

FATORES CONTROLADORES DA DESNITRIFICAÇÃO NA COLUNA DE ÁGUA NA REPRESA VELHA DO CEPTA/IBAMA, PIRASSUNUNGA, SÃO PAULO

Rui Alves Chaves¹
Donato Seiji Abe²
José Galizia Tundisi³
Takako Matsumura-Tundisi²

RESUMO

Em outubro de 2002 foram realizados experimentos de desnitrificação na coluna de água da Represa Velha do CEPTA/IBAMA, Pirassununga, Estado de São Paulo, utilizando-se a técnica do bloqueio pelo acetileno. Os principais fatores controladores do processo de desnitrificação e o potencial desnitrificante do ambiente foram determinados a partir do enriquecimento das amostras com glicose e nitrato. A atividade desnitrificante sem enriquecimento foi de 0,32 $\mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1}\text{ dia}^{-1}$. Após enriquecimento simultâneo com glicose e nitrato, a atividade observada foi de 31,69 $\mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1}\text{ dia}^{-1}$, cujo valor corresponde á atividade potencial máxima daquele ponto na represa. O presente estudo demonstra que a atividade desnitrificante sem enriquecimento na Represa Velha é muito baixa nesta época do ano devido à baixa carga de nutrientes e substrato no ambiente. Em períodos de maior enriquecimento resultante da entrada de matéria orgânica e nitrato pelos tributários e formação de anoxia no fundo, o sistema apresentou atividade 100 vezes superior, evidenciando uma alta capacidade desnitrificante através do processo de autodepuração de carbono e nitrogênio.

Palavras-chave: desnitrificação, Represa Velha, enriquecimento, glicose, nitrato, óxido nitroso.

ABSTRACT

Denitrification experiments were carried out by the acetylene blockage technique in the water column of the Velha Reservoir, CEPTA/IBAMA, Pirassununga, southeastern Brazil, in October 2002. The main controlling factors and the potential activity of denitrification were determined by glucose and nitrate amendment. Rate of denitrification without amendment was 0.32

¹ Professor do Departamento de Recursos Pesqueiros, Centro Federal de Ensino Tecnológico do Pará - Pesquisador do CEPNOR/IBAMA

² Pesquisador do Instituto Internacional de Ecologia - IIE

³ Presidente e Pesquisador do Instituto Internacional de Ecologia - IIE

$\mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ day}^{-1}$. After amendment with glucose plus nitrate, the rate of denitrification observed was $31.69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ day}^{-1}$, a value which represents the maximum potential activity at that site of the reservoir. The present study shows that the rate of denitrification in the Velha Reservoir is very low during the dry season because of the low nutrient and substrate loading in this period. After nitrogen and substrate amendment, on the other hand, the system showed activity 100 times higher, revealing that during the periods of carbon and nitrate enrichment promoted by the tributaries, the system has high denitrification capacity and, therefore, a high carbon and nitrogen self-depuration capacity.

Key words: denitrification, Velha reservoir, enrichment, glucose, nitrate, nitrous oxide.

INTRODUÇÃO

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo dos ecossistemas aquáticos, devido principalmente à sua participação na formação das proteínas, um dos componentes básicos da biomassa. Quando presente em baixas concentrações, pode atuar como fator limitante da produção primária em ecossistemas aquáticos (Esteves, 1998).

O nitrogênio ocorre na água doce sob numerosas formas: nitrogênio molecular (N_2), um grande número de compostos orgânicos desde aminoácidos e aminas a proteínas e compostos húmicos refratários de baixo teor em nitrogênio, íon amônio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) e nitrato (NO_3^-). As fontes de nitrogênio para os ecossistemas aquáticos são: a precipitação que cai diretamente sobre a superfície do lago, a fixação do nitrogênio na água e nos sedimentos e as entradas provenientes da drenagem superficial e subterrânea. As perdas de nitrogênio se dão por fluxo efluente da bacia, desnitrificação e perda permanente por sedimentação de compostos orgânicos e inorgânicos que contêm nitrogênio (Wetzel, 1993).

A processo de desnitrificação refere-se então à redução dissimilatória, que se caracteriza pela produção de nitrogênio molecular (N_2) a partir da redução microbiológica de óxidos de nitrogênio. Os principais produtos resultantes do processo de desnitrificação são o nitrogênio molecular (N_2) e o óxido nitroso (N_2O).

O processo de desnitrificação é realizado por alguns grupos de bactérias heterotróficas, geralmente anaeróbias facultativas que utilizam o nitrato e o nitrito como aceptores de elétrons durante a produção de matéria orgânica.

O caminho redutivo pode ser expressado como se segue:



O processo é irreversível e representa a perda de nitrogênio de sistemas terrestres e aquáticos (Focht, 1980).

O processo de desnitrificação possui uma função importantíssima dentro do ciclo do nitrogênio, pelo seu papel na prevenção do acúmulo de nitrato indesejável não assimilado pelas plantas (Whatley, 1981). Em ambientes aquáticos que recebem quantidades substanciais de nutrientes antropogênicos, tais como compostos nitrogenados derivados do escoamento de águas residuárias de origem agrícola e de esgotos domésticos, a desnitrificação pode ajudar a controlar o grau de eutrofização por impor a limitação nutricional contra o excessivo crescimento de algas. Este processo possui um papel ecológico e biogeoquímico fundamental nos ecossistemas de água doce e marinhos costeiros, especialmente regulando a produção primária. A desnitrificação atua como um sumidouro no balanço global do nitrogênio marinho, especialmente em águas estuarinas, pois reduz a quantidade de nitrogênio oriundo do continente que é transportado para o oceano (Seitzinger, 1988 *apud* Whitaker, 1993).

As principais variáveis que afetam o processo de desnitrificação na natureza são: a concentração de nitrato e nitrito, o teor de matéria orgânica, a presença de oxigênio dissolvido, a faixa de valores de pH e a temperatura. Desses fatores, a concentração de nitrato endógeno presente na água é um dos principais fatores limitantes do processo. O conhecimento da disponibilidade de nitrato para os microorganismos é essencial tanto para a determinação das taxas de desnitrificação do nitrato como em experimentos de enriquecimento, visando avaliar o potencial desnitrificante (Whitaker, 1993). As taxas de desnitrificação são controladas ainda pela temperatura e pelo pH.

Este trabalho teve por objetivo quantificar a atividade desnitrificante na coluna de água da Represa Velha do CEPTA/IBAMA, determinar quais os principais fatores controladores do processo de desnitrificação e o potencial desnitrificante daquele ambiente.

MATERIAL E MÉTODOS

Local da Coleta

A Represa velha situa-se no CEPTA/IBAMA – Centro de Pesquisa e Gestão de Recursos Pesqueiros Continentais, que tem sua sede na cidade de Pirassununga – SP, a 21°28'S e 47°26'W, na margem do rio Mogi-Guaçu e próximo do Distrito de Cachoeira de Emas. A represa foi construída em

1930 atingindo seu nível atual em 1940. Na sua construção utilizou-se uma barragem de 300 m de comprimento feita de terra, que represou água procedente de três riachos para inundar um terreno de conformação irregular e topografia levemente acidentada. Está localizada a 575 m acima do nível do mar na posição geográfica 22°02'S e 47°30'W, tendo profundidades média e máxima de 2 m e 5 m, respectivamente (Kleerekoper, 1941). Atualmente o CEPTA possui duas represas, a Represa Velha com uma área de 5 ha e outra com uma área de 3,5 ha, sendo que a represa em questão é a principal fonte de suprimento de água para criação experimental de peixes tropicais do Centro.

O responsável pelo abastecimento da represa é o córrego da Barrinha, o qual nasce fora do Centro e vem sofrendo, desde sua nascente, alterações na quantidade e qualidade da água, uma vez que na zona de influencia da sua microbacia são desenvolvidas atividades potencialmente impactantes, como agroecossistemas, mineração e aqüicultura (Nascimento, 2001). Mendonça (1990), estudando os problemas devido ao aumento na concentração de partículas de solo em suspensão na água da Represa Velha, constatou que a vegetação marginal, que serviria para proteger o córrego contra a entrada de material alóctone, foi removida na zona agricultável, sendo substituída por plantações que ocupam totalmente o terreno até a nascente. Kleerekoper (1941) realizou um trabalho na Represa Velha, determinando os seguintes parâmetros físicos e químicos antes e após o represamento: temperatura, oxigênio dissolvido, gás carbônico livre, fosfatos solúveis em P₂O₅ e nitratos. O autor também verificou que a fauna e a flora na represa contrastavam, de modo desfavorável, com a biota do córrego da Barrinha.

O clima da região é tropical com inverno seco e verão muito quente e temperatura média anual de 22°C. A precipitação média anual é de 1.232 mm, sendo o período mais chuvoso de outubro a março e o período mais seco compreendido nos meses de junho, julho e agosto, segundo dados de 1976 a 1998 da Estação Meteorológica de Aeródromo Pirassununga, na Academia da Força Aérea (21°59'S e 47°21'W e 599 m de altitude) (Gisler, 2000).

Amostragem

A coleta de água para o experimento de desnitrificação foi realizada na profundidade de 3 m, em um ponto próximo à saída de água para os tanques do Centro. O oxigênio dissolvido, condutividade, o pH, TDS, ORP e a temperatura da água foram medidos diretamente na coluna de água nas profundidades de 0 m (superfície), 1m e 3 m, com auxílio de um multi-sensor Horiba U-23. A coleta de amostra de água para o experimento foi realizada

com o auxílio de uma garrafa de Van Dorn de 6 litros de capacidade. A amostra foi transferida para frascos de incubação esterilizados, com volume de 35 ml, e logo em seguida preenchidos com amostra e lacrados com lacre de alumínio. As amostras foram posteriormente transportadas para o laboratório do Instituto Internacional de Ecologia (IIE) em caixa térmica contendo água da própria represa, com objetivo de evitar variações bruscas de temperatura.

Delineamento Experimental

No laboratório do IIE os frascos de incubação contendo amostra de água foram borbulhados com N₂ por meio de uma agulha hipodérmica com 100 mm de comprimento, por um período de 10 minutos. Posteriormente, os frascos foram preenchidos com amostra de água previamente borbulhada de forma a preenchê-los por completo e evitar a formação de bolhas.

Para a determinação da atividade desnitrificante, utilizou-se a técnica do bloqueio pelo acetileno, de acordo com o método de Yoshinari *et al.* (1977) e Sorensen (1978 *apud* Abe, 1998). A metodologia consiste na propriedade que o gás acetileno (C₂H₂) possui, que é inibir a óxido nitroso redutase, enzima que cataliza a redução do N₂O a N₂. Através desta técnica, torna-se possível quantificar o acúmulo de N₂O, caso a amostra contenha bactérias desnitrificantes ativas. Sendo assim, torna-se fácil medir o N₂O com alta sensibilidade quando se utiliza um cromatógrafo a gás dotado de um detetor de captura de elétrons. O C₂H₂ possui também a propriedade de inibir a nitrificação (Hynes & Knowles, 1978; Walter *et al.*, 1979 *apud* Abe, 1998), impossibilitando a produção de N₂O por esta via. Em cada amostra foi feita a incubação injetando-se uma solução saturada de C₂H₂, que foi produzida filtrando-se água deionizada em filtros Nucleopore® de 0,1µm de porosidade e borbulhando-a com C₂H₂ por um período de 15 minutos (Abe, 1998).

Posterior à incubação das amostras com gás acetileno, as mesmas foram enriquecidas com glicose em uma concentração final de 2% e uma concentração final de KNO₃ de 0,6 mg L⁻¹, de acordo com Eosteves *et al.* (2001), atendendo os seguintes tratamentos:

T1 – controle sem enriquecimento

C₂H₂ sem enriquecimento

T2 – controle nitrato

C₂H₂ + nitrato

T3 – controle glicose

C₂H₂ + glicose

T4 – controle glicose + nitrato

C₂H₂ + glicose + nitrato

Após o enriquecimento, as amostras foram incubadas em câmara de germinação marca Fanem, mod. 347CDG por um período de 156 h, à temperatura de 25°C. As três tomadas de amostras para leitura foram feitas respectivamente após 41h, 64h e 156h, totalizando 9 dias de incubação.

Determinação de N₂O

A análise de N₂O das amostras foi feita seguindo a metodologia descrita por Yoh *et al.* (1990 *apud* Abe, 1998), que consiste em retirar uma alíquota de 5 ml da amostra contida no frasco de incubação com auxílio de um seringam de vidro graduada de 5 ml dotada de uma agulha com poro lateral, injetando-a, em seguida, no interior de uma outra seringam de vidro graduada de 10 ml de capacidade, isolada do meio externo por um septo de silicone (seringa de equilíbrio), após duas lavagens com a própria amostra para a remoção de bolhas. Com o auxílio de uma outra seringam de vidro de 5 ml, injetou-se 5 ml de N₂ na seringam de equilíbrio e agitou-se vigorosamente por duas vezes em um intervalo de 5 minutos. A seringam de equilíbrio foi mantida mergulhada em uma cuba contendo água a temperatura ambiente durante 10 minutos para evitar oscilações bruscas de temperatura, e para que N₂O contido nas amostras de água entrasse em estado de equilíbrio entre a fase líquida e a fase gasosa (*headspace*) no interior da seringam. A temperatura da cuba foi monitorada com termômetro de mercúrio durante todo o período de análise. Com o auxílio de uma seringam específica para cromatografia a gás, tomou-se uma subamostra do *headspace*, que foi medida com auxílio de um cromatógrafo a gás VARIAN CP3800 GC, tendo N₂ como gás de arrasto e uma coluna empacotada Porapak Q de 1/8" de diâmetro e 2 m de comprimento.

Para o cálculo da concentração de N₂O na fase líquida da seringam de equilíbrio, utilizou-se a equação da constante de equilíbrio de Weiss & Price (1980 *apud* Abe, 1998), para determinação do coeficiente de Bunsen (β):

$$\beta = V^+ \times K_o$$

onde, β = coeficiente de Bunsen; V^+ = volume de 1mol do gás real puro em CNTP = 22,4 L; K_o = constante de equilíbrio do N₂O, determinada de acordo com a temperatura da solução durante a determinação e as constantes A1, A2 e A3.

$$\ln K_o = A_1 + A_2 \times (100/T) + A_3 \ln (T/100)$$

onde, $A_1 = -62,7062$; $A_2 = 97,3066$; $A_3 = 24,1406$; T = temperatura da água (em graus Kelvin).

Determinado o coeficiente de Bunsen, é possível calcular o volume de N_2O da fase líquida, com a seguinte equação:

$Vol.N_2O$ na fase líquida = $Vol.N_2O$ contido em 5ml do *headspace* x β

Com a determinação do volume de N_2O na fase líquida e com o volume de N_2O na fase gasosa, obtido diretamente por meio da cromatografia, pode-se obter o volume de N_2O total contido no frasco, através da seguinte fórmula:

$Vol.N_2O$ no frasco = [N_2O na solução aquosa (ml) + N_2O no *headspace* (ml)] x volume de amostra / 5ml

onde, volume de amostra = volume do frasco de incubação (ml).

Técnicas de Laboratório

a) Nitrogênio

a.1) Nitrogênio Total

O método utilizado foi o de Kjeldahl, no qual pesou-se 1,5g de sulfato de potássio e 1,0 ml de solução de sulfato de cobre a 10%, que foram transferidos para tubos de vidro. Adicionou-se 30,0 ml da amostra e mais 2,5ml de H_2SO_4 concentrado. O tubo foi levado para um digestor de nitrogênio, marca Tecnal, modelo TE – 036/1, até ficar verde claro e não gerar mais fumaça.

Retirado do digestor, esperou-se esfriar e adicionou-se 50,0 ml de água deionizada usando pérolas de ebulição. Em seguida, adicionou-se 20,0 ml de solução NaOH 40% e destilou-se a amostra, que foi recebida em um erlenmeyer contendo 20,0 ml de ácido bórico a 20%, que foi finalmente titulada com H_2SO_4 à 0.010 molar e monitorada com um pHmetro até atingir um pH equivalente a 4,2.

a.2) Nitrato, Nitrito e Amônio

As análises dos compostos nitrogenados (nitrato, nitrito e amônio), foram realizadas utilizando-se o analisador de íons, marca Dionex, modelo DX-80 com coluna separadora para cátions Ion Pac, modelo – C512A 5?m e coluna separadora para ânions Ion Pac modelo A514A 5?m.

b) Fósforo

b.1) Fosfato Total Dissolvido

Utilizou-se a metodologia descrita em Strickland & Parsons (1960), através da digestão com persulfato de potássio, no qual pipetou-se 30,0 ml da amostra em tubo de ensaio, adicionando-se 3,0 ml da solução de persulfato de potássio saturada, depois colocaram-se as amostras em autoclave vertical, marca Phoenix, fechando-as com papel alumínio, por 1 h a 120°C.

Depois de tirá-las da autoclave, deixou-se esfriar e adicionou-se 3,0 ml do reagente misto, sendo a leitura feita em espectrofotômetro UV Visível, marca Varian, modelo Cary 50 Conc, à 882nm em cubeta de 5cm, após 30 minutos.

b.2) Fosfato Inorgânico

O método utilizado está descrito em Strickland & Parsons (1960), em que pipetou-se 30,0 ml da amostra em tubo de ensaio, adicionando-se 3,0 ml do reagente misto.

b.3) Fósforo Total

O método utilizado foi o de Valderrama (1981), em que pipetou-se 30,0 ml da amostra sem filtrar em tubo de ensaio, adicionando-se 4,0 ml de reagente de oxidação (RO). A leitura foi feita no espectrofotômetro a 882 nm em cubeta de 5cm de caminho óptico.

c) Carbono

c.1) Carbono Orgânico e Inorgânico Dissolvido

A análise do carbono orgânico dissolvido foi realizada a partir das amostras filtradas em filtros Whatman GF/C com 47mm de diâmetro, e calcinados e pesados em balança analítica. Após a filtração, as amostras foram armazenadas em frascos âmbar e a leitura foi realizada em um analisador automático de carbono orgânico total, marca Shimadzu, modelo TOC – 5000. Os resultados foram expressos em mg/L.

d) Material em Suspensão

Filtrou-se 500 ml da amostra em filtros previamente calcinados a 480°C por 1h e, em seguida, pesados (Peso 0). Após a secagem, os filtros foram transferidos para cadinhos de porcelana e levados a estufa, marca Quimis, por 24 h a 60°C, e pesados (Peso 1). Em seguida, eles foram novamente levados à mufla por 1h a 480°C e pesados para obtenção do Peso 2.

O cálculo foi realizado através das seguintes diferenças:

$P1 - P0 = \text{Material em suspensão Total}$

$P2 - P0 = \text{Material em suspensão Inorgânico}$

$M.S.T. - M.S.I. = \text{Material em suspensão Orgânico}$, dividido pelo volume filtrado em mililitros e multiplicado por 1000, obteve-se o resultado em mg/L
M.S.O.

Este método baseou-se em metodologia descrita em Teixeira *et al.* (1965).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise das Variáveis Físicas e Químicas

Os dados medidos com a multi-sonda Horiba U-23 estão apresentados na Tabela 1. Observando-se os valores de temperatura ao longo da coluna d'água nas diferentes profundidades, percebe-se que existe uma diferença de até 3,4°C, o que nos permite supor a existência de uma leve estratificação térmica neste período de primavera. Segundo Wetzel (1993), na primavera as águas superficiais dos lagos se aquecem mais rapidamente do que faz a distribuição do calor pelo movimento de mistura. Normalmente o rápido aquecimento na superfície se dá em dias quentes e águas calmas, fenômeno que pode estar acontecendo na represa, uma vez que o vento é impedido de realizar o movimento das águas devido à barreira natural existente no entorno da represa, a chamada mata ciliar. Segundo o mesmo autor, quando a água estiver sendo rapidamente aquecida e a mistura for insuficiente para fazer circular toda água desde o topo até o fundo, a maior variação térmica ocorrerá na camada mais profunda. Foi o que pôde-se detectar na represa, mesmo que em pequena escala, quando se compara a temperatura a 0 m (29,1°C) com a temperatura a 3 m, que foi de 25,7°C.

Tabela 1- Variáveis medidas diretamente ao longo da coluna de água nas profundidades de 0 m (superfície), 1 m e 3 m, com auxílio de um multisensor Horiba U-23.

Profundidade (m)	Medições					
	OD	Cond	pH	TDS	ORP	T (°C)
0	6,67	0,011	5,71	0,007	306	29,1
1	6,67	0,011	5,69	0,007	310	27,2
3	4,77	0,013	5,71	0,008	323	25,7

Os valores apresentados na Tabela 2 indicam as concentrações dos principais nutrientes existentes no local. É importante fazer referência aos nutrientes que possuem sua origem da bacia de drenagem e que acabam, por sua vez, influenciando os lagos de captação. Segundo Bormann & Likens (1979), são raros os estudos globais a respeito da biota terrestre da zona húmica e do litoral que regulam esta sobrecarga de nutrientes que escorre das regiões de altitude para o lago receptor, através do subsolo e dos cursos de água de superfície.

No caso do presente estudo, a represa é abastecida por um córrego da Barrinha, que é afetado ao longo do seu curso por atividades de alto impacto pelos setores industrial e agrícola, além da plantação de cana-de-açúcar no entorno da represa. Contudo, os dados de nutrientes obtidos na represa não refletem esses problemas, ou seja, os valores encontrados estão baixos, demonstrando que a mesma possui uma baixa produtividade. Isto pode ser explicado devido ao estudo ter-se realizado numa época de seca, de modo que essa carga de nutrientes não afetou a represa devido à baixa vazão do córrego, concluindo-se que a bacia de drenagem não teve influência significativa no enriquecimento da represa. Através de dados coletados na mesma época, constatou-se que na entrada da represa as concentrações de nitrogênio total (0,15 mg/l) e fósforo total (4,140 µg/l) foram ainda mais baixas que no próprio reservatório.

No que diz respeito às plantações de cana-de-açúcar existentes no entorno da represa, acreditamos que a vegetação marginal neste período de seca foi suficiente para barrar a entrada de nutrientes provenientes dessa prática.

Tabela 2 – Valores de nutrientes avaliados na Represa Velha - CEPTA/IBAMA.

Nutrientes	Valores
Nitrogênio total (mg/l)	0,3972
Fósforo total (µg/l)	21,393
Fósforo inorgânico (µg/l)	1,882
Fosfato total dissolvido (µg/l)	8,641
Material em suspensão total (mg/l)	10
Material em suspensão inorgânico (mg/l)	3,6
Material em suspensão orgânico (mg/l)	6,4
Amônio (µg/l)	53,404
Cálcio (mg/l)	0,6089
Nitrito (µg N/l)	7,903
Nitrato (µg N/l)	11,935
Sulfato (µg S/l)	19,444
Carbono Orgânico Dissolvido (mg/l)	1,8
Carbono Inorgânico Dissolvido (mg/l)	1,7

DESNITRIFICAÇÃO

Na Tabela 3 é feita a comparação entre os processos de desnitrificação de outros sistemas com o da Represa Velha, demonstrando a baixa taxa que ocorre na represa, chegando a ser comparado com lagos antárticos.

Tabela 3 – Comparação da desnitrificação estimada na coluna d'água de vários sistemas. Extraído de Knowles (1982), Seitzinger (1988) e Terai & Yoh (1996).

Sistemas	Atividade desnitrificante ($\mu\text{g N dia}^{-1}$)	Método	Referência
Lago Mendota, USA	8,4 – 26,6	$^{15}\text{NO}_3^-$	Brezonik & Lee (1968)
Lago Kinneret, Israel	42 - 504	$^{15}\text{NO}_3^-$	Cavari & Phelps (1977)
Lago 227, Canada	2,8 – 22,4	$^{15}\text{NO}_3^-$	Chan & Campbell (1980)
Lago Artico	15,4	$^{15}\text{NO}_3^-$	Goering & Dugdale (1966)
Mar Baltico	1,4	$^{15}\text{NO}_3^-$	Shaffer & Rönner (1984)
Lago antartico	0,00 – 3,5	$^{15}\text{NO}_3^-$	Vincent et al. (1981)
Lago Fukami-Ike, Japão	0,56 – 1,79	C_2H_2	Terai et al. (1987)
Lago Kizaki, Japão	0,0 – 11,76	C_2H_2	Abe (1998)
Reservatório de Barra Bonita	19,04 – 7,08	C_2H_2	Abe et al. (2003)
Represa Velha - CEPTA	0,32	C_2H_2	Presente estudo

Na Figura 1 é apresentada a atividade desnitrificante que ocorre naturalmente na Represa Velha, observando-se que, no período de incubação de 41 h, a atividade desnitrificante foi praticamente zero, ou seja, não houve produção de N_2O . Esta se iniciou a partir de 41 h de incubação, atingindo um valor máximo a 64 h de incubação. Após 64 horas, houve a continuidade da produção de N_2O , porém com menor taxa.

Na Figura 2 estão apresentados os resultados obtidos com os diferentes tratamentos. No tratamento com enriquecimento de nitrato a atividade desnitrificante foi de $1,18 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ (T2) e de glicose a atividade foi de $3,69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ (T3). Observa-se que a atividade desnitrificante teve seu valor mais alto no tratamento T4 (C_2H_2 + glicose + nitrato) que foi de $31,69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, demonstrando que o carbono orgânico (glicose) e o nitrogênio (nitrato) foram fatores determinantes para que o processo da desnitrificação ocorresse eficientemente. Foi importante também verificar que a atividade desnitrificante teve seu pico máximo com 64 h de incubação e começou a decair a partir deste momento. É possível fazer uma relação entre o método que utilizamos para determinar a desnitrificação, que foi o do acetileno, com essa decaída. Uma vez que a determinação é feita pelo acúmulo de N_2O , o gás acetileno (C_2H_2) pode ter perdido seu efeito

inibidor sobre a enzima óxido nitroso redutase durante o longo período de incubação (156 horas), impossibilitando o acúmulo de N_2O . Assim, grande parte do N_2O produzido durante o processo foi reduzido a nitrogênio molecular (N_2).

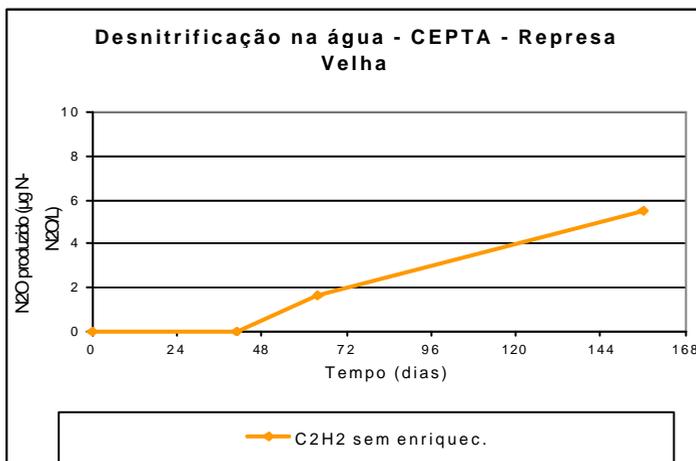


Figura 1 - Desnitrificação natural que ocorreu na amostra de água coletada na Represa Velha (sem enriquecimento), durante um período de 41 h, 64 h e 156 h de incubação.

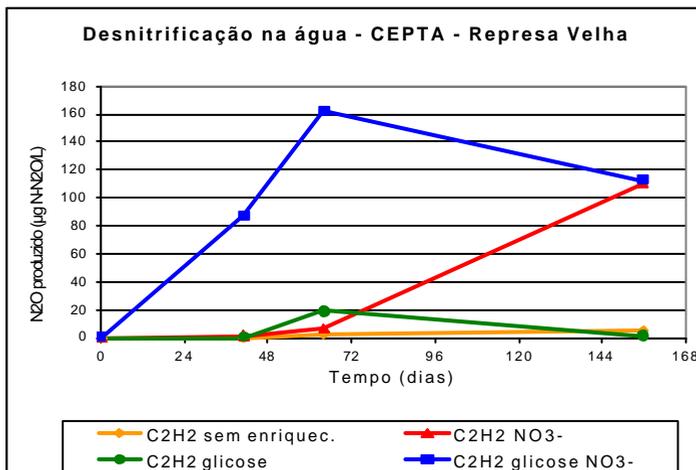


Figura 2 - Relação entre tempo de incubação e os tratamentos com C_2H_2 sem enriquecimento, NO_3^- , glicose e glicose + NO_3^- .

A Tabela 4 e a Figura 3 mostram claramente que os fatores determinantes no processo da desnitrificação são o carbono orgânico (glicose) e o nitrato, porém de forma conjunta, ou seja, é necessário que os dois estejam disponíveis simultaneamente para que as bactérias desnitrificantes realizem ativamente o processo. Enquanto que o enriquecimento somente do nitrato atingiu uma atividade desnitrificante de $1,18 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, e da glicose uma atividade de $3,69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, o enriquecimento com ambos atingiu uma atividade desnitrificante de $31,69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, ou seja, 27 vezes superior à taxa após enriquecimento com nitrato e aproximadamente 9 vezes superior à taxa após enriquecimento com glicose.

O valor representado pelo enriquecimento glicose + nitrato ($31,69 \mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$) representa, virtualmente, a atividade desnitrificante potencial do sistema, ou seja, a capacidade máxima que o ambiente consegue realizar.

Tabela 4 - Diferentes valores de desnitrificação obtidos a partir dos tratamentos utilizados no experimento.

Tratamento	Atividade Desnitrificante ($\mu\text{g N-N}_2\text{O L}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)
Sem enriquecimento	0,32
Nitrato	1,18
Glicose	3,69
Glicose + Nitrato	31,69

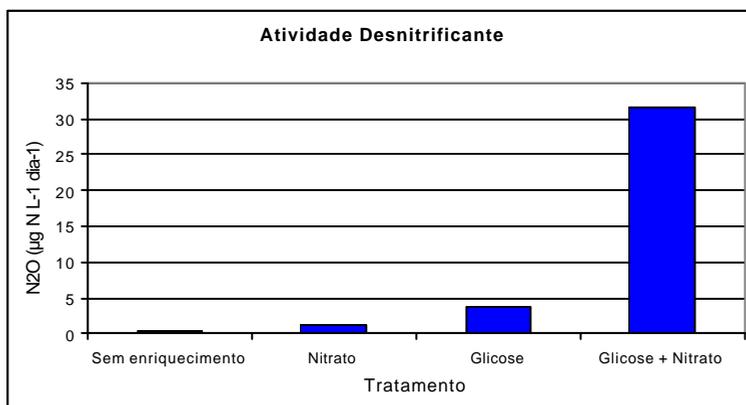


Figura 3 - Evolução da atividade desnitrificante de acordo com os tratamentos.

O presente estudo demonstra que, no período de seca, a Represa Velha apresenta baixa atividade desnitrificante em função da pequena carga de nitrato e matéria orgânica existente no ambiente. No entanto, o sistema apresenta um alto potencial desnitrificante quando enriquecido com esses compostos, de modo que, em períodos de maior enriquecimento resultante da entrada de matéria orgânica e nitrato pelos tributários e formação de anoxia no fundo, este evidencia uma alta capacidade desnitrificante e, conseqüentemente, uma alta capacidade de autodepuração de carbono e nitrogênio.

CONCLUSÕES

1. A atividade desnitrificante na coluna de água de forma natural (sem enriquecimento) foi extremamente baixa ($0,32 \mu\text{g N -N}_2\text{O L}^{-1}$), quando comparada com outros sistemas do mundo, em função da baixa disponibilidade de substrato e nitrato.
2. Os principais fatores que controlam o processo de desnitrificação são o carbono orgânico e nitrogênio. No entanto, esses dois elementos precisam estar disponíveis de forma simultânea para que as bactérias realizem ativamente o processo.
3. potencial desnitrificante da Represa Velha foi de $31,6 \mu\text{gN-N}_2\text{O L}^{-1}\text{dia}^{-1}$ ou seja, a atividade potencial máxima que a mesma consegue realizar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, D.S. **Desnitrificação e caracterização filogenética das bactérias de vida livre e bactérias aderidas às partículas no hipólímnio do Lago Kizaki, Japão.** Tese de Doutorado, Escola de Engenharia, Universidade Federal de São Carlos, 1998.

ABE, D.S.; MATSUMURA-TUNDISI, T.; ROCHA, O. & TUNDISI, J.G. Denitrification and bacterial community structure in the cascade of six reservoirs on a tropical river in Brazil. **Hydrobiologia**, 2003 (*in press*).

BORMANN, F.H. & LIKENS, G.E. **Pattern and process in a forested ecosystem.** Springer - Verlag, 253 p., New York, 1979.

BREZONIK, P.L. & LEE, G.F. *Denitrification as a nitrogen sink in Lake Mendota, Wisconsin.* **Environ. Sci. Technol.**, v.2, p.120-125, 1968.

CAVARI, B.Z. & PHELPS, G. Denitrification in Lake Kinneret in the presence of oxygen. **Freshw. Biol.**, v.7, p.385-391, 1977.

CHAN, Y.K. & CAMPBELL, N.E.R. Denitrification in Lake 227 during summer stratification. **Can. J. Fish Aquat. Sci.**, v. 37, p. 506-512, 1980.

ESTEVEES, F.A. **Fundamentos de Limnologia**. Interciência, 2ª edição, Rio de Janeiro, 1998.

ESTEVEES, F.A.; ENRICH-PRAST, A. & BIESBOER, D.D. Potential denitrification in submerged natural and impacted sediments of Lake Batata, an Amazonian lake. **Hydrobiologia**, n. 444, p.111-117, 2001.

FOCHT, D.D.; VALORAS, N. & LETEY, J. Use of interfaced gas chromatography-mass spectrometry for detection of concurrent mineralization and denitrification in soil. **J. Environ. Qual.**, v.9, p.218-23, 1980.

GISLER, C.V.T. **Estrutura e função de matas ciliares remanescentes e implantadas em Santa Cruz das Palmeiras – SP**. Tese de Doutorado, UNESP, 167 p., Rio Claro, 2000.

GOERING, J.J. & DUGDALE, V.A. Estimates of the rates of denitrification in a subarctic lake. **Limnol. Oceanogr.**, v.11, p.113-117, 1966.

KLEEREKOPER, H. **Estudo limnológico da Bacia do rio Mogi-Guassu: observações limnológicas sobre a represa da Estação Experimental da Caça e Pesca do Ministério da Agricultura em Emas, Estado de São Paulo**. Ministério da Agricultura, Serviço de Informação Agrícola, 53 p., 1941.

KNOWLES, R. Denitrification, p. 315-329, *in* Clark, F.E. & Roswall, T. (eds.), **Terrestrial nitrogen cycles. Processes, ecosystem strategies and management impacts** Swedish Natural Science Research Council, Stockholm, 1981.

MENDONÇA, J.O.J.; SOUZA, J.H. & BERNADINO, G. **Levantamento sobre propriedades limítrofes ao CEPTA**. Relatório do CEPTA, Pirassununga, 1990.

NASCIMENTO, V.M.C. **Estudo da carga de nutrientes e da comunidade bentônica do córrego Barrinha, Pirassununga – SP**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2001.

STRICKLAND, J.D.H. & PARSONS, T.R. A manual of seawater analysis. **Bull. Fish. Res. Board Can.**, v.125, p.1-18, 1960.

STRICKLAND, J.D.H. Measuring the production of marine phytoplankton. **Bull. Fish. Res. Board Can.**, v.122, p.1-172, 1960.

SHAFFER, G. & RÖNNER, U. Denitrification in the Baltic proper deep water. **Deep Sea Res.**, v.31, p.197-220, 1984.

SEITZINGER, S.P. Denitrification in freshwater and coastal marine ecosystems: Ecological and geochemical significance. **Limnol. Oceanogr.**, v. 33, p.702-724, 1988.

TEIXEIRA, C.; TUNDISI, J.G. & KUTNER, M.B. Plankton studies in a mangrove. II: The standing-stock and some ecological factors. **Bol. Inst. Oceanogr.**, São Paulo, n.24, p. 23-41, 1965.

TERAI, H. & YOH, M. Denitrification and N₂O production in Lake Kizaki. **Mitt. Intern. Verein. Limnol.**, v.25, p.97-104, 1996.

TERAI, H.; YOH, M. & SAIJO, Y. Denitrifying activity and population growth of denitrifying bacteria in Lake Fukami-Ike. **Japan. J. Limnol.**, v.48, p.211-218, 1987.

VALDERRAMA, J.C. The simultaneous analysis of total nitrogen and phosphorus in natural waters. **Marc. Chem.**, v.10, p.109-122, 1981.

VINCENT, W.F.; DOWNES, M.T. & VINCENT, C.L. Nitrous oxide cycling in Lake Vanda, Antarctica. **Nature**, n.292, p.618-620, 1981.

WETZEL, R.G. **Limnologia**. Editora Fundação Calouste Gulbenkian, 917 p., Lisboa, 1993.

WHATLEY, F.R. Dissimilatory nitrate reduction, p.64-77, *in* Bothe, H. & Trebst, A. (eds.), **Biology of inorganic nitrogen and sulphur**. Springer-Verlag, Berlin, 1981.

WHITAKER, V.A. **A área alagada da represa do lobo (Itirapina-SP)- os processos ecológicos associados ao potencial de desnitrificação dos sedimentos**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 1993.

YUNG, Y.L.; WANF, W.C.& LACIS, Q.A. Greenhouse effect due to nitrous oxide. **Geophys. Res. Lett.**, v.3, p.619-621, 1976.