

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO – CAMPUS MACAÉ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E CONSERVAÇÃO**

**FABRÍCIO DE ALMEIDA GONÇALVES**

**EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO POR  
MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS SOBRE A  
CONCENTRAÇÃO DE METANO (CH<sub>4</sub>) NAS INTERFACES  
SEDIMENTO – ÁGUA - ATMOSFERA**

MACAÉ

2013

Fabício de Almeida Gonçalves

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação, Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial a obtenção de título de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Paulo Figueiredo de Barros

Co-Orientador: Prof. Dr. Francisco de Assis Esteves

Macaé

2013

Gonçalves, Fabrício de Almeida

Título: Efeito do biorrevolvimento por macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano (CH<sub>4</sub>) nas interfaces sedimento – água – atmosfera.

Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Campus Macaé, Programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação.

Palavras chave: Biorrevolvimento; Invertebrados Bentônicos; Metano; Modo de forrageio.

Fabrcio de Almeida Gonçaves

EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO POR MACROINVERTEBRADOS  
BENTÔNICOS SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE METANO (CH<sub>4</sub>) NAS  
INTERFACES SEDIMENTO – ÁGUA - ATMOSFERA

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciências Ambientais e Conservação da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Ciências Ambientais e Conservação.

Aprovada em:

---

Prof. Dr. Marcos Paulo Figueiredo de Barros – UFRJ

---

Prof. Dr. Rodrigo Nunes da Fonseca – UFRJ

---

Prof. Dr. João José Fonseca Leal – IFRJ

MACAÉ, RJ – BRASIL

ABRIL DE 2013

*“Não existe ensino que se compare ao exemplo.”*

**Lord Baden Powell – Fundador do escotismo**

...Eu que nunca fui assim,  
Muito de ganhar,  
Junto as mãos ao meu redor,  
Faço o melhor, que sou capaz,  
Só pra viver em paz.

**O Vencedor – Los Hermanos**

*“Desejo ardentemente que tenhas uma vida longa e feliz como a minha. Poderão com isto conseguir conservar com saúde e alegria a fim de poderes auxiliarem os outros. Vou dizer-te o meu segredo e tenho certeza que com o conhecimento dele serás como eu: Tenho sempre me esforçado para cumprir a Promessa e a Lei Escoteira em todos os atos de minha vida. Se fizeres o possível para obteres sucesso na vida, assim procedendo, futuramente terão muita alegria, se viveres 80 anos.”*

**Lord Baden Powell**

*“...Mas lembrem-se que vocês devem guiá-los e não empurrá-los...”*

**Lord Baden Powell**

Aos meus pais Antônio Carlos e Nelma.  
Ao meu avô Prudente e a minha avó Marília.

## **AGRADECIMENTOS:**

Estou agora terminando mais uma etapa da minha vida. Não sei qual será o resultado, aprovado ou não. Tenho muito a agradecer às pessoas que estiveram ao meu lado nestes últimos anos. Primeiramente, gostaria de agradecer ao Professor **Francisco Esteves**, quando em 2006 me convidou a fazer parte do laboratório de Limnologia. Foram 5 anos de muitos aprendizados, tanto científicos quanto da vida. Quero agradecer pela confiança, pelas oportunidades e broncas que me foram dadas. Levarei sempre comigo seus ensinamentos.

Ao meu atual orientador **Marcos Paulo (Marquinhos)**. Por ter me aceitado para ser seu primeiro aluno de mestrado, mesmo sabendo que eu estava trabalhando, obrigado por ter acreditado em mim. Agradeço também pelas conversas, pelas oportunidades, pelas broncas e ensinamentos. Tenho certeza que ganhei além de um grande orientador, um grande amigo.

Ao professor **João Leal** por ter aceitado fazer parte da banca. Tenho certeza que trará críticas que ajudarão a melhorar bastante este trabalho. Por ter iniciado os trabalhos experimentais com bioturbação no laboratório, me dando a oportunidade de fazer parte desta importante linha de pesquisa.

Ao Professor **Rodrigo Nunes** por ter aceitado fazer parte da banca. Tenho certeza que, como na qualificação, trará críticas que ajudarão a melhorar bastante este trabalho. E pelas parcerias que estão se formando para conseguirmos compreender mais uma questão do efeito da bioturbação.

Aos Professores **Reinaldo Bozelli e Vinicius Farjalla** pelo exemplo profissional e científico. Tenho orgulho de fazer parte da equipe de vocês.

Ao meu grande amigo, **Yuri França**, por ter me ajudado a montar a parte elétrica do experimento. Pela amizade que temos, pelas conversas e principalmente pelo queijo minas que como no café da manhã!! Hehehehehe. Você é um irmão que tenho por escolha.

Aos companheiros de Laboratório que estiveram envolvidos diretamente com a construção do experimento e coleta dos organismos. **Bruno Soares (Carijó), João Mário (Dado), João Marcelo e Danieli Flávia**. E aos que ajudaram no decorrer do trabalho,

**Paula Portilho, Maria Silvina, Guilherme Alfenas, Mariana Cristina, Marcelo (Samambaia), Izabela Santos e Maycon Granados.**

Ao amigo **Rodrigo Felix** pelas discussões científicas, perrengues em Portugal, Jogatinas e amizade que estamos construindo. Ainda teremos muitos trabalhos em conjunto.

A todo o pessoal do Laboratório de Limnologia – sede Fundação pelo apoio e interesse, principalmente à **Aliny Pires, Pedro Maia, Nicholas Marino, Vinicius Scofield, Frederico Meireles e Joseph Ferro.**

Aos companheiros mais antigos e que nem estão mais no laboratório, porém ajudaram a contribuir de alguma forma com a minha formação no mesmo. **Adriano Caliman, Rafael Guariento, Luciana Carneiro, Thais Laque e Albert Suhett.**

A Professora **Ana Petry** pelos ensinamentos ecológicos, estatísticos e por ser um grande exemplo e uma excelente profissional.

A toda equipe do **NUPEM-UFRJ**, técnicos, pessoal da limpeza, cantina, e a todos os professores, por todos os ensinamentos e aprendizados.

As meninas dos “excluídos do CPG”, **Dayse, Grazi e Joelma** pelo apoio, “frases de sabedoria” e incensos.

A todos os amigos que fiz no NUPEM e principalmente ao pessoal da primeira turma do PPGCiAC.

Agradeço ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de Mestrado.

Gostaria de agradecer à minha família por todo apoio e compreensão, principalmente aos meus pais **Nelma e Antônio Carlos**, aos meus irmãos e cunhadas **Fábio, Antônio Felipe, Muriele e Flávia** e minha sobrinha **Liz.**

Ao meu avô **Prudente** por ter sido um exemplo e pelo interesse durante conversas que tivemos e a minha avó **Marília.**

A nova família que ganhei **Reynaldo, Valéria e Rafaela.** Obrigado pela convivência, pelas brincadeiras, e até discussões.

Ao meu amor, minha noiva **Nathália Erasmi**, pelo exemplo, carinho, apoio, até pelas discussões... Obrigado por ter sido compreensiva nas minhas ausências por conta

de coleta, e principalmente pelo apoio agora nesta reta final. Obrigado pela confiança que deposita em mim e pelos momentos você acredita mais em mim do que eu mesmo. Tenho certeza que desta forma iremos construir uma família sólida e unida. Obrigado!

Acho que não esqueci de ninguém, mas de qualquer forma fica o agradecimento a todos que de alguma maneira contribuíram para a conclusão de mais esta etapa. Muito obrigado!

## RESUMO:

O gás metano ( $\text{CH}_4$ ) é produzido em sedimentos anóxicos, como resultado da degradação anaeróbica da matéria orgânica, via metanogênese. Em ambientes aeróbicos pode ser consumido por microorganismos metanotróficos presentes no sedimento e na coluna d'água. Fatores ambientais podem ter efeito sobre as concentrações, fluxos e emissão de  $\text{CH}_4$  para os diferentes compartimentos (sedimento, água, atmosfera) como, por exemplo, concentração de Oxigênio Dissolvido, nutrientes dissolvidos, qualidade e quantidade de substratos orgânicos disponíveis. Além disso, o processo de biorrevolvimento por macroinvertebrados bentônicos, pode ter papel importante no ciclo do  $\text{CH}_4$  na interface sedimento – água, por promover alterações nas características físicas, químicas e biológicas nesta interface. Porém, essa alteração pode apresentar efeitos e magnitude diferentes, dependendo das características e do modo de forrageio do sedimento, da espécie bioturbadora. Com base nestas informações, temos como objetivo avaliar, através de experimentos em microcosmos, como diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos (*Laeonereis culveri*, *Heteromastus similis*, *Campsurus sp.* e *Chironomus sp.*), afetam a concentração de  $\text{CH}_4$  nos diferentes compartimentos (sedimento-água-atmosfera) e quais espécies terão maior influência sobre a concentração de  $\text{CH}_4$  em cada compartimento. As espécies estudadas influenciaram de maneiras distintas as concentrações de  $\text{CH}_4$  na interface sedimento – água – atmosfera, podendo, como no tratamento com *Campsurus sp.*, intensificar a concentração de  $\text{CH}_4$  na água e, não resultar em um acréscimo na atmosfera. No tratamento com *Chironomus sp.* houve uma redução da concentração de  $\text{CH}_4$  no sedimento, e acréscimo de  $\text{CH}_4$  apenas na atmosfera. Conclui-se então, que as espécies de macroinvertebrados bentônicos, *Heleobia australis*, *Chironomus sp.*, *Campsurus sp.* e *Laeonereis culveri*, que apresentam diferenciados modos de forrageio do sedimento, alteram, de maneira diferente, as concentrações de  $\text{CH}_4$  na interface sedimento- água – atmosfera.

## **ABSTRACT:**

The gas methane (CH<sub>4</sub>) is produced in anoxic sediments as a result of anaerobic degradation of organic matter by methanogenesis. In aerobic environments, this gas may be consumed by microorganisms methanotrophic present in the sediment and the column of water. Environmental factors might cause effects on concentrations and CH<sub>4</sub> emission to the atmosphere, for example: Dissolved oxygen concentration, dissolved nutrients, quality and quantity of organic substrates available. Furthermore, the process of bioturbation by macroinvertebrates, may play a role in the cycle of CH<sub>4</sub> at the interface of sediment - water by promoting changes in physical, chemical and biological in this interface. However, this change may have different effects and magnitude, depending on the characteristics and mode of foraging sediment these bioturbation species. Based on this information, we have to evaluate, through experiments in microcosm, as different species of benthic macroinvertebrates, affect the concentration of CH<sub>4</sub> in the different compartments (sediment-water-atmosphere) and which species will have greater influence on the concentration of CH<sub>4</sub> in each compartment. The species studied in this thesis, influenced in different ways concentrations of CH<sub>4</sub> in the interface sediment - water - atmosphere may enhance the CH<sub>4</sub> concentration in the water and will not result in an increase in the atmosphere, as in the treatment *Campsurus sp.* In Treatment with *Chironomus sp.* had reduction of the concentration of CH<sub>4</sub> in the sediment and addition of CH<sub>4</sub> only in the atmosphere.. It can be concluded that the species of benthic macroinvertebrates, *Heleobia australis*, *Chironomus sp.*, *Campsurus sp.* and *Laeonereis culveri*, which have different modes of foraging sediment, change differently, the concentration of CH<sub>4</sub> in the interface sediment-water - atmosphere.

## Sumário:

<b>_Toc3531395251 - INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 - CONTEXTUALIZAÇÃO DA PRESENTE PESQUISA .....	6
<b>2 – HIPÓTESES.....</b>	<b>8</b>
<b>3 – OBJETIVOS .....</b>	<b>9</b>
<b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>10</b>
4.1 - ESPÉCIES UTILIZADAS .....	10
4.2 - COLETA DOS ORGANISMOS.....	11
4.3 - SEDIMENTO.....	12
4.4 - PREPARAÇÃO DO SEDIMENTO.....	12
4.5 - DESENHO EXPERIMENTAL .....	13
4.5 - INCUBAÇÃO .....	14
4.6 – PROCEDIMENTOS.....	16
4.7 - CÁLCULOS DAS CONCENTRAÇÕES .....	17
4.8 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	18
<b>5 - RESULTADOS.....</b>	<b>19</b>
5.1 - COMPORTAMENTO DOS INDIVÍDUOS .....	19
5.2 - EFEITO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE MACROINVERTEBRADOS SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CH <sub>4</sub> NOS COMPARTIMENTOS SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA .....	20
5.2.1 – <i>Sedimento</i> .....	20
5.2.2 - <i>Coluna d'água</i> .....	24
5.2.3 – <i>Atmosfera</i> .....	26
5.2.4 – <i>Acoplamento dos compartimentos Sedimento-água-atmosfera</i> .....	26
5.3 - DIFERENÇA ENTRE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS, QUE APRESENTAM, DISTINTOS MODOS DE FORRAGEIO, SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CH <sub>4</sub> POR BIOMASSA SECA .....	27
5.3.1 – <i>Sedimento</i> .....	27
5.3.2 - <i>Coluna d'água</i> .....	29
5.3.3 - <i>Atmosfera</i> .....	30
5.3.4 – <i>Acoplamento dos compartimentos Sedimento-água-atmosfera</i> .....	31
<b>6 - DISCUSSÃO .....</b>	<b>33</b>
6.1 - EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO DE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE METANO NO SEDIMENTO.....	33

6.2 - EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO DE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE CH <sub>4</sub> NA INTERFACE ÁGUA-ATMOSFERA.....	37
6.3 - ACOPLAMENTO DA INTERFACE SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA.....	38
6.4 - DISCUSSÃO GERAL .....	41
<b>7 - CONCLUSÃO:.....</b>	<b>45</b>
<b>8 - REFERENCIAS .....</b>	<b>46</b>

## 1 - INTRODUÇÃO

Ecossistemas aquáticos continentais lênticos geralmente apresentam altas taxas de acúmulo de matéria orgânica (Esteves & Camargo 2011). Esta, podendo ser de origem alóctone ou autóctone, tende naturalmente a sedimentar nas áreas mais profundas dos ecossistemas aquáticos. Este fato pode caracterizar o sedimento como um compartimento estocador de matéria orgânica e de intensa ciclagem de nutrientes (Carmouze, 1994; Aller *et al*, 1996; Smith *et al*, 2012; Mckew, 2013). Desta forma, o sedimento é considerado um importante compartimento dentro do ecossistema aquático, sendo um importante sítio de transformações de elementos químicos, como por exemplo: Fósforo (P); Nitrogênio (N); Carbono (C), desta forma torna-se fonte destes elementos para a coluna d'água. Esta interação fortalece o acoplamento na interface sedimento-água no que diz respeito à ciclagem e fluxos de nutrientes, demonstrando o importante papel deste compartimento para o funcionamento dos ecossistemas aquáticos continentais (Lamberti *et al*, 2010; Caliman *et al*, 2012).

Na interface sedimento-água, normalmente prevalecem os processos aeróbicos de mineralização da matéria orgânica. Neste caso o oxigênio (O<sub>2</sub>), pode funcionar como o principal acceptor de elétrons na respiração aeróbica devido ao seu potencial oxí-redução positivo (Brune *et al*, 2000). No entanto, a alta taxa de consumo de O<sub>2</sub> na interface sedimento-água e sua baixa solubilidade na água, usualmente limita a difusão para camadas mais profundas do sedimento. Tal processo acarreta a formação de uma estreita camada óxica e, logo abaixo, uma espessa camada anóxica no sedimento lacustre (Svensson, 1998; Kristensen, 2000; Leal, *et al* 2007). Sendo assim, a decomposição anaeróbica da matéria orgânica acontece preferencialmente em sedimentos orgânicos (Carmouze 1994, Wetzel, 2001). Esta decomposição segue uma ordem a partir da fração superficial do sedimento e de acordo com a eficiência energética: Desnitrificação > redução de metais > sulfato redução > metanogênese.

A produção microbiana de metano (CH<sub>4</sub>) – metanogênese é um dos mais importantes processos de degradação da matéria orgânica em sedimentos aquáticos anóxicos (Schulz e Conrad, 1995), sendo o último estágio da decomposição da matéria orgânica em vários ambientes anaeróbicos (Fenchel *et al*, 1998). A produção de CH<sub>4</sub> é um processo microbiológico predominantemente controlado pela ausência de oxigênio na degradação da matéria orgânica (Segers, 1998; Bodegom e Stams, 1999). Segundo Zinder (1993), a reação mais utilizada pelos

metanogênicos é a redução do CO<sub>2</sub> em CH<sub>4</sub>, utilizando o H<sub>2</sub> como redutor. O CH<sub>4</sub> que difunde a partir de sedimentos anaeróbicos de ecossistemas, pode servir como fonte de energia para bactérias aeróbicas (metanotróficas), sendo oxidado gerando dentre outros produtos o gás carbônico. Mais de 80% do CH<sub>4</sub> produzido nas camadas anóxicas do sedimento são oxidados durante sua difusão, através das camadas mais superficiais do sedimento ou na coluna d'água, pelas bactérias metanotróficas (Ohle, 1978; Conrad *et al.* 1995). Assim, grande parte do carbono dissolvido estocado no sedimento de ecossistemas aquáticos continentais lacustres pode estar na forma de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>.

Segundo Murase *et al* (2005), a liberação de CH<sub>4</sub> de um ecossistema aquático para a atmosfera depende, basicamente, do balanço entre a produção (metanogênese) e o consumo (metanotrofia). Consumo e produção de CH<sub>4</sub> podem ser influenciados, por diversos fatores e condições como, por exemplo, temperatura, salinidade, concentração de oxigênio dissolvido, potencial redox, nutrientes dissolvidos, qualidade e quantidade de substratos orgânicos disponíveis e composição da comunidade microbiana (Fey & Conrad, 2000), sendo esses fatores variáveis dentro de um mesmo ecossistema aquático (Sha *et al*, 2011). Boa parte do CH<sub>4</sub> produzido no sedimento pode ser consumida ali mesmo por bactérias metanotróficas, possibilitando, ao sedimento, ser considerado um eficiente biofiltro, o que resulta em apenas um pequeno percentual do CH<sub>4</sub> produzido que será liberado para a coluna d'água ou atmosfera (Frenzel *et al*, 1990; Liikanen & Martikainen, 2003).

Organismos metanogênicos são microorganismos estritamente anaeróbicos, porém tolerantes a ambientes com oxigênio, apesar de não crescerem ou produzirem CH<sub>4</sub> (Zinder, 1993). Já os microorganismos metanotróficos estão altamente ativos na presença de oxigênio, tendo grande importância na transformação do CH<sub>4</sub> em CO<sub>2</sub> e biomassa bacteriana. Alguns autores como, por exemplo, Utsumi *et al* (1998) consideram que a produção secundária de carbono orgânico na coluna d'água via metanotrofia, pode ser comparável, em alguns casos e em determinadas condições, ao que é gerado pela produção primária de lagos temperados.

Conrad (1989) observou que a produção de CH<sub>4</sub> a partir da matéria orgânica pode ser estimulada pela decomposição fermentativa de precursores do CH<sub>4</sub>. Sendo assim, sedimentos pobres em matéria orgânica (como sedimentos de ecossistemas aquáticos oligotróficos) podem ser menos produtivos que sedimentos com alta carga de matéria orgânica. Porém, não é apenas a quantidade de matéria orgânica que deve ser observada, mas também a qualidade da mesma. A decomposição de detritos na superfície do sedimento se dá de forma mais rápida devido à

presença de matéria orgânica mais lábil (Nedwell, 1984). Assim, o metabolismo microbiano no sedimento pode ser fortemente limitado pela natureza refratária da matéria orgânica.

A produção, consumo e emissão de CH<sub>4</sub> em ecossistemas aquáticos, além dos fatores citados a cima, também podem ser fortemente influenciados por comunidades bentônicas por causarem alterações, tais como: a) Físicas - através da redistribuição de partículas ao longo do sedimento (Giangrande *et al*, 2002); b) Químicas - por intensificar o consumo de oxigênio dissolvido e/ou gerar maior difusão para as camadas anóxicas do sedimento (Leal *et al*, 2005; Lewandowski *et al*, 2007); c) Biológicas - por redistribuir microorganismos no sedimento intensificando ou desestimulando processos relacionados ao CH<sub>4</sub> (Deines *et al*, 2007). Desta forma, podem-se destacar os macroinvertebrados bentônicos como uma importante comunidade capaz de alterar condições físicas, químicas e biológicas em ecossistemas aquáticos através de sua colonização e forrageio na interface sedimento-água. Como consequência sendo capaz de afetar de forma direta e/ou indireta a produção, consumo e emissão de CH<sub>4</sub>.

Diversos estudos têm apontado que a comunidade de macroinvertebrados bentônicos exerce influência nos fluxos de carbono na interface sedimento-água a partir do processo de bioturbação ou biorrevolvimento (Heilskov & Holmer, 2001; Leal *et al*, 2007; Figueiredo-Barros *et al*, 2009). Segundo Meysman *et al* (2006), o biorrevolvimento pode ser considerado, de maneira geral, como a modificação dos solos e sedimentos por ação biológica de qualquer tipo de organismo, como raízes de plantas e animais que cavam. Charles Darwin, em suas primeiras observações, demonstrou que minhocas exerciam grande importância na estruturação de solos por redeslocar grande quantidade de sedimento ao construir seus tubos (Johnson, 2002; Meysman *et al*, 2006). Na ecologia aquática, podemos definir que biorrevolvimento é a alteração da estrutura do sedimento e/ou atividade de transporte de soluto, matéria particulada e microorganismos através do perfil do sedimento e/ou para a coluna d'água sobrejacente causada por animais de ecossistemas aquáticos (Svensson, 1998; Meysman *et al*, 2006; Bernhard, 2011).

Os fluxos e as trocas de material na interface sedimento-água são regulados por uma variedade de mecanismos, dentre os quais os mais importantes são: a difusão natural; a turbulência promovida pela movimentação das massas d'água; a liberação de gases e solutos via atividade microbiana e a intensidade da atividade de movimentação (migração) da biota bentônica através do sedimento. Desta maneira, biorrevolvimento ou bioturbação interfere na

dinâmica de transporte de nutrientes entre os compartimentos, bentônico e pelágico (interface sedimento-água) e por este motivo, considerado um importante processo ecológico capaz de alterar a dinâmica de populações, comunidades e dos fluxos de matéria e energia de ecossistemas aquáticos (Reise, 2002; Mermillod-Blondin *et al*, 2000; Kristensen, 2000; Bartoli *et al*, 2000; Leal *et al*, 2003; Leal *et al*, 2007; Figueiredo-barros, 2009; Caliman, 2011).

Trabalhos vêm demonstrando que macroinvertebrados bentônicos exercem grande influência no ciclo do carbono na interface sedimento-água, alterando o balanço entre a produção e consumo de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub>. Kajan & Frenzel (1999) observaram que larvas de algumas espécies de Chironomidae (diptera) ao colonizarem o sedimento, em áreas de plantações de arroz, criam microhabitats que estimulam processos aeróbicos e anaeróbicos de degradação. Leal *et al* (2007) estudando *Campsurus notatus* (Ephemeroptera) observaram que, ao colonizarem o sedimento, essa espécie contribui para o aumento dos fluxos de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água e estimulam o processo de oxidação do CH<sub>4</sub>, resultando em redução da concentração de CH<sub>4</sub> ao longo do perfil vertical do sedimento. Figueiredo-Barros *et al* (2009) observaram que indivíduos de *Heteromastus similis* (Polychaeta) diminuem a concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento e aumentam a concentração do mesmo na água e na atmosfera, porém, na fração inicial do sedimento (0-2cm) a concentração de CH<sub>4</sub> foi maior do que nas camadas subjacentes. Esses resultados nos mostram que a comunidade de macroinvertebrados bentônicos altera o balanço entre produção – oxidação do CH<sub>4</sub> em ambientes aquáticos, podendo apresentar dinâmica diferente para cada grupo de macroinvertebrado.

Os macroinvertebrados bentônicos podem colonizar o sedimento de formas distintas (Figura 1), logo, a intensidade do processo de biorrevolvimento pode variar entre as diferentes espécies Heilskov & Holmer (2001) observaram que as espécies *Nereis diversicolor* e *Capitella sp.* (ambas Polychaetas), que forrageiam camadas mais profundas do sedimento, podem revolver mais intensivamente o sedimento comparados aos organismos que atuam preferencialmente na superfície. Outro fator importante capaz de causar diferentes formas de biorrevolvimento é o tipo de construção feita pelos indivíduos no sedimento. Reise (2002) demonstra diferentes tipos de construções, destacando que tubos ou buracos podem ser simples esconderijos fechados, por outro lado, muitos são em forma de Y ou U e que, ocasionalmente, existem interconexões comunicando um ao outro. Além disto, o mesmo autor ressalta que tubos possuem forros sólidos de polissacarídeos, os quais agem como peneiras moleculares, enquanto

as covas são envolvidas por mucus e frequentemente possuem uma camada exterior de partículas de areia fina. O modo de forragear o sedimento por diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos apresenta efeito sobre o fluxo de água (Bioirrigação) para as camadas do sedimento, esse efeito reflete na dinâmica de trocas gasosas e alterações químicas dentro do sedimento.

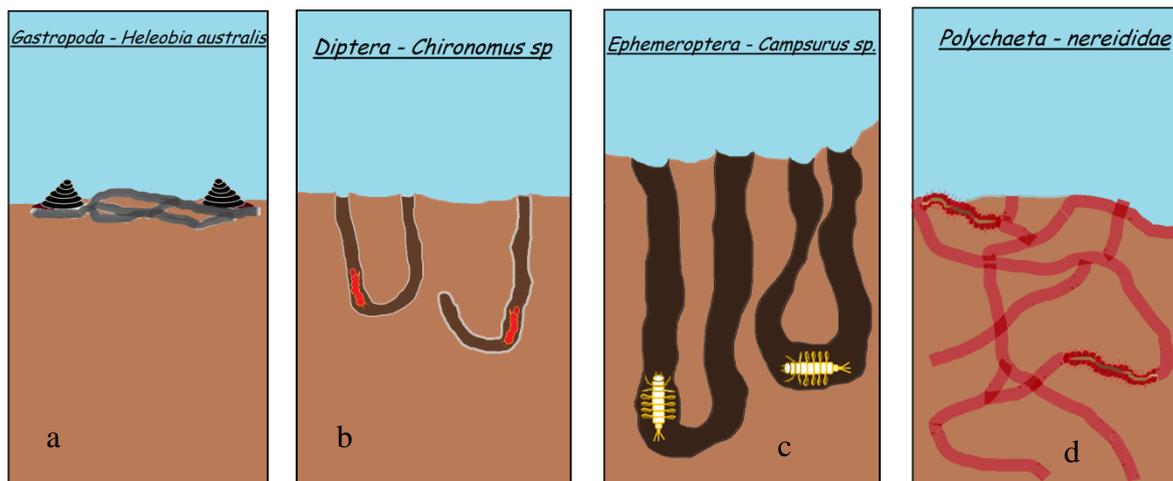


Figura 1: Esquema demonstrando diferentes formas de forragear o sedimento de alguns grupos de macroinvertebrados bentônicos já estudados. a) Forrageio da espécie *Heleobia australis*, gastropoda, essa espécie forrageia apenas a superfície do sedimento formando trincheiras sobre a superfície do mesmo; b) espécie *Chironomus sp.* diptera, esta espécie constrói tubos em forma de “u” ou “j” no sedimento, porém permanecem apenas nas camadas iniciais do sedimento; c) *Campsurus sp.* ephemeroptera, essa espécie constrói tubos em formas de “u” ou “j” no sedimento, porém alcançam uma maior profundidade no perfil do sedimento; d) Nereididae, Polychaeta, esse grupo constrói uma rede de canais no sedimento, onde se locomovem por estes canais formando galerias interligadas.

Estudo realizado utilizando microcosmos e as espécies de macroinvertebrados bentônicos *Chironomus sp.*, *H. similis* e *H. australis*, demonstrou que estas espécies colonizam o sedimento de forma distinta, desta forma, não exercem a mesma influência sobre os fluxos de nutrientes na interface sedimento-água (Caliman *et al*, 2011). Hunting *et al* (2012) testando cinco espécies de macroinvertebrados bentônicos, observaram que os perfis de oxi-redução foram iguais para espécies que apresentaram modos parecidos de forrageio, e diferentes para espécies que apresentaram modo de forrageio diferente. Além destes trabalhos recentes, muitas pesquisas vêm demonstrando a importância da comunidade de macroinvertebrados bentônicos na caracterização do solo e no acoplamento e intensidade dos efeitos físico-químico-biológicos da interface sedimento-água em ecossistemas aquáticos rasos, como, por exemplo, Mermillod-Blondin *et al* (2005), Mermillod-Blondin & Rosemberg (2006), Lewandowski *et al* (2007),

Leal *et al* (2007), Caliman *et al* (2007), Callisto *et al* (2009), O'Brien (2009), Jonathan *et al* (2010), Mermillod-Blondin (2011) e Caliman *et al* (2012). Porém, trabalhos que testaram o efeito do biorrevolvimento sobre as concentrações de metano (CH<sub>4</sub>) trabalharam ou com poucas espécies de macroinvertebrados bentônicos ou com apenas uma espécie.

## 1.1 - CONTEXTUALIZAÇÃO DA PRESENTE PESQUISA

Estudos recentes têm avaliado o papel de invertebrados bentônicos sobre os fluxos de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-ar e as taxas de produção e oxidação deste gás. Apesar dos resultados mostrarem a importância dos macroinvertebrados bentônicos nos processos relacionados ao CH<sub>4</sub>, poucas espécies foram estudadas até então. Neste sentido, é de grande importância expandir tais avaliações para um maior número de espécies, principalmente de características funcionais distintas. Recentes trabalhos têm demonstrado que a intensidade e os efeitos da atividade de biorrevolvimento sobre os processos ecológicos são profundamente relacionados com as características funcionais das espécies estudadas sendo estas, por sua vez, relacionadas ao tamanho e forma do corpo, estratégia de colonização do sedimento e atividade metabólica das espécies. Estudos com este enfoque são raros, o que evidencia a falta de conhecimento em relação ao papel de invertebrados bentônicos nos fluxos, produção, oxidação e emissão do CH<sub>4</sub>. Mesmo com o crescimento no número de trabalhos relacionados ao efeito do biorrevolvimento de macroinvertebrados bentônicos no fluxo de CH<sub>4</sub> no sedimento, ainda existem algumas questões a serem respondidas, como as que estão indicadas abaixo, e que são consideradas para ser respondidas na presente pesquisa:

➤ Macroinvertebrados bentônicos com diferentes formas de forragear o sedimento promovem o mesmo efeito sobre as concentrações de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-atmosfera? Como já descrito anteriormente, diversos autores vêm demonstrando que o efeito da atividade de biorrevolvimento sobre os processos ecológicos são profundamente relacionados com as características de forrageio das espécies estudadas, sendo estas, por sua vez relacionadas ao tamanho e forma do corpo, estratégia de colonização do sedimento e atividade metabólica das espécies. No entanto, poucas espécies foram avaliadas até o momento, sendo que estas informações têm se demonstrado de grande importância para a compreensão dos fluxos de CH<sub>4</sub> em ecossistemas aquáticos lênticos e rasos.

➤ Produção e concentração de  $\text{CH}_4$  podem variar no perfil do sedimento dependendo das características do mesmo. Sabendo que macroinvertebrados bentônicos podem modificar as características do sedimento a partir do processo de biorrevolvimento, será que diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos alteram de forma diferenciada a concentração de  $\text{CH}_4$  no perfil do mesmo?

## **2 – HIPÓTESES**

1. Macroinvertebrados bentônicos alteram as concentrações de CH<sub>4</sub> nas interfaces sedimento-água-atmosfera através do biorrevolvimento.
2. O tipo de forrageio das espécies de macroinvertebrados bentônicos determina o grau de influência que a espécie exercerá sobre a concentração de CH<sub>4</sub> nas interfaces sedimento-água-atmosfera.
3. A concentração de CH<sub>4</sub> no perfil vertical do sedimento é influenciada pela identidade da espécie, profundidade do sedimento e pela interação entre estes dois fatores (espécie e profundidade).

### **3 – OBJETIVO**

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar, através de experimentos em microcosmos, se e como as espécies de macroinvertebrados bentônicos (*Heleobia australis*, *Laeonereis culveri*, *Chironomus sp.* e *Campsurus sp.*) que apresentam diferentes formas de forragear o sedimento afetam as concentrações de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-atmosfera.

## 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 - ESPÉCIES UTILIZADAS

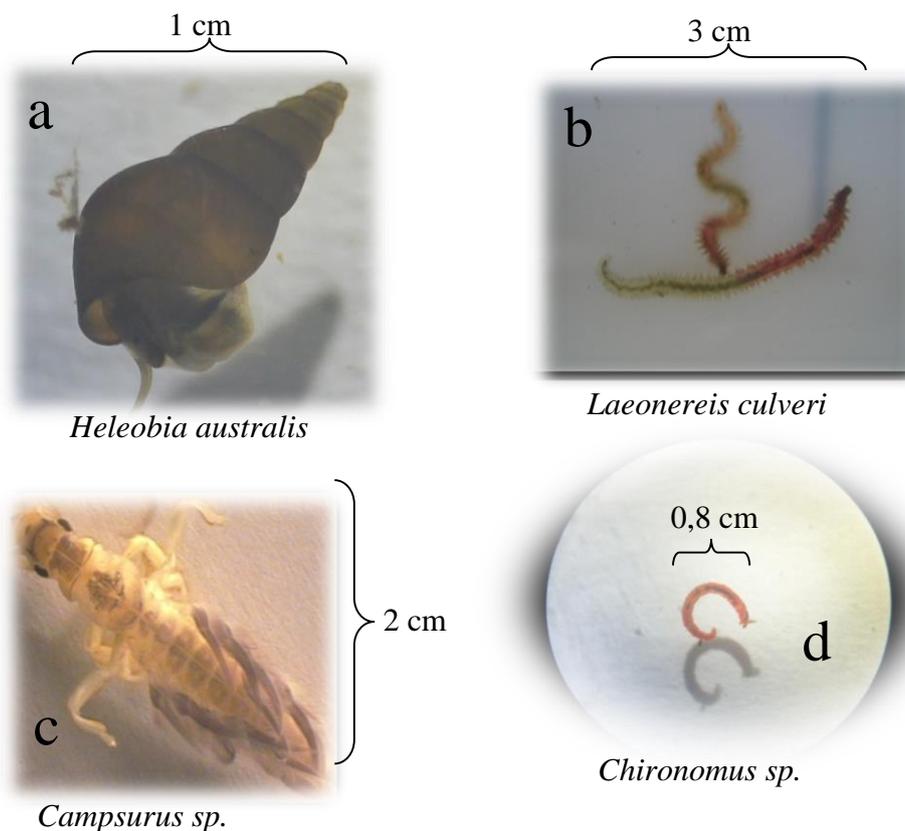
Quatro espécies de macroinvertebrados bentônicos foram selecionadas a partir dos seguintes critérios: Densidade e co-ocorrência nas lagoas costeiras do norte do estado do Rio de Janeiro; e diferenças no modo de forragear o sedimento. As espécies foram:

1) *Heleobia australis* (Figura 2a) – Gastropoda. Esta espécie forrageia a superfície do sedimento, formando trincheiras de alguns milímetros. Alimenta-se basicamente de detritos, mas também pode ser encontrada sobre plantas aquáticas alimentando-se de perifíton (Esteves *et.al*, 2011).

2) *Laeonereis culveri* (Figura 2b) – Polychaeta. Esta espécie ocorre em ambientes marinhos e estuarinos, são errantes e detritívoros (Martin e Batista, 2006). Forrageia o sedimento da superfície até camadas inferiores formando uma rede complexa de tubos no sedimento;

3) *Campsurus sp.* (Figura 2c) – Ephemeroptera. São organismos detritívoros, suas ninfas constroem tubos em forma de “U” e/ou “J” no sedimento onde eles estão presentes. Por não suportarem baixas concentrações de oxigênio dissolvido, promovem continuamente a circulação de água nos tubos a partir de ondulações do abdômen e das projeções branquiais (Wang *et al*, 2001).

4) *Chironomus sp.* (Figura 2d) – Diptera. Este grupo, durante sua fase larval, é filtrador, podendo apresentar uma proteína que simula a função da hemoglobina no corpo. Isto permite que esses organismos consigam viver em ambientes com baixas concentrações de oxigênio dissolvido. Os organismos desta espécie constroem tubos no sedimento, onde, a partir das ondulações corporais geram um fluxo de água pelo tubo (Frenzel, 1990).



**Figura 2:** Imagens de indivíduos das espécies utilizadas no estudo (a) *Heleobia australis* (b) *Laeonereis culveri* (c) *Campsurus sp.* (d) *Chironomus sp.* Fotos cedidas por Marcos Paulo Figueiredo Barros, Rodrigo Felix, Danieli Flavia Rossi.

#### 4.2 - COLETA DOS ORGANISMOS

Os organismos foram coletados na lagoa Pitanga, uma lagoa costeira próxima ao Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba ao norte. Esta lagoa sofre tanto influência marinha, quanto de um pequeno aporte de água doce proveniente de um canal, sendo assim, pode variar entre períodos de água salobra e períodos de água doce, influenciando também a comunidade bentônica presente na mesma. Todas as quatro espécies utilizadas foram coletadas no mesmo dia e triadas no próprio local. Para esta coleta foram utilizados tubos de PVC de 10 centímetros de diâmetro. O sedimento foi coletado e lavado em peneiras de dois milímetros para serem lavados com água da própria lagoa enquanto os organismos foram triados. Durante a triagem, todos os organismos encontrados das quatro espécies de interesse eram separados em baldes contendo uma camada de sedimento de aproximadamente 10 centímetros e água. Estes

compartimentos foram mantidos sob constante oxigenação por um dia, até o início das incubações.

### 4.3 - SEDIMENTO

Para este trabalho o sedimento foi retirado da Lagoa Jurubatiba pois a mesma apresentava concentrações de metano no sedimento próximo a  $90 \mu\text{Mol.L}^{-1}$ , valores próximos a esta concentração foi necessário para podermos realizar o experimento. Segue abaixo algumas características abióticas desta lagoa (Tabela 1). O sedimento foi coletado com o auxílio de um amostrador tipo “*core*”, segundo Ambühl & Bührer (1978), sendo utilizado apenas os primeiros 10 centímetros. Todo o sedimento coletado foi transferido para um recipiente de plástico até conter uma camada de 8 centímetros de altura.

Tabela 1: Valores de variáveis abióticas obtidas na Lagoa Jurubatiba em Novembro de 2012.

Variável Abiótica	Valor
Profundidade	3 metros
Disco de Secchi	0,65 metros
Salinidade	0,1 ppt
Oxigênio Dissolvido Superfície	5,11 mg/L
Oxigênio Dissolvido Fundo	4,28 mg/L
Fósforo Total	15,05 $\mu\text{g.L}^{-1}$
Nitrogênio Total	0,77 $\text{mg.L}^{-1}$
Carbono Orgânico Dissolvido	9,89 $\text{mg.L}^{-1}$

### 4.4 - PREPARAÇÃO DO SEDIMENTO

No laboratório o sedimento foi homogeneizado manualmente, com auxílio de uma colher de pau e congelado por 72 horas para eliminar toda comunidade de macroinvertebrados presentes no mesmo, além de formas de resistência e ovos, como proposto por Caliman *et al* (2007). Esta metodologia permite manter grande parte da comunidade microbológica ativa no sedimento. Após este período, o sedimento foi descongelado e novamente homogeneizado, a

ele foram adicionados aproximadamente 40 litros de água mineral. Este sistema ficou mantido sobre constante aeração e na ausência de luz por 15 dias para garantir a reestruturação da comunidade microbiana e do gradiente de oxi-redução do sedimento segundo proposto por Svensson (1998) e Figueiredo-Barros *et al.* (2009). Após 15 dias, 36 tubos de acrílico (microcosmos) com 6 cm de diâmetro foram enterrados aleatoriamente no sedimento e, posteriormente, retirados contendo a camada de sedimento. A água contida nos microcosmos foi novamente trocada por água mineral pura, evitando a interferência do metano difundido ao longo do período de incubação do sedimento.

#### **4.5 - DESENHO EXPERIMENTAL**

Para avaliar o efeito das espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano no sedimento, água e atmosfera, foram utilizados tubos de acrílico com seis centímetros de diâmetro e 30 centímetros de altura. Cada microcosmo continha aproximadamente nove centímetros de sedimento, 10 cm de água, três centímetros de ar atmosférico, um isopor abaixo do sedimento, que funcionou como um êmbolo para empurrar o sedimento no final da incubação, e as tampas superior e inferior (

Figura 3). Este método é uma modificação do proposto por Svensson & Leonardson (1996) e Leal *et al* (2007).

Durante a incubação, os microcosmos foram hermeticamente fechados e com auxílio de hélices, mantidos sobre agitação mínima constante. Todas as tampas superiores dos microcosmos continham acopladas a elas motores com uma pequena hélice que afundava alguns centímetros na água. Todos os motores permaneceram ligados a um regulador de voltagem, o que permitiu controlar a rotação dos mesmos.

Foram utilizados cinco tratamentos, sendo quatro contendo as espécies selecionadas, e um sem macroinvertebrados (controle). Foram feitas seis repetições para cada tratamento e seis microcosmos foram utilizados como as amostras iniciais, totalizando 36 tratamentos.

A densidade utilizada para cada espécie foi determinada com base em valores observados em trabalhos desenvolvidos nas lagoas costeiras da região norte fluminense (dados não publicados). Desta maneira, a distribuição dos organismos nos tratamentos ficou de acordo com a tabela 2.

Tendo em vista que houve diferença entre as densidades de organismos utilizados, por este fato ser considerado importante na intensificação de fluxos de nutrientes (Callisto *et al*, 2009, Caliman, 2012) e que possuem diferenças nos valores de biomassa por unidade de indivíduo em cada tratamento, foi necessário dividir as concentrações de CH<sub>4</sub> obtidas pela biomassa (Peso Seco). Isto permitiu uma avaliação da capacidade de biorrevolvimento por unidade de biomassa (PS) das diferentes espécies avaliadas

**Tabela 2: Número de indivíduos utilizados por tratamento para cada espécie. A medida de densidade utilizada foi: Indivíduos por metro quadrado (Ind/m<sup>2</sup>). Valor da média das biomassas de cada tratamento.**

Espécie	Número de Indivíduos por tratamento	Densidade estimada (Ind/m <sup>2</sup> )	Biomassa média (g)
<i>Heleobia australis</i>	15	5680,22	0,07661
<i>Laeonereis culveri</i>	4	1514,72	0,01347
<i>Campsurus sp.</i>	4	1514,72	0,07352
<i>Chironomus sp.</i>	3	1136,04	0,00189

#### 4.5 - INCUBAÇÃO

Exemplares das quatro espécies de macroinvertebrados bentônicos foram separados e posteriormente, aleatoriamente selecionados e colocados em microcosmos dando início a incubação. Todos os microcosmos foram fechados e a velocidade de rotação das hélices foi mantida a uma rotação constante mínima necessária. Este procedimento permitiu a homogeneização da coluna d'água evitando a estratificação química em função do oxigênio dissolvido conforme proposto por Svensson (1998) e Leal *et al* (2007) sem revolver o sedimento. Após incubar todas os tratamentos (que continham as espécies e os tratamentos controle), os seis microcosmos restantes foram considerados os tratamentos iniciais (destes microcosmos foram retiradas as amostras para quantificação das variáveis em situação inicial).

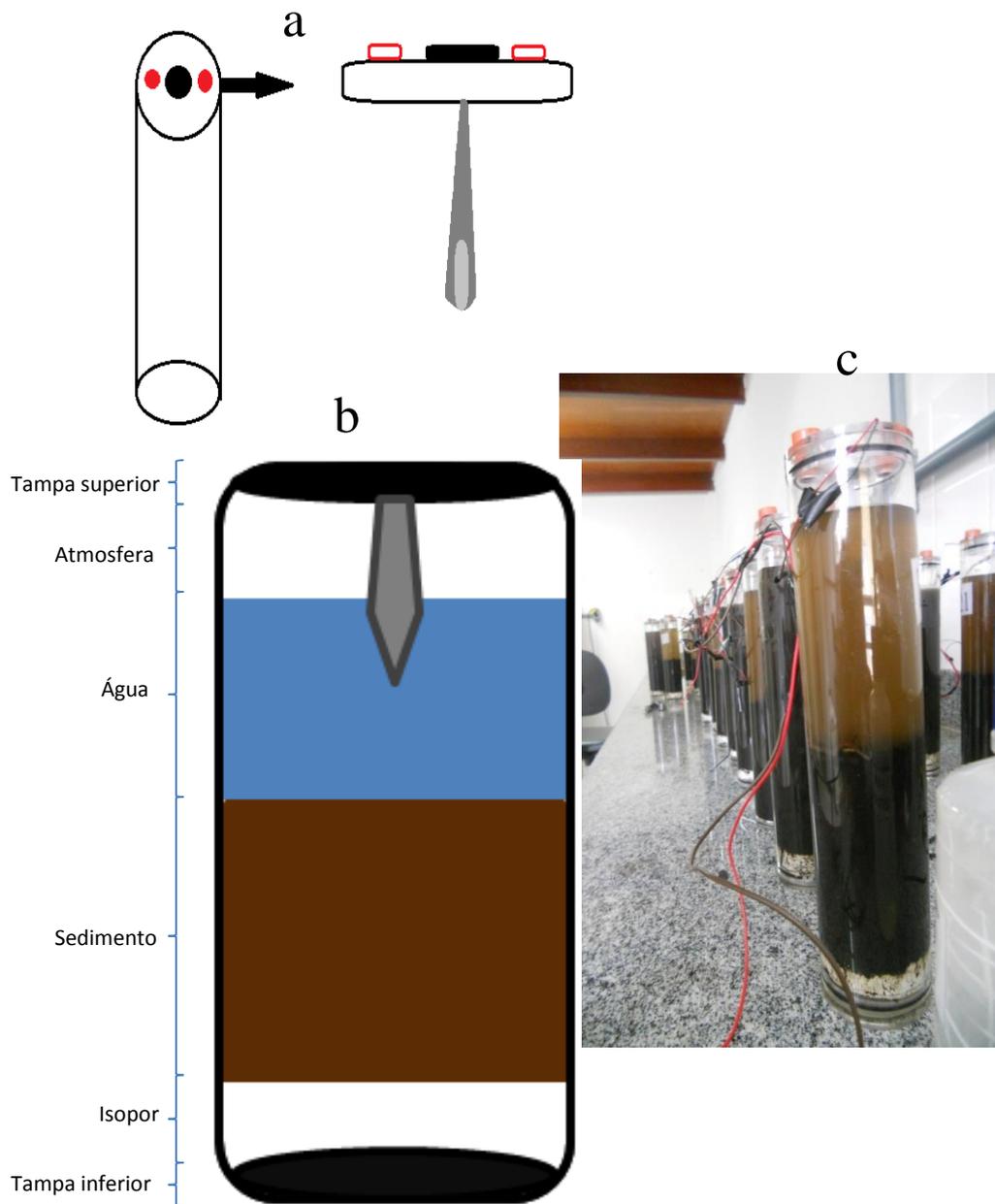


Figura 3: Imagem esquemática da tampa superior com a hélice (a), Esquema mostrando a composição dos microcosmos (b), Foto da distribuição dos microcosmos já em funcionamento (c).

#### 4.6 – PROCEDIMENTOS

Ao término das 16 horas de incubação (tempo suficiente para que os valores de concentração de oxigênio dentro dos tratamentos não fossem menores que 2 mg/L), foram retirados de cada microcosmo, com o auxílio de uma seringa, uma alíquota de três mililitros (mL) de ar para determinação da concentração de metano no mesmo. As seringas foram mantidas refrigeradas até o momento da leitura em cromatografia gasosa. Também foram retirados de cada microcosmo alíquotas de 10 mL de água e injetadas em um tubo de ensaio com pressão negativa contendo dois gramas de sal (NaCl), o que faz com que todo metano da água seja expulso para a atmosfera do tubo de ensaio. Posteriormente, retirou-se cinco mL de ar da atmosfera do tubo de ensaio, a partir daí pode-se verificar a concentração de metano presente na água.

Como última etapa, o sedimento foi fracionado em quatro partes, sendo elas: de zero a dois cm, de dois a quatro cm, de quatro a seis cm e de seis a oito cm. Para cada fração foi retirada uma alíquota de cinco mL de sedimento e transferida para um frasco de penicilina onde foram adicionados três mL de Hidróxido de Sódio 4% (NaOH) para interromper a produção de metano e expulsar o metano para a atmosfera do frasco, destes frascos foram retiradas subamostras em seringas de três mL, o que permitiu determinar a concentração de metano nas frações do sedimento. Para a determinação do conteúdo de água intersticial em cada fração do sedimento, foram coletadas amostras de sedimento em cada fração de cada tratamento e acondicionados em frascos previamente pesados, esses frascos foram novamente pesados para obtenção do peso úmido e depois foram levados à estufa a 60 °C por três dias. O valor de água intersticial foi calculado pela razão entre peso seco e peso úmido.

Todos os organismos utilizados no experimento foram novamente capturados após a incubação e colocados em recipientes previamente pesados e identificados. Estes frascos foram então, inicialmente, colocados no refrigerador, para anestésiar os organismos, depois, estes foram levados à estufa a 60°C por três dias ou até não ocorrer mais variação no peso seco. Após esse período, eles foram pesados para a obtenção da biomassa em peso seco dos organismos presentes em cada microcosmo.

#### 4.7 - CÁLCULOS DAS CONCENTRAÇÕES

A partir das seringas contendo as alíquotas de ar das amostras do sedimento, água, e da atmosfera do microcosmo foram estimadas as concentrações de CH<sub>4</sub> através de cromatografia gasosa utilizando um cromatógrafo Shimadzu modelo GC-2010 com coluna cromatográfica de 30 metros a 35°C, injetor a 120°C e detetor FID a 100°C, sendo utilizado Nitrogênio como gás de arraste. Foi utilizado o programa GC-Solution para determinação da área dos cromatogramas.

A partir das áreas dos picos de CH<sub>4</sub> foi calculado a concentração do mesmo em cada uma das amostras. Para isso, foi utilizada a seguinte fórmula:

$$C_P \times A_A = X \times A_P$$

Onde: C<sub>p</sub> = Concentração do padrão

A<sub>a</sub> = Área do cromatograma da amostra

X = Concentração da amostra

A<sub>p</sub> = Área do cromatograma do padrão

A partir da concentração encontrada utilizando-se a fórmula acima, foi calculada a concentração de metano em cada compartimento, exceto para a atmosfera que é o próprio valor encontrado.

Água:

$$\frac{C \times V}{A}$$

Onde: C = Concentração de CH<sub>4</sub>;

V = Volume da atmosfera do tubo de ensaio;

A = Volume da alíquota retirada.

Sedimento:

$$\frac{C \times V}{S \times I}$$

Onde: C = Concentração de CH<sub>4</sub>;

V = Volume da atmosfera do frasco de penicilina;

S = Volume de sedimento utilizado;

I = Volume de água intersticial no sedimento.

#### **4.8 - ANÁLISES ESTATÍSTICAS**

Em todas as análises estatísticas feitas considerou-se um nível de significância de 0,05. Para testar o efeito das espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de CH<sub>4</sub> na atmosfera foi utilizada uma Kruskal-Wallis ANOVA com um posterior teste de DUNN. Para testar o efeito das espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de CH<sub>4</sub> na água, utilizou-se uma One-Way ANOVA com teste posterior de Tukey. Para verificar se houve efeito das espécies de macroinvertebrados bentônicos, da profundidade do sedimento e da interação entre as espécies e a profundidade sobre a concentração de CH<sub>4</sub>, foi utilizada uma ANOVA de medidas repetidas com teste posterior de Tukey, sendo utilizada a profundidade como fator repetido. A transformação para Log<sub>10</sub>(X) foi utilizada em alguns resultados para que os dados apresentem distribuição normal. O programa STATISTICA v 7.0 (StatSoft Inc., 2001) foi usado para as análises estatísticas, além do Microsoft Excel V. 2007.

## 5 - RESULTADOS

### 5.1 - COMPORTAMENTO DOS INDIVÍDUOS

A maioria dos indivíduos de todas as espécies se mostraram ativos após a incubação. Indivíduos de algumas espécies, como *Campsurus sp.* logo se enterraram no sedimento, enquanto os indivíduos de *H. australis* permaneceram sobre a superfície do sedimento. Indivíduos de *L. culveri* hora se encontravam enterrados, hora se deslocando sobre a superfície do sedimento. Indivíduos de *Chironomus sp.* por serem pequenos não foi possível perceber o deslocamento dos mesmos nos microcosmos, porém é possível afirmar que eles se enterraram no sedimento por causa da quantidade de materiais em suspensão presente nos microcosmos. Os microcosmos da espécie *Campsurus sp.* foram os que apresentaram, visivelmente, maiores quantidades de partículas em suspensão, sendo seguido pelos microcosmos de *Chironomus sp.* e por *L.culveri*. Microcosmos com *H. australis* apresentaram maior transparência da água.

Ao término do experimento foi observado em qual fração do sedimento se encontravam os indivíduos de cada espécie (Tabela 3), na primeira fração (0-2 cm), mais especificamente na superfície. Foi encontrado grande parte dos indivíduos de *H.australis* que também apresentou poucos indivíduos encontrados na segunda fração. Além dessa espécie, ainda foram encontrados na primeira fração, porém, em menor quantidade, indivíduos de *Chironomus sp.*(que também foi encontrado na segunda e na terceira) e *L. culveri*, que foi a única espécie do experimento que foi encontrado em todas as frações do sedimento. Não foram encontrados indivíduos de *Campsurus sp.* na primeira fração, sendo encontrado a partir da segunda, ocorrendo em maior quantidade na terceira fração.

Foi calculada a biomassa dos organismos presentes em cada microcosmo dos tratamentos, *Chironomus sp.* apresentou o menor peso seco, seguido por *L. culveri*, *Campsurus sp.* e *H. australis* respectivamente. Os pesos variaram de 0,0015g até 0,0882g (Tabela 4).

**Tabela 3: Ocorrência dos indivíduos de cada espécie nas frações do sedimento, as linhas correspondem as frações do sedimento, 1ª de zero a dois centímetros, 2ª dois a quatro, 3ª quatro a seis, 4ª seis a oito. Os números correspondem a porcentagem de indivíduos encontrada em cada fração.**

Fração	<i>H. australis</i>	<i>L. culveri</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>Campsurus sp.</i>
1ª (0-2)	89%	25%	50%	0%
2ª (2-4)	11%	30%	28%	33%
3ª (4-6)	0%	25%	22%	50%
4ª (6-8)	0%	20%	0%	17%

**Tabela 4: Peso seco total (PS) dos organismos em cada tratamento, os pesos estão em gramas (g).**

<i>H. australis</i>	<i>Chironomus sp.</i>	<i>L. culveri</i>	<i>Campsurus sp.</i>
0,0754	0,0017	0,0114	0,0662
0,0710	0,0020	0,0121	0,0801
0,0730	0,0015	0,0195	0,0685
0,0763	0,0019	0,0108	0,0690
0,0757	0,0016	0,0105	0,0761
0,0882	0,0027	0,0166	0,0812

## **5.2 - EFEITO DE DIFERENTES ESPÉCIES DE MACROINVERTEBRADOS SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CH<sub>4</sub> NOS COMPARTIMENTOS SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA**

### **5.2.1 – SEDIMENTO**

Em relação às concentrações de CH<sub>4</sub> nas frações do sedimento foi estatisticamente encontrado que não há interação entre frações do sedimento e espécies de macroinvertebrados, sendo que há diferença estatística entre as frações do sedimento e entre as espécies utilizadas (Tabela 5), como resposta da análise RM-ANOVA.

Como resultado do teste de TUKEY, temos que apenas a primeira fração do sedimento (de zero a dois centímetros) é estatisticamente diferente das outras na concentração de CH<sub>4</sub> (Figura 4), que os tratamentos contendo *Campsurus sp.* e *Chironomus sp.* se diferenciaram do tratamento controle e do tratamento com *H. australis* na concentração de CH<sub>4</sub> nas frações do

sedimento, sendo iguais apenas ao tratamento contendo *L.culveri* (Figura 4). Este tratamento não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação ao tratamento controle. O tratamento contendo *H. australis* foi estatisticamente diferente de todos os outros tratamentos contendo macroinvertebrados bentônicos, sendo estatisticamente igual apenas ao tratamento controle (Figura 4).

**Tabela 5: Sumário da análise estatística RM-ANOVA usada para testar os efeitos individuais e combinados das espécies de macroinvertebrados e a profundidade do sedimento sobre a concentração de metano. Tratamentos significa as diferentes espécies utilizadas, Fração significa a profundidade do sedimento, Fração x Tratamentos está testando o efeito interativo entre estes dois fatores. df=Graus de liberdade, MS= quadrados das médias, F= valor estatístico calculado, p= representa a probabilidade da diferença observada entre os dados ser devido ao acaso.**

	df	MS	F	P
Tratamentos	4	4,5198	8,8429	0,0001
Erro	25	0,511		
Fração	3	6,2381	14,9314	< 0,0001
Fração x Tratamentos	12	0,4546	1,088	0,3825
Erro	75	0,4178		

O único tratamento que apresentou concentrações de CH<sub>4</sub> maior que o tratamento controle, em todas as frações do sedimento, foi o tratamento contendo *H.australis* (Figura 4), os tratamentos contendo as outras espécies apresentaram em todas as frações do sedimento, concentração de CH<sub>4</sub> menor que o tratamento controle (Figura 4). Apenas o tratamento contendo *Campsurus sp.* apresentou, na quarta fração (de seis a oito centímetros), concentrações de CH<sub>4</sub> maiores que o tratamento controle.

Na primeira fração, os tratamentos contendo *Campsurus sp* e *Chironomus sp.* apresentaram os menores valores de concentração de CH<sub>4</sub> (Figura 4), com valores médios próximos a 3,5 µmol L<sup>-1</sup>, cerca de 130 vezes menor que a média da concentração do tratamento contendo *H.australis*, que foi de 460 µmol L<sup>-1</sup>. O tratamento controle apresentou média da concentração de CH<sub>4</sub> próxima à 150µmol L<sup>-1</sup>, concentração aproximadamente 10 vezes maior que a encontrada no tratamento com *L. culveri* (Figura 4).

Ao observarmos a segunda fração (de dois a quatro centímetros) apenas o tratamento com *H. australis* não apresentou a concentração de CH<sub>4</sub> maior do que na primeira fração (Figura

4), porém permanece sendo o tratamento que apresentou maiores valores de concentração de CH<sub>4</sub> (390 μmol L<sup>-1</sup>), sendo este valor, aproximadamente, seis vezes maior do que os obtidos nos tratamentos com *Chironomus sp.* (68 μmol L<sup>-1</sup>) e *L.culveri* (62 μmol L<sup>-1</sup>). A média da concentração de CH<sub>4</sub> no tratamento contendo *Campsurus sp.* apresentou o maior aumento em relação aos valores obtidos na primeira fração, cerca de 80 vezes maior (Figura 4). O tratamento controle apresentou concentração próxima ao tratamento com *Campsurus sp.* 352 μmol L<sup>-1</sup> e 282 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente.

Na terceira fração (de quatro a seis centímetros) houve um aumento na concentração de CH<sub>4</sub> em praticamente todos os tratamentos, apenas o tratamento contendo *Campsurus sp.* apresentou uma diminuição na concentração de CH<sub>4</sub>, sendo aproximadamente cinco vezes menor do que na fração acima, com 58 μmol L<sup>-1</sup> de CH<sub>4</sub> (Figura 4), foi o tratamento com os menores valores de concentração de CH<sub>4</sub>, sendo aproximadamente duas vezes menor do que os tratamentos contendo *Chironomus sp.* e *L.culveri*, 119 e 129 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente. O tratamento contendo *H. australis* apresentou a maior concentração de CH<sub>4</sub>, sendo aproximadamente o dobro da concentração obtida no tratamento controle (792 e 465 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente) (Figura 4).

A quarta fração do sedimento (de seis a oito centímetros) foi a que apresentou, em média, os maiores valores de concentração de CH<sub>4</sub> o tratamento contendo *H. australis* apresentou a maior concentração de CH<sub>4</sub>, 849 μmol L<sup>-1</sup>, sendo este valor, sete vezes maior do que o obtido no tratamento contendo *L. culveri* (Figura 4), 115 μmol L<sup>-1</sup>, que foi o tratamento que apresentou a menor concentração de CH<sub>4</sub>, sendo seguido pelo tratamento contendo *Chironomus sp* que apresentou 161 μmol L<sup>-1</sup>, o tratamento contendo *Campsurus sp.* apresentou concentração de CH<sub>4</sub> igual a 465 μmol L<sup>-1</sup>, concentração esta, maior que a encontrada no tratamento controle, 319 μmol L<sup>-1</sup>.

Todas as espécies utilizadas apresentaram efeito sobre a concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento em relação ao tratamento controle (Tabela 6), sendo o tratamento com *H. australis* o único que apresentou aumento na concentração de CH<sub>4</sub>, com valores médios de 623 μmol L<sup>-1</sup> enquanto o tratamento controle apresentou 323 μmol L<sup>-1</sup>. O tratamento com *Campsurus sp.* diminuiu a concentração em torno de 50% em relação ao tratamento controle, apresentando média de 145 μmol L<sup>-1</sup>. O tratamento com *L.culveri* apresentou média de 80 μmol L<sup>-1</sup>, concentração de CH<sub>4</sub> cerca de quatro vezes menor que a obtida para o tratamento controle. O tratamento com *Chironomus sp.* apresentou a menor média, sendo esta 56 μmol L<sup>-1</sup>.

Tabela 6: Média e  $\pm$  Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento para cada tratamento. Letras (A, B, C) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.

Espécie	Média ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$\pm$ Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	623,74	230,71	b
<i>L. culveri</i>	80,38	52,36	a – c
<i>Campsurus sp.</i>	145,58	202,58	a – c
<i>Chironomus sp.</i>	88,11	67,78	c
Controle	323,75	127,59	a – b

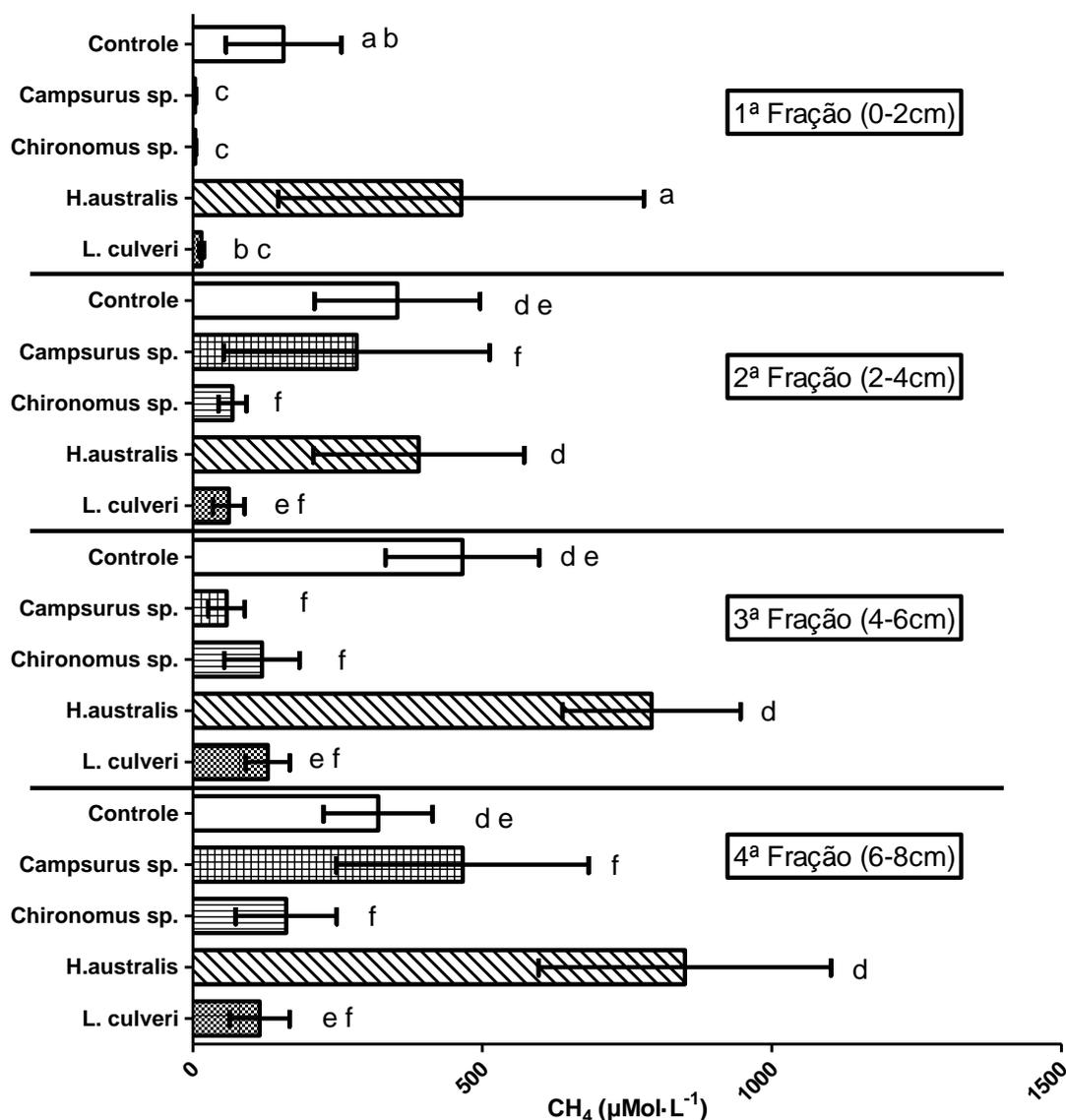


Figura 4: Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados na concentração de metano em diferentes profundidades do sedimento. Barras representam as médias e linhas o desvio padrão. Controle refere-se ao tratamento sem macroinvertebrados, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

Estatisticamente (Figura 5), de acordo com o resultado do teste ANOVA ONE-WAY com teste posterior de TUKEY, mesmo apresentando valores de média o dobro dos valores do controle (Tabela 6), *H.australis* é igual ao controle, porém diferente de todas as outras espécies. Apenas *Chironomus sp.* foi estatisticamente diferente do controle.

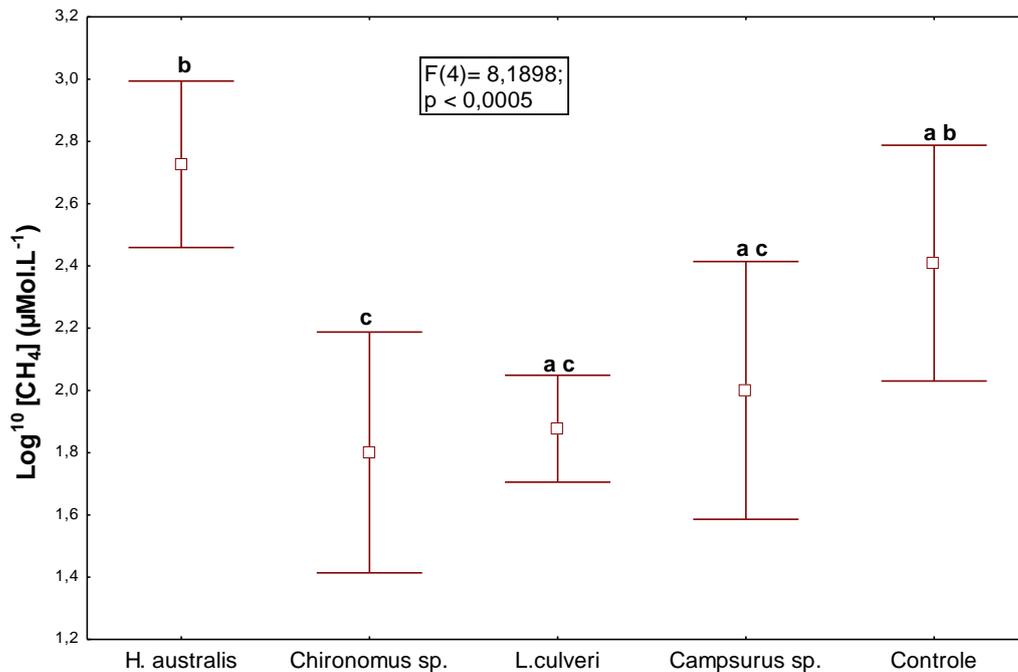


Figura 5: Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano no sedimento, o valor da concentração foi calculado a partir da média da concentração nas frações de cada microcosmo referente a cada tratamento, controle refere-se aos tratamentos sem macroinvertebrados. Barras correspondem o desvio padrão e a caixa representa média, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

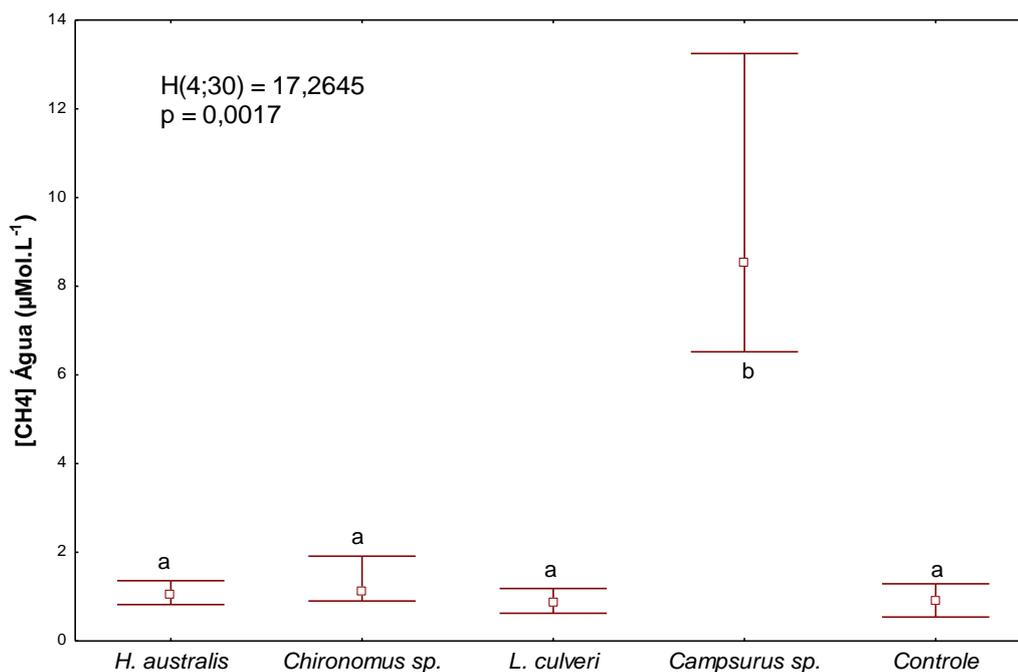
### 5.2.2 - COLUNA D'ÁGUA

Praticamente todos os tratamentos foram estatisticamente iguais em relação à concentração de CH<sub>4</sub> na coluna d'água, de acordo com o resultado do teste Kruskal-Wallis ANOVA com teste posterior de DUNN (Figura 6). Apenas o tratamento contendo *Campsurus sp.* apresentou diferença estatisticamente significativa em relação aos outros tratamentos. *Campsurus sp.* apresentou uma concentração aproximadamente 10 vezes maior que os outros tratamentos. A variação da concentração de CH<sub>4</sub> entre os tratamentos que apresentaram os valores mais baixos (*L. culveri*, *Chironomus sp.*, Controle e *H. australis*) foi de

aproximadamente  $0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$  (Tabela 7), sendo  $0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$  no tratamento com *L. culveri* e  $1,3 \mu\text{mol L}^{-1}$  no tratamento com *Chironomus sp.*, o tratamento controle apresentou valor de  $0,9 \mu\text{mol L}^{-1}$  e *H. australis*  $1,0 \mu\text{mol L}^{-1}$ .

**Tabela 7: Média e  $\pm$  Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de  $\text{CH}_4$  na água para cada tratamento. Letras (A, B) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.**

Espécie	Média ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	$\pm$ Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	1,064	0,177	a
<i>L. culveri</i>	0,885	0,186	a
<i>Campsurus sp.</i>	8,893	1,876	b
<i>Chironomus sp.</i>	1,325	0,456	a
Controle	0,905	0,272	a



**Figura 6: Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano na coluna d'água, controle refere-se aos tratamentos sem macroinvertebrados. Barras correspondem aos valores mínimo e máximo, caixas correspondem a mediana, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.**

### 5.2.3 – ATMOSFERA

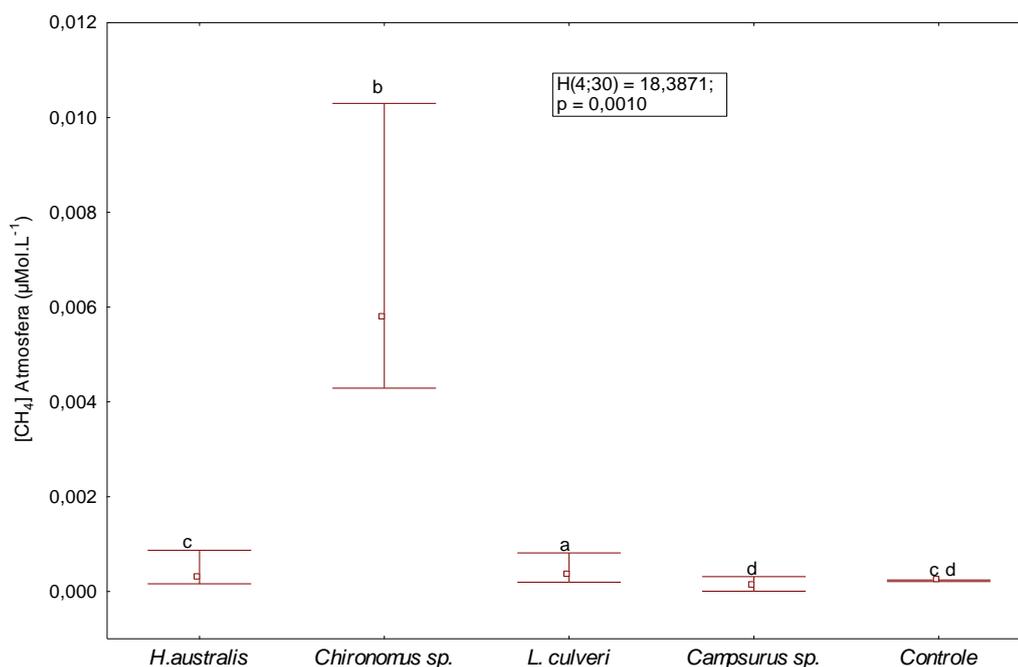
O tratamento contendo *Chironomus sp.* apresentou a maior média de concentrações de CH<sub>4</sub> (Tabela 8), com valor médio de 0,0063 μmol L<sup>-1</sup>, cerca de quarenta vezes maior que a média do tratamento contendo *Campsurus sp.*, que apresentou o menor valor (0,00014 μmol L<sup>-1</sup>). O tratamento controle apresentou valor de 0,00022 μmol L<sup>-1</sup>, sendo seguido pelos tratamentos contendo *H. australis* e *L. culveri* com 0,00037 e 0,00039 μmol L<sup>-1</sup>, respectivamente (Tabela 8). O tratamento controle foi o que apresentou a menor variação entre as réplicas. Estatisticamente (Kruskal-Wallis ANOVA com teste posterior de DUNN) o tratamento contendo *Chironomus sp.* foi diferente de todos os outros tratamentos, assim como o tratamento com *L. culveri*. O tratamento controle foi estatisticamente igual ao *H. australis* e ao *Campsurus sp.* sendo estes, diferentes entre si (Figura 7).

**Tabela 8: Média e ± Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de CH<sub>4</sub> na atmosfera para cada tratamento. Letras (A, B, C) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.**

Espécie	Média(μmol L <sup>-1</sup> )	± Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	0,000378	0,000261	c
<i>L. culveri</i>	0,000396	0,000225	a
<i>Campsurus sp.</i>	0,000148	0,000121	d
<i>Chironomus sp.</i>	0,006393	0,002162	b
Controle	0,000228	0,000011	c – d

### 5.2.4 – ACOPLAMENTO DOS COMPARTIMENTOS SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA

Em relação aos compartimentos, foi possível observar que na água e na atmosfera os tratamentos com macroinvertebrados bentônicos apresentaram valores de concentração de CH<sub>4</sub> superiores aos obtidos para o tratamento controle, menos o tratamento com *Campsurus sp.*, que apresentou concentrações de CH<sub>4</sub> inferiores ao obtido na atmosfera do tratamento controle. Pode-se perceber que há diferença em relação à ordem de grandeza das concentrações de CH<sub>4</sub> nos diferentes compartimentos, no sedimento foi possível obter valores de concentração de CH<sub>4</sub> cerca de 100 vezes maiores que os valores de concentração obtidos na água. Que por sua vez, obteve valores de concentração de CH<sub>4</sub> 1000 vezes maiores que os valores de concentração de CH<sub>4</sub> obtidos na atmosfera (Figura 8).



**Figura 7: Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano na atmosfera do microcosmo, controle refere-se aos tratamentos sem macroinvertebrados. Barras correspondem aos valores mínimo e máximo, caixas correspondem à mediana, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.**

### **5.3 - DIFERENÇA ENTRE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS, QUE APRESENTAM, DISTINTOS MODOS DE FORRAGEIO, SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CH<sub>4</sub> POR BIOMASSA SECA**

#### **5.3.1 – SEDIMENTO**

Ao compararmos o efeito de cada espécie estudada na concentração de CH<sub>4</sub> do sedimento, foi possível observar que o tratamento contendo *Chironomus sp.* apresenta as maiores concentrações de CH<sub>4</sub> por biomassa seca neste compartimento, 41762 μmol L<sup>-1</sup>/gPS (Tabela 9), sendo estatisticamente diferente das outras espécies (ANOVA ONE-WAY teste posterior de Tukey)( Figura 9 ). Este tratamento apresentou valores de concentração de CH<sub>4</sub> por peso seco 15 vezes maior do que a concentração encontrada para o tratamento contendo *Campsurus sp.*, que apresentou a menor média (2684 μmol L<sup>-1</sup>/PS). O tratamento com *H.*

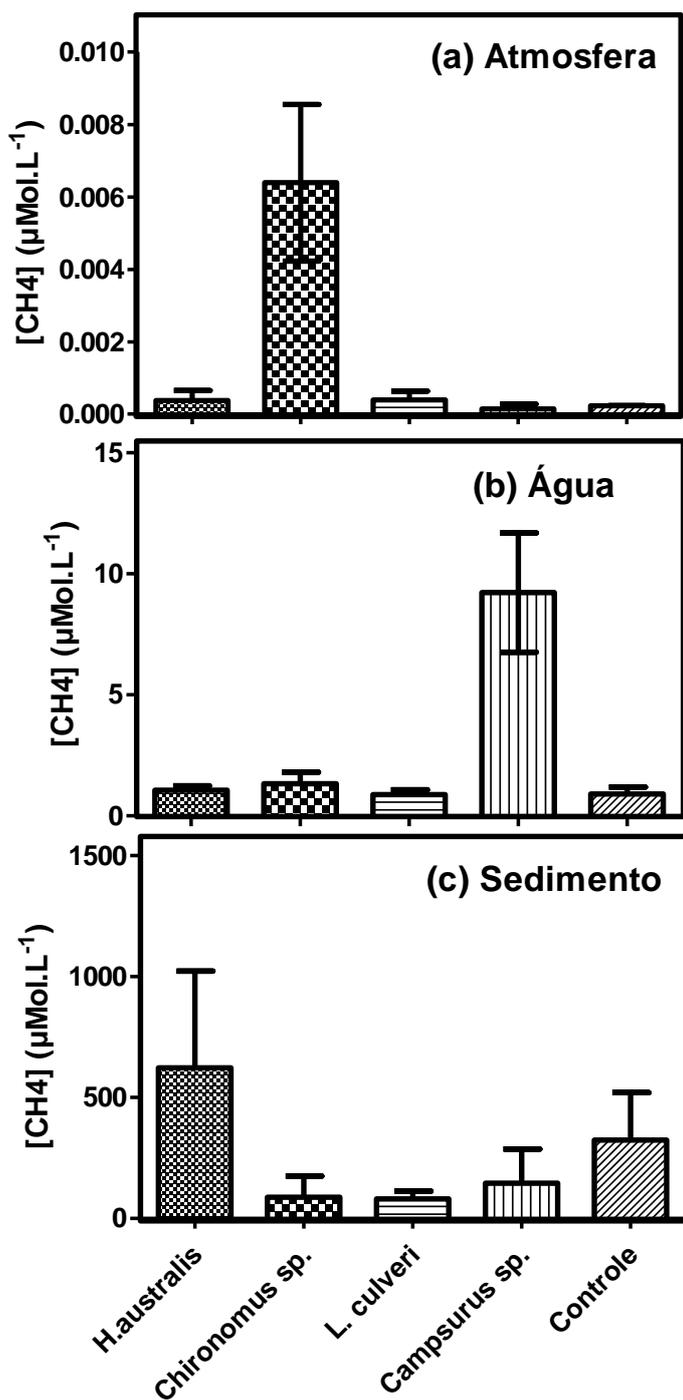
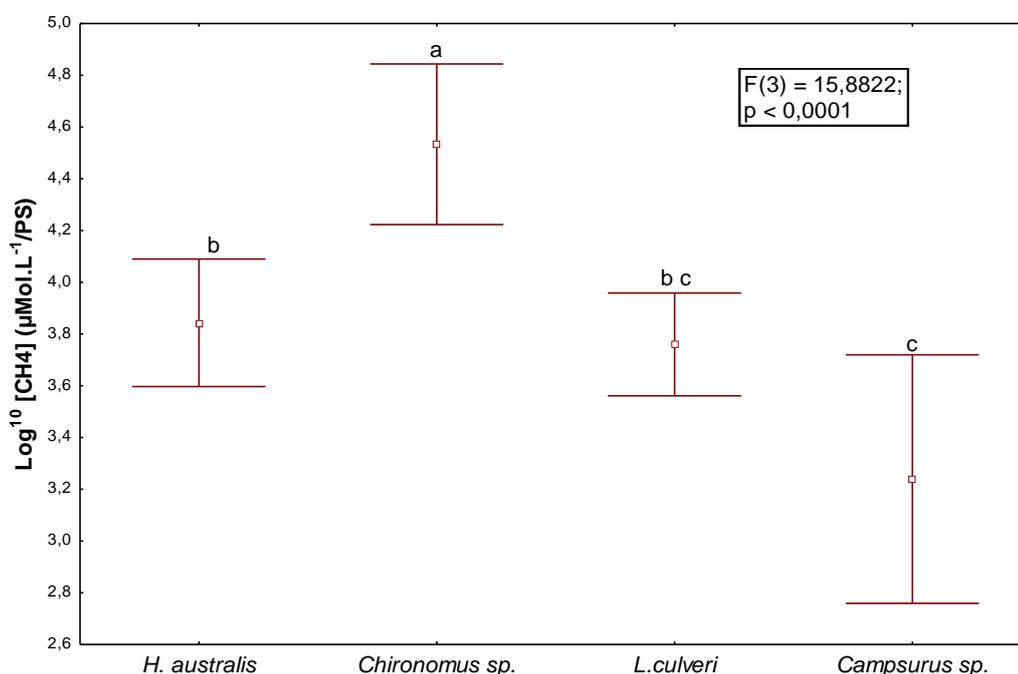


Figura 8: Efeito de diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano na (a) atmosfera, (b) água e (c) sedimento dos microcosmos utilizados no experimento. O valor da concentração encontrado no sedimento equivale a média da concentração nas frações do sedimento de cada microcosmo referente a cada tratamento. Controle refere-se aos tratamentos sem macroinvertebrados. Barras correspondem a média das amostras e as linhas o desvio padrão.

*australis* foi estatisticamente igual apenas ao tratamento com *L. culveri*, que também foi igual ao tratamento com *Campsurus sp.* O tratamento com *H.australis* apresentou valor de concentração de CH<sub>4</sub> por peso seco igual á 7968 μmol L<sup>-1</sup>/PS, sendo seguido pelo tratamento com *L. culveri* (6219 μmol L<sup>-1</sup>/PS).

**Tabela 9: Média e  $\pm$  Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento por biomassa seca para cada tratamento. Letras (A, B, C) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.**

Espécie	Média ( $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{PS}$ )	$\pm$ Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	7968,96	4494,13	b
<i>L. culveri</i>	6219,90	2461,76	b – c
<i>Campsurus sp.</i>	2684,44	2271,20	c
<i>Chironomus sp.</i>	41762,28	28345,65	a



**Figura 9: Diferença na concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento entre os tratamentos estudados. O valor da concentração foi calculado dividindo o valor da concentração em cada microcosmo pelo peso seco (PS) de indivíduos presentes no mesmo. Barras correspondem o desvio padrão e a caixa representa média, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.**

### 5.3.2 - COLUNA D'ÁGUA

Para a coluna d'água *H. australis* apresentou os menores valores de CH<sub>4</sub> por biomassa, com média de 13,97  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$  (Tabela 10) que é aproximadamente 50 vezes menor do que o valor médio encontrado para *Chironomus sp.* 755,34  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ . Estatisticamente todos os tratamentos foram diferentes. (ANOVA ONE-WAY, posterior teste Tukey, Figura 10).

*Campsurus sp.* apresentou média de 126,41  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ , *L. culveri* apresentou média 71,70  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ .

Tabela 10: Média e  $\pm$  Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de  $\text{CH}_4$  na água por biomassa seca para cada tratamento. Letras (A, B, C, D) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.

Espécie	Média ( $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ )	$\pm$ Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	13,975	2,716	a
<i>L. culveri</i>	71,706	28,408	c
<i>Campsurus sp.</i>	126,413	36,816	d
<i>Chironomus sp.</i>	755,341	366,534	b

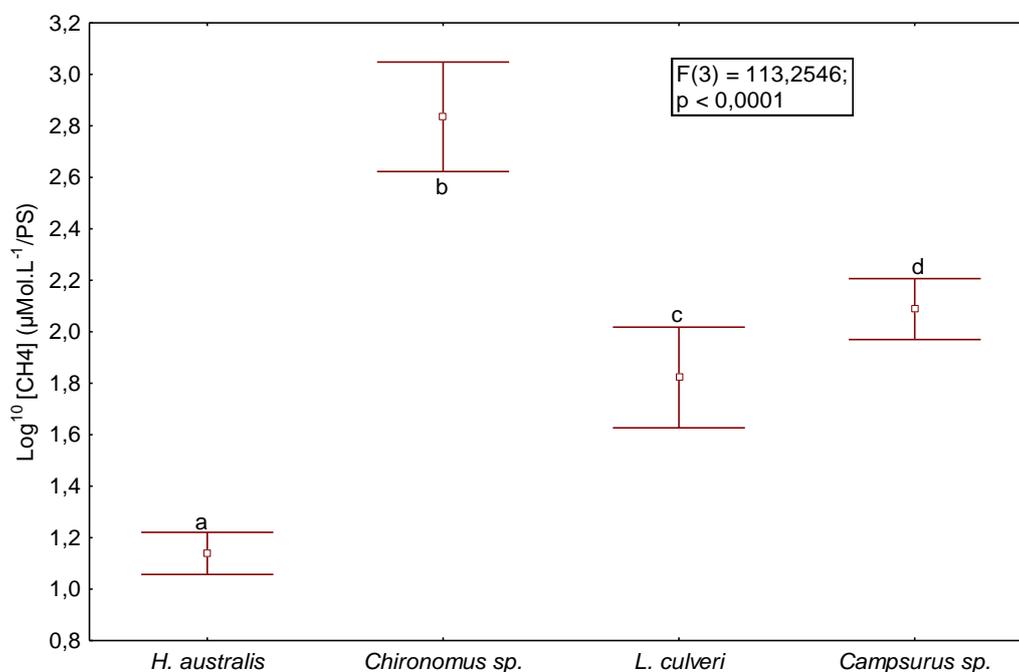


Figura 10: Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano por peso seco na coluna d'água. Barras correspondem ao desvio padrão, caixas correspondem à média, tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

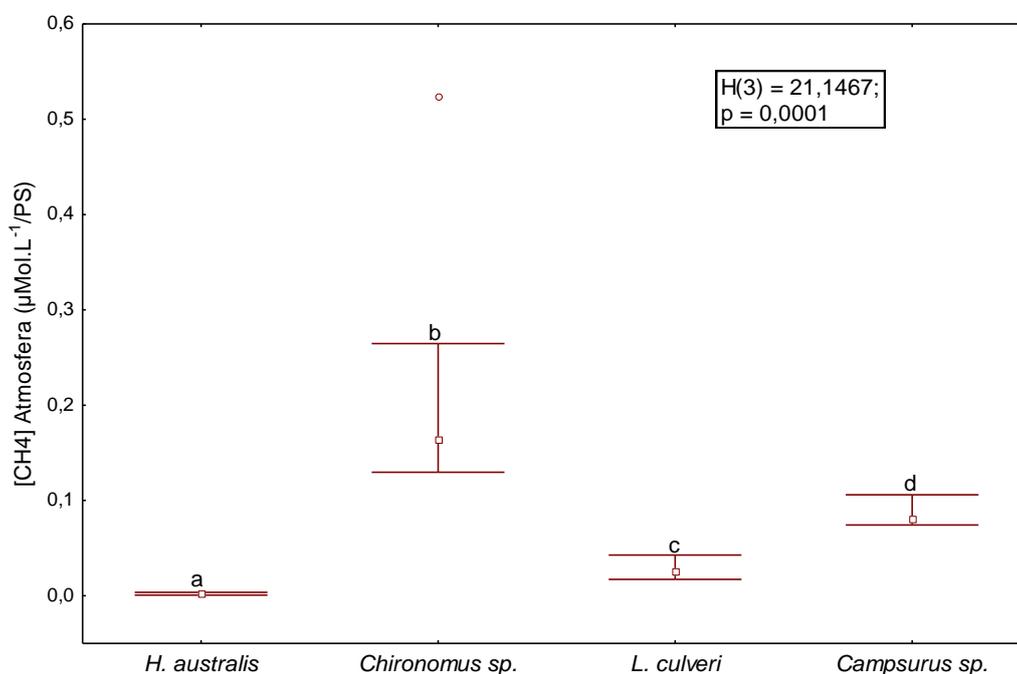
### 5.3.3 - ATMOSFERA

Neste compartimento também encontramos que todos os tratamentos foram estatisticamente diferentes (ANOVA ONE-WAY, posterior teste de Tukey, Figura 11), sendo *Chironomus sp.* o tratamento que apresentou o maior valor, com média igual a 0,22  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$  (Tabela 11), esse valor corresponde a aproximadamente 110 vezes o menor valor, que

foi no tratamento com *H. australis* 0,0019  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{PS}$ , *L. culveri* apresentou 0,028  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ , e *Campsurus sp.* 0,086  $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ .

**Tabela 11:** Média e  $\pm$  Desvio Padrão dos resultados obtidos de concentração de  $\text{CH}_4$  na atmosfera por biomassa seca para cada tratamento. Letras (A, B, C, D) diferentes correspondem a valores estatisticamente diferentes.

Espécie	Média ( $\mu\text{mol L}^{-1}/\text{gPS}$ )	$\pm$ Desvio Padrão	Diferenças significativas
<i>H. australis</i>	0,001980	0,001661	a
<i>L. culveri</i>	0,028729	0,016398	c
<i>Campsurus sp.</i>	0,086770	0,025838	d
<i>Chironomus sp.</i>	0,224222	0,156499	b



**Figura 11:** Efeito das diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano por peso seco na atmosfera do microcosmo. Barras correspondem à 95% dos dados, caixas correspondem à mediana, o ponto extremo corresponde a um outlier. Tratamentos identificados com letras diferentes são estatisticamente diferentes.

### 5.3.4 – ACOPLAMENTO DOS COMPARTIMENTOS SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA

Foi possível observar que em todos os compartimentos o tratamento com *Chironomus sp.* foi o que apresentou os maiores valores de  $\text{CH}_4$  por peso seco (Figura 12). *H. australis* foi a espécie que menos influenciou na concentração de  $\text{CH}_4$  nos compartimentos aquático e

atmosfera. Todas as quatro espécies apresentaram o mesmo padrão de concentração no compartimento aquático e na atmosfera. Também foi possível verificar a diferença nas ordens de grandeza entre as concentrações nos compartimentos, no sedimento encontramos valores cerca de 80 vezes maior do que os valores encontrados na água, este compartimento apresentou valores cerca de 2000 vezes maior do que os valores encontrados na atmosfera.

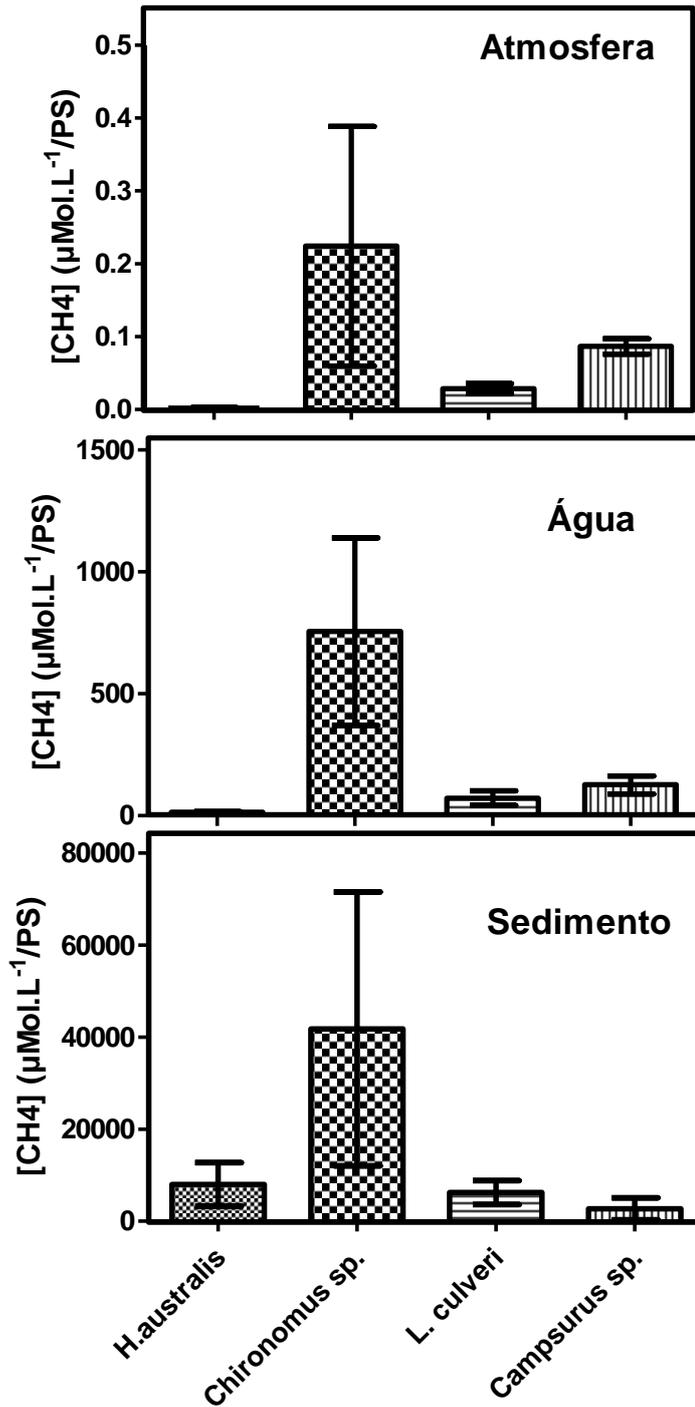


Figura 12: Efeito de diferentes espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de metano por peso seco na (a) atmosfera, (b) água e (c) sedimento dos microcosmos utilizados no experimento. O valor da concentração encontrado no sedimento equivale a média da concentração nas frações do sedimento de cada microcosmo referente a cada tratamento. Barras correspondem a média das amostras e as linhas o desvio padrão.

## 6 - DISCUSSÃO

### 6.1 - EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO POR MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE METANO NO SEDIMENTO

O efeito do biorrevolvimento das espécies de macroinvertebrados bentônicos estudadas sobre a concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento foi diferenciado para cada espécie. O Gastropoda, *H. australis*, que forrageia somente a superfície do sedimento, teve um efeito contrário quando comparado com as espécies que forrageiam as camadas profundas do sedimento, como *L.culveri*, *Chironomus sp.* e *Campsurus sp.*

A concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento colonizado por *H. australis* aumentou cerca de duas vezes em relação ao controle, sendo este efeito observado em todas as profundidades do sedimento. Outros estudos com indivíduos de *H. australis* já demonstraram que essa espécie não apresenta efeitos consideráveis sobre o processo de biorrevolvimento em relação às outras espécies que forrageiam camadas mais profundas do sedimento (Figueiredo-Barros, 2004, Caliman *et al*, 2007).

Os resultados obtidos nesta pesquisa demonstraram a baixa capacidade de remoção de CH<sub>4</sub> do sedimento da espécie *H. australis*. No entanto, houve um efeito de aumento da concentração do mesmo ao longo do perfil do sedimento, demonstrando importante efeito sobre o ciclo do carbono e fluxo de CH<sub>4</sub>. O aumento da concentração de CH<sub>4</sub>, resultante do processo de biorrevolvimento, por *H. australis* pode ser atribuído a três fatores, a saber: i) baixa capacidade de liberação de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água através do biorrevolvimento, ii) baixa capacidade de oxigenar as camadas inferiores diminuindo a metanotrofia e estimulando a metanogênese e iii) Aumento do fornecimento de substrato orgânico através da deposição de fezes estimulando a metanogênese. Segundo Brusca & Brusca (2007), os gastrópodes apresentam a abertura do ânus na porção anterior do corpo. Sendo assim, ao excretarem suas fezes esses organismos podem, ainda, fragmentar as mesmas, disponibilizando um substrato orgânico mais lábil.

Considerando somente o efeito de *H. australis* sobre a concentração de CH<sub>4</sub> na superfície do sedimento (0-2cm) foi possível observar o mesmo padrão quando comparado ao estudo que

avaliou o efeito de *Heteromastus similis* (Polychaeta: Capitellidae). Figueiredo-Barros *et al.* (2009) observaram que o aumento da concentração de CH<sub>4</sub> nas camadas superficiais do sedimento (0-2cm) pode ser intensificado pela deposição de pelotas fecais de *H. similis* sobre a superfície do mesmo. Os autores sugerem que estas pelotas fecais podem diminuir a concentração de oxigênio e aumentar a disponibilidade de substrato e a metanogênese no local, causando elevação da concentração de CH<sub>4</sub> (Figura 13). Desta forma, por depositar suas fezes na camada superficial, é possível propor que *H. australis* causa o mesmo efeito sobre o sedimento, conforme proposto pelos autores acima citados.

No entanto, ainda comparando o tratamento com *H. australis*, quando é analisada a concentração de CH<sub>4</sub> ao longo do perfil vertical do sedimento, esta espécie intensificou o aumento de CH<sub>4</sub> em todas as camadas até 8cm de profundidade. Este resultado demonstra o efeito inverso ao que foi observado em outros estudos experimentais como o estudo de Figueiredo-Barros, *et al.* (2009) com *H. similis* e Leal *et al.* (2007) com *Campsurus notatus*, onde foi observada uma redução da concentração de CH<sub>4</sub> em camadas inferiores do sedimento quando colonizados por estes organismos. Demonstrando que dependendo do grupo de macroinvertebrados bentônico estudado, teremos diferentes efeitos sobre a concentração de CH<sub>4</sub> no perfil do sedimento, e que este efeito pode estar relacionado com o modo de forrageio das espécies. Porém estes trabalhos utilizaram apenas uma espécie de macroinvertebrado bentônico e neste trabalho utilizamos quatro espécies e com diferentes modos de forragear o sedimento.

Os tratamentos contendo os macroinvertebrados *Chironomus* sp. e *Campsurus* sp., que forrageiam o sedimento nas camadas mais profundas, mostraram efeito contrário ao que foi observado para *H. australis* mas semelhante ao que fora observado por Leal *et al.* (2007) e Figueiredo-Barros (2009).

No presente estudo o biorrevolvimento promovido nos tratamentos com estes organismos (*Chironomus* sp. e *Campsurus* sp.), causou a redução das concentrações de CH<sub>4</sub> em 4,0 e 1,6 vezes em relação ao controle e significativamente menor que o tratamento com *Heleobia australis*. Leal *et al.* (2005) em uma avaliação experimental com *C. notatus*, em um sedimento de um lago amazônico observou que a presença dessa espécie aumenta a camada óxica do sedimento. Sendo assim, podemos inferir que a diminuição da concentração de CH<sub>4</sub> encontrada na superfície do sedimento nestes tratamentos contendo *Chironomus* sp. e

*Campsurus sp.*, pode ser resultado do aumento da oxidação do CH<sub>4</sub> e pela liberação de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água como proposto por Leal *et al.* (2007).

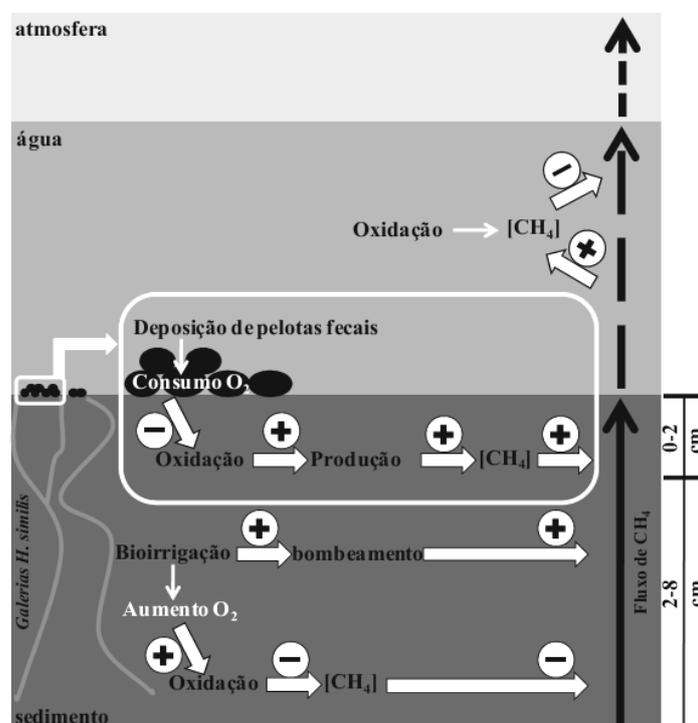


Figura 13 Esquema adaptado de (Figueiredo Barros *et al* (2009), que sintetiza o efeito de *H. similis* sobre os fluxos de CH<sub>4</sub> entre sedimento, água e atmosfera.

Vale ressaltar que na fração inferior do sedimento (6-8cm) não foi observado efeito do biorrevolvimento por *Campsurus sp.* sendo as concentrações de CH<sub>4</sub> superiores do que o tratamento controle. Isto pode ser explicado pelo fato de termos menor número de indivíduos dessa espécie encontrados na última fração do sedimento, desfavorecendo a metanotrofia e intensificando a metanogênese. *Chironomus sp.* apresentou o mesmo padrão observado para *Campsurus sp.* ao longo do perfil, exceto em relação à camada inferior do sedimento (6-8cm). *Chironomus sp.* reduziu as concentrações de CH<sub>4</sub> ao longo de todo o perfil do sedimento. Esse resultado corrobora com o que foi proposto por Kajan & Frenzel, (1999). Estes autores observaram que até 90% do CH<sub>4</sub> produzido na camada anóxica do sedimento pode ser consumido na camada óxica na presença de *Chironomus sp.*

Mesmo tendo apresentado valores de concentração de CH<sub>4</sub> próximos, os tratamentos contendo *Chironomus sp.* e *Campsurus sp.* foram diferentes em relação às concentrações de CH<sub>4</sub> por biomassa de peso seco. *Chironomus sp.* apresentou o menor efeito, sendo

aproximadamente 15 vezes menos efetivo que *Campsurus sp.* Esse resultado pode ter sido observado pelo fato de *Chironomus sp.* tolerar baixas concentrações de oxigênio e por não apresentar alto poder de bombeamento físico da água (Frenzel, 1990), como o encontrado por *Campsurus sp.* que, por não tolerar baixas concentrações de oxigênio, necessita manter um fluxo constante de água para dentro do tubo (Wang *et al.*, 2001), intensificando o bombeamento físico de água na interface sedimento – água.

O tratamento com *L. culveri* também apresentou redução da concentração de CH<sub>4</sub> em todas as frações de sedimento analisadas no presente estudo. Este fato reforça a proposição de que macroinvertebrados bentônicos que forrageiam o sedimento formando túneis e galerias reduzem as concentrações de CH<sub>4</sub>. No entanto, para *L. culveri* a redução em relação ao controle não foi estatisticamente significativa em nenhuma fração.

Apesar disso, sugerimos que esta espécie intensificou a metanotrofia nas suas galerias de maneira homogênea, ou a partir do processo de bombeamento físico, transportou o CH<sub>4</sub> presente no sedimento para a coluna d'água conforme proposto por Figueiredo-Barros *et al.*, (2009) estudando a espécie *Heteromastus similis*. No entanto, quando comparadas em relação ao efeito de *L. culveri* e *H. similis* sobre a concentração de CH<sub>4</sub> na primeira fração do sedimento, os resultados são contrários. A espécie *H. similis* aumentou a concentração de CH<sub>4</sub> na fração superficial (Figueiredo-Barros *et al.*, 2009) e *L. culveri* causou a diminuição. Ao contrário de *L. culveri*, que a partir de observações em outros experimentos (dados não publicados), foi possível verificar que não deposita suas pelotas fecais sobre a superfície do sedimento, *H. similis* deposita pelotas fecais na superfície do sedimento intensificando a metanogênese em detrimento a metanotrofia conforme já mencionado anteriormente.

Outro importante fator que pode explicar a diferença entre essas duas espécies de Polychaetas seria que, como as galerias formadas por *H. similis* não apresentam muco na parede, além de outros fatores (tipo de sedimento, espécie utilizada, condições de experimentação), o muco produzido por *Laeonereis culveri* na parede de suas galerias, onde a fêmea deposita os ovos e mantém o tubo irrigado através de movimentos ondulatórios (Mazurkiewicz, 1975), pode ter propiciado o crescimento de microorganismos metanotróficos, com isso, o CH<sub>4</sub> produzido na camada anóxica do sedimento pode ter sido rapidamente consumido nas regiões próximas às galerias, resultando nos valores de baixa concentração observada no sedimento e na água dos tratamentos contendo *L. culveri*.

## 6.2 - EFEITO DO BIORREVOLVIMENTO DE MACROINVERTEBRADOS BENTÔNICOS SOBRE AS CONCENTRAÇÕES DE CH<sub>4</sub> NA INTERFACE ÁGUA-ATMOSFERA

O biorrevolvimento causado pelo *Campsurus sp.* no sedimento resultou na liberação de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água. Este resultado pode ser atribuído ao processo de bombeamento físico causado por este organismo e corrobora com o que foi observado por Leal *et al.* (2007). Estes autores observaram que este gênero foi responsável não só pela redução da concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento mas também pelo aumento da concentração na água.

Pesquisas que analisaram o efeito deste gênero (Ephemeroptera) sobre os fluxos de nutrientes na interface sedimento água convergem sobre a elevada capacidade de biorrevolvimento (Alves *et al.*, 2010; Caliman *et al.*, 2011). Desta forma, *Campsurus sp.* exerce um importante papel na disponibilização de CH<sub>4</sub> para a coluna d'água, ao intensificar a liberação de compostos e gases dissolvidos, como o CH<sub>4</sub> e partículas de sedimento. Neste caso, o CH<sub>4</sub> é carregado junto a água intersticial (rica em CH<sub>4</sub> e outros nutrientes) do sedimento para a coluna d'água. No entanto, o aumento observado na coluna d'água não resultou na intensificação da difusão do CH<sub>4</sub> na atmosfera (*head space*) sendo os valores estatisticamente iguais ao tratamento controle.

Padrão contrário foi observado nos tratamentos com *Chironomus sp.* e *L. culveri* onde não houve intensificação da liberação de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água, mas um aumento da concentração deste na atmosfera caracterizando a emissão deste gás do sedimento para a atmosfera, possivelmente através de bolhas. Destes organismos, *Chironomus sp.* apresentou maior efeito através do biorrevolvimento, sendo responsável por um aumento de aproximadamente trinta vezes da concentração de CH<sub>4</sub> em relação ao controle.

Para o valor da concentração de CH<sub>4</sub>, por biomassa de peso seco, observados para os tratamentos contendo *Chironomus sp.* e *L. culveri*, *Chironomus sp.* apresentou valores aproximadamente oito vezes maiores que *L. culveri*, esse resultado demonstra que essas espécies podem, em pequena escala, estar influenciando a emissão de CH<sub>4</sub> em lagoas rasas.

Como não foi observado efeito destas espécies na concentração de CH<sub>4</sub> na coluna d'água, pode-se propor que: (i) estes organismos intensificam a liberação de bolhas de CH<sub>4</sub> do sedimento para a atmosfera, (ii) podem diminuir a oxidação de CH<sub>4</sub> (metanotrofia) na coluna d'água devido a emissão por bolhas e (iii) a baixa liberação a partir da difusão, conforme sugerem os resultados da coluna d'água. *Heleobia australis* não apresentou diferença significativa em relação ao controle em nenhum dos dois compartimentos avaliados o que demonstra que o biorrevolvimento gerado por esta espécie somente afetou os fluxos de CH<sub>4</sub> no sedimento.

A análise dos dados obtidos na interface água-atmosfera evidenciam o importante efeito de espécies que constroem túneis e galerias nos fluxos de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-ar. Estes resultados corroboram com o estudo realizado por Figueiredo-Barros *et al* (2009). Estes autores observaram efeito da espécie *Heteromastus similis* sobre o fluxo de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-ar. No entanto, para esta espécie foi verificado aumento das concentrações de CH<sub>4</sub> na coluna d'água e atmosfera. Desta forma, pode-se especular que características espécie-específica podem ocasionar diferentes resultados em relação aos fluxos de CH<sub>4</sub>. Por exemplo, *H. similis*, ao contrário do *L. culveri* que ao depositar pelotas fecais na superfície do sedimento, estimula a metanogênese nesta camada, e o *L. culveri* por necessitar manter o seu tubo mucoso com intensa circulação de água, pode estimular a metanotrofia nesta região.

### **6.3 - ACOPLAMENTO DA INTERFACE SEDIMENTO-ÁGUA-ATMOSFERA**

Nos tratamentos com *Laeonereis Culveri*, *Heleobia australis*, *Campsurus sp.* e *Chironomus sp.* foi possível observar um padrão claro, com valores mais elevados no sedimento e inferiores na água e na atmosfera. Porém, foi observado que há diferenças entre os efeitos do biorrevolvimento entre as espécies. A redução da concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento e aumento na atmosfera observado nos tratamentos com *Chironomus sp* e *L. culveri* indicam que estes organismos podem ser capazes de intensificar a emissão de CH<sub>4</sub> em ecossistemas aquáticos continentais rasos.

Apesar de ter sido observado estímulo à emissão para estes dois grupos é importante ressaltar que os valores são próximos a zero, indicando que uma considerável fração do CH<sub>4</sub> foi consumido ao longo do fluxo entre as interfaces sedimento-água. Este fato pode ser comprovado quando analisamos as contrações de CH<sub>4</sub> na coluna d'água, onde foram observadas

baixas concentrações de CH<sub>4</sub>, caracterizando a interface sedimento-água como importante região de transformação do CH<sub>4</sub> a CO<sub>2</sub> através da metanotrofia.

Desta forma os resultados da presente pesquisa observados nos tratamentos com *Chironomus sp* e *L. culveri* indicam dois importantes processos ocorrendo simultaneamente, a saber: (i) intensificação da metanotrofia na interface sedimento-água e (ii) intensificação da metanogênese e emissão por bolhas para a atmosfera. Stief *et al.*, (2009) observaram em estudos com Chironomidae que há uma influência na liberação de gás N<sub>2</sub>O a partir de gases produzidos em condições anaeróbicas (desnitrificação) pelos invertebrados após ingestão de microorganismos aderidos a detritos (Figura 14).

É possível que tanto *Chironomus sp* quanto *L. culveri* possam ter intensificado a emissão de CH<sub>4</sub> via bolhas em consequência da produção de CH<sub>4</sub> no aparelho digestivo destes em condições anaeróbicas, como observado por Stief *et al.*, (2009). Bolhas de CH<sub>4</sub> podem ser emitidas diretamente do sedimento para a atmosfera em ecossistemas aquáticos sem passar por processos anaeróbicos na parte interna de organismos. No entanto, é plausível que isto não tenha ocorrido no presente estudo, já que bolhas de CH<sub>4</sub> em sedimentos são formadas quando as concentrações deste gás superam as concentrações de saturação.

Segundo Nielsen *et al* (2004) a concentração máxima de CH<sub>4</sub> possível na água intersticial é dada pela concentração de saturação de 900µM de CH<sub>4</sub> a 29 °C em 1 atm, valores não obtidos no presente estudo.

Diversos autores, como Stief *et al.* (2009), sugerem que a ingestão de microorganismos por macroinvertebrados bentônicos pode ser uma importante via de transformações de diferentes nutrientes. Apesar de ser esperado que todos os macroinvertebrados bentônicos tenham a capacidade de estimular processos anaeróbicos no interior do seu organismo - a partir da ingestão de microorganismos, que no trato digestivo irá encontrar condições anaeróbicas (Figura 14), a consequência disto sobre a interface sedimento-água-atmosfera pode ser diferenciado, em função da sua atividade no sedimento e da magnitude do biorrevolvimento. Por exemplo, os resultados da presente pesquisa indicam que *H. australis*, Gastropoda que coloniza as regiões mais superficiais do sedimento, ricas em oxigênio dissolvido, pode ter diminuído a capacidade de metanotrofia nesta fração, pela ingestão de metanotróficas.

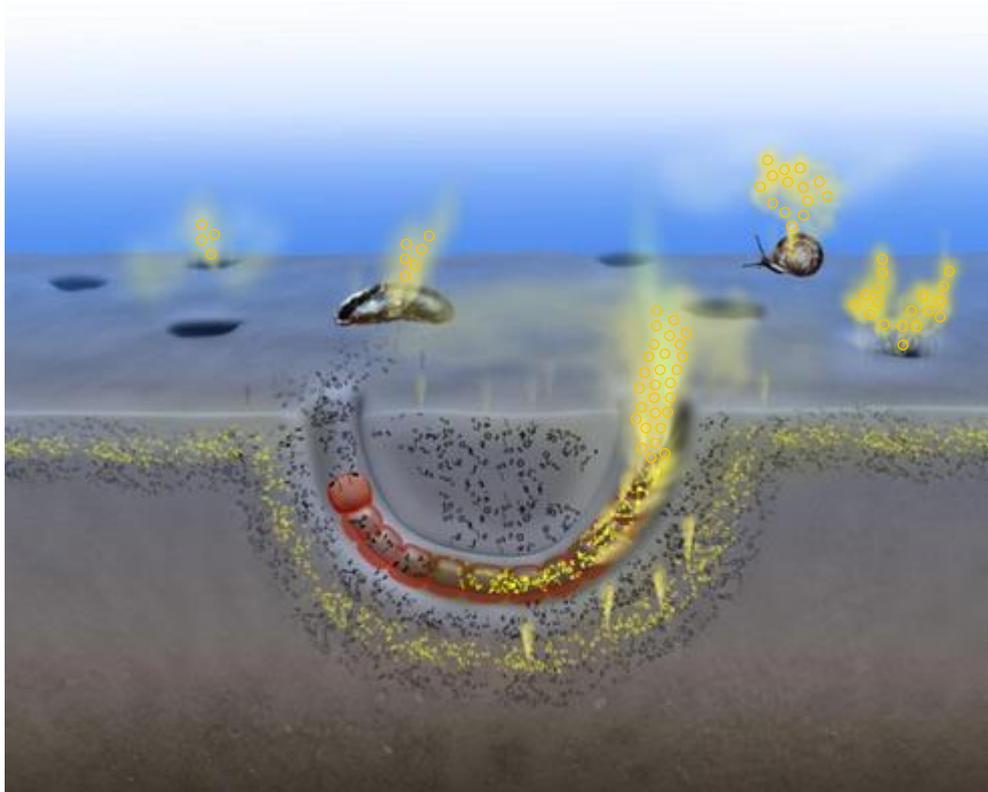


Figura 14: Modelo conceitual de emissão de óxido nitroso a partir de gases produzidos no interior de macroinvertebrados bentônicos. Larvas de Chironomidae se alimentam de partículas com bactérias fixadas (pontos pretos), que por sua vez, no interior do intestino em condições anóxicas iniciam a nitrato redução e denitrificação (pontos amarelos), resultando em emissão de óxido nitroso (pluma amarela). Também estão ilustrados a emissão a partir de um bivalve, um gastropoda e de camadas do sedimento (Stief *et al*, 2009).

Deines *et al*, (2007) observaram que microorganismos metanotróficos (“*methane-oxidizing bacteria*”= MOB), podem ser a base da nutrição de larvas de *Chironomus sp*. Desta forma *H. australis* poderia favorecer o aumento da concentração de metano no sedimento acarretando, possivelmente, em aumento da difusão de  $\text{CH}_4$  para a coluna d’água oxigenada e com elevada taxa de oxidação de metano. Este processo reduz as emissões para a atmosfera conforme verificado nos tratamentos com *H. australis*. Desta maneira é possível inferir que a biologia dos macroinvertebrados e suas diferentes formas de forrageio interferem, não só no efeito físico sobre os fluxos de  $\text{CH}_4$ , mas também nas vias preferenciais de transformações deste em condições aeróbicas e anaeróbicas, resultando em diferentes trocas entre a interface sedimento-água-atmosfera.

O resultado observado nesta pesquisa para o tratamento com ninfas de *Campsurus sp*. corrobora com o encontrado por Leal *et al* (2007), onde *Campsurus notatus* diminuiu a concentração de  $\text{CH}_4$  no sedimento e intensificaram o fluxo de  $\text{CH}_4$  do sedimento para a coluna

d'água. Esse tratamento, mesmo apresentando a maior concentração de CH<sub>4</sub> na coluna d'água, apresenta os menores valores na atmosfera, este resultado indica que *Campsurus sp.*, por criar um fluxo intenso de água a partir do bombeamento físico, desloca uma elevada quantidade de CH<sub>4</sub> do sedimento para a coluna d'água além de grande quantidade de partículas de sedimento, podendo esse processo físico sobrepor outros processos possíveis, como: i) Consumo a partir de microorganismos metanotróficos, ii) Produção de gás CH<sub>4</sub> via decomposição anaeróbica no intestino desta espécie. Desta forma o CH<sub>4</sub> é liberado na coluna d'água e, neste compartimento, será consumido. Podendo este consumo ainda ser agravado pelo aumento da quantidade de metanotróficas liberadas na água aderidas às partículas de sedimento.

Estes fatos podem explicar porque esta espécie (*Campsurus sp.*) foi a que mostrou a maior liberação de CH<sub>4</sub> na água, mas não favoreceu a emissão para a atmosfera. Não foi verificada nesta pesquisa a variação espacial das bactérias na interface sedimento-água, porém estudos têm demonstrado que macroinvertebrados bentônicos podem alterar a composição e/ou atividade das bactérias no sedimento e na coluna d'água a partir do processo de biorrevolvimento (Eller *et al*, 2005, Hery *et al*, 2008, Hunting *et al* 2012).

Em um experimento realizado utilizando *Campsurus sp.* foi demonstrado que o biorrevolvimento desta espécie diminui a densidade de bactérias no sedimento, porém aumenta a densidade e a porcentagem de bactérias metanotróficas no mesmo, sendo três vezes maior do que no tratamento controle, foi encontrado valor de 79% de bactérias metanotróficas no sedimento colonizado por esta espécie (dados não publicados). Esse resultado indica que o efeito do biorrevolvimento desta espécie pode alterar a composição das bactérias ao longo do perfil do sedimento.

#### **6.4 - DISCUSSÃO GERAL**

Tendo em vista que os fluxos de CH<sub>4</sub> são amplamente controlados pela produção e oxidação microbiana (Rothfuss, 1993; Segers, 1998). Bertics (2009) observou que o sedimento onde duas espécies de crustáceos que apresentavam diferentes formas de forrageio do sedimento, apresentaram diferentes densidades de bactérias após o experimento, essa mudança foi resultado de diferentes composições químicas dentro dos tubos formados por essas espécies.

Eller *et al* (2005) observou que a ação de *Chironomus plumosus* não alterou a estrutura da comunidade microbiana, porém alterou a atividade e dimensão das populações de

metanogênicas e metanotróficas no sedimento, e Hunting (2012) utilizando cinco espécies de macroinvertebrados, verificou que a comunidade bacteriana se diferenciou para cada espécie, e que os perfis redox foram iguais para tipos iguais de forrageio e diferentes para tipos diferentes.

Se considerarmos que as perdas de CH<sub>4</sub> que tivemos no experimento, ocorreram devido a oxidação do mesmo por bactérias metanotróficas sendo transformado em biomassa bacteriana, podemos demonstrar a importância do processo de biorrevolvimento na ciclagem/disponibilização de carbono estocado em sedimentos de ambientes aquáticos. Podendo este carbono proveniente da oxidação do CH<sub>4</sub> sustentar uma cadeia trófica de diferentes níveis (Bastviken *et al*, 2003).

Taipale *et al* (2007) propôs que bactérias metanotróficas contribuem com 64-87% da dieta de *Daphnia* durante o período de baixa produtividade fitoplanctônica. Já Deines *et al* (2007), observou que bactérias metanotróficas podem ser a base da nutrição de larvas de *Chironomus sp.* Sanseverino *et al* (2012) utilizando  $\delta^{13}\text{C}$  e ácidos graxos, demonstrou que o carbono proveniente de metanotróficas chega até ao nível de peixes na cadeia trófica, tendo grande importância na mesma.

Jones (2011) mostrou a importância do carbono proveniente do CH<sub>4</sub> para cadeias tróficas de água doce, principalmente de lagos. Desta forma a presente pesquisa pode contribuir para o entendimento do funcionamento de ecossistemas aquáticos, demonstrando que as espécies estudadas (*L.culveri*, *H.australis*, *Campsurus sp.* e *Chironomus sp.*) podem ser importantes intensificadoras da produção secundária em ambientes aquáticos.

Leal *et al* (2003), em estudos na Amazônia, observaram que em tratamentos onde haviam *Campsurus notatus*. a produção bacteriana foi maior do que os tratamentos sem essa espécie. Porém, como observado nos trabalhos citados a cima e no presente estudo, o modo de forrageio da espécie estudada pode alterar a magnitude dos efeitos na interface sedimento – água – atmosfera. Por exemplo, *H. australis* parece causar maior efeito no sedimento, sem influenciar a coluna d'água e a atmosfera, ao contrário de espécies que constroem tuneis ou galerias, e mesmos essas espécies, apresentaram efeitos diferentes nos compartimentos, *Campsurus sp.* causou maior efeito na água, enquanto *Chironomus sp.* e *L.culveri* causaram maior efeito na atmosfera.

Com base nestas pesquisas, foi proposto uma representação de funcionamento de um ecossistema sustentado por bactérias metanotróficas e metanogênicas (Figura 15), porém esta

representação é simples e devemos considerar que, além das variáveis abióticas que podem influenciar as transformações no ciclo do CH<sub>4</sub>, os componentes bióticos do ecossistema também exercem grande importância neste ciclo.

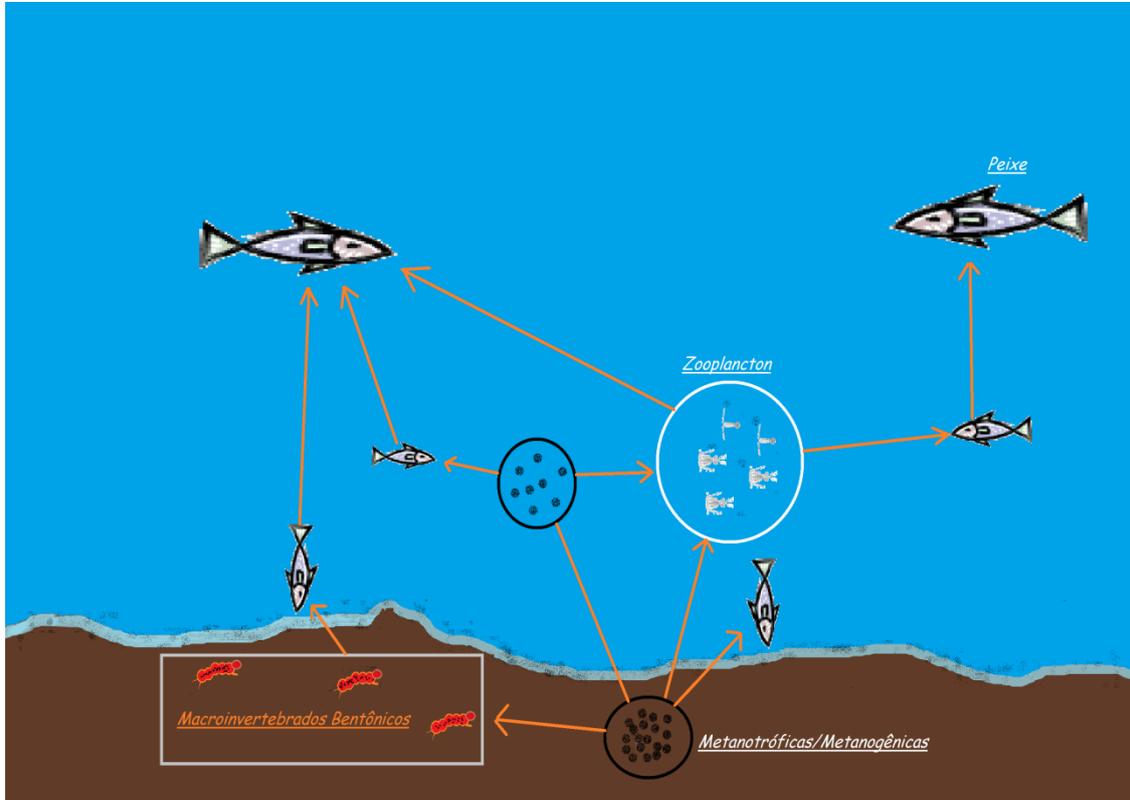


Figura 15: Esquema representando como seria uma pequena cadeia trófica aquática sustentada por bactérias metanotróficas/metanogênicas.

Apesar de existirem alguns trabalhos buscando entender o efeito do biorrevolvimento de macroinvertebrados bentônicos no ciclo do CH<sub>4</sub>, estes ainda são poucos, e em sua maioria trabalham com apenas uma espécie. Assim, faz-se necessário, pesquisas com abordagem maior nos diferentes modos de forrageio e sua influência nos processos que envolvam o ciclo do CH<sub>4</sub>. Deve-se ainda direcionar estudos para compreender o efeito do biorrevolvimento na comunidade bacteriana, principalmente as metanotróficas e metanogênicas, tendo em vista o importante papel que estas bactérias podem exercer em cadeias tróficas de ambientes com baixa produtividade primária.

Como observado por Hunting *et al* (2012), nós acreditamos que a diferença nas características de forragear o sedimento (diferença na locomoção, mecanismo de ingestão de alimentos, ecofisiologia, etc) podem alterar a concentração, as transformações e os fluxos do

CH<sub>4</sub> nas interfaces sedimento-água-ar. Os resultados da presente pesquisa nos mostram a importância da comunidade de macroinvertebrados bentônicos para o acoplamento dos compartimentos sedimento e água via fluxo de CH<sub>4</sub> e sua possível importância na cadeia alimentar aquática. Além de demonstrar que algumas espécies de macroinvertebrados bentônicos podem influenciar a emissão de gás CH<sub>4</sub> de ambientes aquáticos rasos para a atmosfera. Porém a magnitude destes efeitos está relacionada com as características e o modo de forrageio destas espécies (Figura 16 )

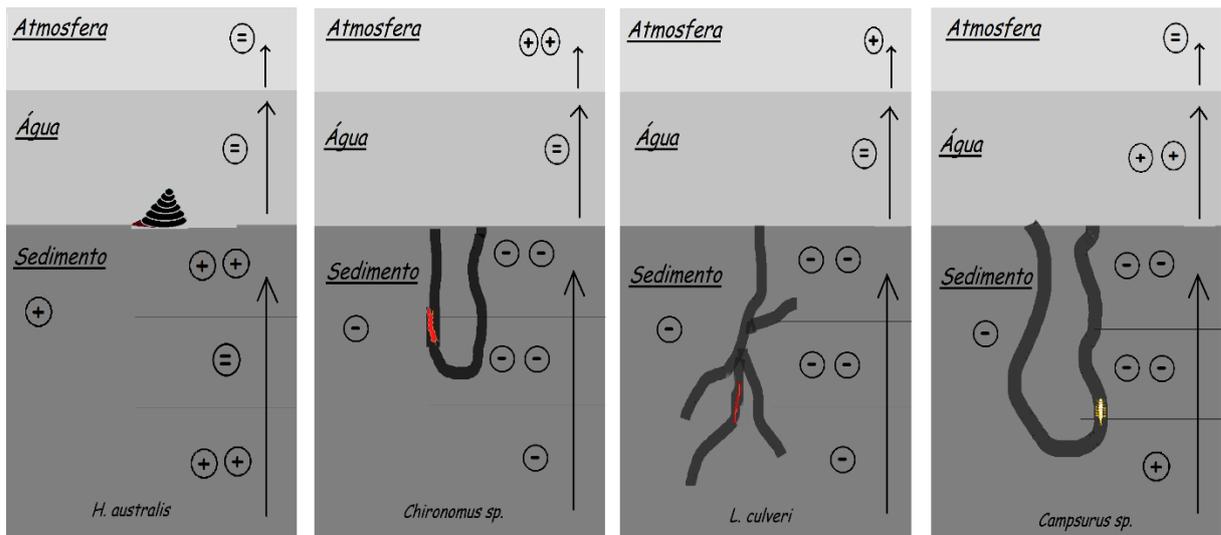


Figura 16: Esquema representando a magnitude do efeito das espécies de macroinvertebrados bentônicos sobre a concentração de CH<sub>4</sub> nas interfaces sedimento – água – atmosfera, (+) significa que a concentração de CH<sub>4</sub> foi maior do que o tratamento controle, (=) significa que os valores foram parecidos com o tratamento controle, e (-) significa que os valores de concentração foram menores do que o tratamento controle.

## 7 - CONCLUSÃO:

I. Os resultados obtidos nesta pesquisa mostram que, as espécies de macroinvertebrados bentônicos alteram a concentração de CH<sub>4</sub> nos compartimentos aquáticos (interface sedimento-água-atmosfera), suportando a hipótese 1.

II. Os diferentes tipos de forrageio no sedimento exercem papel fundamental no grau de influência que a espécie exercerá sobre a concentração de CH<sub>4</sub> nas interfaces sedimento-água-atmosfera. (suportando a hipótese 2).

III. A concentração de CH<sub>4</sub> ao longo do perfil vertical do sedimento é alterada quando colonizada por macroinvertebrados bentônicos e o tipo de forrageio de cada espécie afeta de maneira distinta (suportando, em parte, a hipótese 3). As espécies que colonizam preferencialmente a superfície do sedimento, como *Heleobia australis*, irão apresentar menor efeito sobre a metanotrofia quando comparadas as espécies que forrageiam regiões mais profundas do sedimento, como *Campsurus sp.*, *Chironomus sp.* e *L. culveri*. Estas intensificam a metanotrofia e a liberação de CH<sub>4</sub> através do sedimento.

IV. As espécies de macroinvertebrados bentônicos estudadas e a profundidade do sedimento afetam significativamente as concentrações de CH<sub>4</sub> neste compartimento. Porém, a interação entre estes não afeta a concentração de CH<sub>4</sub> no sedimento (rejeitando em parte a Hipótese 3)

V. Espécies que formam túneis e ou galerias influenciam de forma distinta as concentrações de CH<sub>4</sub> na interface sedimento-água-atmosfera. Isto ocorre pois a característica biológica de cada espécie permitirá maior ou menor intensidade de diferentes processos. Por exemplo, *Campsurus sp.* intensifica a metanotrofia no sedimento e água enquanto que *Chironomus sp.* e *L. culveri* intensificam a metanotrofia no sedimento mas também a emissão para a atmosfera.

## 8 - REFERENCIAS

Aller R.C., Blair N.E., Xia Q. & Rude P.D.(1996). Remineralization rates, recycling, and storage of carbon in Amazon shelf sediments. *Continental Shelf Research*, 16, 753-786.

Alves JM, Caliman A, Guariento RD, Figueiredo-Barros MP, Carneiro LS, Farjalla, V.F. Bozelli, R.L; Esteves, F.A. (2010) Stoichiometry of benthic invertebrate nutrient recycling: interspecific variation and the role of body mass. *Aquat Ecol* 44: 421–430.

Ambühl, H. and H. Bührer, 1975. Technik der Entnahme ungestörter Grossproben von Seesedimenten: ein verbessertes Bohrlot. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 37. 175-186.

Bastviken, D., Ejlertsson, J., Sundh, I., and Tranvik, L. 2003. Methane as a source of carbon and energy for lake pelagic food webs. *Ecology*, 84(4): 969–981. doi:10.1890/0012-9658(2003) 084 2.0.CO<sub>2</sub>.

Bartoli, M., D. Nizzoli, D. T. Welsh, and P. Viaroli. 2000. Short-term influence of recolonisation by the polychaete worm *Nereis succinea* on oxygen and nitrogen fluxes and denitrification: a microcosm simulation. *Hydrobiologia* 431:165-174.

Bernhard Statzner (2011). Geomorphological implications of engineering bed-sediments by lotic animals. doi:10.1016/j.geomorph.2011.03.022.

Bertics, Victoria J and Wiebke Ziebis, (2009). Biodiversity of benthic microbial communities in bioturbated coastal sediments is controlled by geochemical microniches. *The ISME Journal* (2009) 3,1269–1285.

Bodegom, P.M.V; Stams A.J.M. (1999). Effects of alternative electron acceptors and temperature on methanogenesis in rice paddy soils. *Chemosphere* Volume 39, Issue 2, July 1999, Pages 167–182. *Matter and Energy Fluxes in the Anthropocentric Environment*.

Brune A., Frenzel P. & Cypionka H. (2000). Life at the oxic-anoxic interface: microbial activities and adaptations. *Fems Microbiology Reviews*, 24, 691-710.

Caliman, A. (2005). Biodiversidade de macroinvertebrados bentônicos e funcionamento de ecossistemas aquáticos: uma abordagem experimental. Dissertação de Mestrado – Departamento de Ecologia, UFRJ, 2005. 96p.

Caliman, A. Carneiro LS, Leal, J.J.F; Bozelli, R.L; Esteves, F.A; Farjalla, V.F. (2007). Functional bioturbator diversity enhances benthic–pelagic processes and properties in experimental microcosms. *J. North Am. Benthol. Soc.* 26: 450-459.

Caliman A, Carneiro LS, Bozelli RL, Farjalla VF, Esteves FA (2011) Bioturbating space enhances the effects of non-additive interactions among benthic ecosystem engineers on cross-habitat nutrient regeneration. *Oikos* 120: 1639–1648

Caliman, A; Carneiro, L.S; Leal, J.J.F; Farjalla, V.F; Bozelli, R.L; Esteves, F.A. (2012) Community Biomass and Bottom up Multivariate Nutrient Complementarity Mediate the Effects of Bioturbator Diversity on Pelagic Production. *Plos One*. September 2012 | Volume 7 | Issue 9.

Callisto, M; Leal, J.J.F; Figueiredo-Barros, M. P; Moreno, P. & Esteves, F.A. (2009) Effect of bioturbation by chironomus on nutrient fluxes in an urban eutrophic reservoir. 7th ISE & 8th HIC - Chile, 2009.

Carmouze J.P. (1994). *O metabolismo dos ecossistemas aquáticos: fundamentos teóricos, métodos de estudo e análises químicas*. Edgard Blücher e FAPESP, São Paulo.

Conrad R. (1989). Control of methane production in terrestrial ecosystems. In: *Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere*(eds. Andreae MO& Schimel DS). Wiley-Interscience Publition, pp. 39-58.

Conrad, R.; Frenzel, P. & Cohen, Y. (1995). Methane emission from hypersaline microbial mats: Lack of aerobic methane oxidation activity. *FEMS Microbiology Ecology* 16: 297-306.

Deines P; Paul L. E.B; & Gundula Eller (2007). Methane-derived carbon flows through methane-oxidizing bacteria to higher trophic levels in aquatic systems. *Environmental Microbiology* (2007)9(5), 1126–1134.

Eller, G., Deines, P., Grey, J., Richnow, H.H., and Kruger, M. 2005. Methane cycling in lake sediments and its influence on chironomid larval C<sup>13</sup>-. *FEMS Microbiol. Ecol.*54(3): 339–350. doi:10.1016/j.femsec.2005.04.006. PMID:16332332

Esteves, F. A. & Camargo, A. F. M. *Sedimentos Límnicos in: Fundamentos de Limnologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 790p. 2011- Capítulos 6; 7; 19; 25.

Fenchel T., King G. & Blackburn T. (1998). *Bacterial Biogeochemistry: The Ecophysiology of Mineral Cycling*. Academic Press.

Fey, A. & Conrad, R. (2000). Effect of temperature on carbon and electron flow and on the Archaeal community in methanogenic rice field soil. *Appl. and Environ. Microbiol.* 66(11): 4790-4797.

Figueiredo-Barros M.P. (2004). Bioturbação na interface sedimento-água por três espécies de macroinvertebrados bentônicos com ênfase na ciclagem de nutrientes. In: Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho. Universidade Federal do Rio de Janeiro Rio de Janeiro, p. 78.

Figueiredo-Barros, M. P.; Caliman, A.; Leal, J.J. F.; Bozelli, R. L.; Farjalla, V. F. & Esteves, F. A. (2009). Benthic bioturbator enhances CH<sub>4</sub> fluxes among aquatic compartments and atmosphere in experimental microcosms. *Canadian Journal of Fish and Aquatic Science*, Volume 66, pp. 1649-1657.

Frenzel P., Thebrath B. & Conrad R. (1990). Oxidation of Methane in The Oxic Surface-Layer of a Deep Lake Sediment (Lake Constance). *Fems Microbiology Ecology*, 73, 149-158.

Giangrande, A; M. Montresor; A. Cavallo; M. Licciano. (2002). Influence of *Naineris laevigata* (Polychaeta: Orbiniidae) on vertical grain size distribution, and dinoflagellate resting stages in the sediment. *Journal of Sea Research* 47 (2002) 97–108.

Hansen K., Mouridsen S. & Kristensen E. (1998). The impact of *Chironomus plumosus* larvae on organic matter decay and nutrient (N,P) exchange in a shallow eutrophic lake sediment following a phytoplankton sedimentation. *Hydrobiologia*, 364, 65-74.

Heilskov A.C. & Holmer M. (2001). Effects of benthic fauna on organic matter mineralization in fish-farm sediments: importance of size and abundance. *Ices Journal of Marine Science*, 58, 427-434.

Héry, M; Andrew C Singer; Deepak Kumaresan; Levente Bodrossy; Nancy Stralis-Pavese; Jim I Prosser; Ian P Thompson; & J Colin Murrell (2008). Effect of earthworms on the community structure of active methanotrophic bacteria in a landfill cover soil. *The ISME Journal*(2008)2,92–104; doi:10.1038/ismej.2007.66.

Hunting, Ellard R; Merrin H. Whatley, Harm G. van der Geest, Christian Mulder, Michiel H.S. Kraak, Anton M. Breure and Wim Admiraal. (2012). Invertebrate footprints on

detritus processing, bacterial community structure, and spatiotemporal redox profiles. *Freshwater Science*, 31(3):724-732. 2012.

Johnson, D.L. (2002) Darwin would be proud: bioturbation, dynamic denudation, and the power of theory in science. *Geoarchaeology* 17, 7–40.

Jonathan P.B; Wyatt F.C; James G.M; WILLIAM H. Mc Dowell; Alonso, R; & COVICH, A.P. (2010). Biotic and abiotic controls on the ecosystem significance of consumer excretion in two contrasting tropical streams. *Freshwater Biology*(2010)55,2047–2061

Jones, C.G., J. H.Lawton eM. Shachak (1997). "Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers." *Ecology* 78(7): 1946-1957.

Jones, R.I & Grey, J.T. (2011). Biogenic methane in freshwater food webs. *Freshwater Biology*(2011)56,213–229.

Kajan R. & Frenzel P. (1999). The effect of chironomid larvae on production, oxidation and fluxes of methane in a flooded rice soil. *Fems Microbiology Ecology*, 28, 121-129.

Kristensen E. (1985). Oxygen and Inorganic Nitrogen Exchange in a *Nereis virens* (Polychaeta) Bioturbated Sediment-Water System. *Journal of Coastal Research*, 1, 109-116.

Kristensen E. (2000). Organic matter diagenesis at the oxic/anoxic interface in coastal marine sediments, with emphasis on the role of burrowing animals. *Hydrobiologia*, 426, 1-24.

Lamberti, G.A; Chaloner, D.T; Hershey, A.E. (2010). Linkages among aquatic ecosystems. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 2010, 29(1):245–263

Leal J.J.F. (2003). Bioturbação e ciclagem denutrientes na interface sedimento-água de um lago amazônico impactado com rejeito de bauxita (Pará, Brasil). In: Departamento de Ecologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, p. 264.

Leal J.J.F., Esteves F.D., Farjalla V.F. & Enrich-Prast A. (2003). Effect of *Campsurus notatus* on NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, DOC fluxes, O<sub>2</sub> uptake and bacterioplankton production in experimental microcosms with sediment-water interface of an Amazonian lake impacted by bauxite tailings. *International Review of Hydrobiology*, 88, 167-178.

Leal J.J.F., Enrich-Prast A; Farjalla V.F; Esteves F.A. & Bozelli R.L. (2005). Influence of *Campsurus notatus* bioturbation on oxygen profile and uptake in sediments of an Amazonian lake impacted by bauxite tailings. *Arch. Hydrobiolog.*, 162, 557-574.

Leal J.J.F., Furtado A.L.D., Esteves F.D., Bozelli R.L. & Figueiredo-Barros M.P. (2007). The role of *Campsurus notatus* (Ephemeroptera : Polymitarcyidae) bioturbation and sediment quality on potential gas fluxes in a tropical lake. *Hydrobiologia*, 586, 143-154.

Levinton, J. (1995). Bioturbators as ecosystem engineers: control of the sediment fabric, inter-individual interactions, and material fluxes. *Linking species and ecosystems*. C. B. Jones e J. H. Lawton. New York, Chapman & Hall: 387

Lewandowski, Jörg ; Laskov, Christine ; Hupfer, Michael.(2007). The relationship between *Chironomus plumosus* burrows and the spatial distribution of pore-water phosphate, iron and ammonium in lake sediments. *Freshwater Biology* Volume 52, Issue 2, pages 331–343, February 2007.

Liikanen A. & Martikainen P.J. (2003). Effect of ammonium and oxygen on methane and nitrous oxide fluxes across sediment–water interface in a eutrophic lake. *Chemosphere*, 52, 1287-1293.

Martin, J.P. & Bastida, R. (2006). Population structure, growth and production of *Laeonereis culveri* (Nereididae: Polychaeta) in tidal flats of Rio de la Plata estuary, Argentina. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*(2006),86, 235-244.

Mazurkiewicz, M. (1975). Larval development and habits of *Laeonereis culveri* (Webster)(Polychaeta : Nereidae). *Blot. Bull.*, 149 :186 - 204. (August, 1975)

McKew, B.A; Dumbrell, A.J; Taylor, J.D; McGenity, T.J; Graham J.C. (2013). Differences between aerobic and anaerobic degradation of microphytobenthic biofilm-derived organic matter within intertidal sediments. *FEMS*, DOI: 10.1111/1574-6941.12077.

Mermillod-Blondin F., des Chatelliers M.C., Gerino M. & Gaudet J.P. (2000). Testing the effect of *Limnodrilus* sp. (Oligochaeta, Tubificidae) on organic matter and nutrient processing in the hyporheic zone: a microcosm method. *Archiv Fur Hydrobiologie*, 149, 467-487.

Mermillod-Blondin, F., G. Nogaro, T. Datry, F. Malard, J. Gibert, (2005). Do tubificid worms influence the fate of organic matter and pollutants in stormwater sediments? *Environmental Pollution* 134 (2005) 57–69.

Mermillod-Blondin F., Rosenberg R., 2006. Ecosystem engineering: the impact of bioturbation on biogeochemical processes in marine and freshwater benthic habitats. *Aquatic Sciences* 68 (4): 434-442.

Mermillod-Blondin, Florian (2011). BRIDGES - The functional significance of bioturbation and biodeposition on biogeochemical processes at the water–sediment interface in freshwater and marine ecosystems. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 2011, 30(3):770–778.

Meysman F., Middelburg J. & Heip C. (2006). Bioturbation: a fresh look at Darwin's last idea. *Trends in Ecology & Evolution*, 21, 688-695.

Murase J., Sakai Y., Kametani A. & Sugimoto A. (2005). Dynamics of methane in mesotrophic Lake Biwa, Japan. *Ecological Research*, 20, 377-385.

Nedwell D.B. (1984). The Input and Mineralization of Organic-Carbon in Anaerobic Aquatic Sediments. *Advances in Microbial Ecology*, 7, 93-131.

Nielsen, L.P., Enrich-Prast, A., and Esteves, F.A. 2004. Pathways of organic matter mineralization and nutrient regeneration in the sediment of five tropical lakes. *Acta Limnol. Bras.* 16(2): 193–202.

O'Brien, A.L.; Nils Volkenborn; Justus van Beusekom; Liz Morris; Michael J. Keough. (2009). Interactive effects of porewater nutrient enrichment, bioturbation and sediment characteristics on benthic assemblages in sandy sediments. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 371 (2009) 51–59.

Ohle, W. (1978). Ebullition of gases from sediment, conditions, and relationship to primary production of lakes. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 20:957-962.

Reise K. (2002). Sediment mediated species interactions in coastal waters. *Journal of Sea Research*, 48, 127-141.

Rothfuss, F & Conrad, R. (1993). Vertical profiles of CH<sub>4</sub> concentrations, dissolved substrates and processes involved in CH<sub>4</sub> production in a flooded Italian rice field. *Biogeochemistry* 18: 137-152.

Sanseverino AM, Bastviken D, Sundh I, Pickova J, Enrich-Prast A (2012) Methane Carbon Supports Aquatic Food Webs to the Fish Level. *PLoS ONE* 7(8):e42723. doi:10.1371/journal.pone.0042723

Schulz S. & Conrad R. (1995). Effect of Algal Deposition on Acetate and Methane Concentrations in the Profundal Sediment of a Deep Lake (Lake Constance). *Fems Microbiology Ecology*, 16, 251-259.

Segers, Reinoud (1998). Methane production and methane consumption: a review of processes underlying wetland methane fluxes. *Biogeochemistry* APRIL 1998, VOLUME 41, ISSUE 1, PP 23-51.

Sha, C; Mitsch W.J; Mander Ülo; Lu J; Batson J; Zhang L; He W. (2011). Methane emissions from freshwater riverine wetlands. *Ecological Engineering* 37.16–24.

Smith, J; Burford, M.A; Reville, A.T; Haese, R; Fortune, J. (2012). Effect of nutrient loading on biogeochemical processes in tropical tidal creeks. *Biogeochemistry*, 108: 359-380.

Stief, P.; Morten Poulsen; Lars Peter Nielsen; Hans Brix; & Andreas Schramm. (2009). Nitrous oxide emission by aquatic macrofauna. doi:10.1073.pnas.0808228106

Svensson, J. and L. Leonardson, 1996. Effects of bioturbation by tube-dwelling chironomid larvae on oxygen uptake and denitrification in eutrophic lake sediments. *Freshwater Biology*, 35:289-300

Svensson J.M. (1997). Influence of *Chironomus plumosus* larvae on ammonium flux and denitrification (measured by the acetylene blockage- and the isotope pairing-technique) in eutrophic lake sediment. *Hydrobiologia*, 346, 157-168.

Svensson J.M. (1998). The role of benthic macrofauna on nitrogen cycling in eutrophic lake sediment. In: Department of Ecology. Lund University, Lund, p. 47 p.

Taipale, S., Kankaala, P., and Jones, R.I. 2007. Contributions of different organic carbon sources to *Daphnia* in the pelagic food-web of a small polyhumic lake: results from mesocosm DII3 C-additions. *Ecosystems* (N.Y., Print), 10(5): 757–772. doi:10. 1007/s10021-007-9056-5.

Utsumi M., Nojiri Y., Nakamura T., Nozawa T., Otsuki A., Takamura N., Watanabe M. & Seki H. (1998). Dynamics of dissolved methane and methane oxidation in dimictic Lake Nojiri during winter. *Limnology and Oceanography*, 43, 10-17.

Wang, F; Tessier, A; & Hare, L. (2001). Oxygen measurements in the burrows of freshwater insects. *Freshwater Biology*(2001) 46,317 – 327.

Wetzel R.G. (2001). Limnology, lake and river ecosystems. 3 edn. Academic Press, Florida, USA.

Zinder S.H.(1993). Physiological ecology of methanogens. In: Methanogenesis: Ecology, Physiology, Biochemistry & Genetics(ed. G. FJ). Chapman & Hall Inc., pp. 128-206. New York. 536 p.