

CONTRIBUIÇÃO DA FIXAÇÃO BIOLÓGICA DO NITROGÊNIO
EM UM ECOSISTEMA AQUÁTICO
(REPRESA DO LOBO - BROTAS - ITIRAPINA - SP)

SANTOS, J.E.*

RESUMO

Foi realizado um levantamento da contribuição do nitrogênio, via fixação biológica do elemento (redução acetileno-etileno), para 3 compartimentos de uma região da Represa do Lobo: água, sedimento e rizosfera de macrófita aquática (*Mayaca fluviatilis*). As taxas de fixação de N_2 via rizosfera e sedimento apresentaram valores médios entre 15,0-20,0 $\mu gN_2g^{-1} dia^{-1}$ e 2,0-9,0 μgN_2g^{-1} , respectivamente. As taxas de N_2 fixado em amostras de água apresentaram valores médios de 2,5-4,5 μgN_2l^{-1} . Baseado nos valores de biomassa e conteúdo de nitrogênio de *Mayaca fluviatilis*, nossos resultados fornecem indicação de que a fixação biológica via rizosfera contribui com cerca de 6,0-9,0% do nitrogênio necessário a produtividade da mesma. Está sendo verificada a adequabilidade de nossos dados, no sentido de descrever um modelo ecológico para a dinâmica do nitrogênio para os 3 compartimentos através das quantidades, taxas e caminhos, pelos quais flui o elemento.

* Departamento de Ciências Biológicas da UFSCar

ABSTRACT - BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION CONTRIBUTION IN AQUATIC ECOSYSTEM (LOBO RESERVOIR - BROTAS-ITIRAPINA - SP, BRAZIL)

Nitrogen fixation (acetylene-ethylene reduction) associated with the rhizosphere of *Mayaca fluviatilis*, sediments and water was measured at one site in Lobo Reservoir (Brotas-Itirapina, SP) to obtain data on the nitrogen supplying system and standing-crop requirement of this macrophyte. The nitrogen fixation rate per day was $15-20 \mu\text{gN}_2\text{g}^{-1}$, $2-9 \mu\text{gN}_2\text{g}^{-1}$ and $2,5-4,5 \mu\text{gN}_2\text{l}^{-1}$ for rhizosphere, sediment and water, respectively. Based on the nitrogen content in the plant biomass present, nitrogen fixation in the rhizosphere of *Mayaca fluviatilis* can provide between 6 to 9% of the plant's necessity. A three compartment model of nitrogen flux was made using the data collected.

INTRODUÇÃO

Embora a maioria das informações sobre o processo da fixação biológica do nitrogênio estejam relacionadas ao ambiente terrestre, devido a sua importância com relação a questão da fertilidade do solo, o mesmo não acontece para os ambientes de águas naturais.

O nitrogênio entrando em um sistema aquático pode ser proveniente de diversas fontes, tais como: precipitação, rios e correntes de água, agricultura e urbanização, ecossistemas naturais adjacentes e da fixação biológica do nitrogênio 'in situ' (STEWART, 1968); a incidência e a importância de cada uma delas depende do sistema particular em investigação.

Sendo considerado, juntamente com o fósforo, como um dos principais macronutrientes que dirigem a produtividade primária dos ambientes aquáticos (KEENEY, 1973; LUND, 1965), a fixação biológica do nitrogênio poderá se constituir numa

das principais formas de contribuição do elemento, principalmente, quando o nível de nitrogênio inorgânico no ambiente for relativamente baixo (RYTHER & DUNSTAN, 1971) ou limitante ao mesmo (HORNE & VINNER, 1971; MAGUE & BURRIS, 1973; STEWART, 1968).

A fixação biológica do nitrogênio nos ambientes aquáticos está associada, primariamente, às algas azuis-verdes, planctônicas ou bentônicas, com heterocistos (DUGDALE & DUGDALE, 1962; GRANHALL & LUNDGREN, 1971; HORNE & FOGG, 1970; STEWART et al, 1968, 1969). Bactérias assimbióticas fixadoras do nitrogênio, apesar de conhecidas desde algum tempo nos ambientes aquáticos (SANTOS & LACAVA, 1981a, 1981b; STEWART, 1968; TRUPPER & GENOVESE, 1968; WAKSMAN et al, 1933), têm sido aceitas pela maioria dos pesquisadores como formas quantitativamente menos importantes no balanço nitrogenado de tais ecossistemas (STEWART, 1968), por serem limitadas pela disponibilidade de carboidratos exógenos (STEWART, 1969).

Devido a inexistência de estimativas completas com relação as fontes de fornecimento do nitrogênio nos ecossistemas aquáticos, as contribuições dos elementos estão restritas apenas a generalizações. Assim, os principais objetivos desta investigação foram realizar um levantamento quantitativo do fornecimento do nitrogênio, via fixação biológica do elemento por organismos autótrofos e heterótrofos, através da rizosfera de macrófitas aquáticas, sedimento e água de uma região da Represa do Lobo. Será verificado, posteriormente, a adequabilidade dos resultados, no sentido de descrever um modelo ecológico para a dinâmica do nitrogênio entre os 3 compartimentos (água, macrófita aquática e sedimento) através da quantidade, taxas e caminhos pelos quais flui o elemento.

MATERIAL E MÉTODOS

Macrófitas emergentes e amostras de água e sedimento

foram coletadas de uma região da alta represa (Fig. 1) densamente povoada por *Mayaca fluviatilis*. As macrófitas foram retiradas do sedimento com suas raízes intactas e transportadas para o laboratório onde foram utilizadas experimentalmente, e também determinados os valores de biomassa e conteúdo de nitrogênio total (SANTOS et al, 1983b). Amostras de água, antes de utilizadas experimentalmente, foram concentradas através de uma malha planctônica de 64 μm de abertura. Cores de sedimento, de ao redor de 20 cm, foram retirados da área recoberta pelas macrófitas enraizadas. As coletas foram realizadas mensalmente, 3 réplicas, referentes aos meses de dezembro/1981 a fevereiro/1982, correspondentes ao período de verão.

A habilidade em fixar nitrogênio por rizosfera de *Mayaca fluviatilis*, sedimento e água foi determinada pela técnica de redução do acetileno-etileno (HARDY et al, 1968; HARDY et al, 1973). Para isso foram utilizados frascos de reação de volume conhecido contendo o material biológico e água destilada (SANTOS et al, 1983a, 1983b). Rizomas & raízes das macrófitas utilizadas foram submetidos a um processo de lavagem até a retirada total do sedimento aderente a superfície das raízes. Glicose na concentração de 2 g/100 ml (BRISTOW, 1974) foi utilizada para alguns tratamentos (rizomas & raízes e sedimentos). Os frascos de reação foram vedados com tampões de borracha, sucessivamente evacuados, e submetidos a um fluxo de N_2 por um período de 3 minutos. A seguir foi adicionado acetileno suficiente para fornecer uma pressão parcial de O_2 ao redor de 0,1 atmosfera (HARDY et al, 1968).

Foram incluídos frascos controles de dois tipos: um contendo material biológico e água destilada e outro contendo água destilada e acetileno. Em intervalos variados 0,5 ml da fase gasosa do frasco de reação foi removida através de seringas e o conteúdo de etileno ensaiado por cromatografia gasosa (SANTOS et al, 1983a, 1983b).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores mensais de biomassa (g peso seco/m^2) e o conteúdo de nitrogênio total ($\text{g N}_2/\text{m}^2$) de *Mayaca fluviatilis* para o período de verão estão registrados na Tab. 1. Assumindo a proporção de 3 moles de C_2H_2 por 1 de N_2 reduzidos (HARDY et al, 1968; HARDY et al, 1973), as taxas de nitrogênio fixado em plantas lavadas, sedimento e água apresentaram valores entre: 14,8-20,0 $\mu\text{gN}_2/\text{g}/\text{dia}$; 2,0-9,0 $\mu\text{gN}_2/\text{g}/\text{dia}$ e 2,5-4,5 $\mu\text{gN}_2/\text{l}/\text{dia}$, respectivamente. As taxas de nitrogênio fixado em rizosfera de *Mayaca fluviatilis* (Tab. 1) podem ser responsáveis por 6,0-9,0% dos requerimentos do nitrogênio necessário a produtividade das mesmas. Taxas significativas da redução do acetileno e evidências do crescimento de bactérias em meio de cultura isento de nitrogênio, acompanhado da estimativa da atividade da nitrogenase, sugerem que para as amostras de sedimento e rizoma & raízes a fixação biológica do nitrogênio foi predominantemente heterótrofa.

Tabela 1 - Contribuição relativa do nitrogênio através do processo de fixação biológica associado a rizomas & raízes de *Mayaca fluviatilis* para o período de verão.

Período	Biomassa* (gPS/m^2)	Conteúdo N (gN_2/m^2)	Taxa N_2 fixado* ($\text{gN}_2/\text{dia}/\text{g planta}$)	Contribuição N_2 para biomassa* (%)
Dez	91,2	3,23	20,0	6,0
Jan	44,8	1,59	15,3	9,0
Fev	39,84	1,41	14,8	8,6

* valores médios

Considerando o sistema como um todo, as contribuições do nitrogênio via fixação biológica do elemento por dia (Tab. 2) para rizosfera de macrófitas aquáticas, sedimento e água foram equivalentes a $84,6 \text{ mg N}_2/\text{m}^2$, $10,0 \text{ mg N}_2/\text{m}^2$ e $3,0 \text{ } \mu\text{gN}_2/\ell$, respectivamente.

Tabela 2 - Contribuição relativa do nitrogênio via fixação biológica referente a 3 compartimentos de uma estação de coleta da Represa do Lobo para o período de verão.

Compartimentos	Taxa de N_2 fixado	Contribuição de N_2 para o sistema
rizosfera	$14,8-20,0 \text{ } \mu\text{gN}_2/\text{dia/g planta}$	$84,6 \text{ mgN}_2/\text{m}^2/\text{dia}$
sedimento	$2,0- 9,0 \text{ } \mu\text{gN}_2/\text{dia/g sedimento}$	$10,0 \text{ mgN}_2/\text{m}^2/\text{dia}$
água	$2,5- 4,5 \text{ } \mu\text{gN}_2/\text{dia/litro}$	$3,0 \text{ } \mu\text{gN}_2/\ell/\text{dia}$

Modelagem Ecológica

Partindo-se do diagrama (Fig. 1) onde estão representadas as principais formas de contribuição do nitrogênio para o sistema, está sendo verificada a adequabilidade dos "inputs" do elemento via fixação biológica, no sentido de descrever um modelo ecológico para a dinâmica do nutriente entre 3 compartimentos: rizosfera de macrófitas aquáticas, sedimento e água.

O fluxo do nitrogênio para o sistema ecológico está representado no modelo em compartimentos, conforme Fig. 2. As variáveis de estado, em número de 3, são representadas pelas figuras retangulares e os coeficientes de transferência por setas unidirecionais.

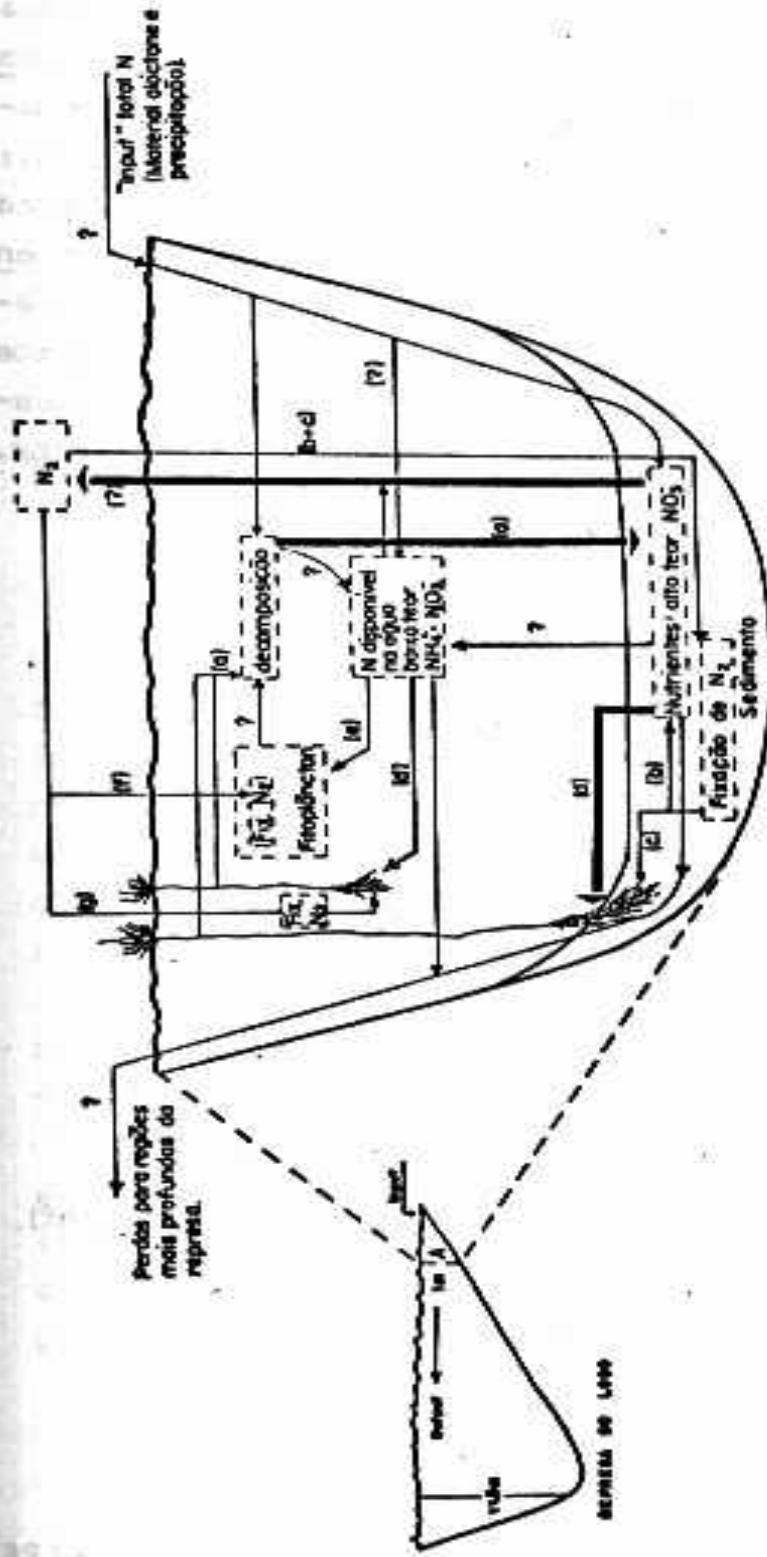
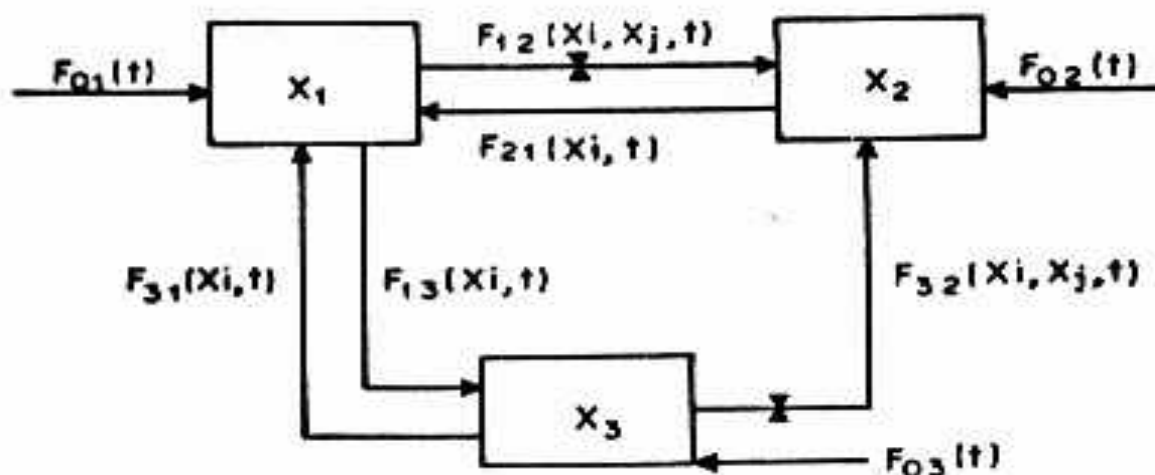


Figura 1 - Corte transversal e diagrama da dinâmica do nitrogênio para alguns compartimentos da região de estudo da Represa do Lobo.

- a - taxa de decomposição das macrofitas
- b - contribuição do N_2 via fixação biológica do sedimento ($10 \text{ mgN}_2/\text{m}^2/\text{dia}$)
- c - contribuição do N_2 via fixação biológica rizosfera de macrofitas aquáticas ($84,6 \text{ mgN}_2/\text{m}^2/\text{dia}$)
- d - taxa de assimilação de nutrientes em macrofitas não enraizadas
- e - taxa de assimilação de nutrientes pelo fitoplâncton
- f - contribuição do N_2 via fixação biológica na água ($3,0 \text{ } \mu\text{gN}_2/\text{l}/\text{dia}$)
- ? - parâmetros que necessitam estimativa

Cada compartimento (X_1, X_2, X_3) é representado pelo "standing-stock" de nitrogênio para o período de verão nas unidades correspondentes. Com relação ao modelo em compartimento (Fig. 2), raízes, caule e folhas de *Mayaca fluviatilis* foram agrupados em X_2 ; compartimentalização como esta é justificada quando as concentrações do nutriente nas estruturas foram estatisticamente homogênea (CHILD & SHUGART, 1972); situação similar foi observada para as estruturas de *Mayaca fluviatilis* (Gazarini, 1983). Os fluxos de transferência entre os compartimentos e entre estes e o ambiente foram representados pela letra F (Fig. 2), acompanhada de subscripts referentes aos compartimentos X_1, X_2 e X_3 . O primeiro subcripto designa o compartimento doador, o segundo o receptor.



- X_1 = conteúdo de Nitrogênio no água (mg/l).
 X_2 = conteúdo de Nitrogênio em macrófitas aquática (mg/m²).
 X_3 = conteúdo de Nitrogênio no sedimento (mg/m²).

F_{01}, F_{02}, F_{03} = "input" de Nitrogênio via fixação biológica nos compartimentos respectivos.

$\xrightarrow{\text{---}} = F_{ij} = \phi_{ij} X_i X_j$ — fluxo não linear.
 $\xrightarrow{\text{---}} = F_{ij} = \phi_{ij} X_i$ — fluxo linear.

Figura 2 - Representação esquemática da dinâmica do nitrogênio em um ecossistema de 3 compartimentos.

Para aplicação deste modelo em compartimento foram assumidas as seguintes considerações:

- 1 - O reservatório em questão, particularmente, a região da alta-represa, é um sistema em "steady-state" em que o "input" é igual ao "output";
- 2 - Cada compartimento do sistema está em "steady-state", com a razão entrada e saída do nitrogênio igual a 1;
- 3 - As transferências do elemento entre os compartimentos são lineares e não-lineares;
- 4 - O intervalo de tempo entre uma alteração do "input" e no "output" é igual a zero.

Os coeficientes de transferência também serão computados em "steady-state"; quando lineares ($\beta_{ij} = F_{ij}/X_i$) são funções dos compartimentos doadores e quando não-lineares ($\beta_{ij} = F_{ij}/X_i X_j$) são funções dos compartimentos doadores e receptores (PATTEN, 1972). Os coeficientes de transferência são constantes com unidade de tempo negativa e representam o número de vezes em que a quantidade de nutriente igual ao fluxo em questão, passará através do compartimento na unidade de tempo (BRYLINSKY, 1972). Considerando que a transferência de nutrientes do compartimento doador para o receptor é diretamente proporcional a quantidade de nutriente contido no primeiro, e todas as contribuições e perdas de cada compartimento expressas como coeficientes de transferência, foi definido para o sistema um conjunto de equações diferenciais de primeira ordem; cada equação corresponde a um compartimento da Fig. 2:

$$dx_1/dt = F_{01} + F_{31} + F_{21} - (F_{12} + F_{13})$$

$$dx_2/dt = F_{02} + F_{12} + F_{32} - F_{21}$$

$$dx_3/dt = F_{03} + F_{13} - (F_{31} + F_{32})$$

Substituindo os fluxos de nutrientes (F_{ij}) pelas expressões equivalentes as situações linear e não-linear, o sistema de equações pode ser representado como:

$$\overset{0}{X}_1 = F_{01} + \beta_{31}X_3 + \beta_{21}X_2 - (\beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1)$$

$$\overset{0}{X}_2 = F_{02} + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{32}X_3X_2 - \beta_{21}X_2$$

$$\overset{0}{X}_3 = F_{03} + \beta_{13}X_1 - (\beta_{31}X_3 + \beta_{32}X_3X_2)$$

O uso de equações diferenciais de primeira ordem e coeficientes de transferência permitem diferentes possibilidades de análises técnicas, e estas últimas, informações mais precisas do sistema quando ou próximas do "steady-state" (PATTEN, 1972). O comportamento do sistema ainda está sendo estudado pela resolução simultânea destas equações com o auxílio de computador digital.

A distribuição e eficiência das formas fixadoras do nitrogênio na natureza são dependentes da interação de uma multiplicidade de fatores, sendo os mais importantes: disponibilidade de carboidratos exógenos, oxigênio, nitrogênio combinado, concentrações de ferro e molibdênio e pH (STEWART, 1969).

Com relação as algas azuis-verdes conhece-se, atualmente, através da participação do Programa Biológico Internacional, cerca de 50 espécies que fixam nitrogênio em cultura pura (STEWART, 1976, 1970). Embora essa atividade tenha sido observada em espécies que não possuem heterocistos (KENYON et al, 1972), o número destas estruturas encontra-se diretamente relacionado com a atividade observada (HORNE & GOLDMAN, 1972), sendo ainda consideradas como o sítio da fixação do nitrogênio (FAY et al, 1968; STEWART, 1977). Assim, a extinção da atividade da nitrogenase em *Nostoc* sp foi acompanhada pelo desaparecimento dos heterocistos, sen-

do que a presença de alguns deles ainda permitiu alguma atividade da enzima (STEWART et al, 1968).

Há uma extensa literatura evidenciando que nitrogênio combinado inibe a fixação biológica do elemento. A formação dos heterocistos parece ser inibida na presença de uma fonte disponível de nitrogênio (NO_3^- , NH_4^+) combinado (FOGG, 1971). Contudo, estas formas inorgânicas parecem inibir, muito mais, a síntese de nova nitrogenase do que a atividade da enzima existente (STEWART, 1969). Esta inibição tem sido considerada parcial, mesmo quando presente altas concentrações de nitrogênio inorgânico (FOGG, 1971; OGAWA & CARR, 1969); o grau e tipo de inibição dependem do nível de fornecimento do nitrogênio combinado (STEWART, 1969). Nos ambientes aquáticos têm sido observado uma relação inversa entre taxas de fixação do nitrogênio por algas azuis-verdes e a concentração de nitrogênio inorgânico (HORNE & VINNER, 1971; RYTHER & DUNSTAN, 1971). Contudo, esta relação nem sempre é consistente devido a atividade da nitrogenase residual (STEWART et al, 1968). De modo contrário, tem sido evidenciado um relacionamento positivo entre a concentração do nitrogênio orgânico dissolvido na água e taxas de fixação do elemento (HORNE & FOGG, 1970).

A importância do microambiente circundante a célula também tem sido considerado. Nitrogênio molecular está sempre em concentração superior, e difunde-se mais rapidamente que NH_4^+ e NO_3^- . Dentro da camada mucilaginosa envolvente de muitas algas azuis-verdes pode-se desenvolver um gradiente, em que fontes de nitrogênio inorgânico são fortemente reduzidas em comparação a disponibilidade do nitrogênio molecular (STEWART, 1973).

Algas azuis-verdes são comuns em ecossistemas aquáticos mesotróficos e eutróficos (FOGG, 1971), mas relativamente raras em ambientes marinhos (DUGDALE et al, 1964; DUGDALE & GOERING, 1967; STEWART, 1975). Os fatores responsáveis pela abundância de algas azuis-verdes em sistemas de águas internas não são totalmente conhecidos; disponibilidade de

fósforo parece estimular a atividade da nitrogenase em algas azuis-verdes necessitadas do elemento (STEWART et al, 1969). Em águas abertas planctônicas a fixação do nitrogênio é dependente da luz, requerendo ainda um agente redutor e ATP, ambos produzidos durante a fotossíntese (STEWART, 1968). Normalmente, o processo é inibido em condições superficiais, aumenta com a profundidade e diminui exponencialmente a profundidades maiores (DUGDALE & DUGDALE, 1962; HORNE & FOGG, 1970). Algas azuis-verdes fixam quantidades limitadas de nitrogênio no escuro (JENSEN & COX, 1983). Em regiões de águas abertas as taxas de fixação do nitrogênio são, tipicamente, baixas durante o período da manhã, aumentam ao redor do meio dia (período de insolação máxima) e tornam a declinar no período vespertino (RUSNESS & BURRIS, 1970). O padrão sazonal comumente observado para regiões temperadas, é que as taxas de fixação do nitrogênio tendem ao nível máximo, quando na ocorrência de "blooms" de algas azuis-verdes com heterocistos e fontes de nitrogênio inorgânico reduzidas (BREZONIK & HARPER, 1969; DUGDALE & DUGDALE, 1962; GRANHALL & LUNDGREN, 1971; HORNE & FOGG, 1970; HOWARD et al, 1970; RUSNESS & BURRIS, 1970; STEWART et al, 1967, 1968). Para regiões tropicais, onde a periodicidade dos fatores físico-químicos e a presença de algas azuis-verdes são menos marcantes, as taxas de fixação do nitrogênio são, provavelmente, uniformes ao longo do ano. As informações existentes sobre tais regiões, sugerem que algas fixadoras de nitrogênio são, também, formadoras de "blooms" proeminentes e fornecedoras de nitrogênio combinado (HORNE & VINNER, 1971; PROWSE & TALLING, 1958; TALLING & RZOSKA, 1967).

Algas azuis-verdes são consideradas importantes no desenvolvimento de culturas de arroz irrigado onde florescem e fixam muito nitrogênio. Esta tem sido a razão do arroz ter sido cultivado com sucesso durante séculos sem a adição de fertilizantes nitrogenados. A abundância de algas azuis-verdes neste nicho pode ser explicada, parcialmente, pelas condições existentes, que impedem o acúmulo de altos

níveis de oxigênio. A cultura do arroz se beneficia com o oxigênio liberado pela fotossíntese algal, enquanto que as algas azuis-verdes beneficiam-se com a remoção do oxigênio através da respiração do sistema radicular da cultura do arroz (STEWART & PEARSON, 1970).

Ao contrário das bactérias heterótrofas, cuja capacidade para fixação do nitrogênio está limitada apenas a alguns grupos, quase todas as bactérias fotossintéticas, incluindo as aeróbias facultativas e as anaeróbias estritas, são capazes de fixar nitrogênio (MULDER, 1975). A distribuição das mesmas está relacionada a nichos ecológicos que satisfaçam seus requerimentos essenciais: luz e anaerobiose (STEWART, 1968). Bactérias fotossintéticas desenvolvem-se em grande densidade, comumente, nas regiões da interface entre o epilímnion aeróbio e metalímnion, e ainda no hipolímnion anaeróbio dos lagos eutróficos ou meromícticos quando houver luz suficiente para a fotossíntese. Taxas de fixação do nitrogênio são evidenciadas apenas na presença da luz; taxas maiores ocorrem apenas em condições anaeróbias (HOLTAN, 1965; STEWART, 1968).

Distribuição, eficiência e significado ecológico de bactérias heterótrofas fixadoras do nitrogênio não são ainda bem conhecidas, mesmo porque, até 1950 apenas dois gêneros (*Azotobacter* e *Clostridium*) eram bem conhecidos (ROVIRA, 1965). Cerca de 15 gêneros da ordem Eubacteriales e Pseudomonadales foram relacionados como fixadores de nitrogênio em cultura pura, não havendo entretanto uma característica que tipifique tais organismos (STEWART, 1969). Bioquimicamente, muita atenção tem sido dada ao *Azotobacter*, incluído dentre os fixadores de potencial limnológico (DUGDALE & DUGDALE, 1962; MULDER, 1975). São encontrados vivendo epifiticamente em macrófitas aquáticas (WETZEL, 1969), nos sedimentos e em águas abertas onde é menor a concentração de compostos orgânicos solúveis (KUSNETSOV, 1970; SANTOS et al, 1983a, 1983b), predominam em pântanos com altas concentrações de material húmico dissolvido (WHITNEY et al, 1975). O gênero *Clostridium*

ocorre em grande quantidade na região dos sedimentos aquáticos (RICE et al, 1967); a maioria concentrada nos 2 centímetros superficiais (MISHUSTIN & YEMTSEV, 1969); aumentam marcadamente na transição de lagos oligotróficos para eutróficos (BROOKS et al, 1971; KEIRN & BREZONIK, 1971; TEAL et al, 1979; WHITNEY et al, 1975).

A presença de formas heterótrofas fixadoras do nitrogênio não significa que elas estejam exercendo sua função principal no fornecimento do elemento para o ambiente (STEWART, 1969); entretanto, o processo de fixação pode ser útil ao crescimento e sobrevivência de tais microrganismos em determinados habitats (BROOKS et al, 1971). Se a capacidade de fixar nitrogênio é limitada pela disponibilidade de carboidratos, é possível que raízes de plantas excretando substratos orgânicos simples, possam sustentar grandes populações de bactérias fixadoras do nitrogênio (MISHUSTIN & SHILNIKOVA, 1969). Esta possibilidade parece, particularmente, provável no caso de certas gramíneas e algumas espécies agrícolas, especialmente as tropicais, conhecidas por crescerem surpreendentemente bem sem adição de fertilizantes nitrogenados (NEYRA & DOBEREINER, 1977). O nitrogênio assim fixado torna-se importante para estes sistemas, quando se colocar em disponibilidade ao crescimento das plantas através da autólise das células ou em forma de produtos extracelulares (FOGG, 1966).

Em ambientes aquáticos têm sido demonstrado que bactérias fixadoras de nitrogênio são encontradas com abundância associadas a macrófitas submersas e emergentes (BRISTOW, 1974; CAPONE & TAYLOR, 1980; FINKE & SEELEY, 1978; GARRET & HAYASAKA, 1982; SANTOS et al, 1983a, 1983b; ZUBERER, 1982). Uma relação simbiótica entre bactérias fixadoras de nitrogênio e macrófitas aquáticas somente será possível, se as plantas excretarem compostos orgânicos dissolvidos, que possam servir como fontes energéticas para tais bactérias e o nitrogênio combinado da bactéria possa ser utilizado pelas macrófitas. Este tipo de associação, definida como semi-sim

biótica (HARDY & HOLSTEN, 1973), difere da de *Rhizobium* - *L.* guminosa, pelo fato das bactérias crescerem na superfície das raízes e não estarem localizadas em nódulos ou protuberâncias especializadas. A mais conhecida dessas associações é entre *Azotobacter paspali* - *Paspalum notatum* (DOBEREINER, 1970). Do mesmo modo, têm sido relatadas contribuições ecológicamente significantes de nitrogênio em angiospermas de água doce através da fixação biológica do elemento via rizosfera (BRISTOW, 1974; CAPONE et al, 1979; GARRET & HAYASAKA, 1982; PATRIQUIN, 1978; PATRIQUIN & KNOWLES, 1972; SANTOS et al, 1983b; SILVER & JUMP, 1975; SMITH & HAYASAKA, 1982; ZUBERER, 1982). Nessas associações, torna-se de interesse quanto o processo de fixação de nitrogênio via rizosfera, fornece do elemento para o desenvolvimento de comunidades vegetais características de lagos e reservatórios de regiões tropicais, muitas das quais constituem sérios problemas de utilização e manejo dos mesmos. Além disso, o crescimento das mesmas constitui um índice e causa do processo de eutroficação por, respectivamente, refletir a quantidade de nutrientes do ambiente, como ser fonte secundária da introdução dos mesmos após a degradação do material orgânico (LACHAVANNE & WATTENHOFER, 1975).

Tem sido considerado que para a compreensão da ciclagem de um elemento e da produtividade de um lago é necessário o conhecimento da composição química dos sedimentos, os quais servem como fonte de nutriente para os compartimentos biológicos. Para a região de estudo da Represa do Lobo foram evidenciadas altas concentrações de nitrito, nitrato, fosfato e silicatos como conseqüência do alto teor de matéria orgânica (TRINDADE, 1980). O teor de matéria orgânica pode ser explicado como conseqüência da grande densidade de macrófitas aquáticas para esta região da represa. Essas considerações são suportadas por evidências de que em condições de intenso desenvolvimento da vegetação aquática, tem sido constatada intensa liberação de matéria orgânica solúvel (WETZEL, 1969). Assim, as grandes quantidades dos nutrientes nos sedimentos da Represa do Lobo podem estar, provavelmen-

te, relacionadas a intensa atividade da flora proteolítica e amonificante com relação a matéria orgânica disponível. A observação que a presença de grande quantidade de compostos orgânicos nitrogenados no ambiente acarretam um aumento na taxa de mineralização, suportam as considerações anteriores (CLARK, 1969). Do mesmo modo que a mineralização, a fixação do nitrogênio em sedimento e rizosfera de macrófitas aquáticas podem contribuir como um fator de enriquecimento do elemento para o sedimento. A fixação biológica do nitrogênio associada a rizosfera pode ser considerada como um dos "inputs" do elemento para o sedimento.

Se nitrato está presente em grande quantidade nos sedimentos da represa, os "outputs" do elemento através da absorção e desnitrificação, provavelmente, serão apreciáveis. Absorção de nutrientes pelas plantas tem sido considerada como um dos processos relacionados as trocas iônicas, que ocorrem nos sedimentos aquáticos, podendo influenciar na composição química e concentração de nutrientes dos mesmos (GAZARINI, 1983). Desnitrificação a baixas tensões de oxigênio ao nível das raízes das macrófitas, provavelmente, será apreciável. Nessas condições, nitrogênio molecular e óxido de nitrogênio serão liberados em quantidades crescentes de acordo com o desenvolvimento da planta. A correlação entre desnitrificação e desenvolvimento de macrófitas aquáticas é suportada por evidências da utilização de exudados carbonáceos das raízes por bactérias desnitrificantes (CLARK, 1969), ou também, devido ao decréscimo dos níveis de oxigênio associado a respiração ativa das partes subterrâneas das plantas. Com relação as baixas tensões de oxigênio, *Mayaca fluviatilis* apresentou seus sistemas radiculares restritos a substratos altamente redutores. Essa observação é facilmente constatada pela coloração tipicamente preta e da grande produção de metano pelos sedimentos, mesmo na ausência do acetileno e glicose (SANTOS et al, 1983a). Essas condições foram semelhantes às relatadas para diversas macrófitas aquáticas, típicas de sedimentos em que as condições redutoras

são altamente predominantes (BRISTOW, 1974). Em função das taxas de nitrogênio fixado e dos valores de contribuição do elemento para o sistema pelos compartimentos sedimento e rizosfera, podemos considerar o sedimento como a principal fonte de fornecimento do nutriente para explicar a produtividade de *Mayaca fluviatilis* na área da represa em estudo. A fixação biológica responde, parcialmente, pelas necessidades do nitrogênio frente a comunidades de macrófitas aquáticas devido a alta concentração de nitrogênio inorgânico nos sedimentos. Este baixo suprimento de nitrogênio via fixação biológica frente aos requerimentos das macrófitas aquáticas tem significado ecológico mínimo para o sistema. Para o caso de organismos heterótrofos a produção de fatores de crescimento, que podem estimular o crescimento de outros organismos, pode ser tão importante, se não mais, que a fixação do nitrogênio.

As baixas taxas de nitrogênio fixado para amostras de água e os valores da contribuição do compartimento, via fixação biológica, para o sistema, estão de acordo com a natureza meso-oligotrófica das águas da represa (TUNDISI, 1977) e de populações fitoplanctônicas não tão extensas. Para esta região em estudo ficou configurado a maior importância da fixação biológica do nitrogênio por bactérias heterótrofas com relação as algas azuis-verdes planctônicas.

Nitrogênio inorgânico em águas de lagos constitui a fonte básica do elemento para o fitoplâncton (FOGG, 1971). Ao contrário dos sedimentos o teor de nitrogênio inorgânico em amostras de água demonstrou níveis insignificantes, mesmo para águas da região densamente colonizadas por macrófitas aquáticas (MORAES, 1978; TUNDISI, 1977). Contudo, essa deficiência de nitrogênio demonstrou ser apenas aparente, não possibilitando para a represa o relacionamento de fixação biológica do nitrogênio com águas dotadas de baixa concentração do elemento na forma inorgânica, como é frequentemente aceito (MAGUE & BURRIS, 1973). Na maioria dos ecossistemas naturais os níveis do nitrogênio combinado não são su

ficientemente altos para inibir imediatamente a fixação do nitrogênio, ou para persistir por um tempo suficiente até que a nitrogenase seja diluída (STEWART, 1969). De modo geral, na natureza a presença de baixos níveis de nitrogênio combinado pode ser vantajosa para as formas fixadoras de nitrogênio por permitir o crescimento vigoroso das mesmas (DUGDALE & DUGDALE, 1975; GOERING & NEES, 1964; STEWART et al, 1968). Nestes casos a fixação biológica pode tornar-se um contribuinte ou mesmo um agravante do processo de eutroficação no ambiente aquático (BROOKS et al, 1971). Taxas relativamente rápidas de mineralização e ciclagem do nitrogênio podem ser, provavelmente, responsáveis pelas baixas concentrações do elemento em águas da represa, principalmente, na região colonizada por macrófitas aquáticas. Foi demonstrado que a comunidade de macrófitas aquáticas pode provocar alterações nas taxas de produção primária e de assimilação e, possivelmente, nas taxas de crescimento do fito e bacterioplâncton. Esta ação possibilitaria que o nitrogênio se apresente em forma limitante para aqueles componentes bióticos da represa (TUNDISI, 1977).

A inviabilidade de lagos oligotróficos em suportar, ativamente, espécies de algas azuis-verdes fixadoras de nitrogênio foi demonstrada anteriormente (RUSNESS & BURRIS, 1970; STEWART et al, 1968). Contudo a influência de um suprimento contínuo de nutrientes para a Represa do Lobo introduzidos, basicamente, através da precipitação (MORAES, 1978), do nitrogênio orgânico terrestre de origem alóctone (BARBIERI, 1984) e dos efluentes, principalmente dois, que alimentam a represa e desembocam na região colonizada por macrófitas aquáticas (TUNDISI, 1977) poderão, provavelmente, produzir um florescimento de algas azuis-verdes fixadoras de nitrogênio. Contudo, será necessário que persista uma situação de déficit de nitrogênio inorgânico nas águas, além da presença de outros nutrientes, principalmente fósforo (MAGUE & BURRIS, 1973).

A importância da fixação do nitrogênio para a comuni

dade de macrófitas aquáticas permanece uma questão difícil de resolver. Devem ser realizados estudos completos sobre a retenção e reciclagem do nitrogênio combinado pelas plantas, na tentativa de assessorar a demanda real do elemento necessário as mesmas; macrófitas aquáticas e sistemas epifíticos podem ser razoavelmente independentes com relação a economia de nitrogênio e carbono. Esta situação é, particularmente, satisfatória se as plantas retêm e reciclam, eficientemente, seus nutrientes num ambiente oligotrófico (CAPONE et al, 1979).

Com o conhecimento real da ciclagem do nutriente no sistema através da experimentação, o exercício da modelagem ecológica através de uma estrutura matemática, permitirá a integração e interação dos processos analisados em sua totalidade para melhor compreensão da dinâmica do sistema, através de um modelo que seja capaz de avaliar todo o comportamento de "input-output" do sistema real, e ainda ser válido para todas as estruturas experimentais permitidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBIERI, R. Estudo da composição química de algumas espécies de macrófitas aquáticas e suas implicações no metabolismo da Represa do Lobo. São Carlos, UFSCar, 1984. 225p. Tese Mestrado.
- BREZONIK, P.L. & HARPER, C.L. Nitrogen fixation in some anoxic lacustrine environments. Science, 164: 1277-79, 1969.
- BRISTON, J.M. Nitrogen fixation in rhizosphere of freshwater angiosperms. Can. J. Bot., 52: 212-21, 1974.
- BRYLINSKY, M. Steady state sensitivity analysis of energy flow in a marine ecosystem. In: PATTEN, B.C., ed. Systems

- analysis and simulation in ecology. New York, Academic Press, 1972. v. I, p. 81-101.
- BROOKS, R.H.; BREZONIK, P.L.; PUTNAM, H.D.; KEIRN, M. Nitrogen fixation in a estuarine environment: the waccasassa on the Florida Gulf Coast. Limnol. Oceanogr., 16: 701-10, 1971.
- CAPONE, D.G. & TAYLOR, B.F. Nitrogen fixation in the rhizosphere of *Thalassia testudinum*. Can. J. Microbiol., 26: 998-1005, 1980.
- CAPONE, D.G.; PENHALE, P.A.; OREMLAND, R.S.; TAYLOR, B.F. Relationship between productivity and N_2 (C_2H_2) fixation in a *Thalassia testudinum* community. Limnol. Oceanogr., 24: 117-25, 1979.
- CLARK, F.E. Ecological associations among soil microorganisms. In: _____ . Soil biology. s.l.p., UNESCO, 1969. v. 9, p. 125-61.
- CHILD, G.I. & SHUGART JR., H.H. Frequency response analysis of magnesium cycling in a tropical forest ecosystem. In: PATTEN, B.C., ed. Systems analysis and simulation in ecology. New York, Academic Press, 1972. v. 2, p. 103-35.
- DOBEREINER, J. Further research on *Azotobacter paspali* and its varieties specific occurrence in the rhizosphere of *Paspalum notatum*. Central bl. Bact. Parasitenk. II, 124: 224-30, 1970.
- DUGDALE, V.A. & DUGDALE, R.C. Nitrogen metabolism in lakes. II: role of nitrogen fixation in Sanctuary Lake, Penn. Limnol. Oceanogr., 7: 170-7, 1962.
- _____. Nitrogen metabolism in lakes.

- III: tracer studies of the assimilation of inorganic nitrogen sources. Limnol. Oceanogr., 10: 53-7, 1975.
- DUGDALE, R.C. & GOERING, J.J. Uptake of new and regenerate nitrogen in primary productivity. Limnol. Oceanogr., 12: 196-206, 1967.
- DUGDALE, R.C.; GOERING, J.J.; RYHER, J.H. High nitrogen fixation rates in the Sargasso Sea and the Arabian Sea. Limnol. Oceanogr., 9: 507-10, 1964.
- FAY, P.; STEWART, W.D.P.; WALSBY, A.E.; FOGG, G.E. Is the heterocyst the site of nitrogen fixation in blue-green algae? Nature, 220: 810-2, 1968.
- FINKE, L.R. & SEELEY JR., H.W. Nitrogen fixation (acetylene reduction) by epiphytes of freshwater macrophytes. Appl. Environ. Microbiol., 36: 129-38, 1978.
- FOGG, G.E. The extracellular products of algae. Oceanogr. Mar. Biol. R. : 195-212, 1966.
- _____. Nitrogen fixation in lakes. Plant Soil: 393-402, 1971. Special vol.
- GARRET, W.S. & HAYASAKA, S.S. Nitrogenase activity associated with *Halodule wrightii* roots. Appl. Environ. Microbiol., 43: 1244-8, 1982.
- GAZARINI, L.C. Alguns aspectos ecológicos da macrófita aquática *Mayaca fluviatilis* Aublet, 1775 na Represa do Lobo (Brotas-Itirapina, SP). São Carlos, UFSCar, 1983. Tese Mestrado
- GOERING, J.J. & NEESS, J.C. Nitrogen fixation in two Wisconsin Lakes. Limnol. Oceanogr., 9: 530-9, 1964.

- GRANHALL, U. & LUNDGREN, A. Nitrogen fixation in Lake Erken. Limnol. Oceanogr., 16: 711-9, 1971.
- HARDY, R.W.F. & HOLSTEN, R.D. Global nitrogen waling. In: BALLANTYNE, R.K. & GUARRAIA, L.J., ed. The aquatic environment microbiol transformations. Washington, s.c.p., 1973.
- HARDY, R.W.F.; HOLSTEN, R.D.; JACKSON, E.K.; BURNS, R.C. The acetylene-ethylene assay for N_2 fixation: laboratory and field avoluation. Plant Physiol., 43: 1185-207, 1968.
- HARDY, R.W.F.; BURNS, R.C.; HOLSTEN, R.D. Applications of the acetylene-ethylene assay for the measurements of nitrogen fixation. Soil Biol. Biochem., 5: 47-81, 1973.
- HORNE, A.J. & FOGG, G.E. Nitrogen fixation in some English Lakes. Proc. R. Soc. Lond., B., 175: 351-66, 1970.
- HORNE, A.J. & GOLDMAN, C.R. Nitrogen fixation in Clear Lake, California. I. Seasonal variation and the role of heterocysts. Limnol. Oceanogr., 17: 678-91, 1972.
- HORNE, A.J. & VINER, A.B. Nitrogen fixation and its significance in tropical lake George, Uganda. Nature, 232: 417-8, 1971.
- HOWARD, D.L.; FREA, J.I.; PFISTER, R.M.; DUGAN, P.R. Biological nitrogen fixation in lake Erie. Science, 169: 61-2, 1970.
- HOLTAN, H. Biological nitrogen fixation. Nature, 207: 156-60, 1965.
- JENSEN, B.B. & COX, R.P. Effect of oxygen concentration on dark nitrogen fixation and respiration in cianobacteria.

- Arch. Microbiol., 135: 287-92, 1983.
- KEENEY, D.R. The nitrogen cycle in sediment water systems. J. Environ. Qual., 2: 15-29, 1973.
- KEIRN, M.A. & BREZONIK, P.L. Nitrogen fixation by bacteria in Lake Mize, Florida, and in some lacustrine sediments. Limnol. Oceanogr., 16: 720-31, 1971.
- KENYON, C.N.; RIPPKA, R.; STANIER, R.Y. Fatty acid composition and physiological properties of some filamentous blue-green algae. Arch. Microbiol., 83: 216-36, 1972.
- KUSNETSOV, S.I. The microflora of lakes and its geochemical activity. s.l.p., University of Texas, 1970. 503p.
- LACHAVANNE, J.B. & WATTENHOFER, R. Contribution a l'etude des macrophytes du Léman. Geneve, Conservatoire Botanique, 1975. 147p.
- LUND, J.W.G. The ecology of the freshwater phytoplankton. Biol. R. Cambridge Phil. Soc., 40: 231-93, 1965.
- MAGUE, T.J. & BURRIS, R.H. Biological nitrogen fixation in the Great Lakes. Bio Science, 23: 236-39, 1973.
- MISHUSTIN, E.N. & SHILNIKOVA, V.K. The biological fixation of atmospheric nitrogen by free living bacteria. In: _____. Soil biology. s.l.p., UNESCO, 1969. v. 9, p. 65-109.
- MISHUSTIN, E.N. & YEMTSEV, V.T. Anaerobic nitrogen fixing bacteria of different soil types. In: STEWART, W.D.P., ed. Nitrogen fixation by free-living microorganisms. Cambridge, Cambridge University, 1975. p.29-40.

- MORAES, E.M. Ciclo sazonal, distribuição horizontal e vertical e inter-relações ecológicas de nutrientes na Represa do Lobo (Brotas-Itirapina, SP). São Paulo, Instituto de Biociências, USP, 1978. Tese Mestrado.
- MULDER, E.G. Physiology and ecology of free-living nitrogen fixing bacteria. In: STEWART, W.D.P., ed., Nitrogen fixation by free living microorganisms. Cambridge, Cambridge University, 1975. p. 3-29.
- NEYRA, C.A. & DOBEREINER, J. Nitrogen fixation in grasses. Adv. Agron., 29: 1-38, 1977.
- OGAWA, R.E. & CARR, J.F. The influence of nitrogen on heterocyst production in blue-green algae. Limnol. Oceanogr., 14: 342-51, 1969.
- PATRIQUIN, D.G. Nitrogen fixation (acetylene-reduction) associated with cord grass *Spartina alterniflora* Loisel. Ecol. Bull., 26: 20-7, 1978.
- PATRIQUIN, D.G. & KNOWLES, R. Nitrogen fixation in the rhizosphere of marine angiosperms. Mar. Biol., 16: 49-58, 1972.
- PATTEN, B.C. A primer for ecological modelling and simulation with analog and digital computers. In: PATTEN, B.C., ed., Systems analysis and stimulation ecology. New York, Academic Press, 1972. p. 4-121.
- PROWSE, G.A. & TALLING, J.F. The seasonal growth and succession of plankton algae in the white Nile. Limnol. Oceanogr., 3: 222-38, 1958.
- ROVIRA, A.D. Effects of Azotobacter Bacillus and Clostridium on the growth of wheat: plant microbes relationships.

Prague, Academic Science, 1965. p. 193-200.

- RICE, W.A.; PAUL, E.A.; WETTER, L.R. The role of anaerobiosis in asymbiotic nitrogen fixation. Can. J. Microbiol., 13: 829-36, 1967.
- RUSNESS, D. & BURRIS, R.H. Acetylene reduction (nitrogen fixation) in Wisconsin Lakes. Limnol. Oceanogr., 15: 808-13, 1970.
- RYTHER, J. & DUNSTAN, W. Nitrogen, phosphorus and eutrophication in the coastal marine environment. Science, 171: 1008-13, 1971.
- SANTOS, J.E. & LACAVA, P.M. Variação sazonal de bactérias aeróbias fixadoras de nitrogênio em ecossistema lacustre artificial (Represa do Lobo, São Carlos). Ci. e Cult., 33: 838-42, 1981.
- _____. Variação sazonal de bactérias microaerófilas fixadoras de nitrogênio em ecossistema lacustre artificial. R. Microbiol., 12: 162-9, 1981.
- SANTOS, J.E.; GAZARINI, L.C.; LACAVA, P.M.; TENDOLIN, R.M. Fixação de nitrogênio em sedimento lacustre. In: SEMINÁRIO REGIONAL DE ECOLOGIA, 3, São Carlos, 1983. Anais ... São Carlos, UFSCar, 1983. p. 79-85.
- SANTOS, J.E.; GAZARINI, L.C.; RODRIGUES, J.S.P.; LACAVA, P.M. Fixação de nitrogênio associado com macrófita aquática (*Mayaca fluviatilis* Aublet). Naturalis, 8: 241-9, 1983.
- SILVER, W.S. & JUMP, A. Nitrogen fixation associated with vascular macrophytes. In: STEWART, W.D.P., ed., Nitrogen fixation by free-living microorganisms. Cambridge, Cambridge University, 1975. p. 121-5.

- SMITH, G.W. & HAYASAKA, S.S. Nitrogenase activity with *Nodula wrightii* roots. Appl. Environ. Microbiol., 43: 1244-8, 1982.
- STEWART, W.D.P. Nitrogen input into aquatic ecosystems. In: JACKSON, D.F., ed., Algae man and th'e environment. New York, Syracuse, Syracuse University Press, 1968.
- _____. Biological and ecological aspects of nitrogen fixation by free-living microorganisms. Proc. R. Soc. Lond., B., 172: 367-88, 1969.
- _____. Algal fixation of atmospheric nitrogen. Plant Soil, 32: 555-88, 1970.
- _____. Nitrogen fixation by photosynthetic microorganisms. Ann. R. Microbiol., 27: 283-316, 1973.
- _____. Biological cycling of nitrogen in intertidal and supralittoral marine environments. In: EUROPEAN MARINE BIOLOGICAL SYMPOSIUM, 9, 1975. Proceedings ... p. 637-60.
- _____. Nitrogen fixation. Phil. Trans. R. Soc. Lond., B., 274: 341-58, 1976.
- _____. A botanical ramble among the blue-green algae. Br. Phycol. Soc., 12: 89-115, 1977.
- STEWART, W.D.P. & PEARSON, H.W. Effects of aerobic and anaerobic conditions on growth and metabolism of blue-green algae. Proc. R. Soc. Lond., B., 175: 293-311, 1970.
- STEWART, W.D.P.; FITZGERALD, G.P.; BURRIS, R.H. In situ studies on N₂ fixation using the acetylene reduction technique. Proc. Nat. Acad. Sci., 58: 2071-8, 1967.

- STEWART, W.D.P.; FITZGERALD, G.P.; BURRIS, R.H. Acetylene reduction by nitrogen fixing blue-green algae. Arch. Mikrobiol., 62: 336-48, 1968.
- STEWART, W.D.P.; HAYSTEAD, A.; PEARSON, H.W. Nitrogenase activity in heterocysts of blue-green algae. Nature, 224: 226-8, 1969.
- TALLING, J. & RZOSKA, J. The development of plankton in relation to hydrological regime in the Blue Nile. J. Ecol., 55: 637-62, 1967.
- TEAL, J.M.; VALIELA, I.; BERLO, D. Nitrogen fixation by rhizosphere and free-living bacteria in salt marsh sediments. Limnol. Oceanogr., 24: 126-7, 1979.
- TRINDADE, M. Nutrientes em sedimentos da Represa do Lobo (Brotas-Itirapina, SP). São Carlos, UFSCar, 1980. 219p. Tese Mestrado
- TRUPPER, H.G. & GENOVESE, S. Characterization of photosynthetic sulfure bacteria causing red water in lake faro (Messina, Sicily). Limnol. Oceanogr., 12: 225-32, 1968.
- TUNDISI, J.G. Produção primária, "standing-stock", fracionamento do fitoplâncton e fatores ecológicos em ecossistema lacustre artificial (Represa do Broa), Ribeirão Preto, FFCL, USP, 1977. Tese Livre Docência.
- WAKSMAN, S.A.; HOTCHKISS, M.; CAREY, L.C. Bacteria concerned in the cycle of nitrogen in the sea. Biol. Bull., 65: 137-67, 1933.
- WETZEL, R.G. Excretion of dissolved organic compounds by aquatic macrophytes. Bio Science, 19: 539-40, 1969.

- WHITNEY, D.E.; WOODWELL, G.M.; HOWARTH, R.W. Nitrogen fixation in flax pond: a long island salt marsh. Limnol. Oceanogr., 17: 640-3, 1975.
- ZUBERER, D.A. Nitrogen fixation (acetylene reduction) associated with duckweed (Lemnaceae) mats. Appl. Environ. Microbiol., 43: 823-8, 1982.

AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao CNPq e FAPESP pelo auxílio financeiro e ao Prof. Dr. Francisco de Assis Esteves pelas críticas e sugestões valiosas por ocasião da revisão do manuscrito.

ENDEREÇO DO AUTOR:

SANTOS, J.E.
Laboratório de Microbiologia
Departamento de Ciências Biológicas
Universidade Federal de São Carlos
13560 São Carlos - SP