

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS DA TERRA
CENTRO DE ESTUDOS DO MAR
LABORATÓRIO DE MICROBIOLOGIA MARINHA

CATHERINE GÉRIKAS RIBEIRO

**BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS A AGREGADOS
(MPS) PRESENTES NA ZONA DE MÁXIMA TURBIDEZ DA
BAÍA DE PARANAGUÁ**



M 589.9
R484b
2007
ex.01

PONTAL DO PARANÁ
2007

CATHERINE GÉRIKAS RIBEIRO

**BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS A AGREGADOS
(MPS) PRESENTES NA ZONA DE MÁXIMA TURBIDEZ DA
BAÍA DE PARANAGUÁ**

Monografia apresentada ao Centro de Estudos do Mar como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Oceanografia, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Dr^a. Hedda Elisabeth Kolm
Co-orientadora: Dr^a. Soraya Patchineelam

PONTAL DO PARANÁ
2007

m
589 q
R 484 b
2007
ex 01

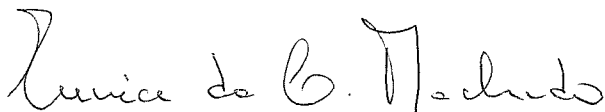
M 2007 17

TERMO DE APROVAÇÃO

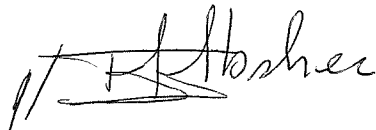
Catherine Gériques Ribeiro

“BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS A AGREGADOS (MPS) PRESENTES NA ZONA DE MÁXIMA TURBIDEZ DA BAÍA DE PARANAGUÁ

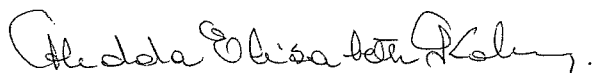
Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de
Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela
Comissão formada pelos professores:



Prof.Dra. Eunice da Costa Machado-UFPR/CEM



Dra. Adriana Siqueira-Biologa



Prof.Dra Hedda E. Kolm-UFPR/CEM
Presidente

Pontal do Paraná, 29 de novembro de 2007

Dedico este trabalho ao meu querido avô Antanas Konstantinas Gerikas, amante do conhecimento, da cultura e da natureza... um exemplo a ser seguido, e uma alma que irá ecoar bondade e sabedoria por todas as nossas vidas. Saudades eternas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha família, e especialmente aos meus pais que, além de fornecer suporte financeiro e emocional para a conclusão de meus estudos, foram principalmente exemplos de força, coragem e caráter. Vocês são meus melhores professores.

Sou extremamente grata à querida professora Hedda Elisabeth Kolm pela sua paciência e amizade nestes anos, pelo incentivo, e por compartilhar seu conhecimento sempre de forma atenciosa.

Agradeço imensamente aos meus amigos, minha melhor conquista durante a graduação, e sem os quais estes anos não teriam as cores e o brilho que possuem para mim. Obrigada pelo companheirismo, pelas risadas, pelas cervejas, pelas broncas, pelos desafios, e pela luminosidade que suas vidas emprestam à minha.

À minha querida amiga Mylene por 5 anos de compreensão e sabedoria, por momentos inesquecíveis e pelo ombro amigo sempre que necessário... Você sabe o quanto é importante para mim!

Agradeço à "equipe técnica", sem os quais este trabalho não seria possível: à Adriana, à Liciane e ao Flávio pela ajuda nos processos laboratoriais, ao Abraão, Roney e Josias pela condução dos barcos, e ao pessoal que ajudou nas coletas, muito obrigada!

Aos professores Maurício Noemberger e Maurício Camargo pelo fornecimento dos dados meteorológicos e tábuas de maré.

À Rafaela Zem pela grande colaboração.

À professora Eunice Machado e à Carla G. Machado pelo fornecimento dos dados químicos, essenciais para a realização deste trabalho.

Ao professor Maurício Camargo e ao meu grande amigo Leonardo Sandrini Neto pela ajuda com as análises estatísticas.

Agradeço aos funcionários do Centro de Estudos do Mar da UFPR, por toda ajuda, sempre que necessária.

À SUDHERSA e ao INMET, pelo fornecimento dos dados de pluviosidade.

Ao CNPq, pelo suporte financeiro.

À professora Soraya Patchineelam, descanse em paz.

Enfim, meu mais sincero obrigado a todos que de algum modo contribuíram para a conclusão deste trabalho, assim como para meu aprimoramento pessoal durante a longa jornada da graduação.

EPIGRAFE

“(...) a beleza, na ciência, vai muito além das aparências. O melhor tipo de ciência é um produto integrado de nossos aspectos emocionais e intelectuais, uma síntese entre as características freqüentemente associadas a nossos hemisférios cerebrais ‘esquerdo’ (racional) e ‘direito’ (emocional/artístico). Os grandes ‘gênios’ da ciência combinaram a estética sensorial à compreensão conceitual. O físico (e pianista) Victor Weisskopf ressaltou: ‘A beleza da ciência é a mesma beleza de Beethoven. No meio de eventos nebulosos encontramos subitamente uma conexão. Ela expressa um conjunto de preocupações humanas que nos tocam profundamente, relacionando coisas que sempre tivemos dentro de nós, mas que sempre mantivemos dissociadas’.”

Sean Carroll em *“Infinitas Formas de Grande Beleza”*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	5
3 ÀREA ESTUDADA	6
4 MATERIAIS E MÉTODOS	8
4.1 COLETAS	8
4.2 SEPARAÇÃO DE BACTÉRIAS ADERIDAS	8
4.3 QUANTIFICAÇÃO DE HETEROTRÓFICAS TOTAIS E BIOMASSA BACTERIANA	9
4.4 QUANTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E <i>Escherichia coli</i> ..	9
4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS	10
5 RESULTADOS	12
5.1 BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS	12
5.1.1 Maré de quadratura (verão)	12
5.1.2 Maré de sizígia (verão)	13
5.1.3 Maré de quadratura (inverno)	14
5.1.4 Maré de sizígia (inverno)	15
5.2 BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE E ADERIDA AO MPS ..	16
5.2.1 Maré de quadratura (verão)	16
5.2.2 Maré de sizígia (verão)	17
5.2.3 Maré de quadratura (inverno)	18
5.2.4 Maré de sizígia (inverno)	19
5.3 COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE E ADERIDOS AO MPS	20
5.3.1 Maré de quadratura (verão)	20
5.3.2 Maré de sizígia (verão)	21
5.3.3 Maré de quadratura (inverno)	22
5.3.4 Maré de sizígia (inverno)	24
5.4 <i>E. coli</i> DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS	25
5.4.1 Maré de quadratura (verão)	25
5.4.2 Maré de sizígia (verão)	26
5.4.3 Maré de quadratura (inverno)	27

5.4.4 Maré de sizígia (inverno)	27
5.5 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	28
5.5.1 Bactérias livres na água	28
5.5.2 Bactérias aderidas ao MPS	30
5.6 REGRESSÕES MÚLTIPLAS	31
5.6.1 Bactérias heterotróficas totais de vida livre	31
5.6.2 Bactérias heterotróficas totais aderidas ao MPS	32
5.6.3 Biomassa bacteriana de vida livre	33
5.6.4 Biomassa bacteriana aderida ao MPS	33
6 DISCUSSÃO	34
6.1 PADRÕES DE OSCILAÇÃO BACTERIANA E CORRELAÇÕES COM PARÂMETROS AMBIENTAIS	34
6.1.1 Bactérias heterotróficas totais e biomassa bacteriana	35
6.1.2 Coliformes totais	41
6.1.3 <i>Escherichia coli</i>	43
6.2 DIFERENCIAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS	45
7 CONCLUSÕES	52
8 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	54
9 BIBLIOGRAFIA	55
ANEXOS	61

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	A) MAPA DO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ, COM LOCALIZAÇÃO DA ESTAÇÃO DE COLETA; B) IMAGEM REPRESENTATIVA DAS ÁREAS URBANAS ADJACENTES	6
FIGURA 2 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1) EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE FUNDO NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)	12
FIGURA 3 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2) EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE FUNDO NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)	13
FIGURA 4 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)	14
FIGURA 5 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDAS AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)	15
FIGURA 6 -	COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), DURANTE A MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)	16
FIGURA 7 -	COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), DURANTE A MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)	17
FIGURA 8 -	COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), DURANTE A MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)	18
FIGURA 9 -	COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), DURANTE A MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)	19

FIGURA 10 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)	20
FIGURA 11 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)	22
FIGURA 12 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO) .	23
FIGURA 13 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDA AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)	24
FIGURA 14 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE <i>E. coli</i> DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)	25
FIGURA 15 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE <i>E. coli</i> DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)	26
FIGURA 16 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE <i>E. coli</i> DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)	27
FIGURA 17 -	COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE <i>E. coli</i> DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDA AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)	28
FIGURA 18 -	A) REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS, PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS DE VIDA LIVRE; B) OSCILAÇÃO DA ALTURA DA MARÉ; DA ESQUERDA PARA DIREITA: VERÃO/QUADRATURA, VERÃO/SIZÍGIA, INVERNO/QUADRATURA, INVERNO/SIZÍGIA	29

FIGURA 19 - A) REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS, PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS ADERIDOS AO MPS; B) OSCILAÇÃO DA ALTURA DA MARÉ; DA ESQUERDA PARA DIREITA: VERÃO/QUADRATURA, VERÃO/SIZÍGIA, INVERNO/QUADRATURA, INVERNO/SIZÍGIA	31
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA ABUNDÂNCIA DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE; r : 0,8615; r^2 : 0,7421; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$	32
TABELA 2 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA ABUNDÂNCIA DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS ADERIDAS AO MPS; r : 0,7778; r^2 : 0,6055; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$	32
TABELA 3 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE; r : 0,5720; r^2 : 0,3272; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$	33
TABELA 4 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA BIOMASSA BACTERIANA ADERIDA AO MPS; r : 0,7307; r^2 : 0,5339; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$	33
TABELA 5 - PORCENTAGENS ENTRE BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO SESTON; SOMATÓRIA DOS DADOS OBTIDOS EM TODOS OS CICLOS DE MARÉ	46

RESUMO

As bactérias heterotróficas presentes nas partículas marinhas, tais como os agregados, são responsáveis por uma importante via de reciclagem de nutrientes e materiais orgânicos e inorgânicos. Dentro de um estuário, a Zona de Máxima Turbidez (ZMT) tem um impacto pronunciado na estrutura e no funcionamento da comunidade microbiana. Foi objetivo da pesquisa observar a estrutura da comunidade microbiana de vida livre e aderida a partículas, através da análise quantitativa das bactérias heterotróficas totais, biomassa bacteriana, coliformes totais e *Escherichia coli* na ZMT da Baía de Paranaguá, e compará-la com parâmetros físico-químicos. A quantidade de microrganismos foi avaliada em dois ciclos de maré (sizígia e quadratura) e duas estações do ano (verão e inverno), com coletas de água superficial e de fundo efetuadas a cada duas horas, em um total de doze horas por período de coleta. Foram avaliadas as variáveis físico-químicas da água, e a contabilização de bactérias foi compartimentalizada em 'bactérias de vida livre' e 'bactérias aderidas' ao material particulado em suspensão (MPS). Para obter os valores bacterianos de vida livre, subtraíram-se dos valores totais de bactérias (água + MPS) os obtidos no MPS. Todos os parâmetros físico-químicos foram obtidos no Laboratório de Biogeoquímica do Centro de Estudos do Mar. A quantificação de bactérias heterotróficas totais e biomassa bacteriana foi realizada através de microscopia de epifluorescência. A quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli* foi efetuada segundo a técnica de substratos cromogênicos específicos. Os resultados mostraram que a quantidade máxima de bactérias heterotróficas totais ($2.546,73 \cdot 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$) e de biomassa bacteriana ($49,81 \mu\text{gC.L}^{-1}$) foi de vida livre, registrada em águas superficiais durante a vazante de quadratura do inverno. O mínimo ($36,27 \cdot 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$) de heterotróficas totais também foi de vida livre, em maré de quadratura, porém em águas de fundo na enchente de verão. O mínimo de biomassa bacteriana ($0,44 \mu\text{gC.L}^{-1}$) ocorreu no MPS de superfície, durante a vazante de quadratura no inverno. O máximo ($12.094,89 \text{ NMP.100mL}^{-1}$) de coliformes totais foi registrado em águas superficiais no início de enchente de sizígia no verão. Seu mínimo ($1,11 \text{ NMP.100mL}^{-1}$) ocorreu durante o mesmo período, porém aderido a partículas. Os valores de *E. coli* foram consistentemente mais elevados livres na água que aderidos ao MPS. O valor máximo de *E. coli* ($3.244 \text{ NMP.100mL}^{-1}$) ocorreu na água de fundo, durante a baixa-mar de sizígia, no inverno, com bactérias de vida livre. Os resultados mostram dominância de bactérias (heterotróficas totais, coliformes totais e *E. coli*) de vida livre, provável e hipoteticamente devido à alta disponibilidade de alimento dissolvido, baixo conteúdo nutricional dos agregados, relações tróficas e/ou adsorção de componentes tóxicos aos agregados. Os ciclos sazonais influenciaram na composição na microbiota local, pois regulam fenômenos como descarga de nutrientes, magnitude das fontes e hidrodinamismo. As bactérias de vida livre e aderidas ao MPS parecem constituir populações diferenciadas, já que são governadas de modo diferenciado (em alguns casos inversamente) pela oscilação nos níveis de determinadas variáveis ambientais. A comunidade microbiana parece estar estruturada através de uma relação íntima com os padrões de oscilação de nutrientes, mais notadamente do fósforo orgânico total e do nitrato. As variáveis microbiológicas da área estudada parecem sofrer uma grande influência das partes internas no Complexo Estuarino de Paranaguá, principalmente com o aporte de matéria orgânica oriunda das mesmas, e de modo mais acentuado durante períodos de marés intensificadas (sizígia).

Palavras-chave: Bactérias. Zona de Máxima Turbidez. Estuários. Baía de Paranaguá.

1 INTRODUÇÃO

As bactérias ocorrem em todos os ambientes marinhos, incluindo zonas abissais e ventos termais, e desempenham um papel importante na dinâmica trófica das teias alimentares aquáticas (BERGER *et al.*, 1996). Apesar da presença destes microorganismos abranger todos os sistemas oceânicos globais, sua importância é maior em regiões costeiras, devido tanto à entrada de matéria orgânica e nutrientes (RHEINHEIMER, 1987), quanto à influência antrópica atuante nestas regiões, que altera as características ambientais, e conseqüentemente a comunidade microbiana. Esta influência pode agir de forma direta ou indireta, quantitativa ou qualitativamente. Nos ambientes marinhos, tanto costeiros como oceânicos, as bactérias podem ser encontradas livres ou aderidas a partículas (orgânicas ou inorgânicas), e seu número é mais elevado na zona eufótica da coluna d'água, assim como na região localizada imediatamente acima do sedimento (KOLM *et al.*, 2002). As bactérias constituem uma importante parte da biomassa planctônica e suas atividades têm um pronunciado impacto na função e metabolismo dos ecossistemas, através de seus papéis nos ciclos biogeoquímicos, principalmente na ciclagem do carbono, enxofre, nitrogênio e ferro (BACELAR-NICOLAU *et al.*, 2003). Apesar de muitos estudos visarem a elucidação do papel desempenhado pelas bactérias em ambientes costeiros, a influência dos microorganismos aderidos a partículas em suspensão, nos ambientes estuarinos, ainda não é bem compreendida (CRUMP; BAROSS, 1996). A abundância relativa entre bactérias de vida livre e aquelas aderidas ao material particulado em ambientes aquáticos ainda é um assunto controverso (BELL; ALBRIGHT, 1981; ZIMMERMANN-TIMM; HOLST; MUELLER, 1998), com informações escassas (ZIMMERMANN, 1997). Ainda assim, é de conhecimento geral que as bactérias aderidas a partículas e as de vida livre devem ser consideradas populações separadas, pois fatores ambientais muito diferentes controlam sua contribuição para a degradação de detritos, e conseqüentemente seu papel desempenhado na teia alimentar estuarina e na alça microbiana (CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998).

Estuários são os principais caminhos para o transporte da matéria orgânica de sua origem, no continente, até as zonas costeiras (SERVAIS; GAMIER, 2006).

Os sistemas estuarinos apresentam grande variabilidade de variáveis ambientais, tais como salinidade, pH, turbidez, temperatura, matéria orgânica particulada e dissolvida, entre outros. O encontro das águas continentais com as oceânicas, em associação com fenômenos físicos, químicos, geológicos e biológicos, torna a porção estuarina uma importante interface para reações biológicas (ZIMMERMANN, 1997), e faz com que a dinâmica destes ambientes não seja facilmente previsível (BACELAR-NICOLAU *et al.*, 2003). Os sistemas estuarinos são importantes armadilhas para materiais oriundos tanto de sistemas terrestres quanto marinhos, que podem vir a apresentar diferenciadas fontes, como plantas superiores terrestres, fitoplâncton e zooplâncton marinho, bentos, macroalgas, etc. (HOPKINSON, 1985). A entrada da matéria orgânica nos sistemas estuarinos está intrinsicamente ligada, desse modo, ao ciclo de vida dos vegetais, padrões de produção, vias de transporte e condições ambientais (DAÍ; SUN, 2006). O fluxo de matéria orgânica e de material particulado em suspensão pelos estuários promove uma ligação energética entre comunidades à montante e à jusante do fluxo estuarino, assim como entre os ambientes bênticos e pelágicos do mesmo (PLOUG; ZIMMERMANN-TIMM; SCHWEITZER, 2002).

Muito da matéria orgânica e inorgânica em suspensão nos sistemas aquáticos existe na forma de agregados, que podem medir desde algumas poucas micra a muitos centímetros de diâmetro (ZIMMERMANN-TIMM; HOLST; MUELLER, 1998). É fato conhecido que, através dos agregados, a exportação do carbono orgânico particulado nos oceanos é um mecanismo importante no ciclo global do carbono, e que as bactérias marinhas presentes nos agregados exercem grande influência neste processo (AZAM, 1998; HYUN *et al.*, 1999), já que o processo microbiano parece ser o principal mecanismo de degradação da matéria orgânica nestes ambientes (DAÍ; SUN, 2006).

Segundo Zimmermann-Timm, Holst e Mueller (1998), um agregado é, em geral, uma microestrutura frágil e amorfa, podendo existir em diferentes formas e tamanhos. Agregados são ubíquos nos ambientes aquáticos, incluindo oceanos, lagos, rios e estuários. Os agregados são formados de matéria orgânica e inorgânica em suspensão na coluna d'água, e produzidos pela interação de processos físicos e biológicos. São muitas vezes ricos em nutrientes, o que estimula sua colonização por comunidades detritívoras de bactérias, protozoários e metazoários (WÖRNER;

ZIMMERMAN-TIMM; KAUSCH, 2000). Em muitos estudos em corpos d'água marinhos pode ser observado que, a partir da comparação com a água circundante, os agregados têm maior concentração de nutrientes e elevada atividade microbiana (PATCHINEELAM, *com.pess*). Por fornecer um substrato para os organismos, os agregados podem influenciar no 'turnover' heterotrófico do material orgânico (ZIMMERMANN, 1997), fornecendo um micro-ambiente enriquecido onde a respiração microbiana leva a uma rápida reciclagem do carbono orgânico particulado. Desse modo, as bactérias heterotróficas presentes nas partículas marinhas, tais como os agregados, são responsáveis por uma importante via de reciclagem de nutrientes e materiais orgânicos e inorgânicos. Segundo Goosen *et al.* (1999), a Zona de Máxima Turbidez tem um impacto pronunciado na estrutura e no funcionamento da comunidade microbiana, levando a uma crescente importância dos processos heterotróficos e a uma crescente degradação de materiais orgânicos.

A Zona de Máxima Turbidez (ZMT) de um estuário é uma zona de intensos processos geoquímicos, e o papel desempenhado pela esfera biológica nestes sistemas ainda não é bem compreendido (GOOSEN *et al.*, 1999). A ZMT, dentro de um estuário, é caracterizada por uma alta concentração de materiais particulados em suspensão, que vêm a fornecer informações sobre interações físico-químicas e ciclos biogeoquímicos que atuam neste ambiente (PATCHINEELAM, *com.pess*). Esta alta concentração tem origem nos processos de circulação, que funcionam como armadilhas nesta região, onde a floculação e a coagulação durante a mistura de água doce e água salgada resultam numa rápida deposição de materiais no sedimento (DAÍ; SUN, 2006). Os agregados da Zona de Máxima Turbidez são formados pelo agrupamento de materiais orgânicos e inorgânicos, unidos por um muco constituído principalmente de carboidratos extracelulares. A formação destas partículas, embora ainda não totalmente conhecida, depende da chance de colisão, que é uma função da concentração e da aderência, que é por sua vez uma função da cobertura orgânica das partículas, influenciada por processos microbianos como excreção de compostos orgânicos e quebra de células (GOOSEN *et al.*, 1999).

A estrutura da comunidade microbiana presente em um estuário, e mais especificamente na Zona de Máxima Turbidez, em um dado momento, é consequência da atuação conjunta de vários fatores ambientais, afetando assim também o papel ecológico desta comunidade (HYUN *et al.*, 1999). Entre os muitos

mecanismos que participam ativamente da variação da comunidade microbiana em um estuário estão as mudanças de condições hidrodinâmicas que regem os padrões de circulação de água, tanto de origem continental quanto marinha, dentro do mesmo. Os padrões oscilatórios oriundos da maré e suas variantes expõem o ambiente, e assim sendo também as comunidades ali presentes, à variações dramáticas de salinidade e no regime de nutrientes (HYUN *et al.*, 1999). A quantidade de material particulado em suspensão (MPS) também pode vir a ser um fator estruturador da comunidade microbiana, podendo variar tanto sazonalmente quanto em curtos espaços de tempo, como minutos e horas (HUANG; KREEGER; NEWELL, 2003). As correntes diárias de maré, assim como ondas induzidas por ventos episódicos, parecem ter grande influência nas variações de curto prazo, assim como na concentração e característica do MPS em estuários de pouca profundidade, pois exercem atrito com o fundo causando ressuspensão do sedimento (HUANG; KREEGER; NEWELL, 2003).

Uma melhor compreensão da teia alimentar nos estuários, e do papel do bacterioplâncton na mesma, é um desafio contínuo, assim como uma questão crítica para a obtenção de estimativas do fluxo de carbono para os sistemas oceânicos (MURRELL *et al.*, 1999). O estudo das variações temporais da comunidade microbiana e dos fatores ambientais determinantes da estrutura destas populações torna-se de grande valia pois possibilita uma melhor compreensão da ciclagem biogeoquímica dos elementos, fornecendo assim subsídios a um manejo mais eficiente dos ecossistemas costeiros (HYUN *et al.*, 1999).

2 OBJETIVOS

Foram objetivos da presente pesquisa:

- 1) Analisar quantitativamente as bactérias heterotróficas totais, biomassa bacteriana, coliformes totais e *Escherichia coli*, abrangendo tanto organismos de vida livre quanto aqueles aderidos a partículas (agregados), na Zona de Máxima Turbidez da Baía de Paranaguá.
- 2) Inter-relacionar estes dados com variáveis físico-químicas obtidas concomitantemente (fornecidas pelos demais laboratórios envolvidos no projeto).
- 3) Avaliar a estrutura da comunidade microbiana na Zona de Máxima Turbidez da Baía de Paranaguá em associação aos fatores estruturadores da mesma, identificando padrões ambientais e subsidiando assim uma melhor compreensão da alça microbiana nesta região.

3 ÁREA ESTUDADA

O Complexo Estuarino de Paranaguá ($25^{\circ}16'34''\text{S}$; $48^{\circ}17'42''\text{W}$) compreende o maior estuário do estado do Paraná, e se estende por aproximadamente 50 km para o interior do continente.

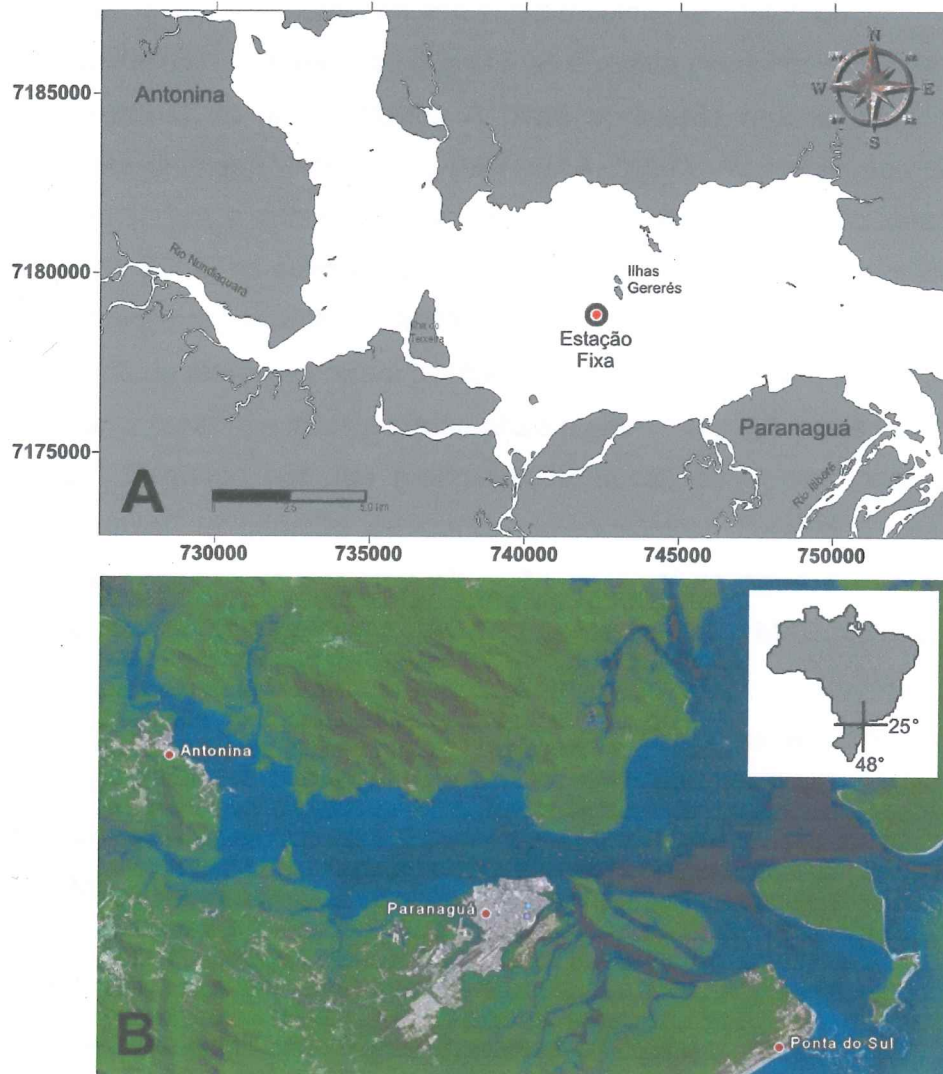


FIGURA 1 - A) MAPA DO COMPLEXO ESTUARINO DE PARANAGUÁ, COM LOCALIZAÇÃO DA ESTAÇÃO DE COLETA; B) IMAGEM DAS ÁREAS URBANAS ADJACENTES.

É dividido em dois eixos principais, localizando-se um na direção E-W, onde estão situadas as baías de Paranaguá e Antonina, e outro na direção NNE-SSW, onde estão localizadas as baías das Laranjeiras, Guaraqueçaba e Pinheiros

(FIGURA 1). Sua área superficial corresponde a 601 km^2 , e seu volume a 2.10^9 m^3 (KNOPPERS; BRANDINI; THAMM, 1987), sendo caracterizado como um estuário de planície costeira (MANTOVANELLI, 1999). O CEP recebe cerca de 70% da drenagem da Bacia Hidrográfica Atlântica, com área de 2.188 km^2 e descarga de água doce de $178 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ no período chuvoso (verão) e de $47 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$ no período seco (inverno) (MANTOVANELLI, 1999). Segundo Mantovanelli (1999), a Baía de Paranaguá é classificada como um estuário parcialmente misturado.

A circulação das águas nas duas baías é regida pelas correntes de maré com influência sazonal do aporte fluvial. A maré apresenta regime semidiurno, com desigualdades diurnas (MARONE; JAMIYANAA, 1997). As amplitudes médias são de 1,7 m na sizígia e 1,3 m na quadratura na região da desembocadura (Ilha da Galheta) e de 2,7 m na sizígia e 2 m na quadratura na porção inferior do estuário, próxima a Antonina (MARONE; JAMIYANAA, 1997). Segundo Marone e Jamiyanaa (1997), a onda de maré percorre a distância entre a Ilha da Galheta e Antonina entre 1,3 a 1,5 horas durante a maré de quadratura e entre 1,0 a 1,1 horas durante a maré de sizígia. Segundo estudos realizados no local, os ventos apresentam um importante papel na geração de marés meteorológicas durante a passagem de frentes frias, podendo causar uma elevação no nível da água dentro da Baía de Paranaguá de até 0,80 m (CAMARGO; HARARI, 1994; MARONE; CAMARGO, 1994).

Estudos anteriores identificaram a presença de uma Zona de Máxima Turbidez na região entre a Ilha do Teixeira e o Porto de Paranaguá, tendo sua posição modificada em função do ciclo de maré semidiurna, característico deste estuário (MANTOVANELLI, 1999; NOERNBERG, 2001; MANTOVANELLI *et al.*, 2004). As concentrações do material particulado em suspensão variam entre 80 e 250 mg L^{-1} , e sua dinâmica relaciona-se intimamente com os processos cíclicos de erosão, ressuspensão e sedimentação condicionados pelas correntes de maré (MANTOVANELLI, 1999) e descarga de sedimentos através do fluxo dos rios (NOERNBERG, 2001).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 COLETAS

Em épocas e períodos distintos do ano (verão, inverno, maré de sizígia e de quadratura) foram coletadas, de duas em duas horas, com um total de doze horas (ciclo de maré), águas de superfície e de fundo em um ponto fixo estabelecido por estudos anteriores como o mais provável da localização da Zona de Máxima Turbidez (FIGURA 1). Nas coletas de verão (8 e 16 de dezembro de 2005, quadratura e sizígia, respectivamente) as amostragens foram entre as 7 horas e as 17 horas. Nas de inverno (2 e 8 de agosto, quadratura e sizígia, respectivamente), as amostragens foram entre as 20 horas as 06 horas da manhã seguinte.

As amostras de água para a contagem de bactérias heterotróficas totais foram fixadas "*in loco*" até uma concentração final de 5% de formaldeído p.A. Para a contagem de coliformes totais e *E. coli* de vida livre, as amostras de água foram acondicionadas, no campo, em Erlenmeyers de 250 mL autoclavados. As demais amostras foram acondicionadas em frascos de água mineral de 5 litros, previamente lavados com água destilada e trazidos ao laboratório no gelo.

4.2 SEPARAÇÃO DE BACTÉRIAS ADERIDAS

A separação de bactérias aderidas foi realizada segundo metodologia desenvolvida na presente pesquisa. O material particulado em suspensão foi separado utilizando-se alíquotas variáveis de água (filtradas até a capacidade de percolação do filtro estar esgotada). Para a retenção do material particulado foram utilizados filtros GF-C da marca Schleicher & Schüell. Com o intuito de fragmentar os filtros e ressuspender o material particulado (agregados), estes foram inseridos em Erlenmeyers de 250 mL contendo 150 mL de água destilada autoclavada e agitados por cinco minutos a 17.000 rpm em um ultra-agitador Quimis. O líquido resultante foi

filtrado através de uma malha de 30 μm para a retirada dos pedaços de filtro remanescentes. Vinte mililitros do líquido foram separados e formalizados com formaldeído p.A. até uma concentração final de 5% para análise das bactérias heterotróficas totais e biomassa bacteriana, realizada através da microscopia de epifluorescência. Cem mililitros foram utilizados para a análise de coliformes totais e *E. coli*, sendo o restante descartado.

A partir desta etapa as análises realizadas para a quantificação de bactérias heterotróficas, biomassa bacteriana, coliformes totais e *E. coli* foram similares tanto para bactérias aderidas ao material particulado em suspensão quanto para aquelas que possuem vida livre na água.

4.3 QUANTIFICAÇÃO DE HETEROTRÓFICAS TOTAIS E BIOMASSA BACTERIANA

De cada amostra da água do mar, assim como da água em que foram diluídos os agregados, foram diluídos 0,5 mL em 1,5 mL de água destilada, e filtrados através de filtros de membrana NUCLEOPORE (0,22 μm de poro) previamente escurecidos. A contagem de bactérias foi realizada por microscopia de epifluorescência (Microscópio NIKON, modelo Labophot), utilizando-se o fluorocromo laranja de acridina, seguindo-se a metodologia descrita por Parsons, Maita e Lalli (1984). A quantificação da biomassa bacteriana foi efetuada através do cálculo do biovolume das bactérias a partir de figuras geométricas aproximadas, e o fator de conversão utilizado foi de 0.4 $\text{pgC} \cdot \mu\text{m}^{-3}$ (BJØRNSSEN; KUPARINEN, 1991).

4.4 QUANTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TOTAIS E *Escherichia coli*

Para a quantificação de coliformes totais e *Escherichia coli*, as amostras de água foram levadas ao laboratório e diluídas com quantidades variadas (entre 50 e

90 mL) de água destilada. Para a análise utilizou-se um substrato cromogênico composto basicamente por sais, ortho-nitrofenil- β -d-galactopyranosídeo (ONPG), específico para o grupo de coliformes totais e 4-metil-umberifenil glucoronídeo (MUG) específico para *Escherichia coli*, conforme descritos no "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater" (EATON; GREENBERG, 1995). Os produtos utilizados foram Colilert, de acordo com a metodologia sugerida pela empresa Idexx Laboratories, Inc. As amostras, após sua inserção em cartelas com meio de cultura, foram seladas e submetidas à incubação por 18 a 24 horas a 36^oC. A contagem das *E. coli* foi realizada sob luz ultravioleta (365nm) e os coliformes totais sob iluminação natural. Para obtenção do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *Escherichia coli* em 100 mL de água foi utilizada uma tabela fornecida pela própria empresa. A partir do resultado obtido nesta etapa, o cálculo para quantificação dos parâmetros microbianos aderidos foi realizado como explicitado a seguir.

Considerando-se que a tabela do Número Mais Provável indicasse a presença de 770,1 coliformes totais por 100mL da água onde foram fragmentados os filtros, foi realizada uma regra de três simples para estimação do conteúdo microbiano em 150 mL (volume total de água destilada onde foram inseridos os filtros). O valor então obtido (no exemplo, 1155,15 NMP.100 mL⁻¹) é correspondente, deste modo, à quantidade de bactérias no volume de água do mar filtrada (no exemplo, 1240 mL), até o momento em que a capacidade de percolação do filtro se esgotou. Assim sendo, uma nova regra de três simples foi utilizada para obtenção do valor real de bactérias presentes em 100 mL de água do mar, no caso, 93,16 NMP.100 mL⁻¹.

4.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Todas as variáveis foram normalizadas através da transformação logarítmica. Com o objetivo de minimizar a visão fragmentada fornecida pelas análises bivariadas, utilizadas em muitos estudos que procuram reconhecer os fatores-chave da dinâmica das comunidades do bacterioplâncton (BACELAR-NICOLAU *et al.*,

2003), optou-se pela utilização concomitante de métodos estatísticos distintos. A Análise de Componentes Principais (PCA, sigla em inglês) (Statistica 6.0), foi utilizada para a identificação das maiores fontes de variabilidade nas comunidades bacterianas, em termos de variáveis ambientais. As variáveis ambientais pluviosidade (utilizados como a somatória das precipitações dos sete dias anteriores à coleta), maré, clorofila *a*, oxigênio dissolvido, silicato, amônio, salinidade, fósforo orgânico total, nitrogênio orgânico total, seston, potencial hidrogeniônico, fosfato, razão N:P (para bactérias de vida livre) em adição aos parâmetros fósforo orgânico, nitrogênio orgânico e carbono orgânico particulado (para bactérias aderidas) foram utilizados como descritores, ao passo que bactérias heterotróficas totais, biomassa bacteriana, coliformes totais e *E. coli* foram inseridas como variáveis suplementares. Do mesmo modo, a Análise de Regressão Múltipla (Statistica 6.0) foi utilizada para a obtenção de correlações entre as bactérias heterotróficas totais, a biomassa bacteriana e as demais variáveis, com intuito de refinamento das relações em estudo. As variáveis coliformes totais e *E. coli* não foram inseridas nas análises de regressão múltipla pelo fato de estarem inseridas dentro do grande grupo das heterotróficas totais. Os dados foram submetidos às análises em seus respectivos compartimentos (organismos de vida livre e aderidos ao MPS), para a Análise de Regressão Múltipla, e subdivididos também em superfície e fundo para o PCA.

As variáveis ambientais foram cedidas gentilmente pelo Laboratório de Biogeoquímica Marinha e pelo Laboratório de Física Marinha do Centro de Estudos do Mar, assim como pela SUDHERSA e INMET (dados de pluviosidade, considerados como o acumulado dos sete dias anteriores à coleta).

5 RESULTADOS

5.1 BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS

5.1.1 Maré de quadratura (verão)

O máximo ($537,19 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$) de bactérias heterotróficas totais de vida livre foi registrado na coleta das 13 horas (baixa-mar), e o mínimo ($36,27 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$) às 15 horas (enchente), ambas em águas de fundo. A densidade em águas superficiais oscilou entre $151,91 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (11 horas, vazante) e $303,11 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (7 horas, enchente). Embora os valores de heterotróficas nas amostras de fundo tenham mostrado uma variação mais proeminente ao longo dos horários, os valores das amostras de superfície superaram os de fundo em quatro dos seis horários amostrados (FIGURA 2A1).

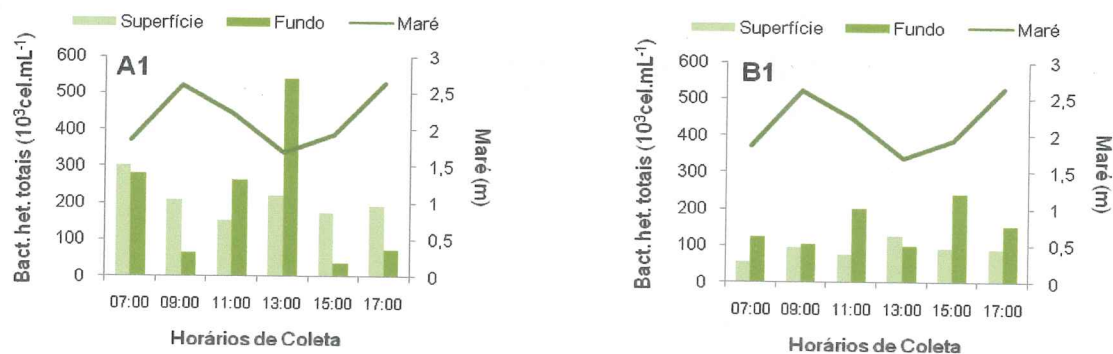


FIGURA 2 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1) EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE FUNDO NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO).

A figura 2B1 mostra que as bactérias heterotróficas aderidas aos agregados em águas de fundo foram mais elevadas em cinco dos seis horários de coleta. Estas variaram entre $98,68 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (13 horas, baixa-mar) e $241,54 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (15 horas, enchente). Os valores de superfície oscilaram entre um mínimo de $57,01$

10^3cel.mL^{-1} (7 horas, enchente) e um máximo de $126,72 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (13 horas, baixa-mar).

É importante ressaltar ainda que em águas superficiais a densidade de bactérias de vida livre sempre foi maior que a de bactérias aderidas a partículas. Ao contrário, em águas de profundidade foram observados valores mais elevados de bactérias aderidas a partículas que livres em três horários (9, 15 e 17 horas), correspondentes à primeira preamar, maré enchente e segunda preamar, respectivamente.

5.1.2 Maré de sizígia (verão)

Nas figuras abaixo estão representados os valores de bactérias heterotróficas totais de vida livre (FIGURA 3A2) e aderidas (FIGURA 3B2), obtidos durante a maré de sizígia de verão. Consistentemente foram registradas quantidades maiores de bactérias livres na água que aderidas ao MPS.

As densidades das bactérias de vida livre de águas superficiais superaram as de fundo em cinco dos seis horários amostrados. Seu maior valor ($1711,61 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$, 9 horas) foi observado durante a baixa-mar e o menor ($675,63 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$, 7 horas), durante a vazante. Os valores de bactérias em águas de fundo oscilaram entre $73,23 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (11 horas, enchente), e $1400,75 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (17 horas, preamar) (FIGURA 3A2).

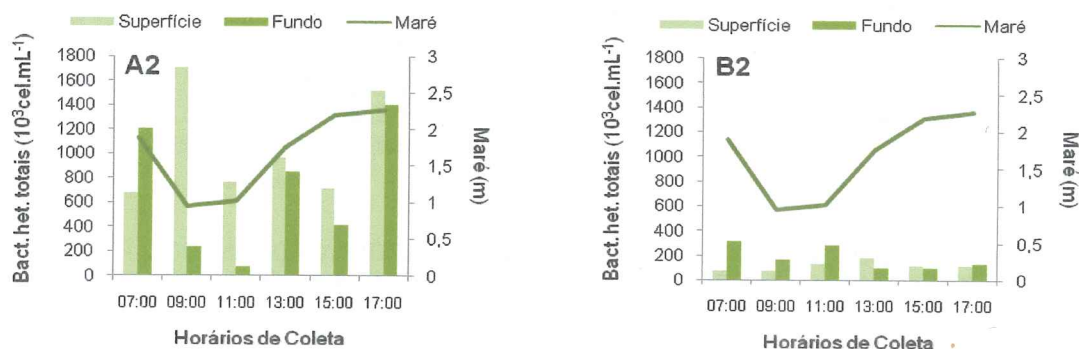


FIGURA 3 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2) EM ÁGUAS SUPERFICIAIS E DE FUNDO NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)

Em águas superficiais, as quantidades de bactérias heterotróficas totais aderidas ao MPS (FIGURA 3B2) variaram entre $75,48 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (7 horas, vazante) e $185,98 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (13 horas, enchente). Os valores das mesmas obtidos nas amostras de fundo mostraram oscilações com um máximo de $313,77 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (7 horas, vazante), e um mínimo de $98,47 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (13 horas, enchente). Foram observados valores de fundo maiores que os de superfície em quatro dos seis horários amostrados, assim como uma maior oscilação da densidade bacteriana nas amostras de profundidade.

5.1.3 Maré de quadratura (inverno)

A figura abaixo (4A3) mostra que as densidades de bactérias heterotróficas totais de vida livre em águas de fundo superaram as superficiais em quatro dos seis horários amostrados. Entretanto, seu menor valor ($567,80 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$, 20 horas) foi registrado durante a enchente, e o maior ($2546,73 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$, 0 hora) durante a vazante, ambos em águas superficiais.

Em águas de profundidade foi registrado máximo de $1.742,82 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (6 horas) e mínimo de $805,77 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (20 horas), ambos na enchente.

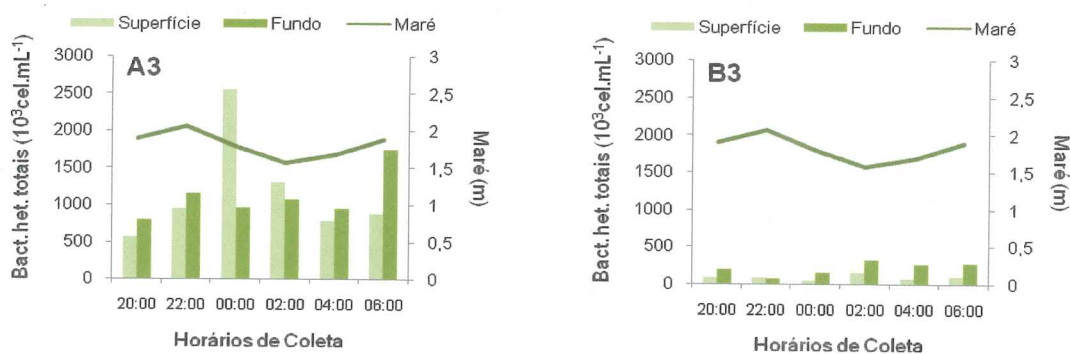


FIGURA 4 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)

A figura 4B3 demonstra que os valores de bactérias aderidas à partículas são claramente mais baixos do que aqueles obtidos para heterotróficas de vida livre. Pode-se observar, nesta figura, que a quantidade de bactérias aderidas ao MPS em águas de profundidade foi mais elevada em cinco dos seis horários amostrados. Estes valores oscilaram entre $69,76 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (22 horas, preamar), e $317,09 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (2 horas, baixa-mar). Suas densidades presentes no MPS de águas superficiais variaram entre $39,96 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (0 hora, vazante) e $157,16 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (2 horas, baixa-mar).

5.1.4 Maré de sizígia (inverno)

No quarto período amostrado (maré de sizígia de inverno), a quantidade de bactérias de vida livre e aderidas à partículas foi muito semelhante em águas de profundidade. Ao contrário, em águas superficiais a densidade de microrganismos de vida livre foi superior à densidade dos mesmos aderidos ao MPS, em todos os horários amostrados. Além disto, a figura 5A4 mostra que o número de bactérias nas águas superficiais, com um máximo de $2052,05 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (6 horas, vazante), e um mínimo de $543,27 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (2 horas, enchente), foi mais elevado que nas amostras de fundo. Nesta profundidade foi registrado máximo de $858,32 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (22 horas, baixa-mar), e mínimo de $374,62 \cdot 10^3 \text{cel.mL}^{-1}$ (2 horas, enchente).

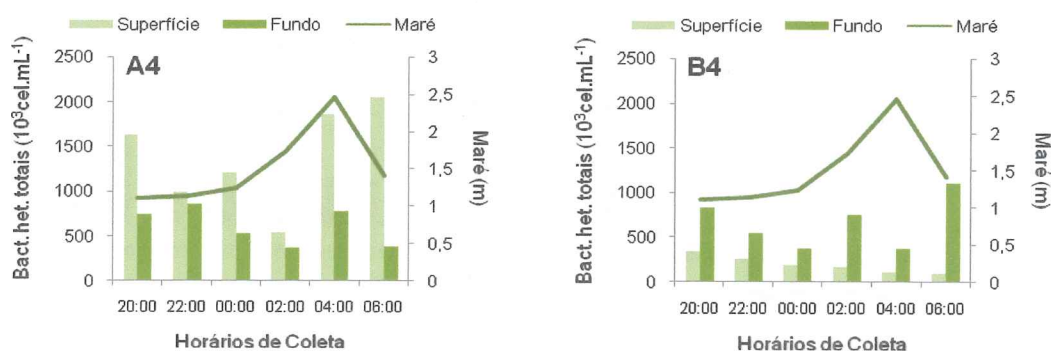


FIGURA 5 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDAS AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)

Durante todo o período amostral o número de bactérias heterotróficas aderidas (FIGURA 5B4) foi mais elevado em águas de fundo do que nas amostras superficiais. No MPS de águas superficiais os valores máximos e mínimos de heterotróficas foram de $337,38 \text{ } 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$ (20 horas, baixa-mar), e $106,61 \text{ } 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$ (6 horas, vazante). Nas amostras de fundo o número de bactérias aderidas variou entre $1105,51 \text{ } 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$ (6 horas, vazante) e $373,21 \text{ } 10^3 \text{ cel.mL}^{-1}$ (4 horas, preamar).

5.2 BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE E ADERIDA AO MPS

5.2.1. Maré de quadratura (verão)

Ao longo do período estudado puderam ser observadas flutuações maiores da biomassa bacteriana de vida livre (FIGURA 6A1) em águas de profundidade. O máximo ($41,42 \text{ } \mu\text{gC.L}^{-1}$) ocorreu às 13 horas (baixa-mar) e o mínimo ($0,93 \text{ } \mu\text{gC.L}^{-1}$) às 17 horas (maré enchente), ambas nas amostras de fundo. Em águas superficiais o valor máximo foi de $22,90 \text{ } \mu\text{gC.L}^{-1}$ (7 horas) e o mínimo de $4,84 \text{ } \mu\text{gC.L}^{-1}$ (15 horas), ambos na enchente.

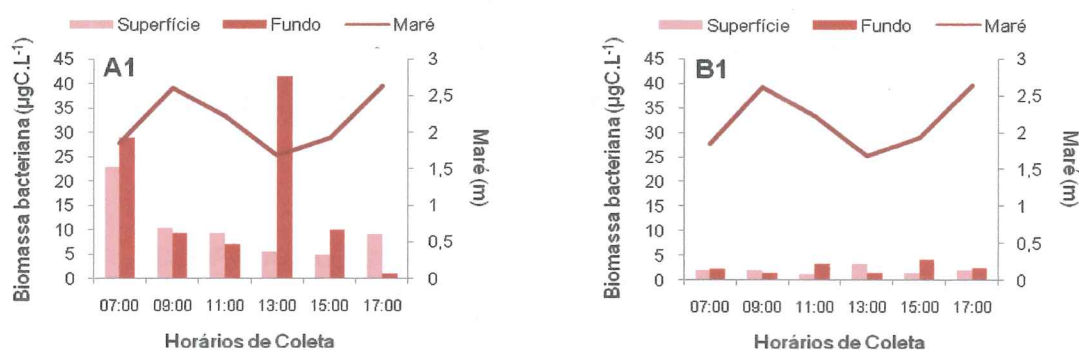


FIGURA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), DURANTE A MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)

A figura 6B1 mostrou oscilações de biomassa bastante similares entre as amostras superficiais e de fundo durante todo o ciclo de maré. Os valores obtidos em águas de profundidade oscilaram entre 1,30 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (9 horas, preamar) e 4,16 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (15 horas, enchente). Os dados de superfície apresentaram um mínimo de 1,24 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (11 horas, vazante) e um máximo de 3,35 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (13 horas, baixa-mar).

5.2.2 Maré de sizígia (verão)

A figura 7A2 mostra que, com exceção da coleta das 7 horas, os valores de biomassa bacteriana de vida livre foram mais elevados em águas superficiais do que em profundidade. Em águas superficiais foi registrado o mínimo (15,55 $\mu\text{gC.L}^{-1}$) às 7 horas (vazante) e o máximo (27,18 $\mu\text{gC.L}^{-1}$) foi às 17 horas (preamar), nas amostras de fundo. Às 9 horas (baixa-mar) foi encontrado o valor máximo de biomassa (34,34 $\mu\text{gC.L}^{-1}$) em águas superficiais, e o mínimo (5,62 $\mu\text{gC.L}^{-1}$) em águas de profundidade.

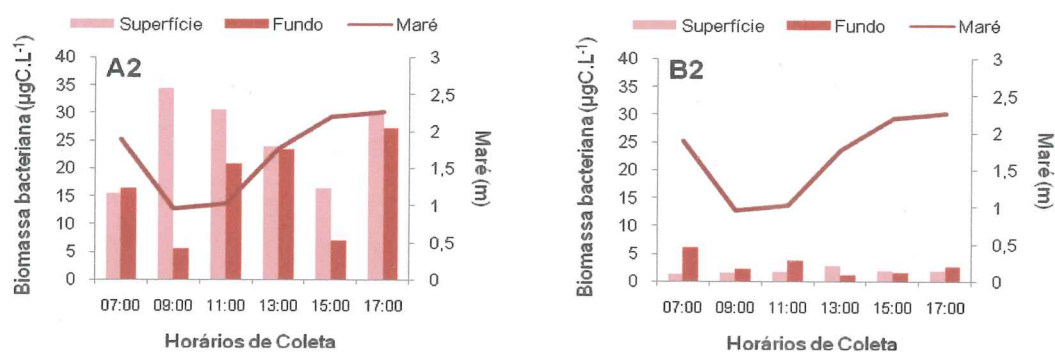


FIGURA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), DURANTE A MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)

A figura 7B2 mostra que houve, durante o período estudado, maior variabilidade da biomassa bacteriana aderida ao MPS em águas de profundidade do que nas amostras superficiais. Enquanto em águas de fundo seus valores oscilaram entre 6,11 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (7 horas, vazante) e 1,16 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (13 horas, enchente), em águas

superficiais foram registrados valores entre 2,78 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (13 horas, enchente), e 1,35 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (7 horas, vazante).

Convém ressaltar que, como pode ser observado nas figuras 7A2 e 7B2, os valores de biomassa bacteriana em águas de superfície e de fundo apresentam seus máximos e mínimos em níveis de maré opostos.

5.2.3 Maré de quadratura (inverno)

Durante a maré de quadratura de inverno não foram observadas flutuações acentuadas da biomassa bacteriana de vida livre, tanto em águas superficiais quanto de fundo, ao longo da maioria dos horários (FIGURA 8A3). Exceção foi observada na amostra de água superficial coletada à 0 hora (vazante), em que a biomassa bacteriana foi de 49,81 $\mu\text{gC.L}^{-1}$. O mínimo de 10,30 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ foi registrado na amostra de água superficial durante a enchente (6 horas).

Assim como no período amostral anterior, os máximos e os mínimos dos diferentes parâmetros foram obtidos em níveis de maré opostos.

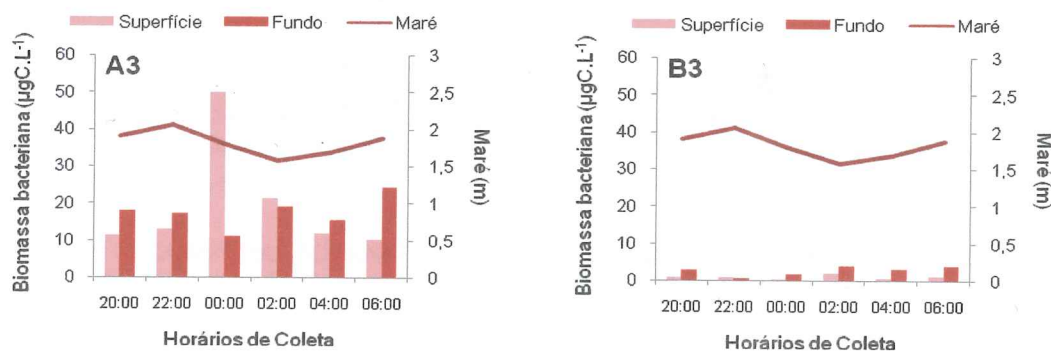


FIGURA 8 - COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), DURANTE A MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)

Os valores de biomassa bacteriana aderida ao MPS em águas de fundo (FIGURA 8B3) apresentaram uma maior oscilação ao longo dos horários do que os mesmos nas amostras superficiais. A biomassa bacteriana aderida aos agregados presente nas amostras de fundo variou entre 0,59 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (22 horas, preamar), e

4,08 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (2 horas, baixa-mar). Os valores de biomassa aderida ao MPS de superfície variou entre 0,44 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (0 hora, vazante), e 1,89 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (2 horas, baixa-mar).

5.2.4 Maré de sizígia (inverno)

Na figura 9A4 pode-se observar que os valores de biomassa bacteriana de vida livre obtidos em águas superficiais sobrepujaram os de fundo em todos os horários ao longo do período amostral. O maior valor encontrado foi o da amostra das 4 horas (27,45 $\mu\text{gC.L}^{-1}$), durante a preamar; o mínimo foi de 6,16 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (2 horas), obtido na maré enchente. Os valores de biomassa bacteriana livre presente nas amostras de fundo apresentaram uma oscilação menos evidente, com valores entre 4 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (2 horas, enchente) e 11,25 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (20 horas, baixa-mar).

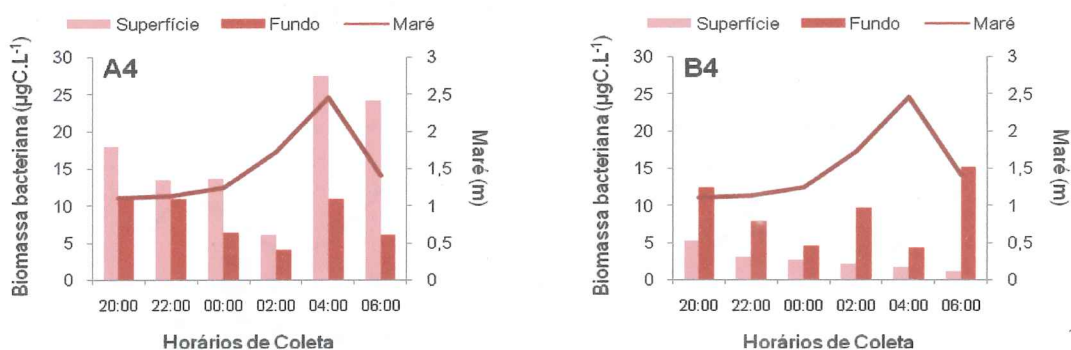


FIGURA 9 - COMPARAÇÃO ENTRE A BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), DURANTE A MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)

Os dados de biomassa bacteriana aderida ao MPS (FIGURA 9B4) apresentaram um comportamento inverso, com os valores de fundo maiores que os de superfície durante todo o período amostral. Os maiores valores de fundo foram encontrados na baixa-mar, às 20 horas e às 6 horas, (12,50 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ e 15,12 $\mu\text{gC.L}^{-1}$, respectivamente), e seu mínimo na preamar (4,28 $\mu\text{gC.L}^{-1}$), às 4 horas. Os valores de superfície oscilaram entre um mínimo de 1,18 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (6 horas), e um máximo de 5,31 $\mu\text{gC.L}^{-1}$ (20 horas).

Embora os dados de fundo não apresentem uma diferença perceptível na comparação entre a biomassa de vida livre e a aderida ao material particulado em suspensão, essa diferença pode ser observada facilmente nos valores de superfície.

5.3 COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE E ADERIDOS AO MPS

5.3.1 Maré de quadratura (verão)

Os valores de coliformes totais de vida livre (FIGURA 10A1) foram mais elevados nas amostras de superfície, em todos os horários. A densidade máxima em águas superficiais foi obtida na vazante (8.231,48 NMP.100mL⁻¹) e a mínima (2.333,84 NMP.100mL⁻¹) na baixa-mar. Os valores de coliformes totais em águas de fundo variaram entre 1.018,85 NMP.100mL⁻¹ (7 horas, enchente), e 5.026,42 NMP.100mL⁻¹ (11 horas, vazante).

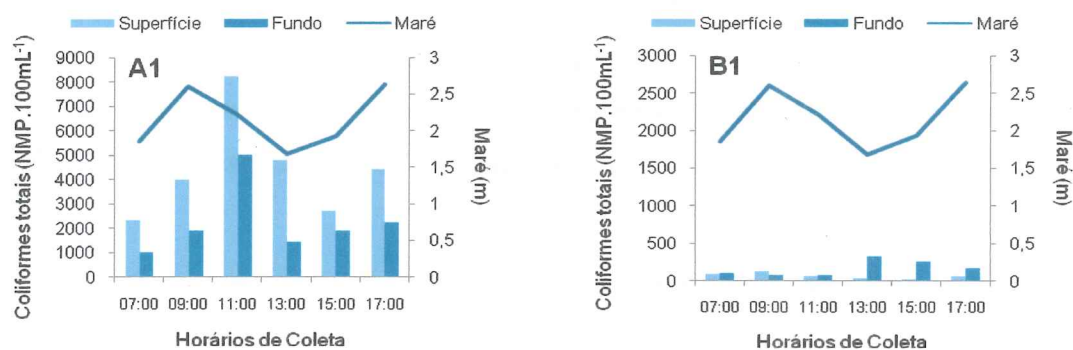


FIGURA 10 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)

A figura 10B1 mostra que somente em um horário (9 horas) o número de coliformes totais aderidos ao MPS foi mais elevado em águas superficiais. Grandes variações entre o número destes organismos ainda puderam ser observadas no período da tarde (13, 15 e 17 horas), com valores mais elevados nas águas de

profundidade. Os valores obtidos de coliformes totais aderidos ao MPS de superfície mostraram oscilações entre 23,14 NMP.100mL⁻¹, durante a enchente (15 horas), e 126,14 NMP.100mL⁻¹, na preamar (9 horas).

A comparação entre as figuras apresentadas acima demonstra que a densidade de coliformes totais de vida livre é claramente maior do que a de coliformes totais aderidos às partículas em suspensão. Pode-se observar ainda que, nas amostras de vida livre, os valores de densidade são maiores na superfície, ao contrário das amostras de coliformes totais aderidos, que mostram densidades maiores nas amostras de fundo.

5.3.2 Maré de sizígia (verão)

A figura 11A2 mostra que, no início da maré enchente (11 horas), os valores de coliformes totais, tanto em águas superficiais (12.094,89 NMP.100mL⁻¹) quanto nas de fundo (11.242,16 NMP.100mL⁻¹), foram consideravelmente mais elevados que nos demais períodos estudados.

Nos demais horários, ao contrário da coleta anterior, a densidade destes microrganismos foi mais elevada nas amostras de fundo. A quantidade mínima de coliformes totais em águas superficiais foi de 883,25 NMP.100mL⁻¹, e de 4.271,56 NMP.100mL⁻¹ nas águas de profundidade, ambas no final da enchente (15 horas).

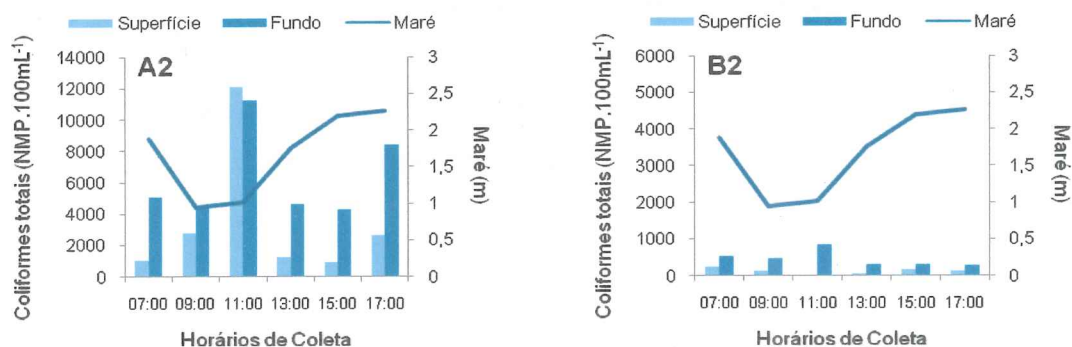


FIGURA 11 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)

Na figura 11B2 pode ser observado que o máximo de coliformes totais aderidos a partículas foi de 853,84 NMP.100mL⁻¹, em águas de profundidade, e o mínimo de 1,11 NMP.100mL⁻¹, em águas superficiais, ambas no início da enchente (11 horas). Comparando-se somente os valores obtidos em águas superficiais, pode-se observar que o número de coliformes totais variou entre 1,11 NMP.100mL⁻¹ (11 horas) e 232,77 NMP.100mL⁻¹, valor este registrado no início da vazante (7 horas). Já em águas de profundidade os valores variaram entre 275,88 NMP.100mL⁻¹, na preamar (17 horas), e 853,84 NMP.100mL⁻¹, no início da enchente (11 horas). Vale ressaltar ainda que nos três últimos horários de coleta os valores de coliformes totais aderidos ao seston em águas de profundidade foram muito semelhantes, e que seu número em águas de profundidade superou o de águas superficiais em todos os horários.

5.3.3 Maré de quadratura (inverno)

Como pode ser observado na figura 12A3, o valor máximo (2.223,73 NMP.100mL⁻¹) de coliformes totais de vida livre foi observado nas amostras de águas superficiais, durante a baixa-mar (2 horas). O menor valor registrado nas amostras de superfície foi de 88,71 NMP.100mL⁻¹, na enchente (4 horas). A amplitude de valores observada para as amostras de fundo foi bem menos pronunciada, com valores oscilando entre 64,38 NMP.100mL⁻¹ (22 horas, preamar), e 357,73 NMP.100mL⁻¹ (2 horas, baixa-mar). Convém ressaltar que consistentemente os valores de coliformes totais das amostras de superfície foram mais elevados que os de fundo em praticamente todos os horários. Exceção foi apenas às 4 horas, durante a maré enchente.

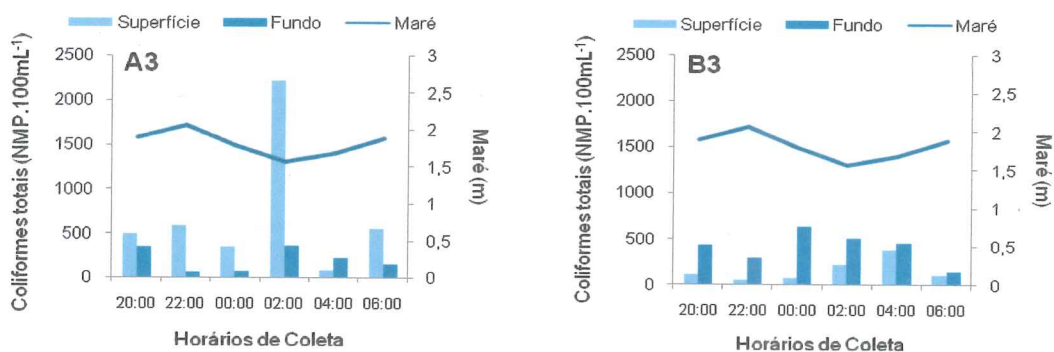


FIGURA 12 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)

Na figura 12B3 pode ser observado que a densidade de coliformes totais aderidos ao seston presente nas amostras de fundo superou a densidade de coliformes de superfície em todos os horários. Não houve variabilidade pronunciada ao longo do período estudado, e a quantidade de microrganismos oscilou entre 143,70 NMP.100mL⁻¹ (6 horas, enchente), e 635,83 NMP.100mL⁻¹ (0 hora, vazante). Em águas superficiais, a menor densidade de coliformes totais (52,54 NMP.100mL⁻¹) foi observada às 22 horas (vazante) e a maior (377,79 NMP.100mL⁻¹) às 4 horas, durante a enchente.

Após a comparação das figuras acima pode-se constatar que, à exceção da amostra de superfície das 2 horas, os valores de coliformes totais de vida livre e aderidos à partículas, assim como suas oscilações, não apresentaram grande diferenciação. A principal característica que se sobressai é a de que entre os coliformes de vida livre prevaleceram densidades maiores nas amostras de superfície, ao contrário dos aderidos, onde o comportamento oposto pode ser observado.

5.3.4 Maré de sizígia (inverno)

Durante a maré sizígia de inverno, o máximo (7.981,95 NMP.100mL⁻¹ às 22 horas, baixa-mar) e o mínimo (175,78 NMP.100mL⁻¹ às 2 horas, enchente) de coliformes totais de vida livre foram encontrados em águas de profundidade. Em

águas superficiais seu número oscilou entre um máximo de 4.245,38 NMP.100mL⁻¹ (0 hora) e um mínimo de 284,65 NMP.100mL⁻¹ (2 horas), ambos os valores obtidos na maré enchente (FIGURA 13A4).

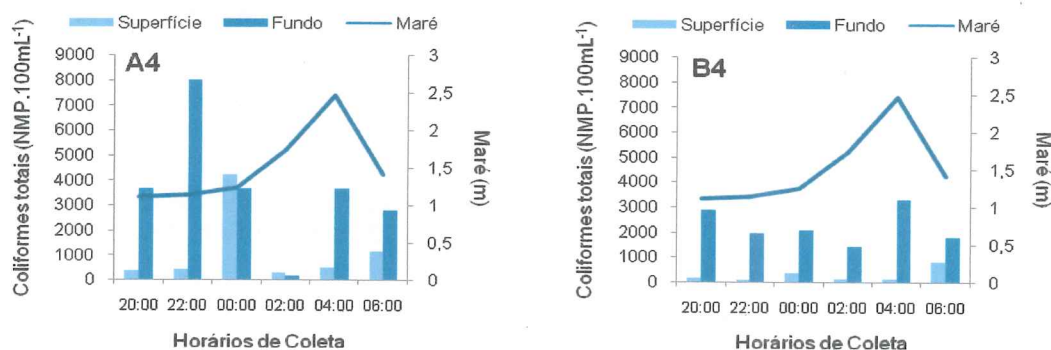


FIGURA 13 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE COLIFORMES TOTAIS DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDA AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)

Os valores mais elevados de coliformes totais aderidos à partículas (FIGURA 13B4) foram obtidos em amostras de profundidade, com máximo de 3.298,91 NMP.100mL⁻¹ (4 horas, preamar), e mínimo de 1408,72 NMP.100mL⁻¹ (2 horas, enchente). Em águas superficiais o número de coliformes totais oscilou entre 815,54 NMP.100mL⁻¹ (6 horas, vazante), e 79,69 NMP.100mL⁻¹ (22 horas, baixa-mar).

5.4 *E. coli* DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS

5.4.1 Maré de quadratura (verão)

Às 7 horas (enchente) foram encontrados, tanto em águas superficiais (227,86 NMP.100mL⁻¹) quanto nas de profundidade (263,80 NMP.100mL⁻¹), os maiores valores de *Escherichia coli* de vida livre. Às 13 horas foram observados, tanto em águas superficiais (8,28 NMP.100mL⁻¹), quanto em águas de profundidade (42,74 NMP.100mL⁻¹), seus menores valores, durante a baixa-mar (FIGURA 14A1).

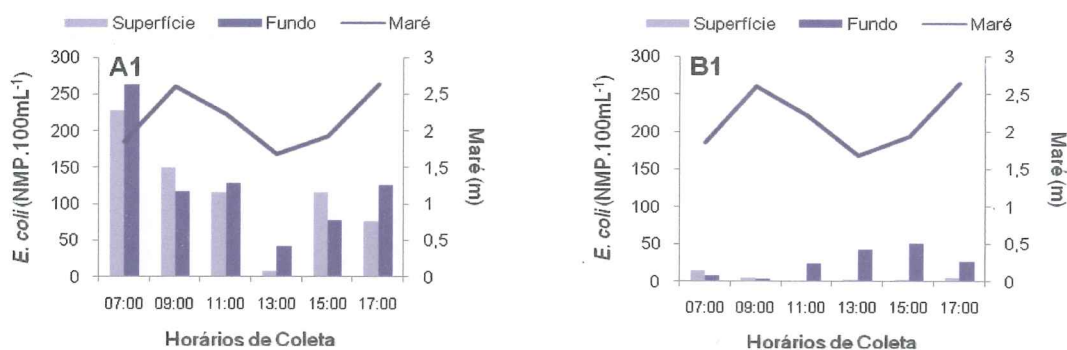


FIGURA 14 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE *E. coli* DE VIDA LIVRE (A1) E ADERIDA AO MPS (B1), NA MARÉ DE QUADRATURA (VERÃO)

A figura 14B1 mostra que, ao longo do período estudado, houve maior variabilidade de *E. coli* aderidas ao MPS em águas de profundidade que em águas superficiais. Enquanto nas amostras de fundo o mínimo de *E. coli* foi de 3,66 NMP.100mL⁻¹ (9 horas, preamar), e o máximo foi de 50,77 NMP.100mL⁻¹ (15 horas, enchente), em águas superficiais seus valores oscilaram entre 0,16 NMP.100mL⁻¹ (11 horas, vazante), e 14,14 NMP.100mL⁻¹ (7 horas, enchente).

Ainda é importante ressaltar que os valores de *E. coli* de vida livre foram mais elevados que os aderidos ao material particulado em suspensão ao longo de todo o período.

5.4.2 Maré de sizígia (verão)

Durante a maré de sizígia de verão foram encontrados valores mais elevados de *E. coli* de vida livre do que na maré de quadratura, principalmente em águas de profundidade. Entretanto, a maior quantidade destes microrganismos (1.202,95 NMP.100mL⁻¹, 11 horas) foi registrada no início de enchente, em águas superficiais. Em águas de profundidade, a densidade máxima registrada foi de 439,26 NMP.100mL⁻¹ (15 horas), no final da enchente. Os mínimos foram de 18,96 NMP.100mL⁻¹ (13 horas, enchente), em águas superficiais, e de 65,46 NMP.100mL⁻¹ (9 horas, baixa-mar), em águas de profundidade (FIGURA 15A2).

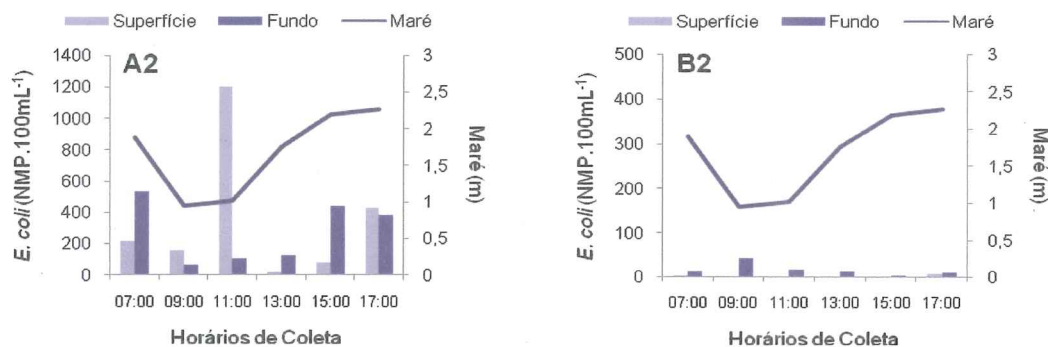


FIGURA 15 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE *E. coli* DE VIDA LIVRE (A2) E ADERIDA AO MPS (B2), NA MARÉ DE SIZÍGIA (VERÃO)

A figura 15B2 mostra que em todos os horários a quantidade de *E. coli* aderida a partículas em suspensão foi mais elevada nas amostras de fundo, com máximo de 42,54 NMP.100mL⁻¹ (9 horas, baixa-mar) e mínimo de 2,75 NMP.100mL⁻¹ (15 horas, final da enchente). Nas amostras superficiais foi encontrado um máximo de 7,63 NMP.100mL⁻¹ (17 horas), durante a preamar. Não puderam ser encontradas *E. coli* no seston coletado às 15 horas (final da enchente).

5.4.3 Maré de quadratura (inverno)

Na maré de quadratura de inverno, os valores de *E. coli* livres na água foram menores que os da maré de quadratura de verão. Em águas superficiais seu número variou entre 159,31 NMP.100mL⁻¹ (2 horas, baixa-mar) e 13,61 NMP.100mL⁻¹ (6 horas, enchente), e nas amostras de fundo entre 99,17 NMP.100mL⁻¹ (22 horas, preamar) e 18,77 NMP.100mL⁻¹ (6 horas, enchente) (FIGURA 16A3).

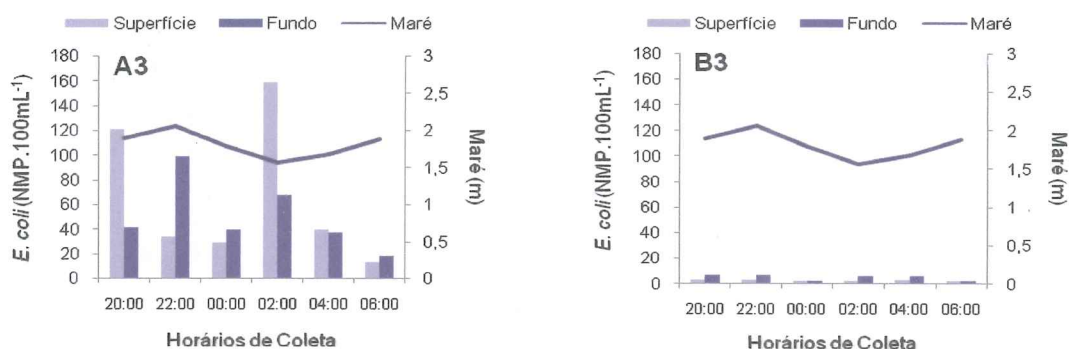


FIGURA 16 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE *E. coli* DE VIDA LIVRE (A3) E ADERIDA AO MPS (B3), NA MARÉ DE QUADRATURA (INVERNO)

Como pode ser observado na figura 16B3, neste período amostral a densidade de *E. coli* aderida a partículas se mostrou menor do que a densidade observada livre na água. O máximo destes microrganismos nas amostras de fundo foi de 6,63 NMP.100mL⁻¹ (20 horas) e o mínimo de 1,73 NMP.100mL⁻¹ (6 horas), ambos na enchente. Em águas superficiais foram detectadas quantidades muito pequenas, com máximo de 2,77 NMP.100mL⁻¹ (22 horas), na preamar, e mínimo de 1,89 NMP.100mL⁻¹ (6 horas), na enchente.

5.4.4 Maré de sizígia (inverno)

A figura 17A4 representa os valores obtidos para *E. coli* de vida livre em águas superficiais e de profundidade, ao longo do ciclo de maré de sizígia de inverno. Os resultados mostram que em águas de profundidade foi observada grande variabilidade, com máximo de 3.244 NMP.100mL⁻¹ (22 horas, baixa-mar) e mínimo de 40,42 NMP.100mL⁻¹ (0 hora, início da enchente). Em águas superficiais a variabilidade não se mostrou tão acentuada, com máximo de 217,84 NMP.100mL⁻¹ (0 hora, enchente) e mínimo de 29,70 NMP.100mL⁻¹ (22 horas, baixa-mar).

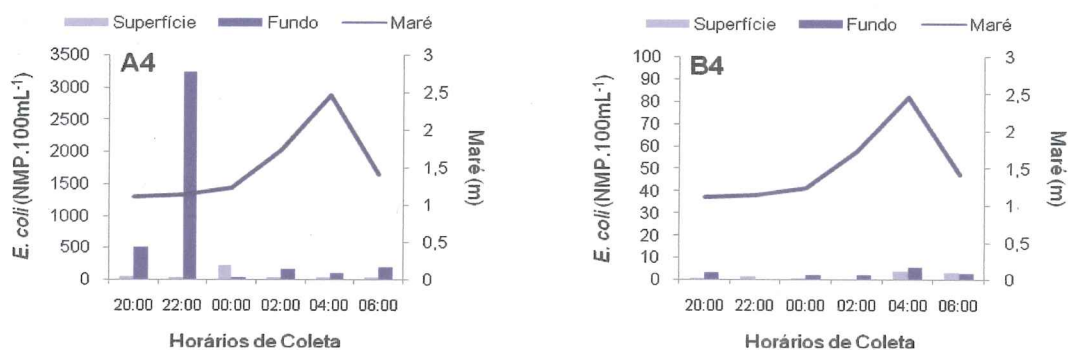


FIGURA 17 - COMPARAÇÃO ENTRE A DENSIDADE DE *E. coli* DE VIDA LIVRE (A4) E ADERIDA AO MPS (B4), NA MARÉ DE SIZÍGIA (INVERNO)

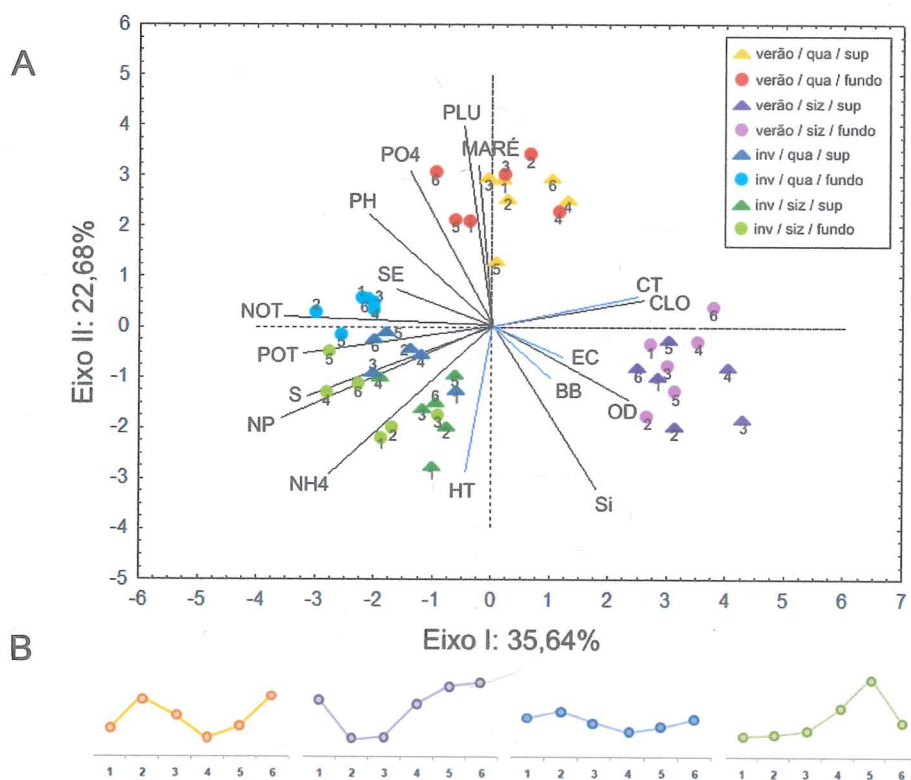
Assim como na maré de quadratura de inverno, os valores de *E. coli* aderidas às partículas, tanto em águas superficiais quanto nas de profundidade, foram muito menores que as de vida livre. Os maiores valores de *E. coli* aderidas, tanto em águas superficiais quanto de fundo (3,83 NMP.100mL⁻¹ e 5,59 NMP.100mL⁻¹ respectivamente), foram obtidos na coleta das 4 horas, durante a preamar. Na amostra proveniente de água superficial coletada às 2 horas e na de fundo coletada às 22 horas não puderam ser encontradas *E. coli* (FIGURA 17B4).

5.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

5.5.1 Bactérias livres na água

Os dois primeiros componentes da Análise dos Componentes Principais explicaram 58,32% da variabilidade total. O primeiro componente explicou 35,64% e mostrou correlação positiva entre o oxigênio dissolvido, clorofila *a*, biomassa bacteriana, coliformes totais e *E. coli*, e negativa entre a salinidade, nitrogênio e fósforo orgânicos totais e razão N:P e, em menor escala com o seston, nas amostras coletadas em todos os horários na maré de sizígia de verão. Ao contrário, os últimos apresentaram correlação positiva com todas as amostras coletadas em águas de fundo de quadratura, as de fundo da maré enchente e da preamar de sizígia

(horários 4, 5 e 6), os horários 2 a 6 (vazante até enchente) de superfície da maré de quadratura e do horário 4 (enchente) da água superficial da maré de sizígia, todas de inverno.



Descritores: pluviosidade (PLU), maré (MARÉ), clorofila a (CLO), oxigênio dissolvido (OD), silicato (Si), amônio (NH₄), salinidade (S), fósforo orgânico total (POT), nitrogênio orgânico total (NOT), seston (SE), potencial hidrogeniônico (PH), fosfato (PO₄), razão N:P (NP). Variáveis suplementares (em azul): bactérias heterotróficas totais (HT), biomassa bacteriana (BB), coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC).

FIGURA 18 - A) PROJEÇÃO BIDIMENSIONAL DE DISPERÇÃO DOS COMPONENTES PRINCIPAIS, REPRESENTANDO AS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS DE VIDA LIVRE E AMBIENTAIS EM RELAÇÃO AOS HORÁRIOS AMOSTRADOS NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO, CICLOS DE MARÉ E PROFUNDIDADES DA ÁGUA; B) OSCILAÇÃO DA ALTURA DA MARÉ; DA ESQUERDA PARA DIREITA: VERÃO/QUADRATURA, VERÃO/SIZÍGIA, INVERNO/QUADRATURA, INVERNO/SIZÍGIA

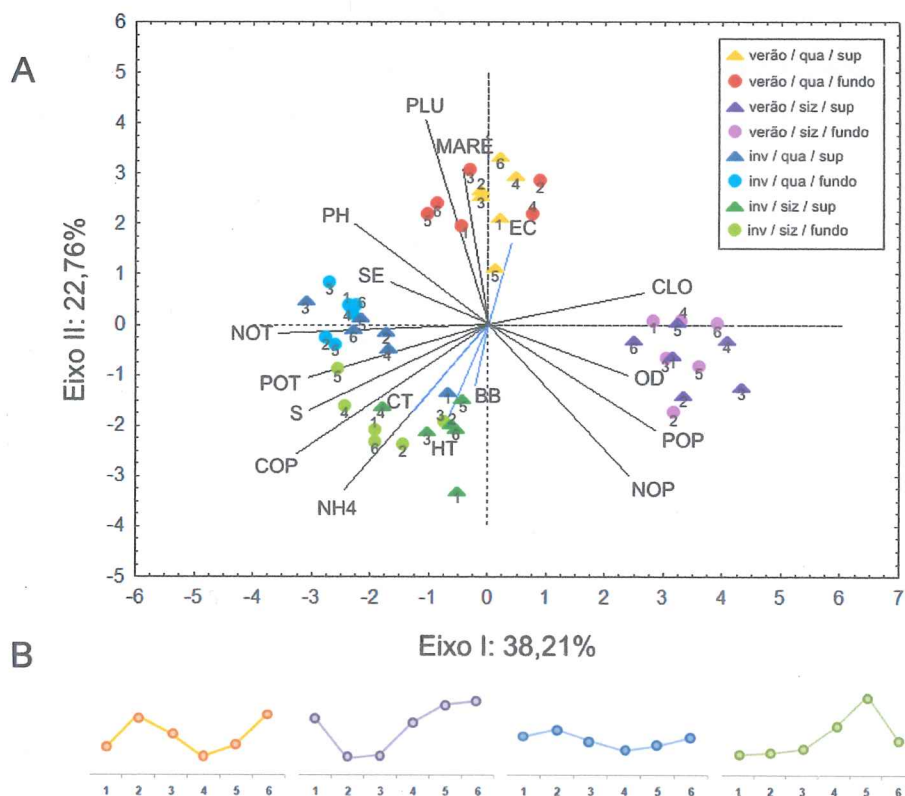
O segundo componente explicou 22,68% e apresentou correlação positiva entre a pluviosidade, a maré e o fosfato, e negativa entre o silicato e as bactérias heterotróficas totais, em todas as amostras coletadas na maré de quadratura de verão. O silicato e as bactérias heterotróficas totais foram mais elevados nas amostras dos horários 1, 2 e 3 (baixa-mar), tanto de superfície quanto de fundo da maré de sizígia, nas amostras dos horários 5 (preamar) e 6 (vazante) de

profundidade da mesma maré de sizígia, e na amostra coletada em água de superfície no primeiro horário (baixa-mar) da maré de quadratura, todas de inverno. A biomassa bacteriana e o pH foram explicados pelos dois eixos (FIGURA 18).

5.5.2 Bactérias aderidas ao MPS

Os primeiros componentes da análise explicaram 60,97% da variância total dos dados. O primeiro componente explicou 38,21% e mostrou correlação positiva com a clorofila *a* e o oxigênio dissolvido, e negativa com o seston, o nitrogênio orgânico total, o fósforo orgânico total e a salinidade, nas amostras tanto de superfície quanto de fundo, coletadas no período de sizígia do verão. Estes últimos parâmetros apresentaram correlação positiva com as amostras de fundo, coletadas em todos os horários, e as dos horários 2 a 6 (preamar a preamar) de superfície, todas coletadas na maré de quadratura, e nas estações 4 (enchente) e 5 (preamar) das amostras de profundidade, coletadas na maré de sizígia, todas de inverno.

O segundo eixo explicou 22,76% da variabilidade total dos dados, e apresentou correlação positiva entre *E. coli*, maré e pluviosidade, e negativa entre estes e as bactérias heterotróficas totais e biomassa bacteriana, nas amostras do período de quadratura do verão. Estes últimos apresentaram correlação positiva com as amostras superficiais obtidas em todos os horários, e as dos horários 1, 2 e 3 (baixa-mar) e 6 (vazante) das amostras de fundo, todas coletadas na maré de sizígia, e com a amostra do horário 1 (preamar), de superfície da maré de quadratura. Todas estas amostras foram coletadas no inverno. O carbono e o fósforo orgânico particulados, o pH e os coliformes totais foram explicados pelos dois eixos (FIGURA 19).



Descritores: pluviosidade (PLU), maré (MARÉ), clorofila *a* (CLO), oxigênio dissolvido (OD), amônio (NH₄), salinidade (S), fósforo orgânico total (POT), fósforo orgânico particulado (POP), nitrogênio orgânico total (NOT), nitrogênio orgânico particulado (NOP), carbono orgânico particulado (COP), seston (SE), potencial hidrogeniônico (PH), fosfato (PO₄). Variáveis suplementares (em azul): bactérias heterotróficas totais (HT), biomassa bacteriana (BB), coliformes totais (CT) e *E. coli* (EC).

FIGURA 19 - A) PROJEÇÃO BIDIMENSIONAL DE DISPERÇÃO DOS COMPONENTES PRINCIPAIS, REPRESENTANDO AS VARIÁVEIS MICROBIOLÓGICAS ADERIDAS AO MPS E AMBIENTAIS EM RELAÇÃO AOS HORÁRIOS AMOSTRADOS NAS DIFERENTES ESTAÇÕES DO ANO, CICLOS DE MARÉ E PROFUNDIDADES DA ÁGUA; B) OSCILAÇÃO DA ALTURA DA MARÉ; DA ESQUERDA PARA DIREITA: VERÃO/QUADRATURA, VERÃO/SIZÍGIA, INVERNO/QUADRATURA, INVERNO/SIZÍGIA.

5.6 REGRESSÕES MÚLTIPLAS

5.6.1 Bactérias heterotróficas totais de vida livre

Os resultados referentes à Análise de Regressão Múltipla mostraram que a variação na densidade de bactérias heterotróficas totais de vida livre foi explicada (72,25%) pela interação das seguintes variáveis: amônio, fósforo orgânico total,

fosfato, nitrato, salinidade e silicato. A análise indicou que o número de bactérias heterotróficas aumenta com o aumento do amônio, do nitrato e do silicato, e diminui com níveis crescentes de fósforo orgânico total, fosfato e com maior salinidade.

TABELA 1 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA ABUNDÂNCIA DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS DE VIDA LIVRE; r : 0,8500; r^2 : 0,7225; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Variáveis	Coefficientes de regressão	Erro padrão dos coeficientes de regressão
Amônio	0,352*	0,167723
Fósforo orgânico total	-0,483**	0,133639
Fosfato	-0,677 **	0,149864
Nitrato	1,019 **	0,215113
Salinidade	-0,343*	0,147732
Silicato	0,240 *	0,114404
Seston	-0,129	0,108355

5.6.2 Bactérias heterotróficas totais aderidas ao MPS

Segundo a Análise de Regressão Múltipla, a densidade de bactérias heterotróficas aderidas ao MPS está, com 60,55% de explicação, positivamente correlacionada com a quantidade de fósforo orgânico total e de clorofila *a*, e negativamente correlacionada com a pluviosidade.

TABELA 2 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA ABUNDÂNCIA DE BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS TOTAIS ADERIDAS AO MPS; r : 0,7778; r^2 : 0,6050; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Variáveis	Coefficientes de regressão	Erro padrão dos coeficientes de regressão
Fósforo orgânico total	0,432 **	0,131674
Pluviosidade	-0,482 **	0,118218
Clorofila <i>a</i>	0,236 *	0,103951
Seston	0,187	0,109779
Oxigênio dissolvido	-0,138	0,120580

5.6.3 Biomassa bacteriana de vida livre

Apesar do baixo índice de explicação para a flutuação da biomassa bacteriana (32,72%), a variação diante dos parâmetros fornecidos esteve relacionada a três parâmetros: silicato, fósforo orgânico total e nitrato.

TABELA 3 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA BIOMASSA BACTERIANA DE VIDA LIVRE; r : 0,5979; r^2 : 0,3575; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Variáveis	Coefficientes de regressão	Erro padrão dos coeficientes de regressão
Silicato	0,392*	0,159788
Fósforo orgânico total	-0,558 **	0,181921
Nitrato	0,826 **	0,286138
Salinidade	-0,345	0,203831

5.6.4 Biomassa bacteriana aderida ao MPS

A variabilidade da biomassa bacteriana aderida esteve, com 53,39% de explicação, em função de dois parâmetros: fósforo orgânico total e pluviosidade, aumentando com o acréscimo nos níveis do primeiro e decrescendo com o aumento dos níveis do segundo.

TABELA 4 - VARIÁVEIS NA EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA PARA A VARIAÇÃO DA BIOMASSA BACTERIANA ADERIDA AO MPS; r : 0,7307; r^2 : 0,5339; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

Variáveis	Coefficientes de regressão	Erro padrão dos coeficientes de regressão
Fósforo orgânico total	0,546 **	0,133256
Clorofila a	0,229	0,146200
Pluviosidade	-0,468 **	0,156416
Amônio	-0,271	0,175410

6 DISCUSSÃO

6.1 PADRÕES DE OSCILAÇÃO BACTERIANA E CORRELAÇÕES COM VARÁVEIS AMBIENTAIS

Segundo modelo conceitual explicitado por Hollibaugh e Wong (1999), a transição estuarina da água doce para água salina é caracterizada por um grande dinamismo de processos geoquímicos e biológicos. No modelo clássico de mistura das águas continentais e oceânicas, materiais detriticos particulados e dissolvidos em suspensão em águas de baixa força iônica, como as dos rios, são expostos a concentrações crescentes de sal. O crescente aumento da salinidade favorece o agrupamento de material particulado orgânico e inorgânico, onde os agregados funcionam como centros nucleares para a precipitação de material orgânico dissolvido.

Organismos vivos também são carregados para o sistema estuarino pelo fluxo dos rios. Para muitos deles, o aumento na força osmótica do meio é letal. Células mortas ou morrendo associam-se aos agregados, e o rompimento da membrana plasmática das mesmas libera o citoplasma rico em matéria orgânica lábil para o meio de entorno.

A região de encontro das águas salinas e continentais é também tipicamente caracterizada por um tempo de residência relativamente longo das partículas. Simplificadamente, de um ponto de vista químico, o aumento da salinidade modifica as propriedades das partículas levando a um aumento da floculação. De um ponto de vista físico, as correntes causam a deposição e a ressuspensão periódica das partículas durante as mudanças de maré (SERVAIS; GAMIER, 2006). Os agregados acumulam-se devido ao aprisionamento físico, levando à formação e à manutenção de uma Zona de Máxima Turbidez, mantida pelo balanço dinâmico entre o suprimento, dispersão, deposição e ressuspensão dos mesmos. Altas concentrações de material orgânico nos agregados, especialmente matéria orgânica lábil liberada a partir do plâncton de água doce, promovem a colonização por bactérias eurihalinas e outros heterótrofos. A junção de biomassa bacteriana,

exopolímeros, e matéria orgânica precipitada aumenta o valor nutritivo dos agregados para os organismos (HOLLIBAUGH; WONG, 1999).

Segundo Elser, Stabler e Hassett (1995), as bactérias planctônicas desempenham um papel-chave nas teias alimentares pelágicas, tanto na transferência de energia orgânica quanto na ciclagem de nutrientes limitantes. Tradicionalmente, as bactérias tem sido consideradas primordialmente como remineralizadoras (fontes) de nutrientes. Nesta visão, a perspectiva primária na teia alimentar microbiana é a ênfase no papel das bactérias na "limpeza" da matéria orgânica detrítica (dissolvida e particulada) para a transferência para a teia alimentar "convencional" através do consumo de bactérias por bacterívoros. Porém, estudos recentes sugeriram que, devido à sua grande razão da área de superfície pelo volume, bactérias são também excelentes competidoras com o fitoplâncton por nutrientes como nitrogênio e fósforo. A descoberta de que assembléias naturais de bactérias planctônicas adquirem uma fração significativa do seu nitrogênio e fósforo através da incorporação de nutrientes orgânicos dissolvidos modificou a visão tradicional destes microorganismos nas comunidades planctônicas (CARON, 1994). As bactérias passaram a ser vistas como competidoras por nutrientes limitantes, e não apenas como fontes dos mesmos. Segundo Rivkin e Anderson (1997), embora as bactérias possam assimilar carbono orgânico, elas podem utilizar fósforo e nitrogênio orgânicos e inorgânicos, e freqüentemente contabilizam uma ampla fração do consumo de fosfato e amônio, tanto em ambientes marinhos quanto lacustres.

6.1.1 Bactérias heterotróficas totais e biomassa bacteriana

Com relação aos padrões de oscilação, em geral a densidade de bactérias heterotróficas de vida livre presente nas águas superficiais foi maior do que a densidade de fundo em 70,8% dos horários amostrados, ao longo de todos os ciclos de maré. Ainda pode ser observado que os picos nas densidades bacterianas de vida livre ocorreram, em sua grande maioria, nas amostras superficiais, e seus menores valores foram majoritariamente registrados nas amostras de fundo. O contrário foi observado para bactérias aderidas ao seston, onde a densidade foi

maior nas amostras de fundo também para a grande maioria das amostras. Os menores valores de densidade bacteriana aderida ao seston ocorreram, em todos os ciclos de maré, nas amostras superficiais. A oscilação de valores de biomassa bacteriana tanto de vida livre quanto aderida seguiu padrões muito próximos a estes. A diferenciação entre valores de superfície e de fundo tanto para heterotróficas totais quanto para biomassa bacteriana pode ser explicada pelo fato de que, dentro da Zona de Máxima Turbidez, as profundidades representam dois microambientes distintos, sujeitos à intervenção de diversos fatores, em diferentes intensidades. Sendo assim, estes ambientes podem favorecer ou desfavorecer o desenvolvimento ou a permanência de bactérias aderidas ou de vida livre de modos diferenciados. O fato de que os picos observados na densidade bacteriana e na biomassa bacteriana aderida ao seston ocorreram todos nas amostras de fundo, e principalmente durante marés de nível mais baixo (vazante e baixa-mar), pode estar relacionado à entrada de matéria orgânica proveniente das partes mais internas da Baía de Paraguá, associada à atividade de ressuspensão provocada pelo fluxo da maré. Segundo Zimmermann-Timm, Holst e Mueller, (1998), dentro da Zona de Máxima Turbidez de um estuário, o efeito das marés (provocando mudanças na sedimentação e ressuspensão das partículas), a presença de organismos formadores de exopolímeros e a matéria orgânica abundante pode vir a subsidiar a formação constante de novos agregados. Este fenômeno pode apresentar maior proeminência próximo ao fundo, o que pode gerar diferenciação entre os valores superficiais e de fundo para bactérias aderidas ao seston.

As amostras de fundo foram responsáveis pelas maiores oscilações de densidade e biomassa dentro de um mesmo ciclo de maré, principalmente para as bactérias aderidas ao seston. Este fato pode estar relacionado ao amplo dinamismo que a porção da coluna d'água próxima ao fundo apresenta, devido a forçantes como o atrito provocado pela maré e a ressuspensão de sedimentos. A complexidade de forçantes atuantes no fundo reflete-se em modificações na densidade e no desenvolvimento bacteriano.

Ao se observar os gráficos de densidade bacteriana em comparação com a maré, pode-se notar que as bactérias heterotróficas de vida livre amostradas no verão, no período de quadratura, mostraram maior correlação negativa com os níveis de maré. As outras amostragens não apresentaram uma correspondência tão

evidente ao padrão oscilatório da maré, levando a crer que outros parâmetros tenham exercido também grande influência na densidade das bactérias heterotróficas, como pode ser observado através das tabelas de regressão múltipla. O padrão de correspondência negativa de bactérias heterotróficas com a altura da maré foi evidenciado também através das Análises de Componentes Principais, assim como através da correspondência negativa entre a salinidade e heterotróficas de vida livre obtida através da regressão múltipla. Painchaud e Therriault (1989) e Crump, Baross e Simenstad (1998) descreveram anteriormente correlações negativas entre bactérias heterotróficas de vida livre e salinidade. Embora estes autores tenham encontrado, do mesmo modo, relações negativas entre heterotróficas aderidas e salinidade, esta relação não foi observada na presente pesquisa. Níveis de maré mais altos significam, em geral, o avanço de uma água nutricionalmente mais pobre para o bacterioplâncton. O efeito de diluição provocado pelo avanço da maré na densidade de heterotróficas totais foi descrito anteriormente por Bacelar-Nicolau *et al.*, (2003), no estuário de Mondego, Portugal. É importante ressaltar também que a biomassa bacteriana de vida livre exibiu uma correlação negativa com o pH e a salinidade, revelando do mesmo modo um efeito de diluição através da entrada de águas nutricionalmente pobres com o avanço da maré, assim como o favorecimento através do aporte de MOD das partes internas da Baía, nas marés mais baixas. Kolm e Absher (1995) descreveram uma variação anual no número de bactérias halofílicas e halofóbicas nas águas superficiais da Baía de Paranaguá, e encontraram uma relação inversa entre a salinidade, o pH, e o número de bactérias heterotróficas aeróbicas cultiváveis, com a formação de um gradiente entre a parte interna e externa da Baía. Kolm *et al.*, (2002), reportaram, do mesmo modo, um gradiente com valores máximos de bactérias heterotróficas totais e de biomassa bacteriana na parte interna da Baía, evidenciando assim a alta influência desta região na estrutura da comunidade microbiana na área estudada na presente pesquisa, principalmente através da atuação do fluxo e refluxo das marés.

A alta correlação positiva entre o nitrato e o número de bactérias heterotróficas totais de vida livre, assim como com a biomassa bacteriana de vida livre, mostrada através das tabelas de regressão múltipla, discorda do estudo realizado por Bacelar-nicolau *et al.*, (2003). Segundo estes autores, seria esperado que, com a entrada de nitrogênio na forma de nitrato, a abundância do fitoplâncton

fosse favorecida, resultando num aumento da concentração de amônia (através da excreção ou degradação de biomassa), favorecendo a diminuição do oxigênio dissolvido, e inibindo o desenvolvimento de bactérias heterotróficas. Porém, como pode ser observado nos resultados desta pesquisa, os níveis de nitrato estão positivamente relacionados com a densidade de bactérias heterotróficas de vida livre. Este fato pode estar relacionado à limitação da luz. Por se tratar de uma Zona de Máxima Turbidez, a presença de níveis altos de material particulado em suspensão (coletas diurnas) pode ter ocasionado um efeito inibidor na produção fitoplanctônica. Do mesmo modo a luz (ou sua completa inexistência), nas coletas noturnas, pode ter ocasionado o não aproveitamento dos nutrientes pela comunidade fitoplanctônica, revelando assim números positivamente correlacionados com as bactérias heterotróficas totais de vida livre. A alta correlação positiva encontrada entre o nitrato e as heterotróficas totais de vida livre também pode significar que o nitrato apresentou-se como um nutriente limitante para o bacterioplâncton da região. Como reportado por Machado (2007), o nitrato constituiu o nutriente mais limitante para a produção primária na área amostrada da presente pesquisa, especialmente nas coletas de verão.

Segundo Cotner *et al.*, (2000), devido à alta requisição de fósforo, as bactérias podem se tornar limitadas por estes nutrientes em sistemas aquáticos onde o fósforo inorgânico limita a produção primária. As fortes correlações negativas entre heterotróficas totais de vida livre, fosfato e fósforo orgânico total e entre biomassa bacteriana livre e fósforo orgânico total levam a crer que o bacterioplâncton nesta região não é limitado por estes nutrientes. Por outro lado, as bactérias possuem uma habilidade apurada de aquisição de fósforo inorgânico em ambientes com baixa concentração de fosfato. Segundo Rivkin e Anderson (1997), a proporção bactéria:fitoplâncton de consumo de amônio e fosfato aumenta com o decréscimo na concentração destes nutrientes, implicando que, quando estes nutrientes estão escassos, as bactérias os assimilam muito mais eficientemente do que o fitoplâncton. Sendo assim, a maior eficiência da captura de nutrientes pode também ser a causa das correlações negativas mencionadas acima. Como em estudos de campo a complexidade de variáveis ambientais em interação é alta, recomenda-se um estudo laboratorial acerca da limitação por nutrientes do crescimento bacteriano na região.

As altas correlações positivas observadas entre heterotróficas aderidas e biomassa bacteriana aderida e fósforo orgânico total, evidenciadas através das tabelas de regressão múltipla, demonstram a possível limitação do crescimento bacteriano aderido pelo mesmo, mas principalmente evidenciam a diferença observada entre as respostas das bactérias aderidas e de vida livre aos padrões de flutuação das variáveis ambientais. A biomassa bacteriana aderida obteve grande correspondência com a coleta do período de sizígia, do inverno, principalmente com as amostras de fundo. Estas amostras também são responsáveis pelos maiores níveis observados de fósforo orgânico total, e esta correlação positiva é bastante evidente através da análise de regressão múltipla. O comportamento oposto em relação aos níveis de fósforo orgânico total, entre as bactérias de vida livre e aderidas o MPS, sugerem que os componentes fosfatados induzem respostas inversas nas mesmas. Estes dados levam a crer, do mesmo modo, que os componentes fosfatados apresentam-se como fatores-chave na estrutura da microbiota local.

A região de máxima turbidez dentro de um estuário é onde se espera que a população microbiana (tanto bacteriana quanto fitoplanctônica) carregada pela água doce morra e se parta, principalmente devido ao estresse causado pela salinidade (GOOSEN *et al.*, 1999). A produção primária, nesta região, é fortemente limitada justamente devido à sua alta turbidez. Sendo assim, esta área é caracterizada por uma intensa heterotrofia. É fato conhecido que o amônio é resultado da degradação de compostos orgânicos que contém proteínas. Uma provável evidência da atuação dos processos heterotróficos na área estudada é a correlação positiva entre o amônio e as bactérias totais de vida livre, evidenciada pela regressão múltipla e confirmada através do PCA. Pode-se observar ainda que as amostras com maiores níveis de amônio foram coletadas no inverno, durante a maré de sizígia, um período de processos hidrodinâmicos intensificados. Estudos visando o esclarecimento sobre a incorporação de nutrientes inorgânicos por bactérias como o de Elser, Stabler e Hassett (1995), observaram incremento na densidade bacteriana marinha após enriquecimento com nitrogênio inorgânico. Sendo assim, como o consumo de nutrientes pelo fitoplâncton é amplamente dependente da luz, é possível que a limitação da produção primária pela falta de energia luminosa, no presente estudo, tenha alterado as relações competitivas potenciais entre as bactérias e o fitoplâncton

pelos recursos minerais. Segundo Rivkin e Anderson (1997), as bactérias podem dominar o consumo de amônio em ambientes marinhos, sendo responsáveis por até 75% da assimilação planctônica do mesmo.

As bactérias heterotróficas aderidas e a biomassa bacteriana aderida ao MPS apresentaram uma forte correlação negativa com a pluviosidade, correlação esta confirmada pelo PCA. Este fato pode estar relacionado ao aumento do aporte de matéria orgânica dissolvida ocasionado por períodos chuvosos, levando assim a um acréscimo vantajoso do desenvolvimento de bactérias de vida livre em detrimento da adesão à partículas.

O carreamento da comunidade fitoplanctônica através do sistema estuarino parece ser a causa da correlação positiva observada entre as bactérias heterotróficas totais aderidas ao seston e a clorofila *a*. A morte de células fitoplanctônicas através do estresse salino favorece a formação de novos agregados, e desse modo aumenta seu valor nutritivo para a comunidade bacteriana aderida. A correlação positiva entre estas variáveis foi descrita anteriormente por Painchaud & Therriault (1989). A degradação contínua dos componentes fitoplanctônicos de água doce através do sistema estuarino, do mesmo modo, parece ser a causa da correlação positiva observada entre biomassa bacteriana de vida livre e silicato, evidenciada por meio da Análise de Regressão Múltipla e confirmada através do PCA, já que a sílica é um constituinte fundamental para determinadas algas. Com efeito, por meio do PCA pode-se observar que a disposição das variáveis biomassa bacteriana de vida livre e silicato foram principalmente influenciadas pelas amostras de sizígia do verão, onde a biomassa bacteriana apresentou picos nas marés mais baixas, evidenciando a influência do aporte de matéria orgânica das partes internas da Baía.

A biomassa bacteriana de vida livre apresentou também, segundo o PCA, correlação positiva com o oxigênio dissolvido, fato este que pode (assim como a correlação com o nitrato), sugerir uma limitação da produção fitoplanctônica e ausência de eutrofização, concomitante a maiores níveis de heterotrofia e desenvolvimento bacteriano na região. É importante ressaltar ainda que, segundo Machado (2007), todas as análises de oxigênio dissolvido, realizadas no local durante o mesmo período desta pesquisa, enquadraram-se na legislação

estabelecida pelo CONAMA 357/05, sugerindo possivelmente a falta de eutrofização.

Como pode ser observado ainda, as bactérias heterotróficas aderidas ao MPS apresentaram correlação negativa com a densidade de *E. coli*, levando a crer que os fatores controladores de densidade das mesmas no período estudado foram díspares.

Embora as bactérias heterotróficas aderidas não tenham apresentado uma correlação positiva com o carbono orgânico particulado, estes parâmetros foram diretamente relacionados às amostras do período de sizígia do inverno. A correlação positiva entre COP e heterotróficas aderidas na Zona de Máxima Turbidez em ambientes estuarinos foi descrita anteriormente por Painchaud e Therriault (1989) e Crump, Baross e Simenstad (1998).

Os dados sugerem que a densidade de bactérias heterotróficas de vida livre e aderidas ao MPS é ditada por fatores diferenciados, o que leva a crer que representem populações diferentes, como reportado anteriormente por Painchaud e Therriault (1989) e Crump, Baross e Simenstad (1998). Sendo assim, considerando que fatores controladores, variações espaço-temporais e fontes de substratos diferem amplamente, modelos de dinâmica estuarina bacteriana devem considerar estas populações separadamente.

Os baixos níveis de explicação da Análise de Regressão Múltipla para a variação da biomassa bacteriana de vida livre e aderida (32,72% e 53,39%, respectivamente) pode estar relacionada à influência de parâmetros não analisados no presente estudo, como matéria orgânica dissolvida ou taxas de predação, por exemplo.

6.1.2 Coliformes totais

Coliformes totais são contituídos por enterobactérias que podem ocorrer não somente no trato intestinal de animais homeotérmicos, mas também no solo e em corpos d'água (SCHLEGEL, 1993 *apud* KOLM *et al.*, 2002).

A partir da observação dos gráficos de coliformes totais em comparação com os níveis de maré, pode-se notar que os valores de densidade de coliformes totais seguiram, em geral, um padrão oposto à altura de maré. Esta correlação negativa parece ser mais evidente para coliformes totais de vida livre do que para os aderidos ao material particulado em suspensão.

Os dados de densidade de coliformes totais de vida livre de superfície mostraram-se maiores que os de fundo durante as coletas nas marés de quadratura, mas o padrão contrário (valores de fundo maiores do que os superficiais) pode ser observado durante as marés de sizígia. Durante os ciclos de amostragens nas marés de sizígia, os picos de coliformes totais de fundo de vida livre foram obtidos majoritariamente durante baixa-mares e inícios de maré enchente. Pode-se observar do mesmo modo, no PCA referente às bactérias de vida livre, que os coliformes totais apresentaram uma forte correlação positiva com a clorofila *a*. Este fato pode levar à conclusão de que o padrão descrito acima pode estar relacionado à maior intensidade de processos inerente às marés de sizígia, assim como à entrada de biomassa fitoplanctônica (clorofila *a*), e também de coliformes totais de vida livre, oriundos das partes internas da Baía, durante as baixa-mares. De acordo com Kolm *et al.*, (2002), os maiores níveis de coliformes totais são encontrados na parte interna do Complexo Estuarino de Paranaguá, e devem ser contituídos, em grande parte, por microflora alóctone carregada para o sistema estuarino pela força dos rios. Porém, não é descartada a hipótese de que o represamento da água na Baía devido à hidrodinâmica, proveniente no fluxo e refluxo de marés, venha a aumentar os níveis de coliformes nesta região.

A influência da parte interna do Complexo Estuarino de Paranaguá nos níveis de coliformes totais de vida livre também fica evidente a partir da constatação de uma correlação negativa apresentada por esta variável, a salinidade e o pH. Pode-se observar ainda que os valores de coliformes totais de vida livre estão fortemente relacionados às coletas de verão de sizígia, período onde a força das marés é intensificada, e onde a influência do aporte de componentes da parte interna da Baía em sua porção mediana é maior.

Existe uma forte correlação positiva entre os coliformes totais aderidos e o amônio, assim como entre estes e as bactérias heterotróficas totais e a biomassa bacteriana. Estas correlações indicam uma grande intensidade de processos

heterotróficos, resultando no incremento da densidade de heterotróficas totais e da biomassa bacteriana. Estas correlações positivas são evidenciadas através das coletas de inverno, no período de sizígia, época de acentuados processos hidrodinâmicos, onde a ligação entre o aporte de matéria orgânica nas partes internas da Baía e a área estudada é maior. Pode-se ainda notar o efeito de diluição na densidade de coliformes totais com a entrada da maré, devido à sua correlação negativa. A pluviosidade também exerceu efeito de diluição da densidade de coliformes totais aderidos. Com efeito, os maiores valores observados deste parâmetro foram obtidos no período de sizígia do inverno, época onde foram registrados os menores valores de pluviosidade de todo o período estudado.

6.1.4 *Escherichia coli*

As *Echerichia coli* são microrganismos obrigatoriamente simbióticos com animais homeotérmicos, sendo encontrados no seu trato intestinal. Segundo Faust, Aotaky e Hargadon (1975), sua sobrevivência no ambiente estuarino está ligada a fatores como temperatura, oxigênio dissolvido e salinidade, variando sazonalmente.

Os picos nos valores de densidade de *E. coli* de vida livre foram obtidos, majoritariamente, durante baixa-mares e inícios de enchentes. Este fato leva a crer que as áreas internas da Baía são responsáveis pelos maiores valores de *E. coli* observados na área estudada. Como descrito anteriormente, a área de amostragem encontra-se entre dois focos potenciais de entrada de poluição por dejetos humanos em águas estuarinas, as cidades portuárias de Paranaguá e Antonina. Considerando que o padrão observado sugere que os níveis de maré mais baixos são aqueles que apresentam maior incidência de *E. coli* de vida livre, é possível que a área estudada esteja sofrendo maior influência das concentrações humanas localizadas à montante da estação fixa de coleta, mesmo que esta se encontre mais próxima à cidade de Paranaguá. Este fato pode ser consequência do grande aporte de água doce, através da drenagem fluvial, principalmente nas amostras de verão, onde foram obtidos os maiores valores de *E. coli*. É conhecido o fato de que os coliformes fecais apresentam picos após descargas pluviais (KOLM; ANDRETTA, 2003; CHIGBU;

GORDON; STRANGE, 2005), e segundo Mantovanelli (1999), o aporte médio de água doce na região é maior durante o verão, devido à maior pluviosidade inerente à época, influenciando assim sazonalmente no limite da intrusão de sal. Entretanto, não é descartada a influência da cidade de Paranaguá no aporte de *E. coli*, já que o padrão oscilatório de sua densidade não se mostrou completamente oposto à oscilação da maré. Em alguns casos pode-se observar picos nos valores de fundo de *E. coli* de vida livre durante maré altas, o que pode revelar a presença da poluição oriunda de Paranaguá através da cunha salina.

Os valores de *E. coli* aderidas apresentaram-se maiores nas coletas de verão do que nas de inverno, fato este que provavelmente reflete o maior fluxo de pessoas presentes nas regiões costeiras nos meses mais quentes do ano. Este fato pode ser observado também como um padrão geral para as *E. coli* de vida livre, porém não tão acentuadamente devido à presença de um *outlier* durante a coleta de inverno de sizígia (3.244 NMP.100mL⁻¹). Tanto as *E. coli* de vida livre quanto as aderidas mostraram forte correlação com as amostras de verão, como pode ser observado por meio dos PCAs. Este padrão já era esperado, já que os meses mais quentes contribuem para o aumento da população nas regiões costeiras, e assim sendo para o incremento do aporte de efluentes domésticos nos corpos d'água adjacentes. Porém, as correlações positivas se deram em períodos distintos. As *E. coli* de vida livre mostraram maior relação com o período de sizígia, ao passo que as aderidas apresentaram maior correlação com a maré de quadratura. Convém observar ainda que, ao passo que as *E. coli* de vida livre apresentaram correlação positiva com os coliformes totais e, em menor escala, com a biomassa bacteriana, as *E. coli* aderidas correlacionaram-se negativamente com as mesmas, assim como com a densidade de heterotróficas totais. Estes dados levam a crer que a densidade de *E. coli* aderidas sofreu grande influência do período com maior precipitação (quadratura do verão), o que induz a entrada mais acentuada de materiais particulados provenientes de áreas-fonte de poluição. Já as *E. coli* de vida livre parecem ter sofrido a influência principalmente da intensificação de processos hidrodinâmicos ocasionados pela maré de sizígia. Segundo Fries *et al.*, (2006), as *E. coli* associadas a partículas são geralmente menos móveis no ambiente onde estão presentes, sedimentam com maior rapidez, e podem ter diferentes taxas de mortalidade em

relação aos mesmos de vida livre, devendo assim ser considerados em separado por estudos que visem a análise da qualidade da água em estuários.

É importante ressaltar que os padrões exibidos pelos dados de densidade de *E. coli* ao longo dos ciclos de maré não refletiu os padrões esperados de acordo com o maior aporte de dejetos humanos em corpos d'água (com padrões crescentes ao longo do dia). Sendo assim, parece provável que os padrões de circulação, ou seja, as forçantes físicas do hidrodinamismo do sistema estuarino, venham a influir mais substancialmente na densidade de *E. coli* ao longo dos ciclos de maré na área estudada do que o horário de coleta.

Pode-se observar ainda que as *E. coli* de vida livre apresentaram correlação positiva com o oxigênio dissolvido, concordando com estudos como o de Faust, Aotaky e Hargadon (1975), onde a sobrevivência de células de *E. coli* em águas estuarinas mostrou-se diretamente proporcional aos níveis de oxigênio dissolvido.

6.2 DIFERENCIAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO MPS

A partir do modelo conceitual explicitado anteriormente, poderia-se esperar que a presença microbiana observada no material particulado em suspensão da Zona de Máxima Turbidez da Baía de Paranaguá fosse mais elevada do que na água circundante. Porém este não foi o observado, já que, considerando-se cada campanha amostral como um todo (a quantidade total de bactérias durante um ciclo de maré), em nenhum momento, e para nenhum dos parâmetros microbiológicos estudados, a densidade de bactérias aderidas ao MPS sobrepuiu a densidade de microorganismos livres na água (TABELA 5).

TABELA 5 - PORCENTAGENS ENTRE BACTÉRIAS DE VIDA LIVRE E ADERIDAS AO SESTON; SOMATÓRIA DOS DADOS OBTIDOS EM TODOS OS CICLOS DE MARÉ

	Livres	Aderidas
Heterotróficas totais	63,2%	36,8%
Biomassa bacteriana	85,6%	14,4%
Coliformes totais	96,6%	3,4%
<i>E. coli</i>	88,8%	11,2%

Estes resultados confirmam propostas de estudos anteriores feitas para os parâmetros microbiológicos da região. Kolm *et al.*, (2002) estudaram a distribuição dos vários grupos bacterianos em águas superficiais ao longo de um transecto horizontal nas baías de Antonina e Paranguá e não encontram correlação positiva entre as bactérias e o seston. Assim sendo, os autores sugeriram que a maior parte das bactérias desta região poderia ser de vida livre. Montovani e De Moraes Novo (1996) observaram que a matéria orgânica dissolvida (MOD) pode interagir com algas e bactérias como uma fonte de energia ou carbono orgânico. Kolm e Lesnau (1997) sugeriram que, possivelmente, em regiões ricas em nutrientes, ocorra a existência de formas de vida bacteriana de vida livre alimentando-se diretamente de MOD. Segundo estes autores, o grande montante de manguezais que cerca a parte interna da Baía de Paranaguá poderia ser responsável pela produção da matéria orgânica que sustenta a grande densidade de bactérias de vida livre desta região. Kolm e Andretta (2003), em um estudo reportando diferenças sazonais no bacterioplâncton da gamboa do Perequê, esfazizaram, do mesmo modo, que a alta disponibilidade de MOD (principalmente durante marés baixas) venha a induzir preferencialmente o desenvolvimento de bactérias de vida livre.

No estuário de St. Lawrence, Canadá, Painchaud e Therriault (1989) observaram que as bactérias de vida livre predominaram na comunidade microbiana local. Do mesmo modo, Griffith *et al.*, (1994), obtiveram dados que revelaram uma porcentagem de 5 até um máximo de 30% de bactérias aderidas em relação às de vida livre, no estuário de Chesapeake, EUA. No entanto, a dominância por parte de bactérias de vida livre ou aderidas ao material particulado em suspensão em diversos corpos d'água, sejam oceânicos ou estuarinos, ainda permanece um assunto polêmico no meio científico. Embora estudos como o de Zobell (1943) tenham chegado à conclusão de que a maior parte da atividade microbiana nos oceanos ocorra aderida à partículas, esta visão vem sendo refutada (MURRELL *et*

al., 1999). Mais precisamente em regiões estuarinas, a visão que prevalece no meio científico é de que a ampla distribuição de partículas presentes nestes ambientes tem como consequência uma importante influência da microbiota associada ao material particulado em suspensão na abundância e atividade bacteriana (CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998; MURRELL *et al.*, 1999; WÖRNER; ZIMMERMAN-TIMM; KAUSCH, 2000). Dentre os muitos fatores que podem alterar as flutuações entre as densidades de bactérias aderidas e de vida livre, algumas são citadas recorrentemente na literatura, como turbidez da água, salinidade, temperatura, luz, turbulência, nutrientes e a abundância de MPS organicamente rico (ALMEIDA; ALCÂNTARA, 1992; BERGER *et al.*, 1996; RIVKIN; ANDERSON, 1997; COTNER *et al.*, 2000; BACELAR-NICOLAU *et al.*, 2003). Segundo Zobell (1943), o conteúdo orgânico da água também exerce um impacto pronunciado na relação dos microorganismos com as superfícies sólidas.

Os resultados obtidos nesta pesquisa não concordam com o conceito de que as partículas da ZMT podem ser um ambiente ideal para o desenvolvimento de bactérias (HOLLIBAUGH; WONG, 1999). De fato, Zimmermann (1997) observou que muitas partículas e interfaces não fornecem as condições necessárias para uma competição satisfatória entre as bactérias aderidas e as de vida livre. Uma das possíveis razões para a densidade relativamente baixa de bactérias aderidas ao seston encontrada nesta pesquisa é a de que os agregados não se apresentaram nutricionalmente significantes para os microorganismos, como observado por Griffith *et al.*, (1994). Como explicitado anteriormente, os estuários, e mais especificamente as Zonas de Máxima Turbidez formadas em seu interior, apresentam um alto e complexo hidrodinamismo. Principalmente em áreas relativamente rasas, o processo de circulação da água dentro destes ecossistemas pode favorecer acentuadamente a ressuspensão de sedimentos de volta à coluna d'água. Este mecanismo aumenta a concentração de material particulado em suspensão, porém reduz sua qualidade como fonte de alimento (HUANG; KREEGER; NEWELL, 2003; CRUMP; BAROSS, 1996). Além disso, mudanças qualitativas e quantitativas do MPS parecem ser maiores próximas ao fundo do que no restante da coluna d'água, o que pode favorecer a flutuação diferenciada entre as bactérias aderidas ao MPS de fundo e de superfície. Zimmermann (1997) e Crump e Baross (1996) enfatizaram que nem todos os agregados suportam a colonização por bactérias, e que estas diferenças

refletem duas características principais das partículas presentes em um estuário: seu conteúdo orgânico total e seu tamanho. Em estuários, as partículas tendem a ser compostas de argilas ressuspensas do fundo com um evólucro de matéria orgânica, diferentemente das partículas oceânicas, compostas de agregados detriticos. Devido ao seu conteúdo mineral significativo, as partículas estuarinas tendem a ser menos ricas em compostos orgânicos do que as oceânicas (MURRELL *et al.*, 1999).

A composição do material orgânico particulado também muda ao ser consumido por bactérias e outros pastadores, tornando-se menos lábil e dando suporte a uma menor produção bacteriana (ZIMMERMANN, 1997). Como os agregados são formados por matéria orgânica e inorgânica em suspensão, sua composição varia temporal e espacialmente (WÖRNER; ZIMMERMANN-TIMM; KAUSCH, 2000). O valor nutritivo dos agregados e sua potencialidade de atração de bactérias colonizadoras é tratado em alguns estudos (CRUMP; BAROSS, 1996; ZIMMERMANN, 1997; ZIMMERMANN-TIMM; HOLST; MUELLER, 1998) como uma função da idade dos agregados, já que o enriquecimento decresce ao passo que os agregados se tornam menores e seu conteúdo inorgânico particulado aumenta. Este processo levaria à liberação de nutrientes orgânicos dos agregados para a água circundante e a um subsequente aumento da abundância bacteriana de vida livre.

Em muitos estudos (CRUMP; BAROSS, 1996; CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998) as bactérias aderidas a partículas em ambientes costeiros e estuarinos têm sido consideradas mais ativas do que as células de vida livre, levando a crer que, quando presentes, mesmo em uma densidade menor do que as bactérias de vida livre, são responsáveis por picos na atividade bacteriana associada às regiões túrbidas de estuários. Recomenda-se um estudo sobre produção bacteriana em um transecto pela Baía de Paranaguá, levando em consideração microorganismos aderidos ao MPS e livres na água, com o intuito de elucidar a questão entre aporte/remineralização de matéria orgânica por bactérias aderidas e de vida livre na região.

De acordo com Crump e Baross (1996), dentro da ZMT de um estuário, a abundância e o tipo de agregados dependem de um sistema complexo de ciclagem de partículas entre a coluna d'água e os sedimentos. Mudanças na velocidade da água que corre sobre o sedimento leva a uma variabilidade no tamanho e no montante de partículas ressuspensas na região. Do mesmo modo, mudanças nos

níveis de velocidade, e assim sendo de estresse por atrito da coluna d'água, acarreta a variabilidade no grau de agregação de partículas na ZMT, e conseqüentemente sua taxa de sedimentação, interferindo assim na estrutura da microbiota.

As relações tróficas podem também vir a influir na diferenciação entre os valores de densidade entre bactérias de vida livre e agregadas ao MPS. Segundo Werner e Hollibaugh (1993), as bactérias em geral são uma fonte de alimento para organismos pastadores, porém as bactérias de vida livre não são capturadas eficientemente pela maioria dos metazoários filtradores, devido ao seu tamanho reduzido. A predação seletiva de bactérias aderidas aos agregados é bem documentada para algumas espécies do nano e do microzooplâncton (SIBBALD; ALBRIGHT, 1988). Como exemplos de predação especializada em bactérias aderidas ao seston, Zimmermann-Timm, Holst e Mueller, (1998) descreveram a ação de protistas como *Vannella* sp., que possui a habilidade de penetrar em espaços extremamente pequenos dos agregados, e *Euplotes* sp. e *Aspidisca* sp., que possuem mecanismos específicos para remoção de bactérias aderidas. Esta hipótese leva à conclusão de que, se as bactérias aderidas ao MPS representam uma fonte de alimento diretamente disponível para filtradores bentônicos ou pertencentes ao zooplâncton, a transferência de matéria orgânica detrítica para níveis tróficos superiores por meio da alça microbiana pode ser mais eficiente na Zona de Máxima Turbidez do que em localidades adjacentes (HOLLIBAUGH; WONG, 1999). A importância da adesão microbiana estaria associada então ao fluxo de biomassa bacteriana na teia alimentar, já que as bactérias de vida livre e as aderidas ao MPS são possivelmente predadas seletivamente por diferentes espécies (ALBRIGHT *et al.*, 1987; CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998). Este fato poderia levar a uma diferenciação na taxa de predação dentro da ZMT de Paranaguá, onde a predação de microorganismos de vida livre se mostra menos eficiente, e tendo como consequência a obtenção de baixos valores relativos para a densidade de bactérias aderidas aos agregados. A compreensão acerca da dinâmica da teia alimentar microbiana é complicada devido à multiplicidade de interações tróficas competitivas, ou interdependentes, envolvidas no fluxo de matéria e energia (DeLORENZO *et al.*, 2001). Recomenda-se um estudo acerca das correlações entre a abundância dos bacterívoros dominantes e as medições diferenciadas entre as

bactérias de vida livre e aderidas, para que se possa traçar um panorama estrutural mais claro da teia alimentar local.

Além das hipóteses levantadas anteriormente para a diferenciação entre as densidades relativas obtidas neste estudo para bactérias aderidas e de vida livre, em locais com grande aporte de produtos de origem antropogênica os agregados podem representar um substrato para adsorção de metais pesados e compostos orgânicos tóxicos para bactérias (MURRELL *et al.*, 1999). Regiões como a Zona de Máxima Turbidez de um dado estuário são consideradas dissipativas para bactérias de vida livre e acumulativas para bactérias aderidas a partículas (PAINCHAUD; THERRIAULT, 1989). Como o local amostrado está inserido em uma região de possíveis impactos antropogênicos, devido à presença próxima do Porto de Paranaguá, a adsorção de substâncias tóxicas nas partículas do local, associada ao longo tempo de permanência destas, pode estar ocasionando o *déficit* de bactérias aderidas em relação à densidade de bactérias de vida livre.

A causa da diferenciação, obtida na presente pesquisa, entre os valores obtidos para a densidade de bactérias de vida livre em relação às aderidas pode residir também nas pequenas, mas importantes, variações de conceitos ou metodologias utilizadas pelos estudos sobre o bacterioplâncton estuarino. Por exemplo, de acordo com a literatura revisitada, o termo "agregados" engloba uma grande variedade de possíveis materiais e tamanhos, fato este que acentua a importância de que aos estudos quantitativos e qualitativos da atividade microbiana de vida livre e aderida, some-se o conhecimento sobre o tamanho, a qualidade e a abundância das partículas presentes no local amostrado. Recomenda-se um estudo apurado sobre a composição dos agregados presentes na Baía de Paranaguá, assim como de sua variabilidade temporal e espacial, para uma melhor compreensão da estrutura microbiana do ecossistema local.

No que concerne à metodologia, a utilização de filtros para o fracionamento por tamanho do material particulado em suspensão, e conseqüentemente para a contabilização diferenciada entre as bactérias de vida livre e aderidas, não se mostrou homogênea neste tipo de estudo na literatura geral. Crump e Baross (1996), por exemplo, utilizaram partículas maiores do que 20 μm para medição da produção bacteriana aderida. Zimmermann (1997) utilizou um microscópio com aumento de 10 vezes para a seleção visual de agregados dentro das amostras totais, e um

micrômetro ocular para medição do tamanho das partículas, onde a maioria dos agregados apresentou-se entre 50 μm e 2500 μm . Beel e Allbright (1981) distinguiram bactérias aderidas ao seston daquelas de vida livre pelo fracionamento por tamanho de partículas, através de um filtro de 1 μm . Praticamente toda as literaturas citadas utilizaram metodologias diferenciadas na obtenção de valores de densidade e de produção bacteriana entre bactérias de vida livre e aderidas a partículas nos diferentes estuários estudados. Esta variedade entre metodologias prejudica a comparação dos resultados obtidos e compromete algumas discussões que poderiam eventualmente ser apresentadas.

Convém ainda observar que existe uma possível fonte de erro na obtenção da densidade de bactérias aderidas ao seston, já que algumas células aderidas a partículas podem ser desagregadas das mesmas no momento da amostragem, ou quando a amostra é passada pelo filtro (a vácuo). Por outro lado, a densidade de bactérias aderidas pode sofrer acréscimo ao passo que bactérias de vida livre sedimentam sobre partículas durante a filtração. Estas implicações metodológicas podem gerar uma super- ou subestimação da densidade de bactérias aderidas, e são citadas na literatura (GRIFFITH *et al.*, 1994; CRUMP; BAROSS; SIMENSTAD, 1998).

7 CONCLUSÕES

▫ Apesar de variações ao longo dos ciclos lunares e entre as estações do ano, as bactérias de vida livre apresentam um papel dominante na Zona de Máxima Turbidez da Baía de Paranaguá.

▫ A matéria orgânica dissolvida, embora não amostrada durante a presente pesquisa, pode exercer um papel fundamental na estrutura da comunidade microbiana na ZMT da Baía de Paranguá, induzindo preferencialmente o desenvolvimento de bactérias de vida livre na área estudada.

▫ A diferenciação apresentada entre a densidade de bactérias aderidas e de vida livre parece ter raízes nas seguintes hipóteses, a serem testadas em estudos posteriores:

- Baixa significância nutricional dos agregados
- Alta disponibilidade de alimento dissolvido
- Relações tróficas
- Adsorção de componentes tóxicos aos agregados
- Possíveis erros na obtenção da densidade de bactérias aderidas

▫ Os ciclos sazonais influíram na composição da microbiota local, pois regulam fenômenos como descarga de nutrientes, magnitude das fontes, demanda de grupos específicos de organismos presentes e hidrodinamismo.

▫ A estrutura da comunidade microbiana da área estudada parece sofrer uma grande influência das partes internas no Complexo Estuarino de Paranaguá, principalmente com o aporte de matéria orgânica oriunda das mesmas, essencialmente durante períodos de marés intensificadas (sizígia).

▫ As bactérias de vida livre e aderidas ao MPS parecem constituir populações diferenciadas, já que são governadas diferentemente (em alguns casos inversamente) pela oscilação nos níveis de determinados parâmetros ambientais.

▫ A comunidade microbiana parece estar estruturada através de uma relação íntima com os padrões de oscilação de nutrientes, mais notadamente do fósforo orgânico total e do nitrato.

▫ Como descrito anteriormente, a região é caracterizada por intensa heterotrofia, sendo que características como a alta turbidez provavelmente influenciam positivamente, para as bactérias heterotróficas, na competição com os produtores primários pelos nutrientes presentes no ambiente.

▫ Para a microbiota local, a profundidade parece indicar dois microambientes distintos, ao passo que a porção próxima ao fundo está sujeita a uma maior intensidade de forçantes provenientes do hidrodinamismo da região.

▫ As diferenças observadas entre este estudo e as literaturas citadas podem se dever, em grande parte, à extrema complexidade e diferenciação entre os ambientes estuarinos estudados. Cada porção estuarina apresenta peculiaridades que, atuando conjuntamente com todas as outras forçantes dentro do sistema, vêm a fornecer cenários bastante distintos nas regiões estuarinas ao redor do globo.

8 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A fim de se obter mais peças do mosaico contituído pela alça microbiana local, são sugeridas algumas abordagens necessárias:

- Recomenda-se um estudo sobre produção bacteriana em um transecto pela Baía de Paranaguá, levando em consideração microorganismos aderidos ao MPS e livres na água, com o intuito de elucidar a questão entre aporte/remineralização de matéria orgânica por bactérias aderidas e de vida livre na região.

- Recomenda-se um estudo acerca das correlações entre a abundância dos bacterívoros dominantes e as medições diferenciadas entre as bactérias de vida livre e aderidas, para que se possa traçar um panorama estrutural mais claro da teia alimentar local.

- Recomenda-se um estudo apurado sobre a composição dos agregados presentes na Baía de Paranaguá, assim como de sua variabilidade temporal e espacial, para uma melhor compreensão da estrutura microbiana do ecossistema local.

- Como em estudos de campo a complexidade de variáveis ambientais em interação é alta, recomenda-se um estudo laboratorial acerca da limitação por nutrientes do crescimento bacteriano na região.

9 BIBLIOGRAFIA

ABREU, P.C.; ODEBRECHT C. Space and time variability of bacteria in the Patos Lagoon – Southern Brazil (32°S-52°W). **7th International Symposium of Microbial Ecology**, Santos, 1995, p.58.

ALBRIGHT, L. J.; SHERR, E. B.; SHERR, B. F.; FALLON, R. D. Grazing of ciliated protozoa on free and particle-attached bacteria. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v.38, p. 125-129, 1987.

ALMEIDA, M. A.; ALCÂNTARA, F. Bacterial colonization of seston particles in brackish waters (Ria de Aveiro, Portugal). **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v. 89, p. 165-173, 1992.

AZAM, F. Microbial control of oceanic carbon flux: the plot thickens. **Science**, v. 280, p. 694-696, 1998.

BACELAR-NICOLAU, P; NICOLAU, L. B.; MARQUES, J.C.; MORGADO, F.; PASTORINHO, R.; AZEITEIRO U.M. Bacterioplankton dynamics in the Mondego estuary (Portugal). **Acta Oecologica**, Paris, v. 24, p. 67-75, 2003.

BEEL, C.R.; ALLBRIGHT, L. J. Attached and free-floating bacteria in the Fraser River Estuary, British Columbia, Canada. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v. 6, p. 317-327, 1981.

BERGER, B.; HOCH, B.; KAVKA, G.; HERNDL, G. J. Bacterial colonization of suspended solids in the River Danube. **Aquat. Microb. Ecol.**, Oldendorf/Luhe, v. 10, p. 37-44, 1996.

BJØRNSSEN, P. K.; KUPARINEN, A. 1991. Determination of bacterioplankton biomass, net production and growth efficiency in the southern ocean. **Mar. Ecol. Prog. Ser.** 71: 185-194. *In* Delile, D. ; Fiala, M. & Razouls. S. 1996. Seasonal changes in bacterial and phytoplankton biomass in a subantarctic coastal area (Kerguelen Islands). **Hydrobiologia**, Hague, v. 330, p. 143-150.

CAMARGO, R.; J. HARARI. Modelagem numérica de ressacas na plataforma sudeste do Brasil a partir de cartas sinóticas de pressão atmosférica na superfície. **Bol. Inst. Oceanogr.**, São Paulo, v. 42, p. 19-34, 1994.

CARON, D. A. Inorganic nutrients, bacteria, and the microbial loop. **Microb. Ecol.**, New York, v. 28, n. 2, p. 295-298, 1994

CHIGBU, P.; GORDON, S.; STRANGE, T. R. Fecal coliform bacteria disappearance rates in a north-central Gulf of Mexico estuary. **Estuar. coast. shelf sci.**, London, v. 65, p. 309-318, 2005.

COTNER, J. B.; SADA, R. H.; BOOTSMA, H.; JOHNGEN, T.; CAVALETTO, J. F.; GARDNER, W. S. Nutrient Limitation of Heterotrophic Bacteria in Florida Bay. **Estuaries**, Columbia, v. 23, n. 5, p. 611-620, 2000.

CRUMP, B. C.; BAROSS, J. A.; SIMENSTAD, C. A. Dominance of particle-attached bacteria in the Columbia River estuary, USA. **Aquat. Microb. Ecol.**, Oldendorf/Luhe, v. 14, p. 7-18, 1998.

CRUMP, B. C.; BAROSS, J. A. Particle-attached bacteria and heterotrophic plankton associated with the Columbia River estuarine turbidity maxima. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v. 138, p. 265-273, 1996.

DAÍ, J.; SUN, M. -Y. 2006. Organic matter sources and their use by bacteria in the sediments of the Altamaha estuary during high and low discharge periods. **Organic geochemistry**, Oxford, no prelo.

DELORENZO, M. E.; LEWITUS, A. J.; SCOTT, G. I.; ROSS, P. E. Use of metabolic inhibitors to characterize ecological interactions in an estuarine microbial food web. **Microb. Ecol.**, New York, v. 42, p. 317-327, 2001.

EATON, A. D.; Clesceri, L. S.; GREENBERG, A. E. **Standard methods for the examination of water and wastewater**, 19th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 870p, 1995.

ELSER, J. J.; BROOKE STABLER, L. B.; HASSETT, R. P. Nutrient limitation of bacterial growth and rates of bacterivory in lakes and oceans: a comparative study. **Aquat. Microb. Ecol.**, Oldendorf/Luhe, v. 9, p. 105-110, 1995.

FAUST, M. A.; AOTAKY, A. E.; HARGADON, M. T. Effect of Physical Parameters on the In Situ Survival of *Escherichia coli* MC-6 in an Estuarine Environment. **Applied Microbiology**, Washington, v. 30, n. 5, p. 800-806, 1975.

FRIES, J. S.; CHARACKLIS, G. W.; RACHEL T. NOBLE, R. T. Attachment of Fecal Indicator Bacteria to Particles in the Neuse River Estuary, N.C. *Environ. eng.*, London, v. 132, n. 10, pp. 1338-1345, 2006.

GOOSEN, N. K.; KROMKAMP, J.; PEENE, J.; RIJSWIJK, P.; BREUGEL, P. Bacterial and phytoplankton production in the maximum turbidity zone of three European estuaries: the Elbe, Westerschelde and Gironde. *J. mar. syst.*, Amsterdam, v.22, p.151-171, 1999.

GRIFFITH, P.; SHIAH, F-K.; GLOERSEN, K.; DUCKLOW, H. W.; FLETCHER, M. Activity and distribution of attached bacteria in Chesapeake Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, Amelinghausen, v. 108, p. 1-10, 1994.

HOLLIBAUGH, J. T.; WONG, P. S. Microbial processes in the San Francisco Bay estuarine turbidity maximum. *Estuaries*, Columbia, v. 22, n. 4, p. 848-862, 1999.

HOPKINSON, C. S. Shallow-water benthic and pelagic metabolism: evidence of heterotrophy in the near shore Georgia Bight. *Mar. Biol.*, Berlin, v. 87, p. 19-32, 1985.

HUANG, S.-C.; KREEGER, D. A.; NEWELL, R. I. E. Tidal and seasonal variations in the quantity and composition of seston in a North American, mid-Atlantic salt marsh. *Estuar. coast. shelf sci.*, London, v. 56, p. 547-560, 2003.

HYUN, J.-H.; CHOI, J. K.; CHUNG, K. H.; YANG, E.-J.; KIM, M.-K. Tidally induced changes in bacterial growth and viability in the macrotidal Han River Estuary, Yellow Sea. *Estuar. coast. shelf sci.*, London, v. 48, p. 143-153, 1999.

KNOPPERS, B. A.; BRANDINI, F. P.; THAMM, C. A. Ecological studies in the bay of Paranaguá. II. Some physical and chemical characteristics. *Nerítica*, Pontal do Paraná, v.2, p.1-36, 1987.

KOLM, H. E.; ABSHER, T. M. Spatial and temporal variability of saprophytic bacteria in the surface waters of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. *Hydrobiologia*, Hague, v. 308, p. 197-206, 1995.

KOLM, H. E.; ANDRETTA, L. Bacterioplankton in different tides of the Perequê tidal creek, Pontal do Sul, Paraná, Brazil. *Braz. J. Microbiol.*, São Paulo, v. 34, p. 97-103, 2003.

KOLM, H. E.; SCHOENENBERGER, M. F.; PIEMONTE, M. R.; SOUZA, P. S. A.; SCÜHLI, G. S.; MUCCIATTO, M. B.; MAZZUCO, R. Spatial variation of bacteria in surface waters of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. **Braz. arch. biol. technol.**, Curitiba, v. 45, n. 1, p. 27 - 34, 2002.

KOLM, H. E.; LESNAU, N. M. Variação espacial e temporal de bactérias saprófitas na coluna d'água da Baía de Paranaguá, Paraná, Brasil. **Braz. arch. biol. technol.**, Curitiba, v. 40, n. 2, p. 383-395, 1997.

MACHADO, C. G. **Caracterização química do material particulado em suspensão e sedimentos superficiais na zona de máxima turbidez no eixo leste - oeste do Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP), PR, Brasil.** 81p. Dissertação (Mestre em Geologia Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MANTOVANELLI, A.; MARONE, E.; DA SILVA, E. T.; LAUTERT, L. F.; KLINGENFUSS, M. S.; PRATA, V. P.; NOERNBERG, M. A.; KNOPPERS, B. A.; ANGULO, R. J. Combined tidal velocity and duration asymmetries as a determinant of water transport and residual flow in Paranaguá Bay estuary. **Estuar. coast. shelf sci.**, London, v. 59, p. 523-537, 2004.

MANTOVANELLI, A. **Caracterização da dinâmica hídrica e do material particulado em suspensão na Baía de Paranaguá e em sua bacia de drenagem.** 152p. Dissertação (Mestrado em Geologia Ambiental) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1999.

MANTOVANI, J. E.; DE MORAES NOVO, E. M. L. Comportamento espectral da matéria orgânica dissolvida. **Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto**, p.7, 1996.

MARONE, E.; D. JAMIYANAA. Tidal characteristics and a numerical model for the M2 tide at the Estuarine Complex of Paranaguá Bay, Paraná, Brazil. **Nerítica**, Pontal do Paraná, v. 11, p. 95-107, 1997.

MARONE, E.; R. CAMARGO. Marés meteorológicas no litoral do estado do Paraná: o evento de 18 de agosto de 1993. **Nerítica**, Pontal do Paraná, v.8, p.73-85, 1994.

MURRELL, M. C.; HOLLIBAUGH, J. T.; SILVER, M. W.; WONG, P. S. Bacterioplankton dynamics in northern San Francisco Bay: Role of particle association and seasonal freshwater flow. **Limnol. Oceanogr.**, Baltimore, v.44, n.2, p. 295-308, 1999.

NOERNBERG, M. A. **Processos morfodinâmicos no Complexo Estuarino de Paranaguá - Paraná - Brasil: um estudo a partir de dados *in situ* e Landsat - TM.** 180p. Tese (Doutorado em Geologia), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2001.

PAINCHAUD, J.; THERRIAULT, J-C. Relationships between bacteria, phytoplankton and particulate organic carbon in the Upper St. Lawrence Estuary. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, Amelinghausen, v. 56, p. 301-311, 1989.

PARSONS, T. R.; MAITA, Y.; LALLI, C. M. Direct counting of bacteria by fluorescence microscopy. In: **A Manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis.** Pergamon Press, Oxford, 173pp, 1984.

PLOUG, H.; ZIMMERMANN-TIMM, H.; SCHWEITZER, B. Microbial communities and respiration on aggregates in the Elbe Estuary, Germany. **Aquat. Microb. Ecol.**, Oldendorf/Luhe, v. 27, p. 241-248, 2002.

RHEINHEIMER, G. **Microbiologia de las águas.** Zaragoza: Acribia S.A., 1987, 299p.

RIVKIN, R. B.; ANDERSON, M. R. Inorganic nutrient limitation of oceanic bacterioplankton. **Limnol. Oceanogr.**, Baltimore, v. 42, n.4, p. 730-740, 1997.

SERVAIS, P.; GAMIER, J. Organic carbon and bacterial heterotrophic activity in the maximum turbidity zone of the Seine estuary (France). **Aquat. Sci.**, Bayona, v. 68, p. 78-85, 2006.

SIBBALD, M. J.; ALBRIGHT, L. J. Aggregated and free bacteria as food sources for heterotrophic microflagellates. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 54, n. 2, p. 613-616, 1988.

WERNER, I.; HOLLIBAUGH, J. T. *Potamocorbula amurensis*: Comparison of clearance rates and assimilation efficiencies for phytoplankton and bacterioplankton. **Limnol. Oceanogr.**, Baltimore, v. 38, n. 5, p. 949-964, 1993.

WÖRNER, U.; ZIMMERMANN-TIMM, H.; KAUSCH, H. Succession of Protists on Estuarine Aggregates. **Microb. Ecol. Microb. Ecol.**, New York, v. 40, p. 209-222, 2000.

ZIMMERMANN, H. The microbial community on aggregates in the Elbe Estuary, Germany. *Aquat. Microb. Ecol.*, Oldendorf/Luhe, v. 13, p. 37-46, 1997.

ZIMMERMANN-TIMM, H.; HOLST, H.; MUELLER, S. Seasonal dynamics of aggregates and their typical biocoenosis in the Elbe Estuary. *Estuaries*, Columbia, v. 21, n. 4A, p. 613-621, 1998.

ZOBELL, C. E. The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. bacteriol.*, Washington, v.46, p. 39-56, 1943.