

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO AMBIENTAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Distribuição espacial e temporal de proteínas e ácidos húmicos em lagoa rasa subtropical

Aluno: Tiago Carrard Centurião

Orientador: Prof. Dr. David da Motta Marques

Porto Alegre, dezembro/2016.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE PESQUISAS HIDRÁULICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS HÍDRICOS E SANEAMENTO AMBIENTAL

**Distribuição espacial e temporal de proteínas e ácidos húmicos em lagoa
rasa subtropical**

Tiago Carrard Centurião

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Hídricos e
Saneamento Ambiental da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador:

Prof. Dr. David da Motta Marques

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ng Haig They - UFRN

Prof^a. Dr^a. Eliete Bertazzo Canterle - IFSul

Prof^a. Dr^a. Lúcia Ribeiro Rodrigues - IPH/UFRGS

Porto Alegre, dezembro/2016.

RESUMO

O presente trabalho avaliou a variabilidade espacial e temporal de ácidos húmicos (HA) e proteínas (PROT), em uma grande lagoa rasa subtropical. Para tanto, foi usado Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC). Foram incluídas como variáveis explanatórias, carbono orgânico dissolvido (COD), nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), cor, pH e temperatura. A área de estudo foi a Lagoa Mangueira, uma grande lagoa rasa oligo-mesotrófica inserida ao Sistema Hidrológico do Taim – SHT. As amostras foram coletadas em quatro campanhas, durante o ano de 2010, em dezenove pontos diferentes, compreendendo as zonas litorâneas e pelágica, localizadas no sul, centro e norte da lagoa. Resultados indicaram que a Lagoa Mangueira apresenta heterogeneidade temporal interanual em relação a estas variáveis, ao mesmo tempo que possui um perfil longitudinal homogêneo, não evidenciando um arranjo espacial definido.

Palavras-Chave: Matéria orgânica dissolvida, tamanho molecular, variáveis limnológicas, distribuição espacial, sazonalidade.

ABSTRACT

The present work evaluated spatial and temporal variability of humic acids (HA) and proteins (PROT) in a large subtropical shallow lake. For this purpose, High Performance Liquid Chromatograph by Size Exclusion (HPLC-SEC) was used. Dissolved organic carbon (DOC), total nitrogen (TN), total dissolved nitrogen (TDN), color, pH and temperature were included as explanatory variables. The study area was Mangueira lake, a large shallow oligo-mesotrophic lake located into the Taim Hydrological System. The samples were collected in four samplings during the year 2010 at nineteen different points, including the littoral and pelagic zones, located in the south, center and north of the lake. Results showed that the Mangueira lake presents interannual temporal heterogeneity in relation to these variables, at the same time that it has a homogeneous longitudinal profile, not evidencing a defined spatial arrangement.

Keywords: Dissolved organic matter, molecular size, limnological variables, spatial distribution, seasonality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Localização da Lagoa Mangueira, RS e pontos de amostragem. (Fonte: FREITAS-TEIXEIRA et al., 2016).....	13
Figura 2: Picos de detecção em HPLC-SEC. AH _G (6±1 min), PROT (12±1min); AHP (15±1min). Lagoa Mangueira, RS.....	16
Figura 3: Picos de absorção (254±10nm) referentes aos AH _G . Lagoa Mangueira, RS.....	17
Figura 4: Pico de absorção (270±1nm) referente às PROT. Lagoa Mangueira, RS.....	17
Figura 5: Picos de absorção (254±10nm) referentes aos AHP. Lagoa Mangueira, RS.....	17
Figura 6: Mapa de distribuição sazonal das proteínas (PROT). Lagoa Mangueira, RS.....	21
Figura 7: Mapa de distribuição sazonal dos AH _G . Lagoa Mangueira, RS.....	22
Figura 8: Mapa de distribuição sazonal dos AHP. Lagoa Mangueira, RS.....	23
Figura 9: Análise de Componentes Principais (ACP) aplicada à dinâmica das variáveis limnológicas na Lagoa Mangueira evidenciando o ordenamento sazonal. A) variáveis de ordenação do eixo 1 : nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), proteínas (PROT), pH e variáveis de ordenação do eixo 2: ácidos húmicos totais (AHTot), ácidos húmicos de pequeno tamanho (AHP); B) variáveis de ordenação do eixo 1 : nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), proteínas (PROT), pH e variáveis de ordenação do eixo 3: carbono orgânico dissolvido (COD) e ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AHg).....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Valores médios, mínimos e máximo das variáveis limnológicas amostradas na Lagoa Mangueira durante o ano de 2010.	19
Tabela 2 Resultados das análises de correlação entre as variáveis limnológicas estudadas na Lagoa Mangueira, RS durante o ano de 2010.	26
Tabela 3: Valores de significância (ANOVA <i>two way</i>) de forçantes espacial e temporal em relação à dinâmica das variáveis limnológicas na Lagoa Mangueira durante o período do estudo.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA: Análise de Variância

ABS: Unidade de Absorbância

UA: Unidade de Área

BSA: Bovine Serum Albumin

C: Carbono

CI: Carbono Inorgânico

°C: Graus Celsius

Da: Dalton: $1\text{Da} = 1,66 \cdot 10^{-27}\text{kg}$

COD: Carbono Orgânico Dissolvido

COT: Carbono Orgânico Total

AH: Ácidos Húmicos

AH_{TOT}: Ácidos Húmicos Totais

AH_P: Ácidos Húmicos de Pequeno Tamanho Molecular

AH_G: Ácidos Húmicos de Grande Tamanho Molecular

HPLC-SEC: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho

kg: quilogramas

GTM: Grande Tamanho Molecular

MOD: Matéria Orgânica Dissolvida

MODC: Matéria Orgânica Dissolvida Colorida

mg/L: Miligramas por Litro

µg/L: Microgramas por Litro

nm: Nanometros

µm: Micrometros

n: Número de Amostras

N: Nitrogênio

CONP: Carbono Orgânico não Purgável

p: Coeficiente de Correlação de Pearson

ACP: Análise de Componentes Principais

pH: Potencial Hidrogeniônico

PROT: Proteínas

R₁: Radical orgânico aleatório 1

R₂: Radical orgânico aleatório 2

R₃: Radical orgânico aleatório 3

R²: Coeficiente de Correlação

PTM: Pequeno Tamanho Molecular

NTD: Nitrogênio total dissolvido

NT: Nitrogênio Total

UV: Espectro Ultravioleta

VIS: Espectro Visível

Z_{máx} = Profundidade máxima

Z_{méd} = Profundidade média

SUMÁRIO

RESUMO	3
LISTA DE FIGURAS	5
LISTA DE TABELAS	6
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	7
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 HIPÓTESE	12
3 OBJETIVOS.....	12
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	12
4.1 Área de estudo.....	12
4.2 Delineamento amostral.....	13
4.3 Coleta, armazenamento e preparação das amostras	14
4.4 Medições de temperatura, pH e cor.....	14
4.5 Quantificação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD).....	14
4.6 Quantificação de Nitrogênio Total (NT) e Nitrogênio Total Dissolvido (NTD)	15
4.7 Separação de Proteínas (PROT) e Ácidos Húmicos (HA) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC).	15
4.8 Análises dos dados	18
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
6 CONCLUSÃO.....	28
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

A matéria orgânica dissolvida (MOD) é formada por uma mistura heterogênea de compostos orgânicos com pesos moleculares entre 100-100000 Da (SOLOMONS & FRYHLE, 2014). Em ecossistemas aquáticos, a MOD pode ser dividida em duas frações principais: MOD lábil, ou fração prontamente utilizável, e MOD refratária, residual e de difícil utilização pelo consórcio microbiano (PÉREZ et al., 2013). A MOD lábil é formada por componentes de pequeno tamanho molecular (PTM) – açúcares e proteínas que, geralmente, abrangem menos de 20% da MOD total (HUBER et al., 2011). A utilização da MOD lábil é restringida pelo sistema de transporte da membrana celular, que prioriza a captação de substratos abaixo de 600 Da (WANG et al., 2015). Logo, o uso da MOD como fonte de energia pelos microrganismos e posterior transferência para a cadeia trófica, na maioria dos casos, é controlado pela disponibilidade dos componentes de pequeno tamanho molecular (PTM) (BENNER et al., 2003).

Pelo menos dois grupos de matéria orgânica dissolvida (MOD), com características de absorção específicas, têm sido identificados em ecossistemas aquáticos. Um grupo tem propriedades de absorção similares às proteínas e outro tem propriedades de absorção similares às substâncias húmicas (ZHOU et al., 2015). Para a melhor compreensão do papel que a MOD desenvolve na dinâmica dos ecossistemas aquáticos é indicado estimar a concentração e qualidade desses grupos distintos, avaliando parâmetros tais como absorbância (ABS) e tamanho molecular (WAGNER et al., 2016), que podem ser analisados através de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC) (LEE et al., 2015).

O consumo de componentes de pequeno tamanho molecular (PTM) pelo consórcio microbiano é preferencial em relação aos componentes de grande tamanho molecular (GTM). Logo, uma maior concentração de MOD de grande cadeia molecular é disponibilizada por mais tempo no meio aquático (JAFFE et al., 2009). O estoque de MOD dos ecossistemas aquáticos, geralmente, é heterogêneo e abrange uma grande variedade de compostos orgânicos, os quais podem variar espacialmente e temporalmente em termos de fonte, concentração, composição, propriedades ópticas e propriedades químicas (JAFFE et al., 2009).

Em lagoas, a concentração da MOD tende a apresentar uma variação sazonal razoavelmente previsível, associada a entradas de carbono orgânico induzidas pelas chuvas e práticas de agrícolas de uso de solo (influência alóctone), com potencial variação sazonal das propriedades químicas do carbono orgânico dissolvido COD (i.e., sua qualidade) (SUHETT et al., 2013). Deste modo, apesar da concentração (quantidade) total da MOD poder apresentar pouca variabilidade ao longo de um período, é possível que sua composição (qualidade) mude significativamente, no mesmo intervalo de tempo (MILLER & MCKNIGHT, 2010).

Em lagoas rasas, as macrófitas possuem um papel chave na estruturação física e química do ambiente aquático (MEERHOFF et al., 2007), como um importante atributo na dinâmica do carbono autóctone. Junto destes bancos de macrófitas o COD é produzido, e, em sua maioria, formado por compostos alifáticos e aromáticos de grande tamanho molecular e, presumidamente, refratários (HAIG THEY et al., 2013). Assim, as macrófitas, juntamente com o fitoplâncton (FREITAS-TEIXEIRA et al., 2016) e o perifíton são importantes fontes de produção de carbono disponível (MOD lábil) para o consumo das cadeias tróficas aquáticas (RODRIGUES et al., 2014).

Considerando-se a degradação da MOD, esta pode seguir dois caminhos distintos: a decomposição bacteriana (DOCHERTY et al., 2006) e a fotodegradação (FARJALLA et al., 2001; AMADO et al., 2006; HAIG THEY et al., 2013), que pode liberar compostos de pequeno tamanho molecular, tornando-os diretamente disponíveis para as bactérias. O grau de sobreposição entre os processos de degradação fotoquímica e decomposição bacteriana da MOD pode competir entre si ou apresentar ação complementar (AMADO 2008; HAIG THEY et al., 2013). Além das bactérias planctônicas atuarem como decompositoras da matéria orgânica, participando de modo dinâmico no ciclo do carbono, elas também servem de alimento para organismos microscópicos, como flagelados e ciliados, cujos quais são fonte de alimento para o zooplâncton, que é potencialmente predado pelos peixes planctívoros (RODRIGUES et al., 2015), demonstrando assim, implicações da dinâmica trófica de todo o ecossistema. Neste sentido, o modo com que as formas orgânicas dissolvidas são metabolizadas em sistemas aquáticos depende da composição bioquímica da MOD (BENNER et al., 2003).

Assim, o presente trabalho avaliou a dinâmica espacial e temporal de proteínas e ácidos húmicos na Lagoa Mangueira, através de cromatografia líquida de alta eficiência. A análise de proteínas e ácidos húmicos, em relação ao tamanho molecular, pode contribuir para

o entendimento do comportamento de um ecossistema aquático em relação à quantidade e à qualidade da matéria orgânica dissolvida (MOD) lábil disponível (LEE et al., 2015).

2 HIPÓTESE

A distribuição de proteínas (PROT) e ácidos húmicos (AH) de diferentes tamanhos moleculares apresenta variabilidade espacial e/ou sazonal na Lagoa Mangueira, RS.

3 OBJETIVOS

1) Quantificar a composição da matéria orgânica dissolvida (MOD) com foco em proteínas (PROT) e ácidos húmicos (AH);

2) Analisar a dinâmica espacial e sazonal destes componentes, durante o período de um ano;

3) Identificar a relação entre a concentração destes componentes e as variáveis limnológicas carbono e nitrogênio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Área de estudo

O estudo foi realizado na Lagoa Mangueira (Fig.1), integrante do Sistema Hidrológico do Taim ($32^{\circ} 20' - 33^{\circ} 00'S$; $052^{\circ} 20' - 052^{\circ} 45'W$). É uma lagoa rasa ($Z_{\max} = 6$ m, $Z_{\text{médio}} = 2,6$ m), com área aproximada de 820 km^2 , 90 km de comprimento e largura entre 3-10 km (FREITAS-TEIXEIRA et al., 2016) e classificada como oligo-mesotrófica (CROSSETTI et al., 2013). Localiza-se na planície costeira do estado do Rio Grande do Sul, mais precisamente entre os municípios de Rio Grande e Santa Vitória do Palmar (RS, Brasil).

Representa um ecossistema caracterizado por grandes áreas alagadas, com banhados associados a lagoas. A região caracteriza-se por possuir um clima subtropical (CFA; KOTTEK et al., 2006), o que lhe atribui quatro estações bem distribuídas durante o ano.

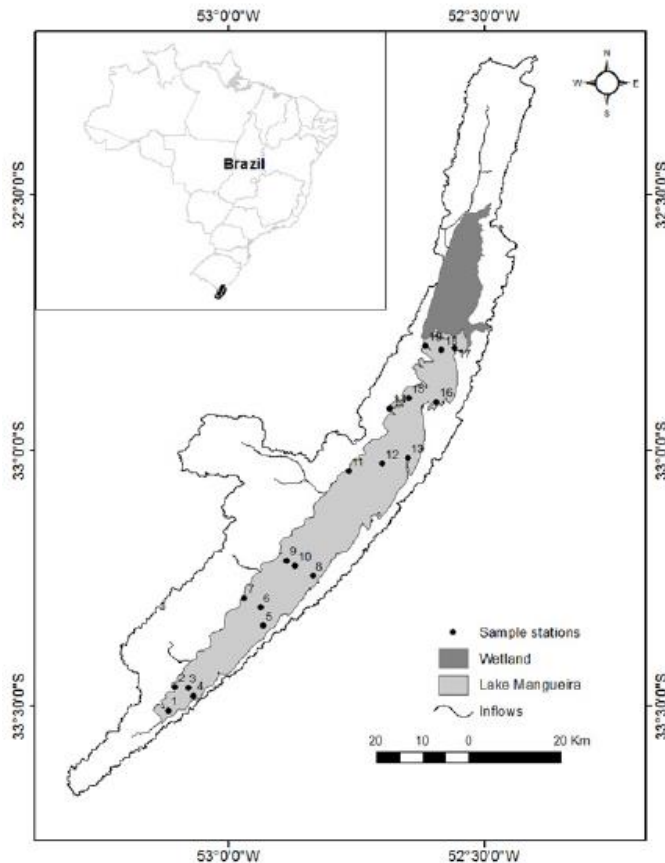


Figura 1. Localização da Lagoa Mangueira, RS e pontos de amostragem. (Fonte: FREITAS-TEIXEIRA et al., 2016).

A lagoa tem um perfil longitudinal de distribuição de macrófitas bem diferenciado: ao sul a ocorrência de macrófitas aquáticas, com predomínio de espécies submersas e ao norte, onde está localizado o Banhado do Taim, a ocorrência de um maciço de vegetação aquática emergente que apresenta grande potencial para exportação de matéria orgânica para dentro da mesma (MOTTA MARQUES et al., 1997; RODRIGUES et al., 2015).

4.2 Delineamento amostral

As amostragens contemplaram as quatro estações do ano de 2010, sendo as coletas realizadas em março, maio, agosto e novembro, representando verão, outono, inverno e

primavera, respectivamente. Em cada campanha, foram coletadas amostras de água superficial, distribuídas em 19 pontos da região pelágica e litorânea da lagoa (Fig.1).

4.3 Coleta, armazenamento e preparação das amostras

Para evitar a fotodegradação, as amostras foram coletadas em vidro âmbar. Para a remoção das partículas orgânicas em suspensão, as amostras foram filtradas através de filtros de fibra de vidro marca Whatman™ GF/C®. As mesmas foram estocadas em vidro âmbar, refrigeradas à 4°C, no escuro, até o momento das análises. Para a não ocorrência de contaminação com matéria orgânica indesejável, filtros e frascos de vidro âmbar foram calcinados à 450°C, por uma hora (APHA, 2005).

As amostras foram liofilizadas em liofilizador marca Neutec™, modelo Minivac Alpha®, desde o volume de 2000µL até a secura. Depois, foram resolubilizadas em água ultrapura (Milli-Q®) até o volume final de 200µL. Deste modo, a amostra final, dez vezes mais concentrada do que a original, elevou a condição de operação dos equipamentos utilizados para patamares de maior confiabilidade analítica.

4.4 Medições de temperatura, pH e cor

A temperatura (°C) e o pH das amostras foram medidas com sonda marca YSI™, modelo 6600 Multiparameter Water Quality Sonde®. A cor (mg/L Pt-Co) foi determinada em laboratório, através de colorímetro marca Digimed™, modelo DM-COR®.

4.5 Quantificação de Carbono Orgânico Dissolvido (COD)

A concentração de COD (mg/L C) foi obtida a partir da análise das amostras filtradas através de filtros de fibra de vidro marca Whatman™ GF/C®, em Analisador de Carbono, marca Shimadzu™, modelo TOC-V. O método de análise utilizado consiste na quantificação do carbono orgânico não purgável (CONP), que é o carbono que permanece em solução após a retirada do carbono inorgânico (CI), relacionando-o com a concentração de

carbono orgânico total (COT), através de três etapas: a acidificação, que serve para remover o CI da amostra, a combustão catalítica, que transforma o CONP em dióxido de carbono, possibilitando sua quantificação e por fim, a detecção da quantidade de CONP presente, pelo detector de infravermelho não dispersivo. A concentração final de CONP, neste caso, é igual a de COD (FONSECA et al., 2006).

4.6 Quantificação de Nitrogênio Total (NT), Nitrogênio Total Dissolvido (NTD)

Para a avaliação da concentração de Nitrogênio total (NT) e Nitrogênio total dissolvido (NTD) (mg/L N), as análises foram realizadas através da metodologia 4500 E – Cadmium Reduction – (APHA, 2005) - Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 20th Edition.

4.7 Separação de Proteínas (PROT) e Ácidos Húmicos (HA) por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC)

Para a separação dos grupos de ácidos húmicos (AH) e proteínas (PROT) em relação aos seus tamanhos moleculares foi realizada análise em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por Exclusão de Tamanho (HPLC-SEC) (ALLPIKE et al., 2007; HUBER et al., 2011; VELTEN et al., 2011; LEE et al., 2015). Moléculas de pequeno tamanho têm maior probabilidade de serem retidas nos poros da fase estacionária da coluna analítica, o que aumenta o seu tempo de retenção. O contrário acontece com as moléculas de grande tamanho molecular. Deste modo, é possível realizar a separação dos compostos, levando em consideração o seu tamanho molecular.

Neste estudo foi utilizado um Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC), marca WatersTM, modelo Alliance E2695[®], com coluna analítica de exclusão por tamanho molecular (Waters TM Biosuite[®] 450, 8 μ m, HR SEC), *loop* de 50 μ L e detector de arranjo de fotodiodos (*photodiode array*, PDA). Neste caso, cada diodo monitora uma faixa estreita de comprimentos de onda, sendo toda a região de interesse analisada, com vista à obtenção do espectro completo da substância (LANÇAS, 2009). Como fase móvel, foi utilizada solução de KH₂PO₄ 2mM/2mM K₂HPO₄, em modo de eluição isocrática, numa vazão de 0,5 mL/min.

Através da avaliação do tempo de retenção (TR) - que é o tempo em que o composto fica retido na coluna analítica - foi feita a identificação dos picos.

Para a avaliação da presença de proteínas (PROT) e ácidos húmicos (AH) analisados em HPLC-SEC (WANG et al., 2015; WAGNER et al., 2016) foi usado o espectro de absorção, isto é, comprimentos de onda e bandas de absorção preferenciais das amostras (VALEUR, 2002; LACKOWICZ, 2006; LANÇAS, 2009). A concentração de proteínas (PROT) e ácidos húmicos (AH) é proporcional às áreas sob os picos representados nos respectivos cromatogramas (LANÇAS, 2009).

Para a avaliação da concentração de proteínas (PROT) foi utilizado como padrão primário, o BSA (*Bovine Serum Albumin*) (SAHIN et al., 2016), marca Sigma-Aldrich™. Tal composto possui máxima absorbância em 270nm (± 1 nm) (WANG et al., 2015). Os resultados foram expressos em microgramas por litro ($\mu\text{g/L}$). A quantidade de ácidos húmicos (AH) foi medida em unidades de área (AU) a partir das frações de ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular (AHP) e ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AHG), sendo a soma das duas frações denominada de ácidos húmicos totais (AHTOT) (WAGNER et al., 2016).

Os cromatogramas obtidos a partir das análises em HPLC-SEC (Fig.2) mostram que o grupo de ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AHG) apresentou picos de detecção em 6 ± 1 min. As proteínas apresentaram seu pico de detecção em 12 ± 1 min e o grupo de ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular (AHP) exibiu picos de detecção entre 15 ± 1 min.

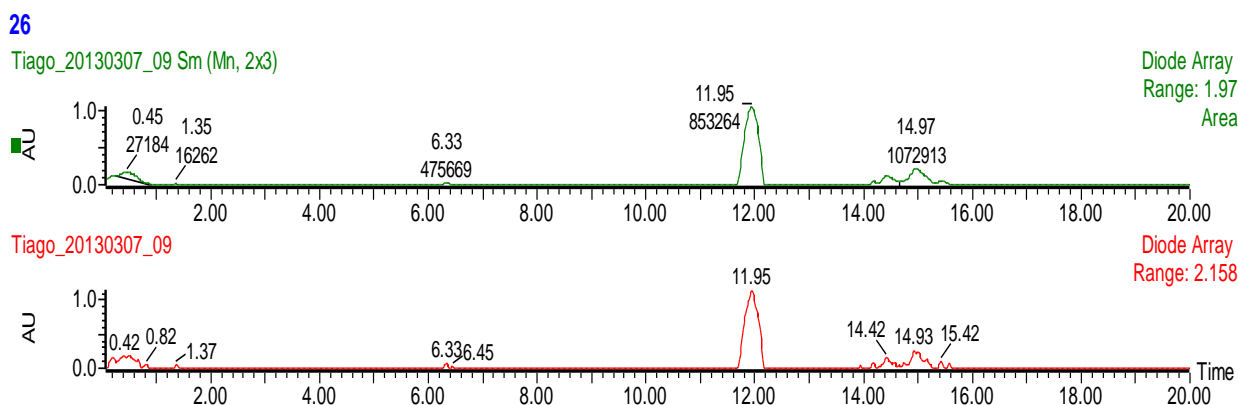


Figura 2. Picos de detecção em HPLC-SEC. AHG (6 ± 1 min), PROT (12 ± 1 min); AHP (15 ± 1 min). Lagoa Mangueira, RS.

Os picos de absorção em torno de $254\pm 10\text{nm}$ são respectivos aos ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AH_G) (Fig.3) e aos ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular AH_P (Fig.5). Os picos de absorção em $270\pm 1\text{nm}$ são respectivos às proteínas (PROT) (Fig.4).

26

Tiago_20130307_09 374 (6.317)

Diode Array
4.671e-2

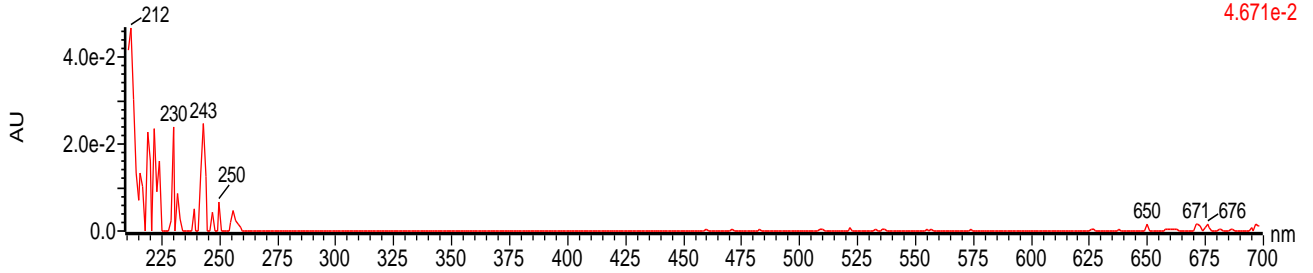


Figura 3. Picos de absorção ($254\pm 10\text{nm}$) referentes aos AH_G . Lagoa Mangueira, RS.

26

Tiago_20130307_09 714 (11.984)

Diode Array
3.684e-2

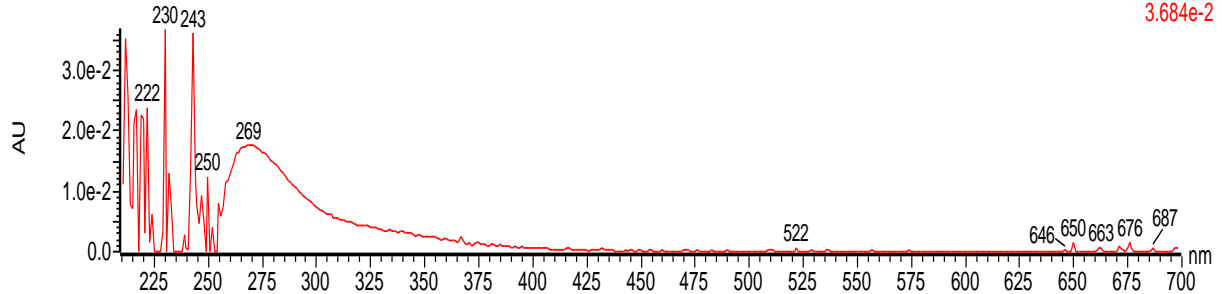


Figura 4. Pico de absorção ($270\pm 1\text{nm}$) referente às PROT. Lagoa Mangueira, RS.

26

Tiago_20130307_09 893 (14.968)

Diode Array
3.157e-2

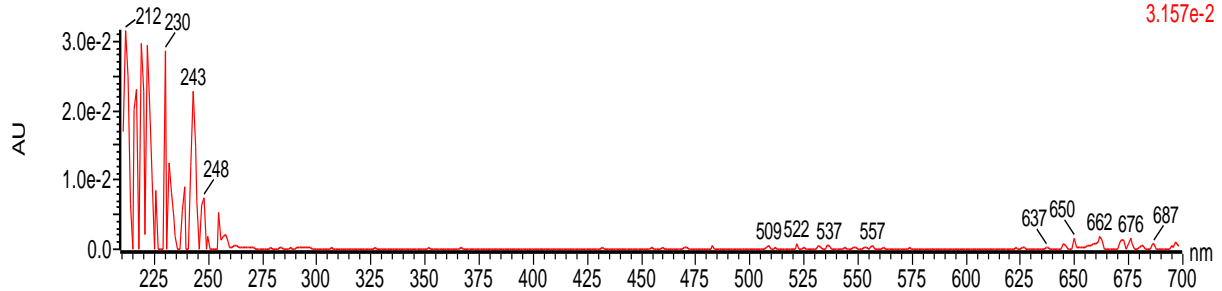


Figura 5. Picos de absorção ($254\pm 10\text{nm}$) referentes aos AH_P . Lagoa Mangueira, RS.

Os demais picos são referentes a outros grupos funcionais (p.e.: açúcares e ácidos graxos) que não são quantificados pela metodologia usada neste trabalho, mas que também são detectáveis pela configuração de trabalho do equipamento, apresentando absorvância dentro da faixa de comprimento de onda utilizada para a análise de ácidos húmicos (AH) e proteínas (PROT).

4.8 Análises dos dados

Para identificar possíveis grupamentos relacionados à dinâmica espacial e temporal do NT, NTD, COD, cor, pH, AH_P, AH_G, AH_{TOT} e PROT, foram realizadas análises de ordenação, através de Análises de Componentes Principais (ACP). Para tanto foi utilizado o software PC-ORD versão 6.0 (McCUNE & MEFFORD, 2011). Com o objetivo de avaliar o grau de relacionamento entre as variáveis foram utilizadas análises de correlação entre as múltiplas variáveis, analisadas através dos coeficientes de correlação de Pearson ($p < 0,05$). Para analisar a variância espacial e sazonal entre as unidades amostrais foi utilizada ANOVA *two way*.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela 1 apresenta os valores médios, mínimos e máximo das variáveis limnológicas amostradas na Lagoa Mangueira durante o período de estudo, organizados de acordo com uma abordagem espacial (região da lagoa), temporal (estação do ano) e valores médios globais (valores obtidos nas diferentes regiões da lagoa em todas as estações no ano de 2010). Dentre elas, temperatura (11,02 a 24,69°C), pH (7,36 a 9,20), Cor (0,67 a 38,33 mg/L Pt-Co), NT (0,11 a 0,72 mg/L N), NTD (0,08 a 0,56 mg/L N), COD (0,12 a 4,48 mg/L C). As variáveis cor e COD apresentaram ampla variação ao longo do período de amostragem. Os maiores valores médios de cor foram obtidos no norte (15,38 mg/L) e sul (12,20 mg/L) da lagoa, comparados com a porção central do sistema (10,43 mg/L). Este mesmo padrão foi obtido na dinâmica do COD na lagoa, que apresentou maiores valores nos extremos (2,41 mg/L no norte; 2,53 mg/L no sul), enquanto o centro apresentou valor inferior (2,12 mg/L).

Tabela 1. Valores médios, mínimos e máximo das variáveis limnológicas amostradas na Lagoa Mangueira durante o ano de 2010.

		T (°C)	pH	Cor (mg/L Pt-Co)	NT (mg/L N)	NTD (mg/L N)	COD (mg/L C)	AHp (UA)	AHg (UA)	AHtot (UA)	PROT (µg/L)	
Ano 2010	Mínimo	11,02	7,36	0,67	0,11	0,08	0,12	0,67	4,24	9,76	3,99	
	Máximo	24,69	9,20	38,33	0,72	0,56	4,48	38,33	6,46	12,14	5,99	
	Média	18,56	8,09	12,89	0,35	0,29	2,35	12,89	5,36	10,87	4,49	
	dp	4,49	0,57	9,58	0,14	0,13	0,92	9,58	0,43	0,50	0,55	
Verão	Estação do ano	Mínimo	19,80	8,68	2,33	0,36	0,32	0,12	5,03	5,17	10,27	4,13
		Máximo	24,69	9,20	29,00	0,72	0,56	4,28	6,00	5,77	11,25	5,75
		Média	22,64	8,93	10,49	0,47	0,41	2,03	5,38	5,39	10,77	5,04
		dp	1,12	0,12	6,25	0,09	0,06	1,15	0,25	0,17	0,29	0,37
Outono	Estação do ano	Mínimo	17,03	7,42	3,67	0,33	0,26	1,15	5,30	4,34	9,82	3,99
		Máximo	18,46	8,27	20,33	0,54	0,51	4,48	5,99	5,68	11,16	5,99
		Média	17,80	7,82	8,22	0,43	0,37	2,72	5,65	5,21	10,86	4,68
		dp	0,33	0,22	4,55	0,07	0,08	0,86	0,20	0,26	0,30	0,67
Inverno	Estação do ano	Mínimo	11,02	7,36	9,67	0,21	0,14	0,28	5,15	4,65	10,29	4,02
		Máximo	12,46	7,55	38,33	0,33	0,24	3,92	6,02	6,35	12,14	4,17
		Média	11,65	7,44	26,30	0,26	0,18	2,69	5,71	5,54	11,24	4,10
		dp	0,45	0,05	7,09	0,04	0,03	0,78	0,26	0,42	0,56	0,04
Primavera	Estação do ano	Mínimo	21,00	8,01	0,67	0,11	0,08	1,26	5,09	4,24	9,76	4,02
		Máximo	23,05	8,61	15,33	0,60	0,46	3,46	5,96	6,46	11,70	4,36
		Média	22,13	8,17	6,96	0,22	0,17	1,96	5,33	5,29	10,62	4,13
		dp	0,65	0,13	3,96	0,13	0,10	0,55	0,22	0,65	0,57	0,11
Norte	Região da lagoa	Mínimo	11,48	7,39	3,00	0,12	0,10	0,49	5,04	4,60	9,88	4,02
		Máximo	24,69	9,20	38,33	0,72	0,51	4,48	5,79	5,93	11,72	5,89
		Média	18,89	8,11	15,38	0,37	0,29	2,41	5,47	5,38	10,84	4,53
		dp	4,64	0,63	11,60	0,16	0,14	0,88	0,24	0,30	0,41	0,55
Centro	Região da lagoa	Mínimo	11,28	7,36	0,67	0,11	0,08	0,12	5,09	4,24	9,76	3,99
		Máximo	23,96	9,07	27,33	0,56	0,42	3,92	6,02	6,35	12,14	5,12
		Média	18,64	8,06	10,43	0,32	0,25	2,12	5,58	5,24	10,82	4,36
		dp	4,59	0,58	8,79	0,13	0,11	0,87	0,31	0,54	0,64	0,42
Sul	Região da lagoa	Mínimo	11,02	7,38	1,33	0,16	0,12	0,28	5,03	4,65	10,29	4,02
		Máximo	22,76	8,90	29,33	0,56	0,55	4,28	5,99	6,46	12,13	5,99
		Média	18,09	8,03	12,20	0,35	0,29	2,53	5,50	5,45	10,95	4,48
		dp	4,37	0,50	7,53	0,12	0,13	0,99	0,29	0,42	0,45	0,61

T, temperatura em graus Celsius; pH, potencial hidrogeniônico; UA, unidade de área integrada sob o pico; µg/L = microgramas por litro; dp = desvio padrão; mg/L Pt-Co, miligrama por litro de platina-cobalto; NT, nitrogênio total; NTD, nitrogênio total dissolvido; mg/L N, miligrama por litro de nitrogênio; COD, carbono orgânico dissolvido; mg/L C, miligrama por litro de carbono; AHp, ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular; AHg, ácidos húmicos de grande tamanho molecular; AHtot, ácidos húmicos totais; PROT, proteínas.

Esta variação está especialmente relacionada à presença de macrófitas nos extremos da lagoa, densamente colonizados por espécies submersas (sul) e emergentes (norte). A presença de macrófitas é comum em lagoas rasas subtropicais, onde o carbono orgânico dissolvido (COD), derivado das mesmas é formado, em sua maioria, por compostos alifáticos e aromáticos de grande tamanho molecular e, presumidamente, refratários (HAIG THEY et al., 2013). Este resultado, corrobora com estudo de Rodrigues et al. (2014), que evidenciou que as macrófitas, juntamente com o fitoplâncton (FREITAS-TEIXEIRA et al., 2016) e o perifíton são importantes fontes de carbono disponível (MOD lábil) na Lagoa Mangueira.

A tabela 1 também apresenta os valores médios de determinação dos grupos ácidos húmicos e proteínas. Dentre os ácidos húmicos, os menores valores médios foram obtidos pelos ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AH_G) (5,36 UA), enquanto os ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular (AH_P) apresentaram maiores valores médios (12,36 UA). Proteínas exibiram valores médios de concentração de 4,49 UA.

Em função da morfologia da Lagoa Mangueira (≈ 90 km de comprimento e ≈ 10 km de largura) e da dinâmica hidrológica e dos ventos (Fragoso et al. 2008) os seiches formados pelos mesmos funcionam como uma correia transportadora de nutrientes, promovendo a mistura vertical e algum transporte horizontal (CARDOSO et al. 2012). O mapeamento da distribuição sazonal ilustra a distribuição de PROT (Fig.6), AH_G (Fig.7) e HA_P (Fig.8) nas diferentes estações do ano.

Através da Análise de Componentes Principais (ACP) foram avaliados os agrupamentos relacionados à dinâmica dos ácidos húmicos, nitrogênio, carbono e proteínas na Lagoa Mangueira. Utilizando 09 variáveis, a ACP (Fig.9) explicou 76,10% da variabilidade dos dados nos três primeiros eixos ($P = 0,001$) (eixos 1 = 36,27%; eixo 2 = 23,86%; eixo 3 = 15,97%). As variáveis para a ordenação do eixo 1 (eixo nitrogenado) foram nitrogênio total dissolvido (NTD) (0,84), proteínas (PROT) (0,80), nitrogênio total (NT) (0,79) e pH (0,78). O eixo 2 foi relacionado principalmente com os ácidos húmicos totais (AH_{TOT}) (-0,82), enquanto que para o eixo 3, as variáveis mais relevantes foram carbono orgânico dissolvido (COD) (0,64) e ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AH_G) (-0,69).

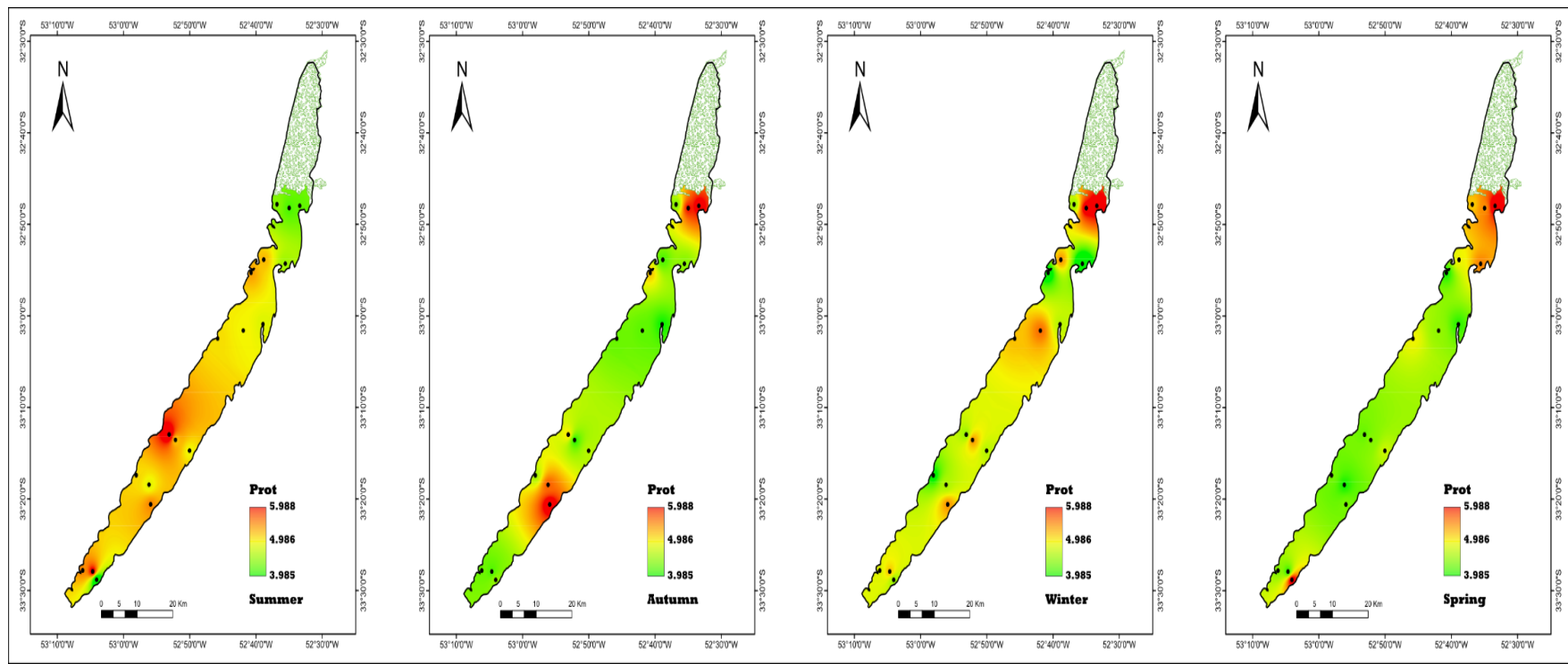


Figura 6. Mapa de distribuição sazonal de PROT. Lagoa Mangueira, RS.

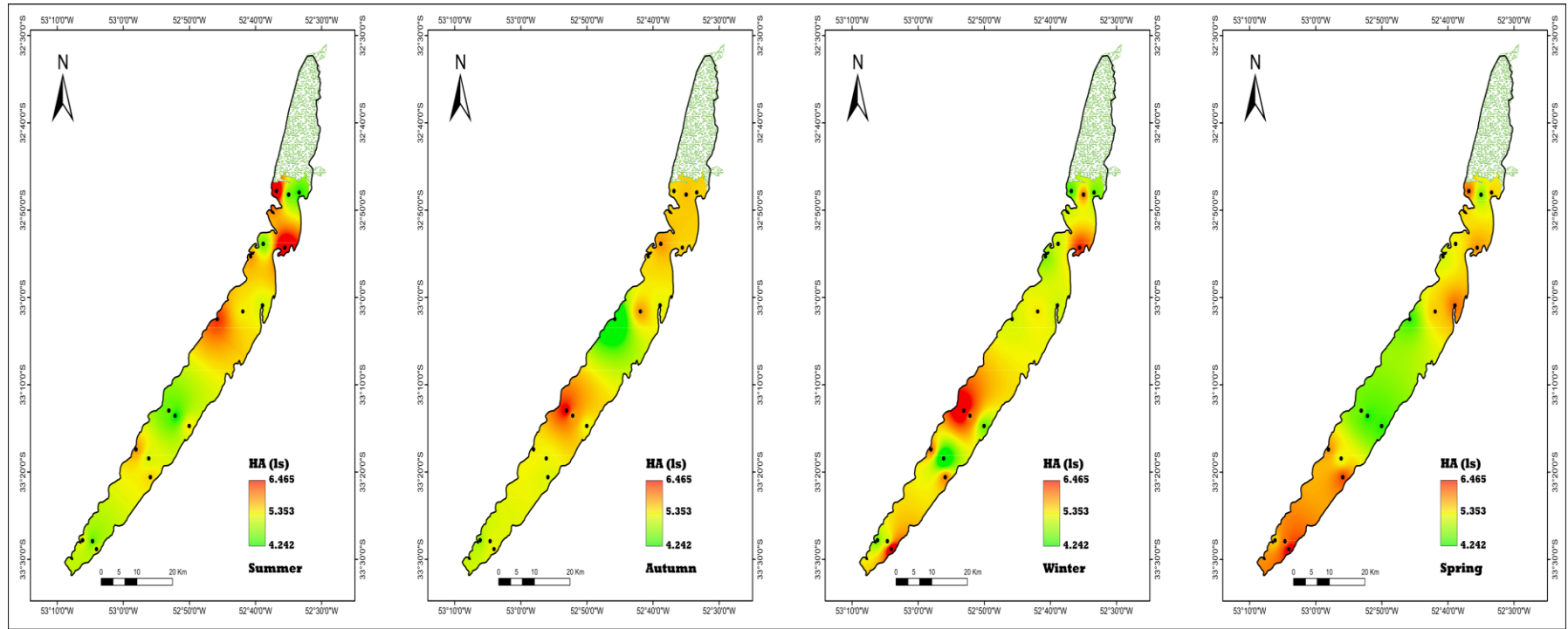


Figura 7. Mapa de distribuição sazonal de AHG. Lagoa Mangueira, RS.

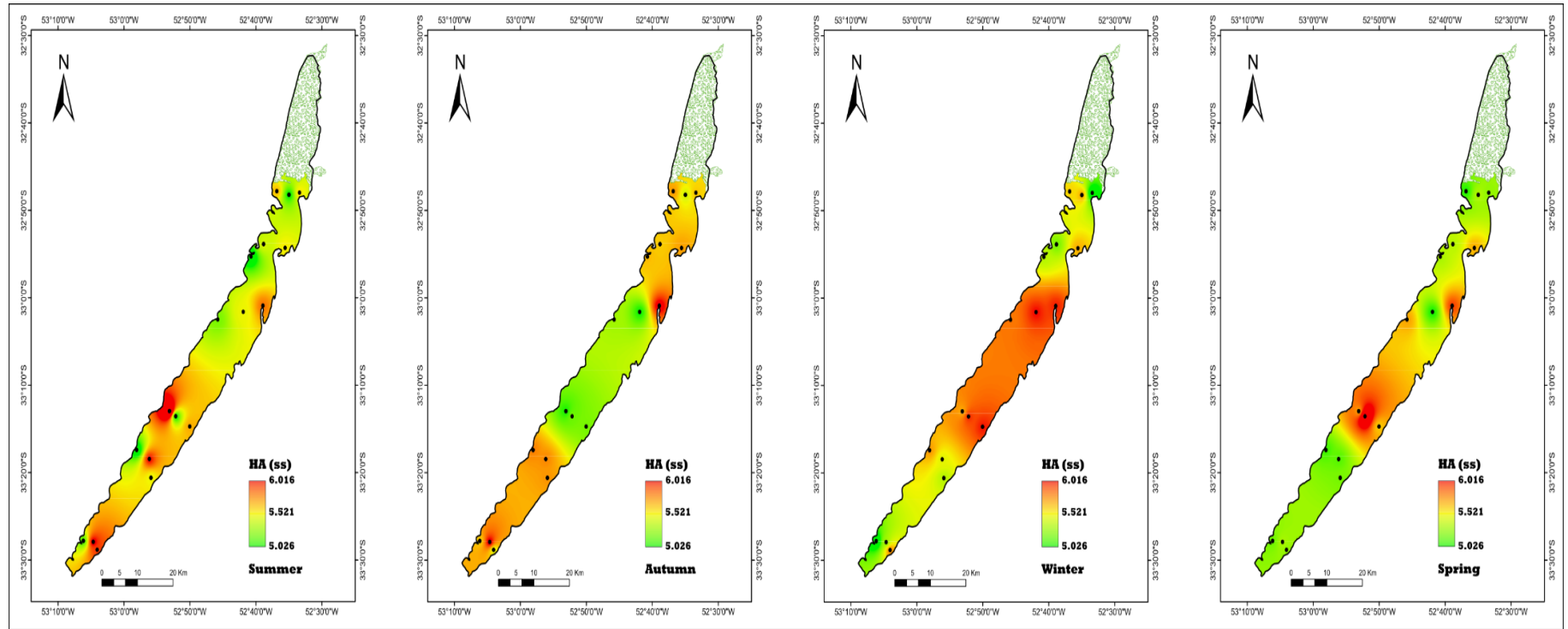


Figura 8. Mapa de distribuição sazonal de AH_p. Lagoa Mangueira, RS.

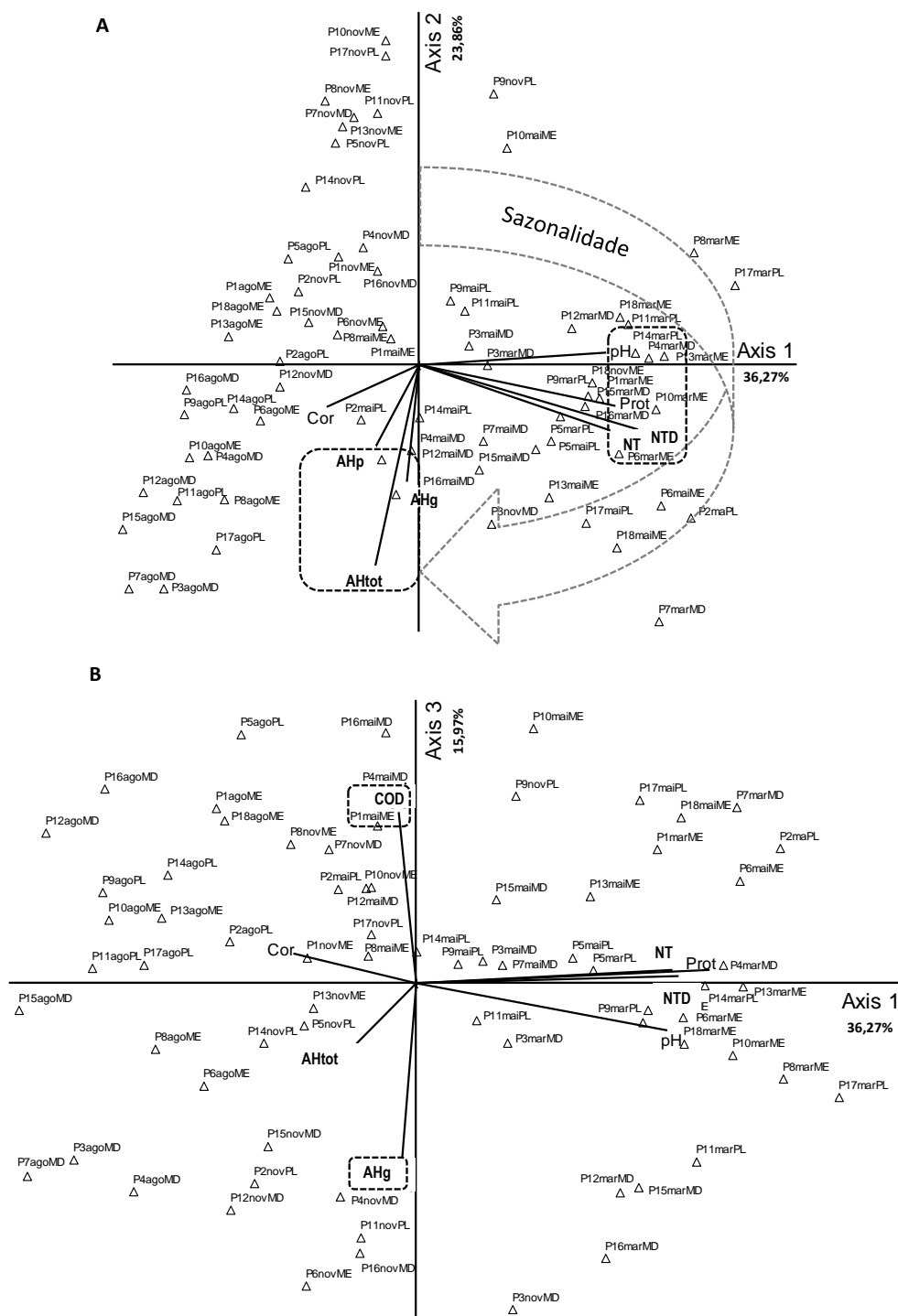


Figura 9. Análise de Componentes Principais (ACP) aplicada à dinâmica das variáveis limnológicas na Lagoa Mangueira evidenciando o ordenamento sazonal. A) variáveis de ordenação do eixo 1 : nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), proteínas (PROT), pH e variáveis de ordenação do eixo 2: ácidos húmicos totais (AHtot), ácidos húmicos de pequeno tamanho (AHp); B) variáveis de ordenação do eixo 1 : nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), proteínas (PROT), pH e variáveis de ordenação do eixo 3: carbono orgânico dissolvido (COD) e ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AHg).

Foi evidenciado uma ordenação temporal das unidades amostrais (Fig.9) relacionadas à dinâmica sazonal dos ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular (AHp), ácidos húmicos de grande tamanho molecular (AHg), ácidos húmicos totais (AHtot), nitrogênio total (NT), nitrogênio total dissolvido (NTD), carbono orgânico dissolvido (COD), proteínas (PROT). Este arranjo sazonal pode ser relacionado ao ciclo de cultivo do arroz no entorno da lagoa. Nos meses de verão e primavera a variação da carga de nutrientes promove a alteração do estado trófico da lagoa de oligotrófico para mesotrófico, pois parte da água utilizada no cultivo é devolvida para a lagoa, carregando consigo quantidade elevada de nutrientes (FRAGOSO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2015).

Todavia, não foi evidenciado um arranjo espacial através da ACP, relacionado à distribuição de ácidos húmicos e proteínas na Lagoa Mangueira. Tal fato pode ser explicado pela hidrodinâmica da lagoa, intensamente influenciada pela ação dos ventos, especialmente do quadrante nordeste (FRAGOSO et al., 2008) e pela distribuição da vegetação aquática (PAZ et al., 2005; FRAGOSO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2015) no sentido de promover homogeneidade nas zonas pelágicas e litorâneas e ao longo do perfil longitudinal entre norte e sul. Também, a morfologia da Lagoa Mangueira (≈ 90 km de comprimento e ≈ 10 km de largura) e a dinâmica hidrológica e dos ventos, favorece a formação de seiches e correntes que vão atuar como uma correia transportadora de nutrientes, promovendo mistura vertical e transporte horizontal (CARDOSO et al., 2012; RODRIGUES et al., 2015).

Resultados das correlações entre as variáveis são apresentados na tabela 2. Coeficiente de correlação de Pearson extremamente significativo ($p < 0,001$) e positivo foi obtido para a correlação de proteínas e NTD. Esta alta correlação já é esperada, visto que a composição química das proteínas é constituída por compostos nitrogenados, comumente em forma de aminas primárias (R_1-NH_2), secundárias (R_1-R_2-NH) ou terciárias ($R_1-R_2-R_3-N$), assim como amidas primárias ($R_1-CO)NH_2$, secundárias ($R-CO)_2NH$, e terciárias ($R_1-CO)_3N$ (SOLOMONS & FRYHLE, 2014). Correlações significativas ($p < 0,001$) também foram evidenciadas entre pH e COD, NTD, proteínas e ácidos húmicos de pequeno tamanho e totais.

O pH é uma das variáveis mais importantes na dinâmica do ambiente aquático, devido ao grande número de fatores que podem influenciá-lo, como: a) concentração de íons H^+ originados da dissociação do ácido carbônico, que gera valores baixos de pH; b) reações de íons carbonato e bicarbonato com a molécula da água que elevam os valores de pH para a faixa alcalina, como observado na Lagoa Mangueira (7,36 a 9,20).

Tabela 2. Resultados das análises de correlação entre as variáveis limnológicas estudadas na Lagoa Mangueira, RS durante o ano de 2010.

Variável	COD (mg/L)	NTD (mg/L)	PROT (µg/L)	AHtot (UA)	AHp (UA)	AHg (UA)	pH
NTD (mg/L)	0,0459						R
	0,7016						p
PROT (µg/L)	-0,0242	0,8160					R
	0,8400	<0,0001					p
AHtot (UA)	0,0508	-0,0153	-0,0663				R
	0,6720	0,8983	0,5800				p
AHp (UA)	0,1522	-0,0191	-0,0686	0,5267			R
	0,2019	0,8735	0,5667	<0,0001			p
AHg (UA)	-0,0430	-0,0068	-0,0339	0,8242	-0,0471		R
	0,7198	0,9548	0,7774	<0,0001	0,6944		p
pH	-0,3515	0,4716	0,5043	-0,3171	-0,4822	-0,0497	R
	0,0025	<0,0001	<0,0001	0,0066	<0,0001	0,6784	p
Cor (mg/L Pt-Co)	0,3217	-0,2643	0,1914	0,3190	0,2917	0,1797	-0,4783 R
	0,0059	0,0249	0,1073	0,0063	0,0129	0,1310	<0,0001 p

COD: carbono dissolvido orgânico; NTD: nitrogênio total dissolvido; PROT: proteínas; AHtot: ácidos húmicos totais; AHp: ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular; AHg: ácidos húmicos grande tamanho molecular; pH: potencial Hidrogeniônico; mg/L: miligramas por litro; µg/L: microgramas por litro; UA: unidade de área; mg/L Pt-Co: miligramas por litro de platina e cobalto; n=76.

Valores altos de pH (alcalino) de sistemas hídricos podem estar associados a proliferação de vegetação aquática, como macrófitas, pois com o aumento da fotossíntese há consumo de gás carbônico e, portanto, diminuição do ácido carbônico da água e, conseqüente aumento do pH para valores mais alcalinos (VON SPERLING, 1996).

Cor e pH mantiveram correlação inversa e significativa ($p < 0,0001$), indicando que a intensidade da cor cresce proporcionalmente ao declínio dos valores de pH (BACHAND & BERGAMASCHI, 2009). Ácidos húmicos podem promover este comportamento, uma vez que adicionam cor e reduzem o pH do corpo hídrico.

Resultados da ANOVA *two way* considerando as forçantes de ordenamento espacial e temporal em relação à dinâmica das variáveis limnológicas na Lagoa Mangueira durante o período do estudo são apresentados na tabela 3.

Tabela 3. Valores de significância (ANOVA *two way*) de forçantes espacial e temporal em relação à dinâmica das variáveis limnológicas na Lagoa Mangueira durante o período do estudo.

Variável	Temporal	Espacial
	p	p
NT (mg/L)	< 0,001	0,400
COD (mg/L)	0,011	0,311
PROT (µg/L)	< 0,001	0,546
AHtot (UA)	< 0,001	0,680
AHp (UA)	< 0,001	0,359
AHg (UA)	0,115	0,250
pH	< 0,001	0,913
Cor (mg/L Pt-Co)	< 0,001	0,207

NT: nitrogênio total; COD: carbono dissolvido orgânico; PROT: proteínas; AHtot: ácidos húmicos totais; AHp: ácidos húmicos de pequeno tamanho molecular; AHg: ácidos húmicos grande tamanho molecular; pH: potencial Hidrogeniônico; mg/L: miligramas por litro; µg/L: microgramas por litro; UA: unidade de área; mg/L Pt-Co: miligramas por litro de platina e cobalto; n=76.

Os resultados das análises de variância revelaram, assim como obtido na análise de ordenação (ACP), a não diferenciação entre as diferentes zonas da lagoa, ressaltando a homogeneidade horizontal do sistema (ausência de diferenciação espacial). Entretanto, um forte arranjo temporal, através da dinâmica sazonal das variáveis na Lagoa Mangueira foi evidenciado. Diferenças sazonais estão relacionadas à dinâmica de fatores ambientais, como disponibilidade de recursos, especialmente nutrientes. Na Lagoa Mangueira as variações sazonais nas características químicas, físicas e hidrodinâmicas influenciaram diretamente a dinâmica de proteínas e ácidos húmicos.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho avaliou qualitativamente e quantitativamente a presença, concentração e qualidade da MOD na Lagoa Mangueira, considerando a dinâmica espacial e temporal de ácidos húmicos (HA) e proteínas (PROT), através de cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão de tamanho (HPLC-SEC), elucidando, assim, o papel que a MOD desenvolve na dinâmica do ecossistema aquático.

As concentrações de proteínas e ácidos húmicos indicaram que a Lagoa Mangueira apresenta heterogeneidade temporal interanual em relação a estas variáveis, ao mesmo tempo que possui um perfil longitudinal homogêneo, não evidenciando um arranjo espacial definido.

Tal comportamento pode ser explicado, principalmente, pela sua hidrodinâmica, que promove a homogeneidade nas zonas pelágicas e nas zonas litorâneas e ao longo do perfil longitudinal entre norte e sul.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLPIKE B.P, HEITZ, A., JOLL. C.A., KAGI, R.I. (2007) **A new organic carbon detector for size exclusion chromatography**. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology. Water Researches.

AMADO A.M. (2008). **Tese apresentada ao Programa de Pós graduação em Ecologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ecologia**. Rio de Janeiro.

AMADO A.M, FARJALLA V.F., ESTEVES, F.D.A, BOZELLI R.L, ROLAND, F., ENRICH-PRAST, A. (2006). **Complementary pathways of dissolved organic carbon removal pathways in clear-water Amazonian ecosystems: photochemical degradation and bacterial uptake**. FEMSMicrobiology Ecology, vol. 56, no. 1, pp. 8–17

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). (2005) Eaton, A. D.; Clesceri, L. S.; Greenberg, A. E. (orgs.). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20^a ed. Washington: American Public Health Association, Inc.

BACHAND. M., AND B. A. BERGAMASCHI. (2009). **High-frequency in situ optical measurements during a storm event: Assessing relationships between DOM, sediment concentrations, and hydrologic processes.** J. Geophys. Res. 114: G00F09, doi: 10.1029/2009JG000989.

BENNER, R. (2003). **Molecular indicators of the bioavailability of dissolved organic matter**, p. 121–137. In S. E. G. Findlay and R. L. Sinsabaugh [eds.], Aquatic ecosystems: Interactivity of dissolved organic matter. Elsevier.

CARDOSO, L.S., FRAGOSO JR., C.R., SOUZA, R.S., MOTTA-MARQUES, D.M., (2012). **Hydrodynamic control of plankton spatial and temporal heterogeneity in subtropical shallow lakes.** In: Schulz, H.E., Simoes, A.L.A., Lobosco, R.J. (Eds.), Hydrodynamics–Natural Water Bodies. Intech Open Access Publisher, Rijeka, pp. 27–48.

CROSSETTI, L.O., BECKER, V., CARDOSO L.S., RODRIGUES, L.R., COSTA, L.S., MOTTAMARQUES, D.M.L (2013). **Is phytoplankton functional classification a suitable tool to investigate spatial heterogeneity in a subtropical shallow lake?** Limnologica 43 (2013) 157–163.

DOCHERTY K. M, YOUNG K. C., MAURICE P. A, BRIDGHAM S. D. (2006). **Dissolved organic matter concentration and quality influences upon structure and function of freshwater microbial communities.** Microbial Ecology, vol. 52, no. 3, pp. 378–388.

FARJALLA V.F., ANESIO, A.M., BERTILSSON, S., GRANÉLI, W. (2001). **Photochemical reactivity of aquatic macrophyte leachates: abiotic transformations and bacterial response.** Aquatic Microbial Ecology. Vol. 24: 187-195.

FRAGOSO JR., C.R., MOTTA MARQUES, D.M.L., COLLISCHONN, W., TUCCI, C.E.M., VAN NES, E.H. (2008). **Modelling spatial heterogeneity of phytoplankton in Lake Mangueira, a large shallow subtropical lake in South Brazil.** Ecol. Model. 219, 125–137.

FREITAS-TEIXEIRA ET AL. (2016). **Temporal Variability determines phytoplankton structure over spatial organization in a large shallow heterogeneous subtropical lake.** Inland Waters 6, pp.325-335.

FONSECA, J. C. L; SILVA, M. R. A; BAUTITZ, I. R; NOGUEIRA, R. F. P.MARCHI, M. R. R. (2006). **Avaliação da confiabilidade analítica das determinações decarbono orgânico total (COT)**. UNESP - Araraquara-SP

HAIG THEY NG, MOTTA MARQUES, D.; SOUZA, R.S.; RODRIGUES, L.R. (2013). **Short-Term Photochemical and Biological Unreactivity of Macrophyte-Derived Dissolved Organic Matter in a Subtropical Shallow Lake**. Journal of Ecosystems, Article ID 316709, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/316709>.

HUBER S.A; BALZ, A.; ABERT; M, PRONK W. (2011). **Characterisation of aquatic humic and non-humic matter with size-exclusion chromatography e organic carbon detection e organic nitrogen detection (LC-OCD-OND)**. Water Research. Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology. Switzerland.

JAFFE, R., D. M. MCKNIGHT, N. MAIE, R. M. CORY, W. H. MCDOWELL, AND J. L. CAMPBELL. (2009). **Spatial and temporal variations in DOM composition in ecosystems: The importance of long-term monitoring of optical properties**. J.Geophys. Res. 113: G04032, doi:10.1029/2008JG000683.

KOTTEK, M.; GRIESER J.; BECK C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. (2006). **World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated**. Meteorologische Zeitschrift, Vol. 15, No. 3, 259-263.

LANÇAS, M.F. (2009). Cromatografia Líquida Moderna: HPLC-CLAE. 1ª Edição. Editora Átomo. São Paulo.

LEE. D.J. ET AL. (2015). **Characterization of River Natural Organic Matter by High-Performance Size Exclusion Chromatography**. Analytical Letters. P. 2936-2946.

MCCUNE, B., MEFFORD, M.J. (2011). **PC-ORD Multivariate Analysis of Ecological Data**. Version 6.0 MjM Software. Gleneden Beach, Oregon, USA.

MEERHOFF M., IGLESIAS C., TEIXEIRA DE MELLO F., CLEMENTE J.M., JENSEN E., LAURIDSEN L. & JEPPESEN E. (2007). **Effects of habitat complexity on community structure and predator avoidance behaviour of littoral zooplankton in temperate versus subtropical shallow lakes.** *Freshwater Biology*, 52, 1009–1021.

MILLER, M. P., AND D. M. MCKNIGHT. (2010). **Comparison of seasonal changes in fluorescent dissolved organic matter among aquatic lake and stream sites in the Green Lakes Valley.** *J. Geophys. Res.* 115: G00F12, doi: 10.1029/2009JG000985.

MOTTA MARQUES, D. M. L., IRGANG, B. GIOVANNINI, S.G.T. (1997) **A importância do hidropérido no gerenciamento de água em terras úmidas (wetlands) com uso múltiplo o caso da Estação Ecológica do Taim.** *In Anais do XII Simpósio Brasileiro de Recursos Hídricos*, Vitória, pp 1-8.

PAZ, A. R., VILLANUEVA, A. O. N., SCHETTINI, E. B. C. (2005) **The influence of spatial vegetation distribution on Taim Wetland hydrodynamics.** In: *Dynamics and biochemistry of river corridors and wetlands, 2005, Foz do Iguacu. Proceedings of symposium held during the VIIth IAHS Scientific Assembly.*

PÉREZ, G.L.; LAGOMARSINO, L.; ZAGARESE, H.E. (2013). **Optical properties of highly turbid shallow lakes with contrasting turbidity origins: The ecological and water management implications.** *Journal of Environmental Management*, 2013, Vol.130, pp.207-220.

RODRIGUES, L.R.; FONTOURA, N.F., MOTTA MARQUES, D. (2014). **A Food-web structure in a subtropical coastal lake: how phylogenetic constraints may affect species linkages.** *Marine and Freshwater Research*, 2014, 65, 453–465

RODRIGUES L.R., MOTTA MARQUES D., FONTOURA N.F. (2015). **Fish community in a large coastal subtropical lake: how an environmental gradient may affect the structure of trophic guilds.** *Limnetica*, 34 (2): 495-506 (2015) *Limnetica*, 29 (2). Asociación Ibérica de Limnología, Madrid. Spain. ISSN: 0213-8409.

SAHIN, Z., DEMIR, Y.K., KAYSER, V. (2016). **Global kinetic analysis of seeded BSA aggregation.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol.86, p.115-124.

SOLOMONS, G; FRYHLE C. (2014). **Química Orgânica; Vol.1 e Vol.2**, Editora LTC; São Paulo, Brasil, 2014.

SUHETT, A.L., AMADO, A.M., MEIRELLES-PEREIRA, F., SCOFIELD, V., et al. (2013). **Origin, concentration, availability and fate of dissolved organic carbon in coastal lagoons of the Rio de Janeiro State**. Acta Limnologica Brasiliensia 25 (3), 326-340.

VALEUR, B. (2002). **Molecular fluorescence: Principles and Applications** Wiley-VCH Verlag, Weinheim DE.

Velten S., Knappe D.R.U, Traber J., Kaiser H.P, von Gunten U., Boller M., Meylan S. (2011), **Characterization of natural organic matter adsorption in granular activated carbon adsorbers**. Water Research. Institute of Biogeochemistry and Pollutant Dynamics. Switzerland.

VON SPERLING, M. (1996). **Introdução à Qualidade das Águas e ao Tratamento de Esgotos**. 2ª Edição. Belo Horizonte, MG: Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental da UFMG.

WAGNER, M., SCHMIDT, W., IMHOF, L., GRÜBEL, A. JÄHN, C., GEORGI, D., PETZOLDT, H. (2016). **Characterization and quantification of humic substances 2D-Fluorescence by usage of extended size exclusion chromatography**. Water Research. Vol.93, p.98-109.

WANG, Z., CAO,J., MENG, F. (2015). **Interactions between protein-like and humic-like components in dissolved organic matter revealed by fluorescence quenching**. Water Research. Vol.68. p.404-413.

ZHOU Y., ZHANG Y., LIU K.S.X., NIU C. (2015). **Dynamics of chromophoric dissolved organic matter influenced by hidrological conditions in a large, shallow and eutrophic lake in China**. Environmental Science and Pollution Reasearch. Vol.22. p. 12992-13003