CO_3$ (40 μ Ci). Em seguida, a alíquota foi sub-dividida, depois de bem homogeneizada, em quatro frascos de 175 ml: dois transparentes, um preto e um que foi fixado com formol a 2% e $HgCl_2$ a 0,2% para correção do BG e tempo zero. Os frascos foram incubados durante 4 horas.

Depois de 72 horas, foram retiradas alíquotas de todos os balões, repetindo-se o mesmo procedimento da amostra INICIAL.

Após a incubação, as amostras foram filtradas imediatamente em membranas "Millipore" HA de 47 mm de diâmetro. Os filtros foram dissolvidos em 10 ml da solução cintiladora de Bray (Bray, 1960). Os excretados foram borbulhados durante 30 minutos com ar filtrado, depois de se ajustar o pH para 2,8-3,0. Alíquotas de 10 ml das amostras dos filtrados foram adicionadas a 10 ml da solução cintiladora Instagel (Packard) em frascos de cintilação de boro-silicato e as medidas de radioatividade foram feitas em aparelho de cintilação líquida Packard mod. tri-Carb C 2425 em sala refrigerada a 20°C. A eficiência de contagem variou de 80 a 83% nas medidas dos excretados e de 85 a 90% nas medidas da matéria orgânica particulada. A eficiência foi calculada pelo "Standard-externo" do aparelho. As amostras dos filtrados foram contadas durante 100 minutos, ou no mínimo 10.000 contagens, com um erro de 1 a 2%. Os filtros foram contados até 40.000 contagens com um erro de 0,7%. A metodologia

empregada nas determinações de produção primária é a de Steemann-Nielsen (1952), como descrita em Teixeira (1973a), com o uso de cintilação líquida.

Resultados

Na Tabela I são apresentados os dados de fixação de carbono fotoassimilado total ($T_{p+ex} - P_{p+ex}$), (onde T é o frasco transparente, P o frasco preto, p a fração particulada e ex a fração dissolvida), a assimilação total no frasco T_{p+ex} , assim como as frações particulada e dissolvida nesse frasco. A fração dissolvida (excretada) é apresentada em função do total assimilado no frasco T (taxas relativas) e em $mgC/m^3/h$, sem correção do fixado no escuro. São apresentados, também, os dados de fixação total no frasco preto.

Houve diferenças quantitativas relevantes na assimilação de carbono de um experimento para outro; por exemplo, na população CONTROLE, o fotoassimilado máximo no experimento I foi 4,57 $mgC/m^3/h$, enquanto no experimento II foi 2,38 $mgC/m^3/h$. Provavelmente essas diferenças refletem as diferentes ocasiões em que foram efetuados os experimentos. Por outro lado, a fotoassimilação máxima ocorreu em populações diferentes nos dois experimentos: no experimento I, deu-se na população - (VIT+MET), enquanto no experimento II, ocorreu na população COMPLETO. Contudo, o padrão geral de fotoassimilação foi praticamente o mesmo nos dois experimentos. Assim, pode-se verificar que a maior fotoassimilação ocorreu nas populações - (VIT+MET), COMPLETO e -P. Conseqüentemente, nos dois experimentos, a fotoassimilação total foi menor nas populações -N e -(N+P). Nestas populações, verificou-se, inclusive, uma diminuição das taxas de assimilação, não só em relação à INICIAL como também em relação ao CONTROLE. É interessante notar-se que, apesar da redução da fotoassimilação total nessas populações, a fixação no frasco preto manteve-se, em números absolutos, na mesma ordem de grandeza daquela ocorrida em populações com altas taxas de fotoassimilação total.

Quanto à fração dissolvida excretada, a variação em números absolutos entre os dois experimentos foi grande, em decorrência da grande diferença na fotoassimilação total. Porém, em números relativos, as diferenças são bem menores, na

Tabela I - Assimilação de carbono (mgC/m³/h) pelas populações naturais nos bioensaios

Populações		Fotoassimilado total (T _{p+ex} - P _{p+ex})	Assimilado total no frasco T (T _{p+ex})	Particulado no frasco T (T _p)	Dissolvido mgC/m ³ /h	%	Fixado total no frasco p (P _{p+ex})
Inicial	B ₁	6,45	7,60	7,06	0,54	7,1	1,14
	B ₂	4,63	5,73	5,56	0,17	3,0	1,11
Completo	B ₁	25,18	26,28	25,05	1,23	4,7	1,11
	B ₂	283,80	284,85	273,70	11,15	3,9	1,06
-(VIT+MET)	B ₁	34,26	35,24	34,35	0,89	2,5	1,00
	B ₂	140,29	141,55	138,49	3,06	2,2	1,25
-N	B ₁	3,00	4,07	3,34	0,73	17,9	1,07
	B ₂	2,92	4,34	3,58	0,76	17,5	1,42
-P	B ₁	27,81	28,91	27,57	1,34	4,6	1,10
	B ₂	15,92	16,60	16,02	0,58	3,5	0,68
-(N+P)	B ₁	2,02	2,79	2,04	0,75	26,9	0,76
	B ₂	1,66	2,31	1,97	0,34	14,7	0,65
Controle	B ₁	4,57	4,73	4,05	0,68	14,4	0,15
	B ₂	2,38	3,34	3,23	0,11	3,3	0,95

B₁ = Experimento efetuado em 23-26/06/77B₂ = Experimento efetuado em 20-23/03/79

maioria dos casos. Como era de se esperar, as maiores quantidades de MOD excretada ocorreram concomitantemente com grandes quantidades de carbono fotoassimilado: 1,23 e 0,89 mgC/m³/h nas populações COMPLETO e -(VIT+MET), respectivamente, no experimento I e 11,15 e 3,06 mgC/m³/h no experimento II, o que indica uma relação direta da quantidade de MOD excretada com a quantidade de carbono fotoassimilado. Em números relativos, por outro lado, altas porcentagens de excreção são encontradas nas populações -N e -(N+P) (Fig. 1). Esse aumento da excreção relativa nessas populações, no entanto, não reflete somente uma queda de produtividade dessas populações, mas, como pode ser deduzido da Tabela I, reflete, também, um aumento da quantidade absoluta da MOD excretada. De fato, no

experimento I, a fotoassimilação total em -N e -(N+P) (3,0 e 2,02 mgC/m³/h, respectivamente) diminuiu em 53,5 e 68,7% respectivamente, em relação à INICIAL (6,45 mgC/m³/h). Por outro lado, a excreção em valores absolutos de -N e -(N+P) aumentou em 35,2 e 38,8 respectivamente, em relação à população INICIAL.

Em relação à população CONTROLE (4,58 mgC/m³/h), a fotoassimilação em -N e em -(N+P) sofreu, também, um decréscimo em 34,5 e 55,8%, respectivamente, enquanto a excreção aumentou 7,3 e 10,3%.

No experimento II, a fotoassimilação em números absolutos em -N e em -(N+P) (2,92 e 1,66 mgC/m³/h, respectivamente) sofreu um decréscimo, em relação à população INICIAL (4,63 mgC/m³/h), de 36,9 e 64,2%, respectivamente, enquanto a excreção aumentou em 347 e 100%. Em rela-

ção à população CONTROLE (2,38 mgC/m³/h); enquanto a fotoassimilação em -N aumentou, apenas, 22,7% (2,92 mgC/m³/h), a excreção aumentou em 590% e, na população -(N+P), a fotoassimilação diminuiu em 30,3% (1,66 mgC/m³/h), enquanto a excreção aumentou 209,1%.

Dados mais completos sobre fixação de carbono, outros aspectos fisiológicos e composição das populações destes bioensaios, e de outros efetuados em outras ocasiões, serão apresentados em trabalhos de Teixeira *et al.* (em preparação).

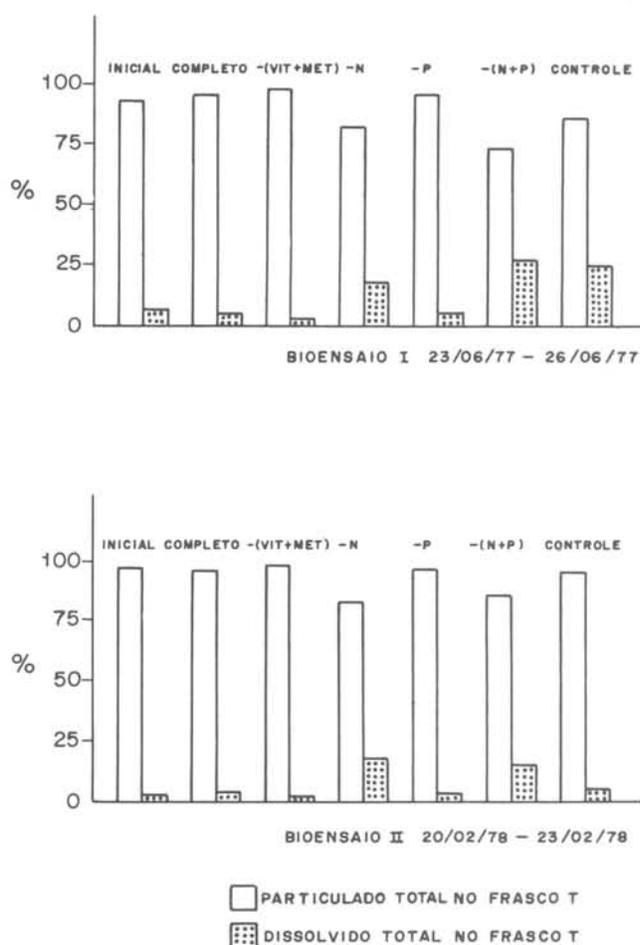


Fig. 1. Fixação total de carbono na fração particulada (colunas vazias) e na fração dissolvida (colunas cheias), em porcentagem do total assimilado no frasco transparente.

Discussão

Nas populações submetidas às condições de deficiência de nitrogênio [(-N e -(N+P))], o padrão de excreção é independente daquele onde a quantidade de MOD excretada é proporcional, em números absolutos, à quantidade total de carbono assimilado, como ocorreu nas demais populações. Considerando-se que a composição específica das populações nos bioensaios se diferenciou à medida em que foram eutrofizadas artificialmente e diferencialmente, os bioensaios deram indícios diretos de que as populações naturais, crescendo sob condições oligotróficas, efetivamente, aumentam suas taxas de excreção. Isto vem de encontro ao obtido por diversos autores (Anderson & Zeuschel, 1970; Thomas, 1971; Choi, 1972; Berman & Holm-Hansen, 1974; Herbland & Dandonneau, 1975; Sellner *et al.*, 1976; Smith *et al.*, 1977), com populações naturais de zonas oceânicas oligotróficas. Em cultura de *Skeletonema costatum*, Ignatiades & Fogg (1973), também encontraram aumento das taxas de excreção com a deficiência dos nutrientes N, P e Si.

O aumento das taxas de excreção com a deficiência de nutrientes é evidenciado pela exaustão de nutrientes na população CONTROLE, mais pronunciado no experimento I, e naqueles experimentos onde não foi adicionado nitrogênio. Na região de Ubatuba, o nitrogênio parece ser um dos fatores limitantes da produtividade (Teixeira, 1973b). Nestas populações [(-N e -(N+P))], pelo menos, ficou evidente que o aumento da taxa relativa de excreção não foi derivado simplesmente do "... aumento do valor relativo de um pequeno erro metodológico constante, aumento esse causado pelo decréscimo global da produtividade", como sugeriu Wangersky (1978). Entretanto, o mecanismo pelo qual a deficiência nutricional aumenta a perda de MOD pela excreção e as conseqüências fisiológicas, advindas desse aumento, são inteiramente desconhecidas.

Resumo

Foram efetuadas várias medidas de excreção de matéria orgânica dissolvida (MOD), utilizando-se populações naturais de fitoplâncton, provenientes da Enseada do Flamengo - litoral Norte do Estado de São Paulo - e enriquecidas artificialmente com nutrientes.

A quantidade absoluta da MOD excretada, de um modo geral, acompanhou a quantidade de carbono total assimilado. Entretanto, nas populações com deficiência de nitrogênio, ocorreu um aumento das taxas relativas de excreção, não só devido à diminuição da assimilação total de carbono, mas, efetivamente, também ao aumento da quantidade absoluta de MOD excretada.

Referências bibliográficas

- ANDERSON, G. C. & ZEUTSCHEL, R. P. 1970. Release of dissolved organic matter by marine phytoplankton in coastal and off-shore areas of the northeast Pacific Ocean. *Limnol. Oceanogr.*, 15:402-407.
- BERMAN, R. & HOLM-HANSEN, O. 1974. Release of photoassimilated carbon as dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Mar. Biol.*, 28:305-310.
- BRAY, G. A. 1960. Simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in liquid scintillation. *Anal. Biochem.*, 1:279-285.
- CHOI, I. C. 1972. Primary production and release of dissolved organic carbon from phytoplankton in the western North Atlantic Ocean. *Deep Sea Res.*, 19:731-735.
- FOGG, G. E. 1975. Biochemical pathways in unicellular plants. In: Copper, J. P., ed. - *Photosynthesis and productivity in different environments*. Cambridge, University Press, p. 437-457.
- GUILLARD, R. R. L. & RYTHER, J. H. 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, 8:229-239.
- HERBLAND, A. & DANDONNEAU, Y. 1975. Excretion organique du phytoplancton et activité bactérienne hétérotrophe dans le Dome de Guinée (Ocean Atlantique tropical est). *Doc. scient. Centre Rech. Oceanogr. Abidjan*, 6:1-18.
- IGNATIADIS, L. & FOGG, G. E. 1973. Studies on the factors affecting the release of organic matter by *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve in culture. *J. mar. biol. Ass. U.K.*, 53:937-956.
- SELLNER, K. G.; ZINGMARK, R. G. & MILLER, T. G. 1976. Interpretations of ^{14}C method of measuring the total annual production of phytoplankton in South Caroline estuary. *Bot. mar.*, 19: 119-125.
- SMITH, W. O.; BARBER, R. T. & HUNTSMAN, S. A. 1977. Primary production off the coast northwest Africa: excretion of dissolved organic matter and its heterotrophic uptake. *Deep Sea Res.*, 24:35-47.
- STEEMANN-NIELSEN, E. 1952. The use of radioactive carbon (^{14}C) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. perm. int. Explor. Mer.*, 18:117-190.
- _____. 1975. *Marine photosynthesis*. Amsterdam, Elsevier, 141p.
- TEIXEIRA, C. 1973a. Introdução aos métodos para medir a produção primária do fitoplâncton marinho. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 22:59-92.
- TEIXEIRA, C. 1973b. Preliminary studies of primary production on the Ubatuba region. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 22:49-58.
- _____; KUTNER, M. B. B. & AIDAR-ARAGÃO, E. The effects of eutrophication on chlorophyll-*a*, ^{14}C and species composition of phytoplankton of Ubatuba region (Lat. $23^{\circ}30'S$ - Long. $045^{\circ}06'W$). (Em preparação).
- THOMAS, J. P. 1971. Release of dissolved organic matter from natural populations of marine phytoplankton. *Mar. Biol.*, 11:311-323.
- VIEIRA, A. A. H. & AIDAR-ARAGÃO, E. 1982. Alguns aspectos metodológicos da medida da excreção de matéria orgânica pelo fitoplâncton por espectrometria de cintilação líquida. *Bolm Inst. oceanogr.*, S Paulo, 31(1):

WANGERSKY, P. J. 1978. Production of dissolved organic matter *In*: Kinne, O., ed. - Marine ecology. Chichester, John Wiley, vol. 4, p. 115-220.

(Recebido em 16/Fev./1981;
aceito em 23/Dez./1981)