

REGULAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA DISPONIBILIDADE DE NITROGÊNIO EM ECOSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS

Ana Lúcia Santoro^{1,2} & Alex Enrich-Prast^{2*}

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGE/ UFRJ), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia. Av. Brigadeiro Trompowski, s/n. CCS, Bloco A, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21941- 590.

² Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Instituto de Biologia, Departamento de Ecologia, Laboratório de Biogeoquímica. Av. Brigadeiro Trompowski, s/n. CCS, Inter-blocos A-F, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21941- 590.

E-mails: analusantoro@gmail.com, aenrichprast@gmail.com*

RESUMO

Ecossistemas aquáticos continentais são de extrema importância para a ciclagem global de nitrogênio. Nesses ambientes, quantidades expressivas de nitrogênio são fixadas, tornando-se biodisponíveis, e também emitidas para a atmosfera na forma de moléculas gasosas. A regulação da disponibilidade de nitrogênio em ecossistemas aquáticos se dá fundamentalmente através de processos microbiológicos e é extremamente importante para a manutenção da dinâmica e funcionamento dos ecossistemas. A presente revisão reúne informações acerca das principais vias de transformação do nitrogênio em ecossistemas aquáticos continentais, e avalia a importância de cada uma delas para a regulação da biodisponibilidade deste macronutriente nos referidos sistemas biológicos.

Palavras-chave: Nitrogênio; ciclagem de nutrientes; biodisponibilidade; ecossistemas aquáticos; águas interiores.

ABSTRACT

MICROBIOLOGICAL REGULATION OF THE NITROGEN AVAILABILITY IN FRESHWATER ECOSYSTEMS. Freshwater ecosystems are important for the nitrogen global cycling. In these environments, large amounts of nitrogen are fixed to become bioavailable, and are also emitted into the atmosphere as gas molecules. The regulation of nitrogen availability in aquatic ecosystems occurs mainly through microbial processes and is extremely important for maintaining the dynamics and functioning of ecosystems. This review gathers information about the main ways of nitrogen transformation in freshwater ecosystems, evaluating the importance of each one to nitrogen bioavailability regulation in these biological systems.

Keywords: Nitrogen; nutrient cycling; bioavailability; freshwater ecosystems; inland waters.

RESUMEN

REGULACIÓN MICROBIOLÓGICA DE LA DISPONIBILIDAD DE NITRÓGENO EN ECOSISTEMAS ACUÁTICOS CONTINENTALES. Los ecosistemas acuáticos continentales son de extrema importancia para el ciclaje global de nitrógeno. En estos ambientes, grandes cantidades de nitrógeno son fijadas, tornándose biodisponibles, y también son emitidas para la atmósfera bajo la forma de moléculas reactivas. La regulación de la disponibilidad de nitrógeno en ecosistemas acuáticos se da fundamentalmente a través de procesos microbiológicos y es extremadamente importante para mantener la dinámica y el funcionamiento de los ecosistemas. Esta revisión reúne informaciones acerca de las principales vías de transformación del nitrógeno en ecosistemas acuáticos continentales, evaluando la importancia de cada una de éstas para la regulación de la biodisponibilidad de este macronutriente en los sistemas biológicos mencionados.

Palabras clave: Nitrógeno; ciclaje de nutrientes; biodisponibilidad; ecosistemas acuáticos.

ASPECTOS GERAIS

Os elementos nitrogênio (N), carbono (C), fósforo (P), oxigênio (O) e enxofre (S) são reconhecidamente indispensáveis à vida e, dentre esses, o nitrogênio é o que apresenta maior abundância na atmosfera, hidrosfera e biosfera global (Galloway *et al.* 2003). O montante total de nitrogênio na Terra é de aproximadamente 4×10^{21} g, massa maior que a soma dos quatro outros elementos citados anteriormente (Mackenzie 1998). Contudo, mais de 99% desse montante não está disponível para mais de 99% dos organismos vivos, e a razão para isso está no fato do nitrogênio ser encontrado na natureza quase inteiramente na forma de nitrogênio molecular (N_2) (Galloway *et al.* 2003). Esta forma química não pode ser assimilada pela maioria dos organismos, já que quebrar a ligação tripla que une os dois átomos de nitrogênio na molécula de N_2 requer grande quantidade de energia, a qual é alcançada em processos artificiais envolvendo altas temperaturas ou por um pequeno e especializado grupo de microorganismos fixadores de N.

O nitrogênio é um macronutriente que constitui as células de todos os seres vivos, sendo utilizado na síntese de DNA, RNA e proteínas, além de

ser um dos principais elementos limitantes à produção primária em ecossistemas terrestres e aquáticos. Segundo Elser *et al.* (2007), fontes de N inorgânico como amônia, nitrato e nitrito ocorrem em concentrações severamente limitantes aos organismos de ecossistemas naturais. Apesar do entendimento comum de que a produção primária de águas continentais é limitada por fósforo (P), muitos trabalhos mostram grande variedade desses sistemas limitados por N (Elser *et al.* 1990, Francoeur 2001). Por outro lado, o excesso desse elemento em ecossistemas aquáticos desencadeia o processo de eutrofização, um dos maiores problemas dos últimos séculos (Smil 1997). A regulação da disponibilidade de nitrogênio em ecossistemas aquáticos se dá fundamentalmente através de processos microbiológicos relacionados à ciclagem deste elemento (Figura 1) e é importante para a manutenção da dinâmica e funcionamento dos ecossistemas. A maioria dos processos do ciclo biogeoquímico global do nitrogênio é realizada por microorganismos, destacando os processos de fixação biológica de nitrogênio, nitrificação e desnitrificação (Figura 1) (Klotz & Stein 2008).

Os compostos nitrogenados presentes na natureza são divididos em dois grupos: não-reativos e reativos. A molécula de N_2 é considerada

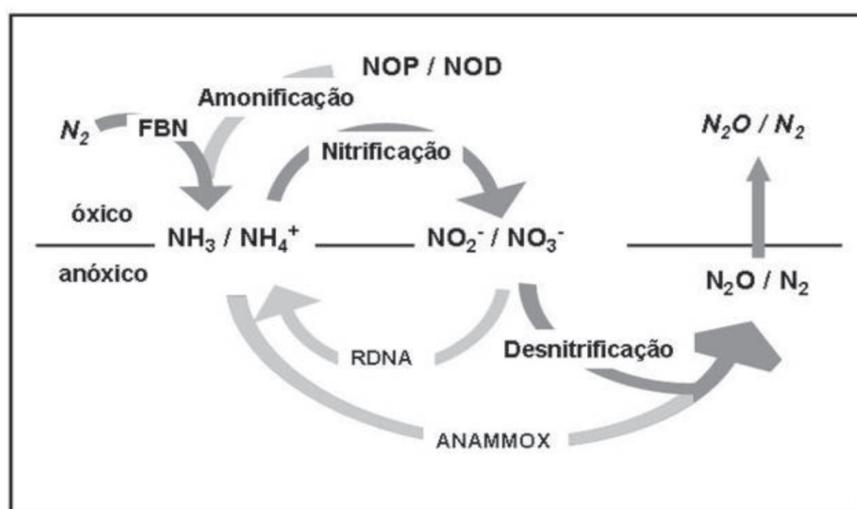


Figura 1. Esquema simplificado do ciclo do nitrogênio em ecossistemas aquáticos continentais. Em destaque os principais processos bacterianos envolvidos na regulação da biodisponibilidade de N. Em itálico, as formas gasosas de nitrogênio.

NOP = Nitrogênio orgânico particulado; NOD = Nitrogênio orgânico dissolvido; FBN = Fixação biológica de nitrogênio; RDNA = Redução dissimilatória do nitrato a amônia; ANAMOX = do inglês 'anaerobic ammonium oxidation'.

Figure 1. Simplified draft of the nitrogen cycle in freshwater ecosystems. The main bacterial processes involved in the regulation of N bioavailability are highlighted.

NOP = Particulate organic carbon; NOD = Dissolved organic carbon; FBN = Biological nitrogen fixation; RDNA = Dissimilatory Reduction of nitrate to ammonium; ANAMOX = Anaerobic ammonium oxidation.

não-reativa e as reativas (Nr) incluem todos os compostos biologicamente, fotoquimicamente ou radioativamente ativos da atmosfera ou biosfera (Galloway *et al.* 2003). As formas nitrogenadas mais estudadas em ecossistemas aquáticos e terrestres são: N-orgânico particulado e dissolvido, amônia (NH₃) e íon amônio (NH₄⁺), óxido nitroso (N₂O), nitrito (NO₂⁻) e nitrato (NO₃⁻).

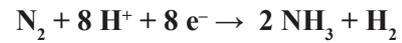
Muitos rios e lagos submetidos à pressão antrópica apresentam elevadas concentrações de nitrato na água. No entanto, ecossistemas aquáticos em geral possuem potencial limitado para acumulação de formas reativas de nitrogênio, uma vez que o tempo de residência dessas formas na água é bastante reduzido, exceto no sedimento, onde podem ser acumuladas por um período relativamente longo (Galloway *et al.* 2003). A zona de interface sedimento-água de ambientes aquáticos oferece regiões de intensa deposição e degradação de matéria orgânica (Dean 1999, Heinen & McManus 2004). Essas condições fomentam alta atividade biogeoquímica e a disponibilidade de oxigênio pode diminuir e até mesmo se tornar nula nos primeiros milímetros do sedimento (Sweerts *et al.* 1989), tornando este o principal sítio de ocorrência dos processos relacionados ao ciclo do nitrogênio em ecossistemas aquáticos.

FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO (FBN)

O nitrogênio é um elemento único entre os principais necessários à vida, uma vez que seu ciclo inclui vasto reservatório atmosférico (N₂) que precisa ser fixado (combinado a carbono, hidrogênio ou oxigênio) antes de ser utilizado pela maioria dos organismos. A disponibilidade dessa forma fixada controla, pelo menos em parte, a produtividade, a estocagem de carbono e a composição de espécies de muitos ecossistemas.

Bactérias e também arqueias fixadoras de nitrogênio (diazotróficas) convertem nitrogênio atmosférico (N₂) em amônia (NH₃) para própria assimilação. Essa fixação biológica de nitrogênio neutraliza a remoção de nitrogênio biodisponível por processos microbianos, como desnitrificação e oxidação anaeróbica da amônia (ANAMMOX), e representa a principal fonte de N para a maioria da biosfera, incapaz de assimilar N₂ diretamente (Dekas *et al.* 2009).

O processo de Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) pode ser sucintamente representado pela equação:



Este processo é catalisado pela enzima nitrogenase, que é restrita a alguns procariontes autótrofos e heterótrofos. Tais organismos utilizam a nitrogenase em conjunto com outras enzimas e cofatores para facilitar a quebra altamente endergônica da ligação tripla da molécula de N₂ para produção de amônia (Postgate 1970). Em organismos heterótrofos, o N₂ é reduzido a partir do consumo de compostos orgânicos, enquanto em organismos autótrofos, os elétrons são oriundos do processo de fotossíntese. Dentre os heterótrofos podem ser encontradas arqueas e bactérias aeróbicas, anaeróbicas, anaeróbicas facultativas e micro-aerofílicas (Herbert 1999). Dentre os organismos autótrofos, destacam-se as cianobactérias, principalmente as heterocitadas. As cianobactérias são responsáveis pela maior parte do N₂ planctônico fixado em ambientes aquáticos e esta habilidade lhes proporciona uma vantagem competitiva durante períodos de escassez de nitrogênio na coluna d'água (Tonno & Noges 2003).

A ligação entre as duas moléculas de N₂ é extremamente estável e a demanda energética para sua quebra é elevada, sendo estimado um mínimo de 16 ATP para cada molécula fixada (Postgate *et al.* 1988). Em decorrência do elevado custo metabólico, os organismos autótrofos são responsáveis pela maior porcentagem do N fixado em ecossistemas aquáticos, especialmente em ambientes rasos onde há grande penetração de luz (Herbert 1999).

Segundo Schindler (1977), o nitrogênio, em princípio, não deveria ser um fator limitante ao crescimento dos organismos em sistemas aquáticos, já que os organismos fixadores de nitrogênio presentes seriam capazes de converter nitrogênio atmosférico em formas biodisponíveis. Deste modo, para que tal limitação ocorra, alguns fatores devem limitar a fixação biológica de nitrogênio (Vitousek & Howarth 1991). Em corpos aquáticos continentais, tais fatores podem ser: disponibilidade de carbono orgânico, oxigênio e metais traço, pH, salinidade (Herbert 1999), luz (Lewis & Levine

1984), temperatura (Marcarelli & Wurtsbaugh 2006) e concentração de outros macronutrientes (Howarth *et al.* 1988, Marcarelli & Wurtsbaugh 2006). Marcarelli & Wurtsbaugh (2006) mostraram, através de

experimentos em rios oligotróficos norte-americanos, que a FBN foi regulada pela disponibilidade de fósforo, sendo a magnitude da resposta à disponibilidade desse nutriente modulada pela temperatura (Figura 2).

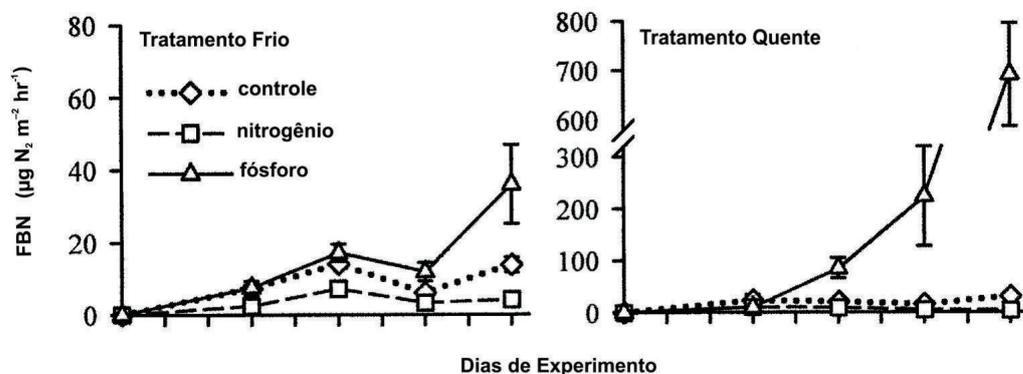


Figura 2. Influência da temperatura e disponibilidades de nitrogênio e fósforo sobre as taxas de fixação biológica de nitrogênio (FBN) em rios oligotróficos. As barras representam \pm erro padrão. Adaptado de Marcarelli & Wurtsbaugh (2006).

Figure 2. Influence of temperature and nitrogen/ phosphorus availability on nitrogen fixation rates (FBN) in oligotrophic rivers. The bars represent \pm standard error. Adapted from Marcarelli & Wurtsbaugh (2006).

Os mesmos autores também mostraram (Marcarelli & Wurtsbaugh 2007) estímulo de até 2500% na fixação de N em resposta à adição de fósforo em ambientes aquáticos continentais temperados. A adição de N, no entanto, com ou sem adição simultânea de fósforo, diminuiu a atividade de fixação em até 73%. Enquanto a temperatura exerce influência direta sobre a fisiologia dos organismos, sendo a FBN um processo de grande gasto energético, esse é interrompido quando há ilimitada disponibilidade de N para o crescimento dos organismos. Bryhn &

Blenckner (2007) concluíram que é muito pouco provável que a concentração de N_2 limite a fixação biológica de nitrogênio em ecossistemas aquáticos.

A resposta à luz da FBN foi modelada com sucesso, utilizando uma equação anteriormente desenvolvida para a resposta à luz da fotossíntese, por Lewis & Levine (1984), que incubaram amostras de água de seis diferentes profundidades ao longo da coluna d'água de um lago venezuelano, encontrando uma curva similar à esperada para o processo fotossintético (Figura 3).

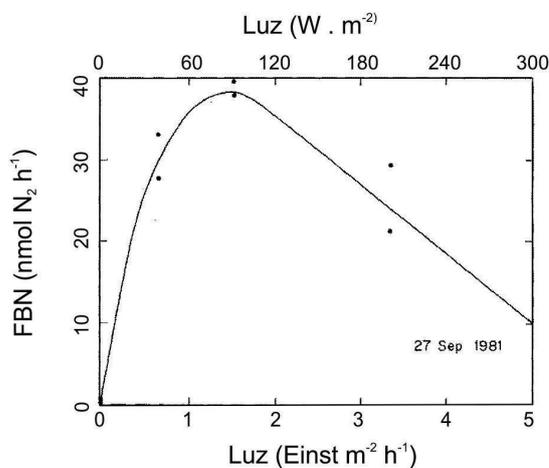


Figura 3. Resposta da fixação biológica de nitrogênio (FBN) planctônica a um gradiente de intensidade luminosa em um sistema lacustre venezuelano. Adaptado de Lewis & Levine (1984).

Figure 3. Response of planktonic biological nitrogen fixation (FBN) to a gradient of light intensity in a lake system in Venezuela. Adapted from Lewis & Levine (1984).

Um padrão de variação diária das taxas de FBN de comunidades perifíticas associadas a uma espécie de macrófita aquática em um lago amazônico, Brasil, foi mostrado por (Enrich-Prast & Esteves 1998). A variação registrada

foi atribuída a flutuações na disponibilidade de carbono orgânico, gerando diferentes respostas à incidência de luz solar de comunidades predominantemente compostas por organismos autótrofos e heterótrofos (Figura 4).

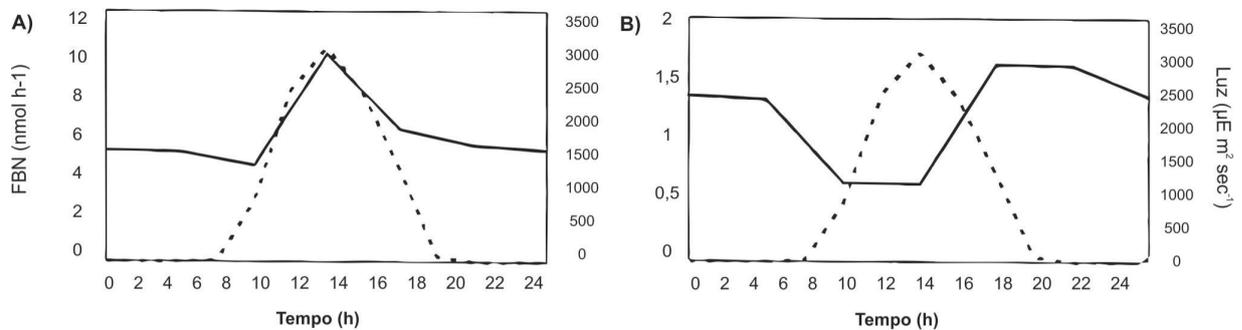


Figura 4. Variação diária da luz solar (.....) e da fixação biológica de nitrogênio (FBN) (___) em comunidades perifíticas dominadas por organismos autótrofos (A) e heterótrofos (B). Adaptado de Enrich-Prast & Esteves (1998).

Figure 4. Daily variation of solar light (.....) and biological nitrogen fixation (FBN) (___) in periphyton communities dominated by autotrophs (A) and heterotrophs (B). Adapted from Enrich-Prast & Esteves (1998).

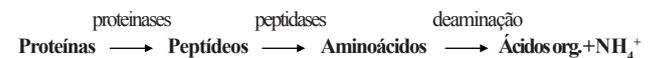
Antes da extensiva alteração do ciclo do N provocada pela ação humana, de 90 a 130 Tg de N eram fixados anualmente em ambientes terrestres (Galloway *et al.* 1995). Já a taxa planctônica de fixação biológica de nitrogênio ainda é incerta, sendo estimada entre 10 a 200 Tg N por ano (Gruber & Sarmiento 1997).

AMONIFICAÇÃO

Ecossistemas aquáticos continentais recebem e acumulam grande quantidade de matéria orgânica que é então estocada no sedimento, especialmente sistemas lacustres por sua posição terminal na bacia de drenagem (Heinen & McManus 2004). Essa condição torna o processo de amonificação um importante provedor de N reativo lábil nesses ambientes, embora esse seja um processo ainda pouco explorado.

Amonificação (ou mineralização orgânica de N) é um processo contínuo de decomposição, através do qual compostos orgânicos de N com alto peso molecular são sequencialmente hidrolisados em compostos mais simples, por meio da atividade de enzimas extracelulares (Sinsabaugh *et al.* 1991), e em seguida esses compostos, geralmente na forma de aminoácidos, são quebrados resultando na liberação

de NH_4^+ (Gardner *et al.* 1989). Dependendo da complexidade estrutural da matéria orgânica, tanto uma simples reação de deaminação quanto uma complexa série de etapas metabólicas podem ser denominadas amonificação. Normalmente o processo é limitado pela taxa de hidrólise dos compostos de maior peso molecular, mas limitações em qualquer etapa do contínuo de decomposição podem regular o processo (Stanford & Smith 1972). A amonificação de macromoléculas de N pode ser sumarizada da seguinte forma:



O processo de amonificação é realizado por uma série de gêneros bacterianos e de fungos e corresponde à transformação de N orgânico particulado (NOP) e dissolvido (NOD) em NH_4^+ como mostra a Figura 1. A produção de amônia está acoplada à mineralização da matéria orgânica, uma vez que essa forma inorgânica de N é liberada paralelamente à oxidação ou à fermentação do C orgânico em CO_2 (Figura 5). No entanto, tal liberação de NH_4^+ durante a mineralização da matéria orgânica depende da qualidade e da razão C:N do substrato degradado (Lancelot & Billen 1985).

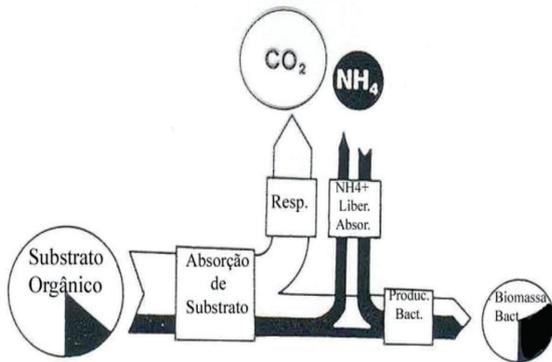


Figura 5. Representação dos fluxos de carbono e nitrogênio associados à degradação bacteriana da matéria orgânica. Retirado de Lancelot & Billen (1985). Resp. = Respiração; Liber. = Liberação; Absor. = Absorção, Produc. Bact.= Produção Bacteriana.

Figure 5. Representation of the carbon and nitrogen flows associated with microbial degradation of organic matter. Extracted from Lancelot & Billen (1985). Resp. = Respiration; Liber. = Release; Absor. = Absorption, Produc. Bact.= Bacterial Production.

A qualidade da matéria orgânica disponível, ou seja, se é lábil ou refratária para utilização pelos microorganismos decompositores, determina a rapidez com que o substrato é mineralizado e, por consequência, a taxa de amonificação do ambiente. A qualidade da matéria orgânica, por sua vez, depende de sua origem (Enriquez *et al.* 1993). O detrito de macrófitas aquáticas, por exemplo, pode consistir de 25 a 30% de fibras, com conteúdo de lignina de aproximadamente 8%, sendo sua taxa de mineralização muito baixa, quando comparada à de detritos formados por fitoplâncton que contém material nitrogenado mais lábil. Sumi & Koike (1990) mostraram correlação negativa significativa (-0,71; $p < 0,05$) entre a razão C:N do substrato e a taxa de amonificação de sedimentos costeiros japoneses.

A temperatura ambiental também é capaz de interferir nas taxas locais de mineralização da matéria orgânica e amonificação, principalmente por acelerar a taxa metabólica dos organismos envolvidos. Zhang *et al.* (2008) encontraram correlação positiva significativa entre o fluxo de amônia do sedimento para a coluna d'água e a temperatura da água em um lago eutrófico chinês. Os autores atribuem a resposta dos fluxos de amônia à intensificação do processo de amonificação com o aumento da temperatura (Figura 6).

O processo de mineralização da matéria orgânica ocorre em condições aeróbias e anaeróbias, sendo em geral as maiores taxas observadas na presença de oxigênio. Estudos como o de Lillebo *et al.* (2007), no entanto, mostraram que condições de depleção de oxigênio favoreceram o processo de amonificação no sedimento de pequenos rios da região mediterrânea.

Em ambientes rasos, o processo de amonificação pode contribuir com até 80% do N requerido pelo fitoplâncton (Hansen & Blackburn 1992). Sendo o íon NH_4^+ o principal produto da amonificação, ele pode ser transportado para a coluna d'água ou no sedimento, ser assimilado por organismos bentônicos ou ainda oxidado a NO_3^- ou NO_2^- via nitrificação (Sumi & Koike 1990).

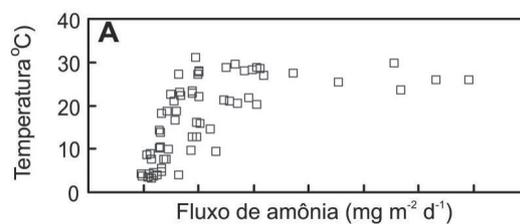


Figura 6. Resposta do fluxo sedimento-água de amônia ao aumento de temperatura em um lago eutrófico. Adaptado de Zhang *et al.* (2008).

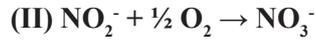
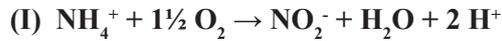
Figure 6. Response of the sediment-water flow of ammonia to the increase of temperature in a eutrophic lake. Adapted from Zhang *et al.* (2008).

NITRIFICAÇÃO

A atividade nitrificante é de fundamental importância para todos os ecossistemas, uma vez que esse processo une as fases reduzidas e oxidadas do ciclo do nitrogênio (Figura 1) (Joye *et al.* 1999). Seus produtos (nitrito e nitrato) servem como substrato para os processos de desnitrificação, RDNA e ANAMMOX, promovendo o elo que permite a remoção de nitrogênio biodisponível do ambiente sob a forma de nitrogênio atmosférico (N_2 e/ou N_2O) (Jenkins & Kemp 1984). Em ambientes com baixa disponibilidade de nitrato, o processo de nitrificação pode subsidiar até 75 % de todo o N_2 produzido (Dong *et al.* 2006).

O processo de nitrificação é realizado por bactérias quimioautotróficas que obtêm sua energia através da oxidação de formas reduzidas de nitrogênio (Enrich-Prast *et al.* 2009). Esse é um processo que se dá em

duas etapas distintas, nas quais a amônia é oxidada a nitrito e posteriormente a nitrato como ilustrado a seguir:



Embora baixos níveis de oxigênio (até 0,3 ppm) já sejam suficientes (Cavari 1977), ambas as etapas ocorrem estritamente em condições aeróbicas. Assim como os outros processos do ciclo do nitrogênio, o sedimento é o principal sítio de ocorrência da nitrificação em ambientes aquáticos. A distribuição vertical das bactérias nitrificantes neste substrato é determinada principalmente pela penetração de O_2 e depende de fatores como: tipo de sedimento, conteúdo de matéria orgânica, temperatura, grau de mistura do sedimento e bioturbação (Revsbech *et al.* 1980). *Nitrosospira* e *Nitrosomonas* são os gêneros mais conhecidos capazes de realizar a primeira etapa, a oxidação da amônia a nitrito, enquanto a oxidação de nitrito a nitrato é realizada por vários gêneros, sendo *Nitrobacter* o mais comumente encontrado em ambientes costeiros (Enrich-Prast 2005).

O carbono utilizado por bactérias nitrificantes para a construção de moléculas é obtido através da fixação de CO_2 . Bactérias nitrificantes precisam oxidar 35 e 100 moles de amônia e nitrito, respectivamente, para fixação de 1 único mol de C, sendo esse um processo de baixíssimo ganho energético (Fenchel *et al.* 1998). Consequentemente, esses organismos possuem crescimento muito lento. Enquanto o tempo de duplicação de bactérias heterotróficas é de cerca de uma hora, o tempo de duplicação de bactérias nitrificantes varia entre 7 e 10 horas em laboratório, podendo chegar a semanas em ambientes naturais (Enrich-Prast *et al.* 2009).

Uma série de fatores é capaz de regular a atividade nitrificante. Alguns desses têm impacto fisiológico direto sobre as bactérias, tais como temperatura, pH e disponibilidade de NH_4^+ , O_2 e CO_2 (Herbert 1999). A salinidade também pode desempenhar papel importante (Risgaard-Petersen *et al.* 2004a), influenciando diretamente os organismos nitrificantes (Risgaard *et al.* 1999) e regulando a capacidade

de absorção de NH_4^+ pelo sedimento (Boatman & Murray 1982). Um decaimento exponencial das taxas de nitrificação no sedimento de lagoas costeiras do estado do Rio de Janeiro, Brasil, em resposta ao aumento da salinidade na coluna d'água foi observado por Santoro & Enrich-Prast (2009) (Figura 7).

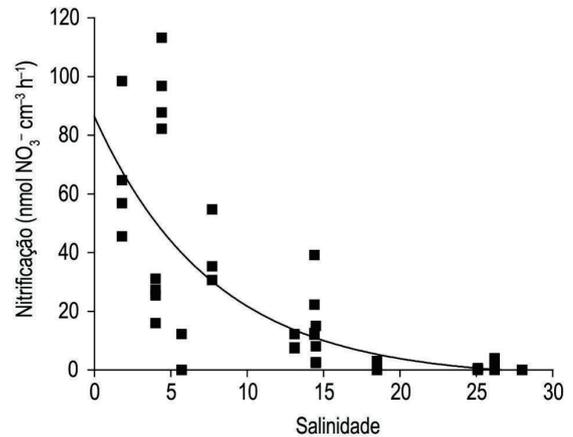


Figura 7. Modelo de decaimento exponencial entre as taxas de nitrificação no sedimento de lagoas costeiras e salinidade. Equação: $y = 89,29 \cdot \exp(-0,1285 \cdot x) + (-2,929)$; $R^2 = 0,5345$; $n = 44$. Adaptado de Santoro & Enrich-Prast (2009).

Figure 7. Model of exponential decay between the rates of sediment nitrification and salinity in coastal lagoons. $y = 89,29 \cdot \exp(-0,1285 \cdot x) + (-2,929)$; $R^2 = 0,5345$; $n = 44$. Adapted from Santoro & Enrich-Prast (2009).

A radiação solar também é capaz de exercer forte efeito inibitório sobre ambas as etapas de oxidação envolvidas no processo de nitrificação, conforme demonstrado para sedimento marinho por Vanzella *et al.* (1989). Essa inibição seria uma resposta ao impacto fisiológico da radiação UV sobre as bactérias envolvidas. Por outro lado, a incidência de luz e a presença de organismos fotossintetizantes como algas e macrófitas aquáticas modificam as condições químicas da interface sedimento-água, principalmente através do estímulo à produção, no caso da luz, e produção propriamente dita de O_2 (Wilkie & Mulbry 2002, Munoz & Guieysse 2006).

A atividade de organismos fotossintetizantes aumenta a penetração de oxigênio no sedimento, estimulando processos aeróbicos como a nitrificação (Risgaardpedersen *et al.* 1994, Lorenzen *et al.* 1998, Travieso *et al.* 2006). Lorenzen *et al.* (1998) demonstraram o estímulo ao processo de nitrificação realizado pela atividade fotossintética de microalgas bentônicas através de microperfis no sedimento de um ecossistema lacustre dinamarquês (Figura 8).

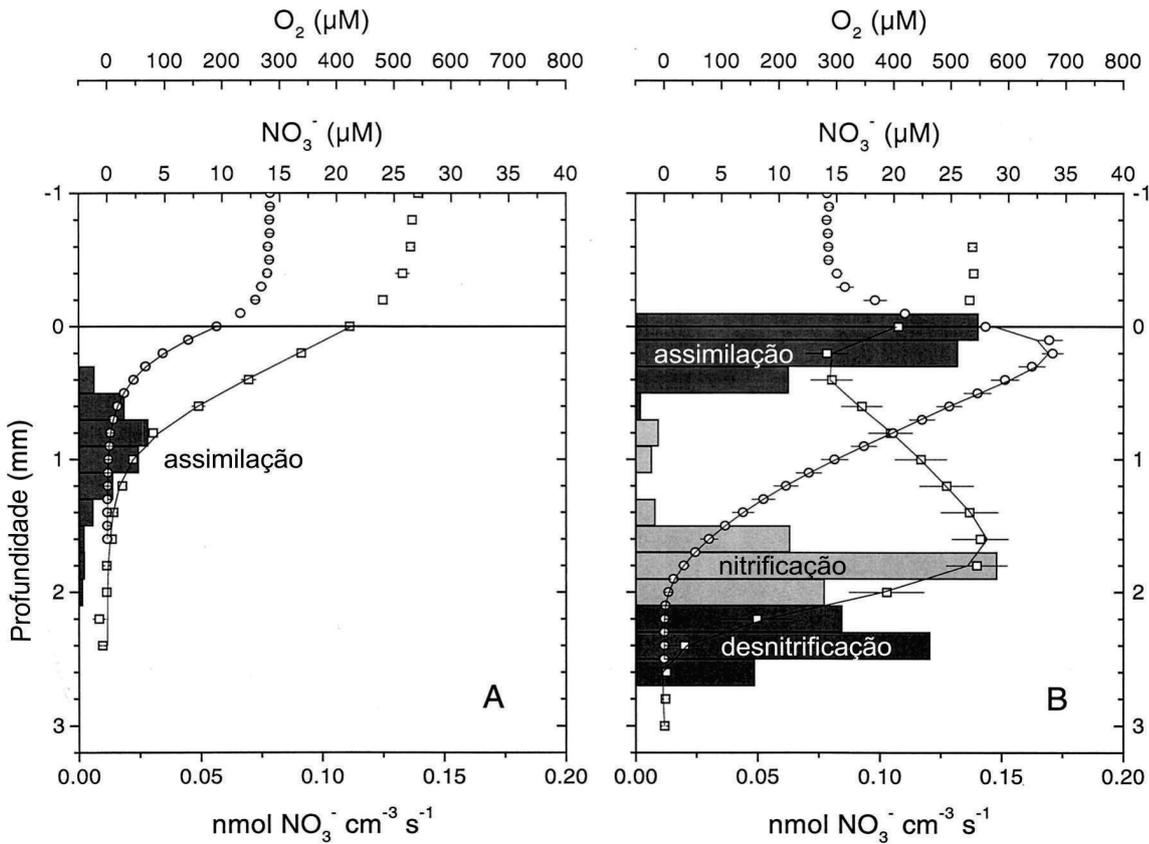


Figura 8. Concentrações de O₂ (○, valores médios e desvio padrão, n=6) e NO₃⁻ (□, valores médios e desvio padrão, n=6), perfis calculados (linhas) e taxas de assimilação de NO₃⁻, nitrificação e desnitrificação na ausência (A) e na presença (B) de luz em sedimento lacustre colonizado por microalgas bentônicas. Adaptado de Lorenzen et al. (1998).

Figure 8. Concentrations of O₂ (○, mean values and standard deviation, n=6) and NO₃⁻ (□, mean values and standard deviation, n=6), calculated profiles (lines) and NO₃⁻ assimilation, nitrification and denitrification rates in the absence (A) and presence (B) of light in lake sediment colonized by benthic microalgae. Adapted from Lorenzen et al. (1998).

Em contrapartida, algas microfitobentônicas podem competir diretamente com bactérias nitrificantes por NH₄⁺ (Risgaard-Petersen *et al.* 2004b) (Figura 9). Essas algas bentônicas possuem maior taxa de crescimento e assimilação de N, podendo limitar o processo de nitrificação.

A excreção de parte dos produtos fotossintéticos por esses organismos fotossintetizantes representa uma fonte adicional de C e pode também regular o processo de nitrificação no sedimento (Middelburg *et al.* 2000). Elevadas concentrações de carbono orgânico reduzem as taxas de nitrificação

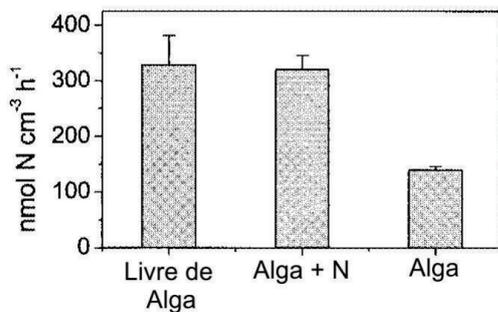


Figura 9. Taxas de nitrificação no sedimento em três diferentes tratamentos: livre de algas bentônicas, com a presença de algas bentônicas e adição de NH₄⁺ e somente com a presença de algas. Adaptado de Risgaard-Petersen *et al.* (2004b).

Figure 9. Sediment nitrification rates from three different treatments: free of benthic algae, with benthic algae plus NH₄⁺ addition and just benthic algae. Adapted from Risgaard-Petersen *et al.* (2004b).

por estimularem o rápido crescimento de bactérias heterotróficas, que competem com a comunidade

nitrificante por oxigênio e amônia (Strauss & Lamberti 2000, 2002) (Figura 10).

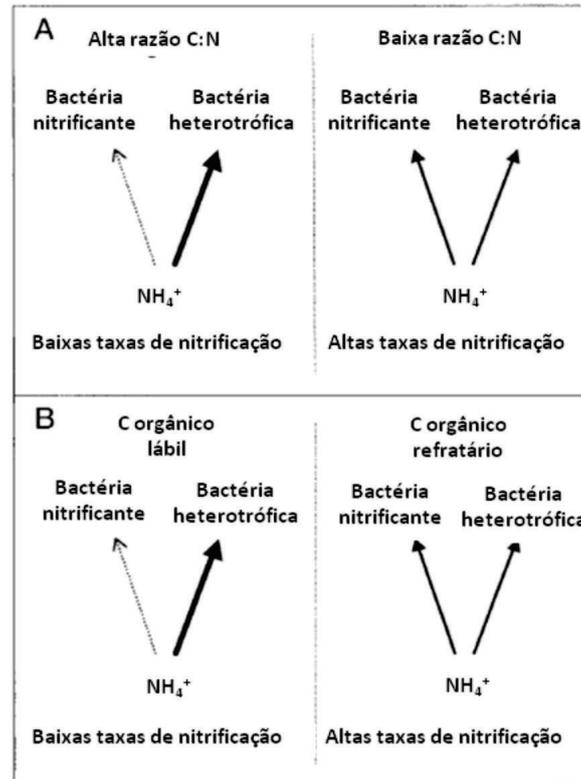


Figura 10. Esquemática das hipóteses acerca dos efeitos da razão C:N e qualidade do carbono orgânico disponível sobre as taxas de nitrificação. (A) hipótese 1: sob elevada razão C:N, bactérias heterotróficas são mais eficientes na competição por NH_4^+ , resultando em baixas taxas de nitrificação; sob baixa razão C:N a comunidade nitrificante não é exposta à forte competição por NH_4^+ , resultando em altas taxas de nitrificação. (B) hipótese 2: quando o carbono orgânico disponível no ambiente é lábil (facilmente assimilado por bactérias heterotróficas), o carbono orgânico presente terá um efeito negativo maior sobre as taxas de nitrificação do que quando este é mais refratário (assimilado com maior dificuldade por bactérias heterotróficas).

Adaptado de Strauss & Lamberti (2000).

Figure 10. Hypotheses describing the effects of C:N ratio and organic carbon quality on nitrification rates. (A) Hypothesis 1: under high environmental C:N ratios heterotrophic bacteria outcompete nitrifying bacteria for available NH_4^+ , resulting in lower nitrification rates; under low environmental C:N ratios nitrifying bacteria do not experience strong competition for available NH_4^+ , resulting in higher nitrification rates. (B) Hypothesis 2: when the organic carbon in the environment is mostly labile (easily assimilated by heterotrophic bacteria), the organic carbon present will have more negative effect on nitrification rates than when the organic carbon is mostly refractory (not easily assimilated by heterotrophic bacteria). Adapted from Strauss & Lamberti (2000).

O perfil de sedimento é dividido em duas regiões, uma região “aberta” e outra “fechada”, de acordo com Volkenborn *et al.* (2007), as quais devem variar dependendo da permeabilidade do sedimento. Segundo os autores, a troca de solutos é rápida na região “aberta”, devido principalmente ao fluxo livre da água intersticial, enquanto na região “fechada” a troca entre sedimento e coluna d’água é comparativamente lenta e regulada por difusão. Bioturbação é a atividade realizada por macroorganismos bentônicos que constroem tubos e galerias, como poliquetas, quironomídeos e oligoquetos. No sedimento, a construção de galerias e a bioirrigação realizada por estes macroorganismos

aumenta a extensão da região “aberta” (Figura 11a), estimulando os processos que nela ocorrem (Volkenborn *et al.* 2007).

A atividade nitrificante ocorre na região de interface sedimento-água (ou região “aberta”), onde há disponibilidade de oxigênio e amônia, e muitos autores mostraram o efeito da bioturbação sobre as taxas de nitrificação no sedimento de ecossistemas aquáticos continentais. Svensson *et al.* (2001), através de experimentos manipulando amostras de sedimento de um lago eutrófico sueco, mostraram uma correlação positiva entre essas taxas e a biomassa de oligoquetos sob diferentes concentrações de nitrato (Figura 11b).

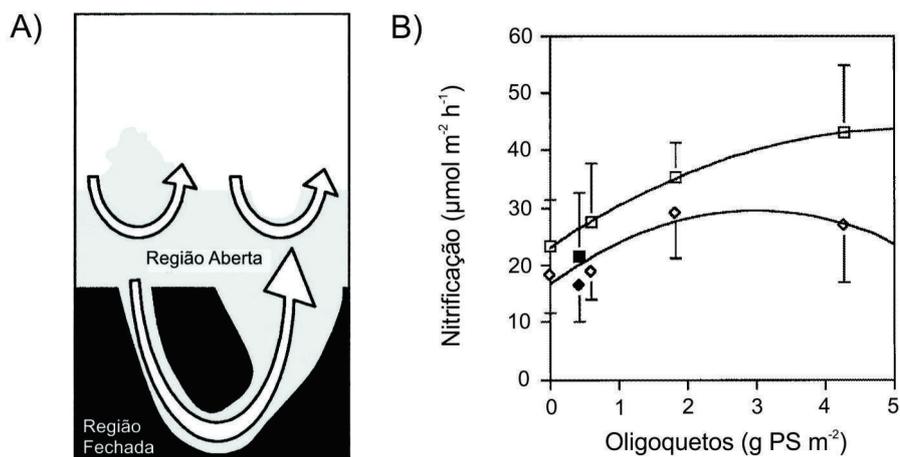


Figura 11. (a) Representação esquemática de um perfil de sedimento e das regiões denominadas “aberta” e “fechada”, ilustrando o efeito do processo de bioturbação. Adaptado de Volkenborn *et al.* (2007). (b) Taxas de nitrificação em relação à biomassa de oligoquetos (em peso seco; PS) sob 33 μM (\square) e 268 μM (\diamond) de nitrato na água. As linhas são baseadas em uma regressão polinomial de 2º ordem. Os símbolos escuros representam as taxas mensuradas nas amostras livres de bioturbação. Médias \pm desvio padrão, $n = 8$ a 10. Adaptado de Svensson *et al.* (2001).

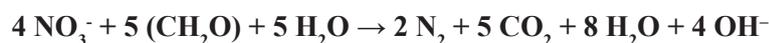
Figure 11. (a) Schematic representation of a sediment profile with the “open” and “closed” regions, illustrating the effect of the bioturbation process. Adapted from Volkenborn *et al.* (2007). (b) Rates of nitrification in relation to dry weight of oligochaetes at 33 μM (\square) and 268 μM (\diamond) nitrate in the inflowing water. Fitted lines are based on secondary order polynomial regression. Filled symbols represent rates of nitrification measured in the undisturbed sediment cores at the 2 nitrate concentrations. Mean \pm SD, $n = 8$ to 10. Adapted from Svensson *et al.* (2001).

DESNITRIFICAÇÃO

A remoção biológica de nitrato de ecossistemas aquáticos é normalmente atribuída à assimilação na biomassa de algas e microorganismos (produzindo N orgânico que será remineralizado posteriormente) e à desnitrificação (Burgin & Hamilton 2007).

Desnitrificação é um processo de redução dissimilatória no qual o nitrato ou nitrito (NO_3^- ou

NO_2^-) é reduzido anaerobicamente à N atmosférico (N_2) por bactérias heterotróficas anaeróbicas facultativas. Esse processo requer simultaneamente um meio anóxico (ou subóxico, $< 0,2 \text{ mg O}_2 \text{ l}^{-1}$) e disponibilidade de matéria orgânica e nitrato (Mosier *et al.* 2002). Na ausência de oxigênio, bactérias desnitrificantes utilizam nitrato como aceptor, e carbono orgânico como doador de elétrons, como mostra a reação a seguir:



Uma vez que a maioria do N fixado disponível no sedimento de ambientes aquáticos, principal sítio anóxico para ocorrência do processo, está na forma de amônio (NH_4^+), a menos que haja um fluxo de nitrato proveniente da coluna d’água para o sedimento, o processo de desnitrificação depende das taxas locais de nitrificação. O nitrato produzido através da nitrificação na zona aeróbica difunde-se no sedimento até a zona anóxica onde a desnitrificação ocorre (Nielsen *et al.* 1990). Essa combinação de processos é conhecida na literatura como ‘coupled nitrification-denitrification’ ou nitrificação-desnitrificação acoplada, enquanto o processo subsidiado pelo nitrato proveniente da

coluna d’água pode ser referido como desnitrificação direta (Fennel *et al.* 2009).

Muitos microorganismos heterotróficos são capazes de utilizar nitrato e nitrito como aceptores de elétrons em condições anaeróbicas, sendo o gênero *Pseudomonas* o mais conhecido e estudado em ambientes aquáticos (Enrich-Prast 2005). Na ausência de O_2 , a redução do nitrato promove mais energia que a redução de outros compostos oxidados, como Mn^{+4} , Fe^{+3} ou SO_4^{-2} (Fenchel *et al.* 1998).

Por ter como produto formas gasosas de N (N_2 e N_2O como produto intermediário) que não podem ser assimiladas pela maioria dos organismos e geralmente

difundem-se para a atmosfera, o processo de desnitrificação diminui a biodisponibilidade de N no ambiente aquático. Ecossistemas aquáticos continentais são responsáveis por cerca de 20 % do total global da atividade desnitrificante, sendo a desnitrificação realizada no sedimento a maior via de escape de N fixado de sistemas aquáticos naturais ou alterados (Seitzinger *et al.* 2006). Se por um lado esse processo regula a produção primária em ecossistemas limitados por nitrogênio, por outro promove controle do processo de eutrofização artificial em ecossistemas que recebem efluentes com elevadas concentrações de compostos nitrogenados. Segundo Galloway *et al.* (2003), áreas úmidas são tão eficientes na remoção de N reativo (Nr) através da desnitrificação que ambientes desse tipo são frequentemente construídos para remover o Nr de efluentes que tem origem em uma série de atividades antrópicas.

A maior limitação para ocorrência do processo de desnitrificação é o fato da produção de nitrato (nitrificação) demandar a presença de oxigênio (O_2), enquanto a desnitrificação ocorre em condições subóxicas ou anóxicas. Desta maneira, a desnitrificação ocorre em interfaces óxico/anóxico, podendo esta interface variar dentro de uma escala temporal, com a variação diária da incidência luminosa, por exemplo, ou espacial (ou ambos) (Seitzinger *et al.* 2006). A profundidade da zona aeróbica no sedimento de sistemas aquáticos é diretamente afetada pelo consumo de O_2 no mesmo, o que se associa com as taxas de decomposição da matéria orgânica e nitrificação (Seitzinger *et al.* 2006). Dessa forma, a taxa de consumo de O_2 no sedimento pode ser um preditor efetivo da atividade desnitrificante nesse substrato (Fennel *et al.* 2009),

A taxa de consumo de oxigênio regula a profundidade da zona aeróbica e, conseqüentemente, pode regular a desnitrificação de duas maneiras: (1) diretamente através da criação de condições anóxicas ou (2) indiretamente controlando as taxas de nitrificação (Jensen *et al.* 1994). Os resultados obtidos por Santoro *et al.* (dados não publicados) em duas lagoas costeiras tropicais com estado trófico distintos mostram a ocorrência dos dois tipos de regulação supracitados (Figura 12). As taxas de

desnitrificação no sedimento do ambiente oligotrófico se correlacionaram principalmente com as taxas de consumo de oxigênio no sedimento, indicando uma regulação direta. Já no sistema eutrófico, com elevadas taxa de consumo de oxigênio no sedimento, o processo de desnitrificação respondeu principalmente às variações na disponibilidade de nitrato na coluna d'água, já que a anoxia do sedimento limitava a produção de nitrato via nitrificação, indicando regulação indireta.

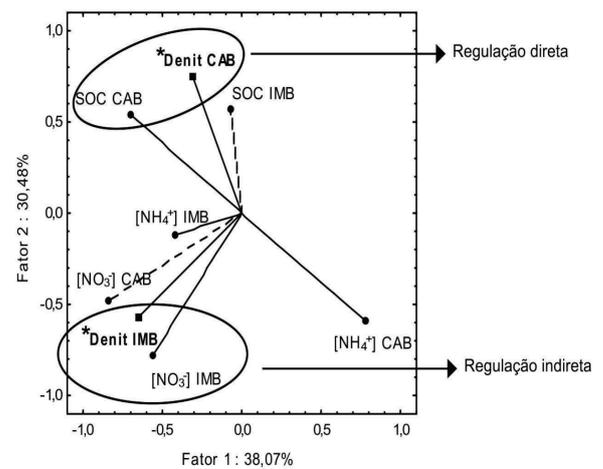


Figura 12. Análise de componentes principais (ACP). Estão posicionados no plano 1-2 os vetores: taxa de consumo de oxigênio no sedimento (SOC), concentrações de nitrato ($[NO_3^-]$) e amônia ($[NH_4^+]$) na coluna d'água e, como variável complementar (*), a taxa de desnitrificação no sedimento (Denit) em duas lagoas costeiras, uma eutrófica (IMB) e outra oligotrófica (CAB). $N=10$. Quanto mais próximos os vetores, maior a correlação entre eles. Adaptado de Santoro *et al.* (dados não publicados). **Figure 12.** Principal Components Analysis (PCA). On the plans 1-2 were designed the vectors of sediment oxygen consumption rates (SOC) and nitrate ($[NO_3^-]$) and ammonium ($[NH_4^+]$) water concentrations in two coastal lakes, one eutrophic (IMB) and one oligotrophic (CAB). The sediment denitrification rates vectors (Denit.) were designed as additional variables (*). $N=10$. Circles are showing the evidences of direct and indirect regulation. Adapted from Santoro *et al.* (unpublished data).

Além da disponibilidade de O_2 , fatores como temperatura, salinidade, pH, disponibilidade de C orgânico, nitrato e nitrito, também podem regular a atividade desnitrificante (Cornwell *et al.* 1999). A Figura 13 mostra alguns dos resultados obtidos na revisão sobre desnitrificação em ambientes aquáticos realizada por Piña-Ochoa & Alvarez-Cobelas (2006). As taxas de desnitrificação são significativamente maiores em condições de maior disponibilidade de C orgânico e nitrato (Mann-Whitney, $p < 0,05$).

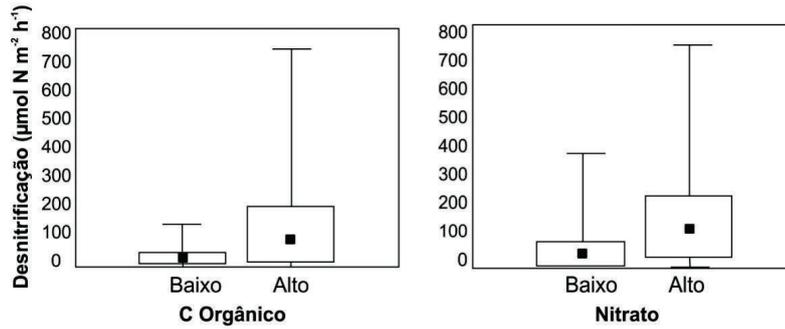


Figura 13. Box-whisker plot para taxas de desnitrificação em diferentes ambientes aquáticos sob condições de baixa e alta disponibilidade de carbono orgânico (baixo < 10 mg g⁻¹) e nitrato (baixo < 50 µmol). Adaptado de Piña-Ochoa & Alvarez-Cobelas (2006).

Figure 13. Box-whisker plot to denitrification rates at different aquatic systems under low and high conditions of organic carbon (low < 10 mg g⁻¹) and nitrate (low < 50 µmol). Adapted from Piña-Ochoa & Alvarez-Cobelas (2006).

O processo de bioturbação realizado por macroorganismos bentônicos que constroem tubos e galerias, como poliquetas e quironomídeos, também pode ser um importante fator regulador do processo de desnitrificação no sedimento. Sua atividade não só aumenta a extensão da zona de interface sedimento-

água como também, ao bombear intermitentemente água da camada d'água acima do sedimento para dentro dos tubos e galerias, transporta o nitrato disponível para as camadas mais profundas do sedimento, onde a desnitrificação ocorre (Svensson & Leonardson 1996) (Figura 14).

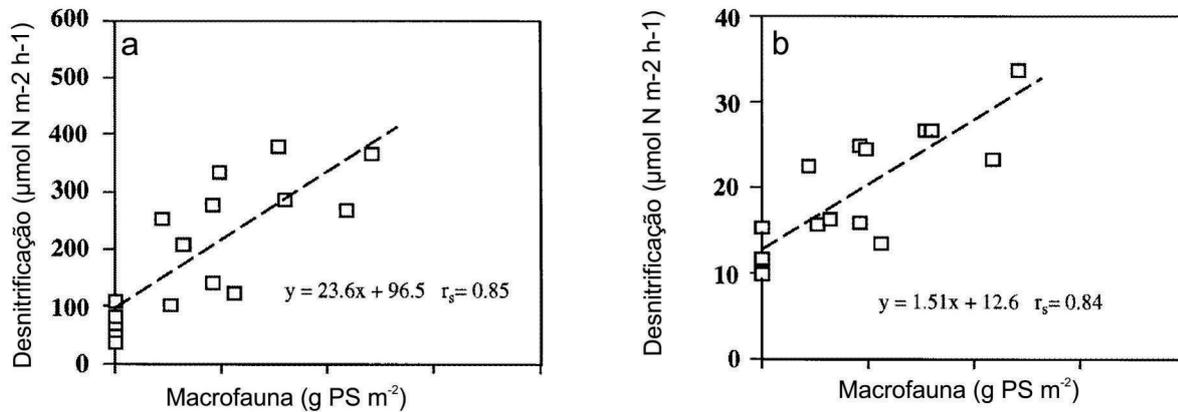


Figura 14. Comportamento das taxas de desnitrificação direta (a: utilizando nitrato proveniente da coluna d'água) e via nitrificação (b: utilizando nitrato proveniente do processo de nitrificação no sedimento) em diferentes densidades de macroorganismos bentônicos em sedimento lacustre temperado. As retas baseiam-se na análise de regressão linear simples e os coeficientes de correlação de Spearman também podem ser observados (n=16). Adaptado de Svensson & Leonardson (1996).

Figure 14. Direct denitrification rates (a: of nitrate from the overlying water) and denitrification rates of nitrate from coupled nitrification (b) in relation to the density of benthic larval dry weight in a sediment of a temperate lake. Fitted lines are based on simple linear regression and Spearman rank coefficients of correlation are shown (n = 16). Adapted from Svensson & Leonardson (1996).

Muitas espécies de invertebrados aquáticos possuem dieta rica em bactérias e apresentam atividade desnitrificante intrainestinal, e com isso podem emitir N₂O (Stief *et al.* 2009), um poderoso gás de efeito estufa. Ao contrário da emissão dita indireta de N₂O, decorrente do estímulo ao processo de desnitrificação pelo comportamento de bioirrigação

de invertebrados bentônicos, essa representa uma emissão direta de N₂O por parte de tais organismos.

Em trabalho recente, Stief & Schramm (2010) mostraram a taxa de emissão direta de N₂O de até 90 pmol h⁻¹ por indivíduo de uma espécie de larva bentônica com dieta rica em bactérias em um sistema aquático dinamarquês, a qual se

correlacionou com fatores como tamanho do corpo, temperatura e disponibilidade de NO_3^- . Os autores mostraram ainda que a presença tanto da espécie de invertebrado que apresenta emissão

direta de N_2O , quanto da que somente estimula a emissão indireta, aumentaram o total das emissões de N_2O e N_2 do sedimento de maneira dependente da densidade (Figura 15).

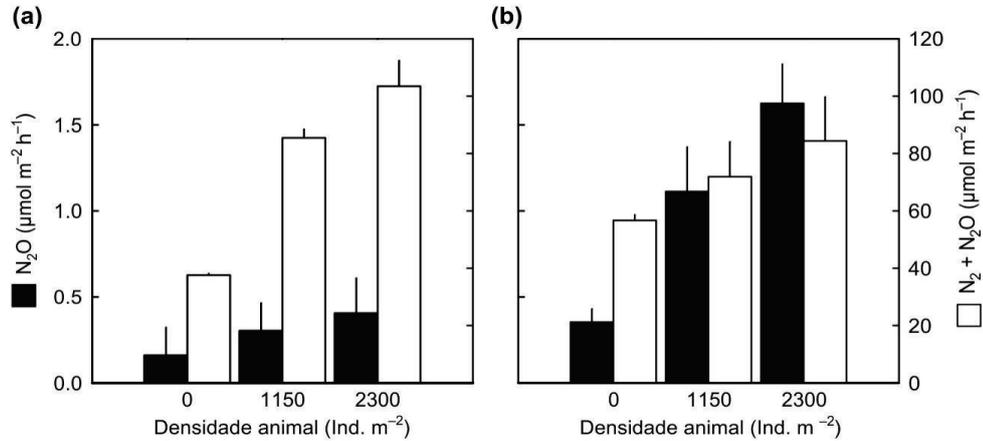


Figura 15: Emissão total de N_2O e $\text{N}_2 + \text{N}_2\text{O}$ de sedimentos com diferentes densidades de invertebrados que apresentam (a) e não apresentam (b) emissão direta de N_2O . As barras representam média \pm desvio padrão em tratamentos utilizando 3 a 8 réplicas. Adaptado de Stief & Schramm (2010).

Figure 15: Total emission of N_2O and $\text{N}_2 + \text{N}_2\text{O}$ from sediments colonized by different invertebrate densities of direct (a) and no direct (b) emission of N_2O . Means \pm SE of 3–8 replicates are given. Adapted from Stief & Schramm (2010).

Foraminíferos são organismos bentônicos unicelulares eucariotos que podem ser encontrados em abundância em diferentes tipos de sistemas aquáticos. Dentre esses, muitas espécies sobrevivem em anoxia e Risgaard-Petersen *et al.* (2006) demonstraram a capacidade de uma espécie de ambiente marinho de armazenar nitrato em compartimentos intracelulares e respirá-lo liberando N_2 . Segundo os mesmos autores, a quantidade de nitrato armazenada seria suficiente para subsidiar o metabolismo anaeróbico do foraminífero por mais de um mês, sendo essa a primeira evidência de atividade desnitrificante efetivamente realizada por organismo eucarioto. Recentemente, o trabalho de Piña-Ochoa *et al.* (2010) mostrou que a capacidade de armazenar e respirar nitrato via desnitrificação está amplamente distribuída entre os foraminíferos e, com isso, a contribuição de organismos eucariotos para a remoção de nitrogênio biodisponível de sistemas aquáticos deve ser tão importante quanto a da desnitrificação bacteriana. No entanto, pouco ainda se sabe sobre esta contribuição, principalmente em sistemas aquáticos continentais.

Embora o consumo de nitrato em sedimentos aquáticos seja normalmente atribuído em grande parte ao processo de desnitrificação, as estimativas das taxas de desnitrificação através de medições diretas normalmente não explicam o total de consumo desse substrato no sistema (Seitzinger 1988, Burgin & Hamilton 2007). Uma possível explicação para tal discrepância é a falta de métodos capazes de extrapolar taxas de desnitrificação locais para todo o ecossistema (Cornwell *et al.* 1999). No entanto, uma explicação alternativa é que parte da remoção de nitrato em ecossistemas aquáticos pode ser atribuída a outros processos como a redução dissimilatória de nitrato à amônia (RDNA) (Tiedje *et al.* 1982) e a oxidação anaeróbica da amônia (ANAMMOX) (Jetten 2001). O estudo de Laverman *et al.* (2007) sobre a influência da salinização na remoção de nitrato em um lago costeiro mostra essa defasagem entre as taxas de redução de nitrato e as taxas de desnitrificação, atribuindo tal diferença principalmente à ocorrência do processo de DNRA (Figura 16).

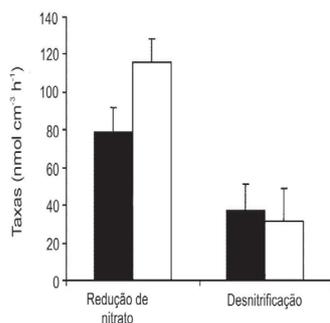


Figura 16: Taxas de redução de nitrato e desnitrificação no sedimento de um lago costeiro obtidas em experimentos com (barras pretas) e sem (barras brancas) adição de NaCl. Em ambos os tratamentos as taxas de redução de nitrato foram maiores que as de desnitrificação. Estão representadas médias e desvio padrão. Adaptado de Laverman *et al.* (2007).

Figure 16: Nitrate reduction and denitrification rates in a coastal lake sediment with (black bars) and without (light bars) NaCl addition. Both treatments showed nitrate reduction rates higher than denitrification. Means \pm SE are given. Adapted from Laverman *et al.* (2007).

Piña-Ochoa & Alvarez-Cobelas (2006) argumentam que a maioria dos estudos sobre desnitrificação em ecossistemas aquáticos está restrita entre as latitudes 25 e 60° N, com pouquíssimos dados nas regiões tropicais e polares. Esta revisão evidencia que o mesmo pode ser dito em relação a todos os outros processos do ciclo do nitrogênio, ainda muito pouco conhecidos na região tropical.

REDUÇÃO DISSIMILATÓRIA DO NITRATO À AMÔNIA

A existência da redução dissimilatória do nitrato à amônia (RDNA, ou em inglês DNRA) é amplamente reconhecida há pelo menos 25 anos, no entanto, o interesse na potencial importância deste processo como via de remoção do nitrato em escala ecossistêmica é mais recente (Burgin & Hamilton 2007).

ARDNA é realizada por alguns grupos de bactérias fermentativas estritamente anaeróbicas (Keith & Herbert 1983) onde o nitrato é reduzido à amônia.

Ao contrário do processo de desnitrificação, a

RDNA não elimina o nitrogênio do ecossistema, mantendo-o disponível para os produtores primários e microorganismos, sendo a amônia resultante uma forma inorgânica de N ainda mais lábil que o nitrato. Pouco ainda é conhecido sobre o destino da amônia produzida pela RDNA, mas é possível que, sob condições apropriadas, esta seja novamente convertida a nitrato via nitrificação (Figura 1). Por ser uma forma lábil de N inorgânico, a amônia produzida também pode ser assimilada por plantas e microorganismos (Burgin & Hamilton 2007).

Atualmente são reconhecidas duas vias de ocorrência da RDNA: uma fermentativa e outra, ainda pouco estudada, ligada à oxidação do enxofre. A via fermentativa possibilita o fluxo de elétrons da matéria orgânica para a redução do nitrato via reações fermentativas (Magonigal *et al.* 2004). Embora as condições que promovam a RDNA (fermentativa) e a desnitrificação sejam similares (basicamente anoxia e disponibilidade de nitrato e carbono orgânico), a RDNA parece ser favorecida em ambientes com pouca disponibilidade de nitrato e ricos em carbono lábil (de fácil utilização por microorganismos), enquanto a desnitrificação seria favorecida em condições de baixa disponibilidade de C (Kelso *et al.* 1997, Silver *et al.* 2001, Nizzoli *et al.* 2010).

Scott *et al.* (2008) mostram uma relação linear negativa entre as taxas potenciais de RDNA e a demanda de oxigênio pelo sedimento, um importante fator indicativo da disponibilidade de C orgânico. Os mesmos autores também observaram uma correlação negativa entre as taxas de RDNA e as concentrações de NO_3^- na coluna d'água (Figura 17). Tiedje *et al.* (1982) argumenta que condições de alta disponibilidade de C lábil favoreceriam organismos que utilizam seus aceptores de elétrons de maneira mais eficiente. No processo de RDNA, são transferidos oito elétrons por mol de nitrato reduzido, enquanto na desnitrificação somente cinco.

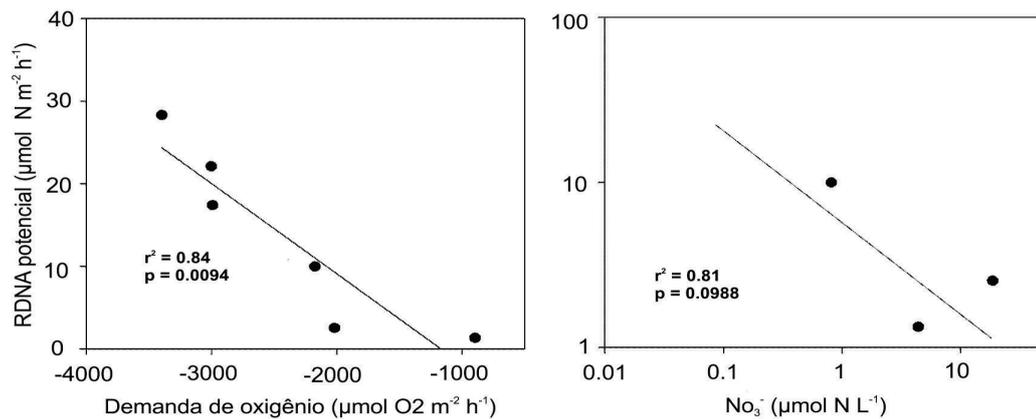


Figure 17: Relação linear negativa entre as taxas potenciais de RDNA e a demanda de oxigênio pelo sedimento (a) e correlação negativa entre RDNA potencial e as concentrações de NO_3^- (b). Adaptado de Scott *et al.* (2008).

Figure 17: Potencial DNRA exhibited a negative linear relationship with sediment oxygen consumption (a) and was negatively correlated with NO_3^- concentration (b). Adapted from Scott *et al.* (2008).

O estado de oxidação do sedimento também pode ser importante. De acordo com Matheson *et al.* (2002), microzonas de O_2 criadas pelas raízes de plantas emergentes no sedimento de áreas alagadas podem favorecer a ocorrência de bactérias desnitrificantes, aeróbicas facultativas, em detrimento a organismos anaeróbicos obrigatórios como os responsáveis pelo processo de RDNA. Estudos recentes também apontam para um controle direcionando a ocorrência dos processos de redução do nitrato, desnitrificação e RDNA, exercido pela temperatura, indicando que a desnitrificação prevaleceria sob condições de baixa enquanto o processo de RDNA seria favorecido sob altas temperaturas (Ogilvie *et al.* 1997, Nizzoli *et al.* 2010).

OXIDAÇÃO ANAERÓBICA DA AMÔNIA

A oxidação anaeróbica da amônia, processo quimiolitotrófico conhecido como ANAMMOX (do inglês ‘*anaerobic ammonium oxidation*’), consiste na combinação de amônia e nitrito sob condições anaeróbicas e foi descrito pela primeira vez por Mulder *et al.* (1995). A amônia é utilizada como doadora e o nitrito comoceptor de elétrons, tendo como produto final N_2 . O nitrito pode derivar-se da redução do nitrato realizada por bactérias desnitrificantes (Kuypers *et al.* 2003) ou da amônia através da atividade nitrificante. Damste *et al.* (2002) mostraram que o aglomerado de bactérias em biofilmes que realizava o processo de ANAMMOX

era frequentemente encontrado próximo ao de bactérias nitrificantes. O esquema de Dalsgaard *et al.* (2005) (Figura 18) posiciona a zona de ocorrência do processo de ANAMMOX ao longo de um perfil de profundidade no sedimento. O processo ocorreria então no mesmo estrato da desnitrificação, já que as condições de ocorrência são praticamente as mesmas para ambos os processos, e logo abaixo da zona óxica de ocorrência da nitrificação.

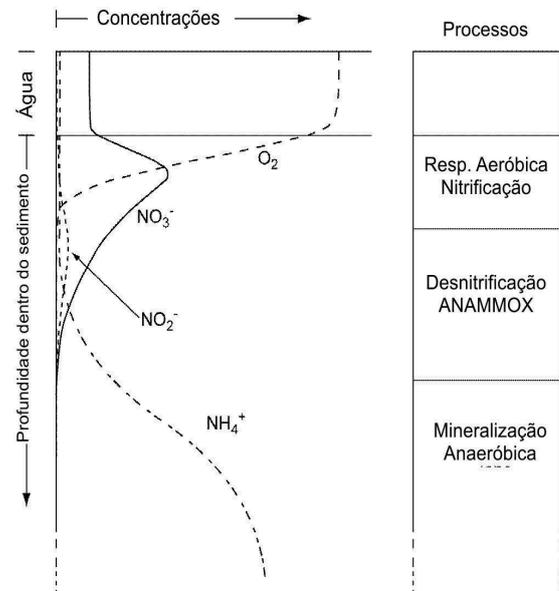


Figura 18: Representação esquemática da distribuição de algumas formas dissolvidas de N na água intersticial e acima do sedimento (A) e indicação das zonas de profundidade de ocorrência dos processos indicados (B). Adaptado de Dalsgaard *et al.* (2005).

Figure 18: Schematic representation of the distribution of some nitrogen dissolved forms in interstitial water and water above sediment (A) and depth zones of process occurrence (B). Adapted from Dalsgaard *et al.* (2005).

O processo foi descoberto em uma estação de tratamento de esgoto e desde então estudos têm observado sua ocorrência em zonas anóxicas de ecossistemas aquáticos marinhos e continentais (Rysgaard *et al.* 2004, Schubert *et al.* 2006). Embora a importância ecológica desse processo já tenha sido colocada em questão (Zehr & Ward 2002), ainda se sabe relativamente pouco sobre o processo e sobre as bactérias envolvidas (Strous *et al.* 2006). O tempo de duplicação de bactérias que realizam a ANAMMOX foi, em média, de 11 dias em condições laboratoriais ótimas e de 2 a 3 semanas (Strous & Jetten 2004). Culturas de enriquecimento a partir de inóculos adequados geralmente necessitam de 100 a 200 dias, o que dificulta muito o estudo desses organismos (van Dongen *et al.* 2001).

A ANAMMOX ocorre onde há disponibilidade de amônia e nitrito sob condições anóxicas, contribuindo para uma remoção permanente de nitrito do sistema (Burgin & Hamilton 2007). No entanto, o processo é inibido por alguns compostos orgânicos como piruvato, etanol e glicose (Jetten *et al.* 1999), fazendo com que o processo de oxidação anaeróbica da amônia seja mais expressivo em ecossistemas com limitada disponibilidade de C lábil ou com excesso de N em relação a C (Dalsgaard *et al.* 2005). Em oceanos, o processo de ANAMMOX pode contribuir com até 50% de todo o N_2 produzido (Dalsgaard *et al.* 2003). Pouco ainda é conhecido sobre o processo em sistemas aquáticos continentais, no entanto, é esperado que este seja mais importante em lagos profundos e/ou oligotróficos (Burgin & Hamilton 2007). De acordo com o estudo realizado por Schubert *et al.* (2006), de 7 a 13% do total de N_2 produzido no lago Tanganyika é derivado da oxidação anaeróbica da amônia.

A ocorrência da ANAMMOX e a importância relativa desse processo em relação à desnitrificação foram estudadas por Risgaard-Petersen *et al.* (2004a) no sedimento de dois estuários dinamarqueses. Em um dos ambientes, o processo de ANAMMOX foi responsável por 5 a 24% do total de N_2 produzido no sedimento, enquanto o processo se mostrou ausente no segundo sistema, e a diferença observada na disponibilidade de $NO_3^- + NO_2^-$ no sedimento dos ambientes estudados seria a explicação para tal resultado. O segundo ambiente apresentou escassez sazonal dos substratos nitrogenados e, por

assimilação, microalgas bentônicas teriam impedido sua penetração até a zona subóxica do sedimento, chamando a atenção para a influência destes microorganismos fotossintetizantes para a oxidação anaeróbica da amônia no sedimento.

É importante ressaltar que as bactérias envolvidas no processo de ANAMMOX já foram encontradas em muitos ecossistemas diferentes e sob amplo gradiente de temperatura, variando entre -2°C e 80°C (Zhu *et al.* 2010). Essa característica pode favorecer a existência desses organismos em ecossistemas aquáticos terrestres muito variáveis, como pequenas áreas alagadas ou lagos rasos.

Durante o processo de oxidação anaeróbica da amônia, também é possível observar a fixação de CO_2 pelos organismos, mas a via de ocorrência dessa fixação ainda é desconhecida (Schmid *et al.* 2003). Além da redução do nitrito para oxidação da amônia, as bactérias responsáveis pela ANAMMOX também oxidam anaerobicamente parte do nitrito a nitrato, fazendo com que esse processo possa suprir os elétrons necessários para a fixação de CO_2 (deGraaf *et al.* 1996).

IMPACTOS ANTRÓPICOS

Antes da interferência humana, a síntese de formas reativas de N a partir de N_2 ocorria principalmente através de dois processos: relâmpagos e Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN). Tais formas reativas de N (Nr) não se acumulavam nos ecossistemas, uma vez que os processos de FBN e desnitrificação se compensavam (Ayres *et al.* 1994).

Segundo Galloway *et al.* (2003), ao longo das últimas décadas, a produção de Nr por atividades humanas tem sido maior que a produção natural de todos os sistemas terrestres juntos. E de acordo com os mesmos autores, o aumento tem três causas principais: (1) o cultivo extensivo de legumes, arroz e outras culturas que promovem a conversão de N_2 em N orgânico através da FBN; (2) a combustão de combustíveis fósseis, que convertem tanto N_2 como N fóssil em formas reativas de N (NO_x); e (3) o processo de Haber-Bosch, que converte N_2 em NH_3 artificialmente para sustentar a produção de alimentos e outras atividades industriais. A criação de Nr apenas através do processo de Haber-Bosch aumentou de 0, antes de 1910, para mais de 100 Tg N por ano

em 2000, com cerca de 85% desse montante sendo utilizado na produção de fertilizantes (Galloway *et al.* 2002).

Atividades humanas mais que dobraram o montante de N em circulação na biosfera provocando alterações no ciclo do nitrogênio com múltiplas consequências (Galloway *et al.* 2008). Na atmosfera, estas consequências incluem: aumento da concentração global de óxido nitroso (N_2O); aumento substancial dos fluxos de formas gasosas radioativas de nitrogênio (dois terços ou mais das emissões globais de óxido nítrico e amônia são de origem antrópica); e contribuição substancial para a ocorrência de chuvas ácidas e nevoeiro fotoquímico que afetam zonas urbanas e agrícolas em todo o mundo (Vitousek *et al.* 1997).

Uma das principais vias de aporte de N antropogênico nos ecossistemas é a deposição atmosférica (Elser *et al.* 2009), mas o aporte de esgoto doméstico e outros efluentes despejados *in natura* em ambientes aquáticos também são problemas crescentes e a concentração de nitrato em rios se correlaciona fortemente com a ocupação humana nas bacias (Howarth *et al.* 1996). Em sistemas com baixa fixação biológica de nitrogênio, a adição desse elemento geralmente aumenta a produtividade e o estoque de carbono interno, desencadeando ou acelerando o processo de eutrofização (Aber *et al.* 1991). A diversidade biológica também pode ser alterada e normalmente diminui onde a adição de nitrogênio aumenta a produtividade dos ecossistemas (Tilman 1987).

É sabido que uma grande quantidade de óxido nitroso (N_2O) pode ser emitida durante o processo de desnitrificação em condições de baixa disponibilidade de carbono ou durante o processo de nitrificação quando o oxigênio é limitante (Itokawa *et al.* 2001, Kampschreur *et al.* 2006). De fato, muitos estudos mostram que sistemas aquáticos continentais naturais ou artificiais podem ser fontes importantes de N_2O para a atmosfera (Sovik *et al.* 2006, Wang *et al.* 2006). Nesse contexto, é importante ressaltar que esse gás possui tempo de vida na atmosfera de 120 anos, potencial estufa 296 vezes maior que o dióxido de carbono (CO_2) e prevê-se que ele seja responsável por cerca de 5% do aquecimento global atual (Zhu *et al.* 2010). O óxido nitroso também contribui para a depleção do ozônio estratosférico e sua concentração

na atmosfera está crescendo à taxa de 0.3% ao ano (IPCC 2001).

A salinização de aquíferos superficiais ou confinados é uma das consequências esperadas em relação às mudanças climáticas globais, seja em resposta a uma possível elevação do nível do mar, e/ou por retiradas excessivas de água doce para irrigação ou consumo. Qual seria então a influência desse novo cenário sobre as comunidades microbianas, bem como sobre as vias de transformação do nitrogênio que elas catalisam? Trabalhos recentes discutem que o processo de salinização de ecossistemas aquáticos continentais alteraria a composição das comunidades microbianas para todos os grupos funcionais envolvidos na ciclagem de nitrogênio (Santoro 2010). Além disso, o autor ainda prevê uma diminuição na ocorrência das vias nitrificante e nitrificação-desnitrificação acoplada e um aumento nas taxas de redução dissimilatória do nitrato à amônia (RDNA). No entanto, é importante ressaltar que o autor não considerou nenhum estudo realizado em região tropical, reduzindo a acurácia dos resultados em relação à ciclagem global de nitrogênio.

De uma maneira geral, a presente revisão também evidencia a necessidade latente de mais estudos relacionados às diferentes vias de transformação do nitrogênio em ecossistemas aquáticos continentais em regiões tropicais. A escassez de conhecimento sobre tais processos dificulta não somente a compreensão da regulação da disponibilidade deste importante macronutriente para as comunidades biológicas de sistemas tropicais, como também restringe e prejudica as previsões e inferências acerca do ciclo global do nitrogênio.

REFERÊNCIAS

- ABER, J.D.; MELILLO, J.M.; NADELHOFFER, K.J.; PASTOR, J. & BOONE, R.D. 1991. Factors Controlling Nitrogen Cycling and Nitrogen Saturation in Northern Temperate Forest Ecosystems. *Ecological Applications*, 1: 303-315.
- AYRES, R.U.; SCHLESINGER, W.H. & SOCOLOW, R.H. 1994. Human impacts on the carbon and nitrogen cycles. 121 - 155. *In*: R. H. Socolow, C. Andrews, R. Berkhout & V. Thomas (eds).

- Industrial Ecology and Global Change. Cambridge University Press, Cambridge (MA). 300p.
- BOATMAN, C.D. & MURRAY, J.W. 1982. Modeling exchangeable NH_4^+ adsorption in marine-sediments - process and controls of adsorption. *Limnology and Oceanography*, 27: 99-110.
- BRYHN, A.C. & BLENCKNER, T. 2007. Can nitrogen gas be deficient for nitrogen fixation in lakes? *Ecological Modelling*, 202: 362-372.
- BURGIN, A.J. & HAMILTON, S.K. 2007. Have we overemphasized the role of denitrification in aquatic ecosystems? A review of nitrate removal pathways. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5: 89-96.
- CAVARI, B.Z. 1977. Nitrification potential and factors governing rate of nitrification in Lake-Kinneret. *Oikos*, 28: 285-290.
- CORNWELL, J.C.; KEMP, W.M. & KANA, T.M. 1999. Denitrification in coastal ecosystems: methods, environmental controls, and ecosystem level controls, a review. *Aquatic Ecology*, 33: 14.
- DALSGAARD, T.; CANFIELD, D.E.; PETERSEN, J.; THAMDRUP, B. & ACUNA-GONZALEZ, J. 2003. N-2 production by the anammox reaction in the anoxic water column of Golfo Dulce, Costa Rica. *Nature*, 422: 606-608.
- DALSGAARD, T.; THAMDRUP, B. & CANFIELD, D.E. 2005. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment. *Research in Microbiology*, 156: 457-464.
- DAMSTE, J.S.S.; STROUS, M.; RIJPSMA, W.I.C.; HOPMANS, E.C.; GEENEVASEN, J.A.J.; VAN DUIN, A.C.T.; VAN NIFTRIK, L.A. & JETTEN, M.S.M. 2002. Linearly concatenated cyclobutane lipids form a dense bacterial membrane. *Nature*, 419: 708-712.
- DEAN, W.E. 1999. The carbon cycle and biogeochemical dynamics in lake sediments. *Journal of Paleolimnology*, 21: 375-393.
- DEGRAAF, A.A.V.; DEBRUIJN, P.; ROBERTSON, L.A.; JETTEN, M.S.M. & KUENEN, J.G. 1996. Autotrophic growth of anaerobic ammonium-oxidizing micro-organisms in a fluidized bed reactor. *Microbiology-Uk*, 142: 2187-2196.
- DEKAS, A.E.; PORETSKY, R.S. & ORPHAN, V.J. 2009. Deep-Sea Archaea Fix and Share Nitrogen in Methane-Consuming Microbial Consortia. *Science*, 326: 422-426.
- DONG, L.F.; NEDWELL, D.B. & STOTT, A. 2006. Sources of nitrogen used for denitrification and nitrous oxide formation in sediments of the hypernutrified Colne, the nutrified Humber, and the oligotrophic Conwy estuaries, United Kingdom. *Limnology and Oceanography*, 51: 545-557.
- ELSER, J.J.; MARZOLF, E.R. & GOLDMAN, C.R. 1990. Phosphorus and Nitrogen limitation of phytoplankton growth in the fresh-waters of North-America - A review and critique of experimental enrichments. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47: 1468-1477.
- ELSER, J.J.; BRACKEN, M.E.S.; CLELAND, E.E.; GRUNER, D.S.; HARPOLE, W.S.; HILLEBRAND, H.; NGAI, J.T.; SEABLOOM, E.W.; SHURIN, J.B. & SMITH, J.E. 2007. Global analysis of nitrogen and phosphorus limitation of primary producers in freshwater, marine and terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 10: 1135-1142.
- ELSER, J.J.; ANDERSEN, T.; BARON, J.S.; BERGSTROM, A.K.; JANSSON, M.; KYLE, M.; NYDICK, K.R.; STEGER, L. & HESSEN, D.O. 2009. Shifts in lake N:P stoichiometry and nutrient limitation driven by atmospheric nitrogen deposition. *Science*, 326: 835-837.
- ENRICH-PRAST, A. 2005. Caminhos do nitrogênio em ecossistemas aquáticos continentais. Pp. 209 - 227. In: F. Roland, D. Cesar & M. Marinho (eds). Lições de Limnologia. Rima, São Carlos. 532p.
- ENRICH-PRAST, A. & ESTEVES, F.A. 1998. Diurnal variation of rates of denitrification and nitrogen fixation of periphyton associated with *Oryza glumaepatula* Steud in an Amazonian Lake. *Hydrobiologia*, 368: 189-192.
- ENRICH-PRAST, A.; BASTVIKEN, D. & CRILL, P.M. 2009. Chemosynthesis. Pp. 211 - 225. In: G. Likens (ed). Encyclopedia of Inland Waters. 577p.
- ENRIQUEZ, S.; DUARTE, C.M. & SANDJENSEN, K. 1993. Patterns in decomposition rates among photosynthetic organisms - The importance of detritus C-N-P content. *Oecologia*, 94: 457-471.
- FENCHEL, T.; KING, G.M. & BLACKBURN, T.H. 1998. *Bacterial biogeochemistry: the ecophysiology of mineral cycling*. 2. San Diego: Academic Press. 307p.
- FENNEL, K.; BRADY, D.; DITORO, D.; FULWEILER, R.W.; GARDNER, W.S.; GIBLIN, A.; MCCARTHY, M.J.; RAO, A.; SEITZINGER, S.; THOUVENOT-KORPPOO, M. &

- TOBIAS, C. 2009. Modeling denitrification in aquatic sediments. *Biogeochemistry*, 93: 159-178.
- FRANCOEUR, S.N. 2001. Meta-analysis of lotic nutrient amendment experiments: detecting and quantifying subtle responses. *Journal of the North American Benthological Society*, 20: 358-368.
- GALLOWAY, J.N.; SCHLESINGER, W.H.; LEVY, H.; MICHAELS, A. & SCHNOOR, J.L. 1995. Nitrogen-fixation - anthropogenic enhancement-environmental response. *Global Biogeochemical Cycles*, 9: 235-252.
- GALLOWAY, J.N.; COWLING, E.B.; SEITZINGER, S.P. & SOCOLOW, R.H. 2002. Reactive nitrogen: Too much of a good thing? *Ambio*, 31: 60-63.
- GALLOWAY, J.N.; ABER, J.D.; ERISMAN, J.W.; SEITZINGER, S.P.; HOWARTH, R.W.; COWLING, E.B. & COSBY, B.J. 2003. The nitrogen cascade. *Bioscience*, 53: 341-356.
- GARDNER, W.S.; CHANDLER, J.F. & LAIRD, G.A. 1989. Organic nitrogen mineralization and substrate limitation of bacteria in Lake-Michigan. *Limnology and Oceanography*, 34: 478-485.
- GRUBER, N. & SARMIENTO, J.L. 1997. Global patterns of marine nitrogen fixation and denitrification. *Global Biogeochemical Cycles*, 11: 235-266.
- HANSEN, L.S. & BLACKBURN, T.H. 1992. Effect of algal bloom deposition on sediment respiration and fluxes. *Marine Biology*, 112: 147-152.
- HEINEN, E.A. & MCMANUS, J. 2004. Carbon and nutrient cycling at the sediment-water boundary in western Lake Superior. *Journal of Great Lakes Research*, 30: 113-132.
- HERBERT, R.A. 1999. Nitrogen cycling in coastal marine ecosystems. *Fems Microbiology Reviews*, 23: 563-590.
- HOWARTH, R.W.; MARINO, R. & COLE, J.J. 1988. Nitrogen-fixation in fresh-water, estuarine, and marine ecosystems .2. biogeochemical controls. *Limnology and Oceanography*, 33: 688-701.
- HOWARTH, R.W.; BILLEN, G.; SWANEY, D.; TOWNSEND, A.; JAWORSKI, N.; LAJTHA, K.; DOWNING, J.A.; ELMGREN, R.; CARACO, N.; JORDAN, T.; BERENDSE, F.; FRENEY, J.; KUDEYAROV, V.; MURDOCH, P. & ZHU, Z.L. 1996. Regional nitrogen budgets and riverine N&P fluxes for the drainages to the North Atlantic Ocean: Natural and human influences. *Biogeochemistry*, 35: 75-139.
- IPCC. 2001. *IPCC-Intergovernmental panel on climate change. Climate change 2001: scientific basis. Summary for policy makers*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- ITOKAWA, H.; HANAKI, K. & MATSUO, T. 2001. Nitrous oxide production in high-loading biological nitrogen removal process under low COD/N ratio condition. *Water Research*, 35: 657-664.
- JENKINS, M.C. & KEMP, W.M. 1984. The coupling of nitrification and denitrification in 2 estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, 29: 609-619.
- JENSEN, K.; SLOTH, N.P.; RISGAARDPETERSEN, N.; RYSGAARD, S. & REVSBECH, N.P. 1994. Estimation of nitrification and denitrification from microprofiles of oxygen and nitrate in model sediment systems. *Applied and Environmental Microbiology*, 60: 2094-2100.
- JETTEN, M.S.M. 2001. New pathways for ammonia conversion in soil and aquatic systems. *Plant and Soil*, 230: 9-19.
- JETTEN, M.S.M.; STROUS, M.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.T.; SCHALK, J.; VAN DONGEN, U.G.J.M.; VAN DE GRAAF, A.A.; SOGEMANN, S.; MUYZER, G.; VAN LOOSDRECHT, M.C.M. & KUENEN, J.G. 1999. The anaerobic oxidation of ammonium. *Fems Microbiology Reviews*, 22: 16.
- JOYE, S.B.; CONNELL, T.L.; MILLER, L.G.; OREMLAND, R.S. & JELLISON, R.S. 1999. Oxidation of ammonia and methane in an alkaline, saline lake. *Limnology and Oceanography*, 44: 178-188.
- KAMPSCHREUR, M.J.; TAN, N.C.G.; PICIOREANU, C.; JETTEN, M.S.M.; SCHMIDT, I. & VAN LOOSDRECHT, M.C.M. 2006. Role of nitrogen oxides in the metabolism of ammonia-oxidizing bacteria. *Biochemical Society Transactions*, 34: 179-181.
- KEITH, S.M. & HERBERT, R.A. 1983. Dissimilatory nitrate reduction by a strain of desulfovibrio-desulfuricans. *Fems Microbiology Letters*, 18: 55-59.
- KELSO, B.H.L.; SMITH, R.V.; LAUGHLIN, R.J. & LENNOX, S.D. 1997. Dissimilatory nitrate reduction in anaerobic sediments leading to river nitrite accumulation. *Applied and Environmental Microbiology*, 63: 4679-4685.
- KLOTZ, M.G. & STEIN, L.Y. 2008. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *Fems Microbiology Letters*, 278: 146-156.

- KUYPERS, M.M.M.; SLIEKERS, A.O.; LAVIK, G.; SCHMID, M.; JORGENSEN, B.B.; KUENEN, J.G.; DAMSTE, J.S.S.; STROUS, M. & JETTEN, M.S.M. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. *Nature*, 422: 608-611.
- LAVERMAN, A.M.; CANAVAN, R.W.; SLOMP, C.P. & VAN CAPPELLEN, P. 2007. Potential nitrate removal in a coastal freshwater sediment (Haringvliet Lake, The Netherlands) and response to salinization. *Water Research*, 41: 3061-3068.
- LEWIS, W.M. & LEVINE, S.N. 1984. The light response of nitrogen-fixation in Lake Valencia, Venezuela. *Limnology and Oceanography*, 29: 894-900.
- LILLEBO, A.I.; MORAIS, M.; GUILHERME, P.; FONSECA, R.; SERAFIM, A. & NEVES, R. 2007. Nutrient dynamics in Mediterranean temporary streams: A case study in Pardiela catchment (Degebe River, Portugal). *Limnologia*, 37: 337-348.
- LORENZEN, J., LARSEN, L.H., KJAER, T. & REVSBECH, N.P. 1998. Biosensor determination of the microscale distribution of nitrate, nitrate assimilation, nitrification, and denitrification in a diatom-inhabited freshwater sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 64: 3264-3269.
- MACKENZIE, F.T. 1998. *Our changing planet: An introduction to earth system science and global environmental change*. 2. Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ. 486p.
- MARCARELLI, A.M. & WURTSBAUGH, W.A. 2006. Temperature and nutrient supply interact to control nitrogen fixation in oligotrophic streams: An experimental examination. *Limnology and Oceanography*, 51: 2278-2289.
- MARCARELLI, A.M. & WURTSBAUGH, W.A. 2007. Effects of upstream lakes and nutrient limitation on periphytic biomass and nitrogen fixation in oligotrophic, subalpine streams. *Freshwater Biology*, 52: 2211-2225.
- MATHESON, F.E.; NGUYEN, M.L.; COOPER, A.B.; BURT, T.P. & BULL, D.C. 2002. Fate of N-15-nitrate in unplanted, planted and harvested riparian wetland soil microcosms. *Ecological Engineering*, 19: 249-264.
- MEGONIGAL, J.; HINES, M. & VISSCHER, P. 2004. Anaerobic metabolism: linkages to trace gases and aerobic processes. Pp. 317 - 424. In: W. H. Schlesinger (ed). *Biogeochemistry*. Elsevier-Pergamon, Oxford, UK. 588p.
- MIDDELBURG, J.J.; BARRANGUET, C.; BOSCHKER, H.T.S.; HERMAN, P.M.J.; MOENS, T. & HEIP, C.H.R. 2000. The fate of intertidal microphytobenthos carbon: An in situ C-13-labeling study. *Limnology and Oceanography*, 45: 1224-1234.
- MOSIER, A.R.; DORAN, J.W. & FRENEY, J.R. 2002. Managing soil denitrification. *Journal of Soil and Water Conservation*, 57: 8.
- MULDER, A.; VANDEGRAAF, A.A.; ROBERTSON, L.A. & KUENEN, J.G. 1995. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized-bed reactor. *Fems Microbiology Ecology*, 16: 177-183.
- MUÑOZ, R. & GUIEYSSE, B. 2006. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*, 40: 2799-2815.
- NIELSEN, L.P.; CHRISTENSEN, P.B.; REVSBECH, N.P. & SORENSEN, J. 1990. Denitrification and oxygen respiration in biofilms studied with a microsensor for nitrous-oxide and oxygen. *Microbial Ecology*, 19: 63-72.
- NIZZOLI, D.; CARRARO, E.; NIGRO, V. & VIAROLI, P. 2010. Effect of organic enrichment and thermal regime on denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in hypolimnetic sediments of two lowland lakes. *Water Research*, 44: 2715-2724.
- OGILVIE, B.G.; RUTTER, M. & NEDWELL, D.B. 1997. Selection by temperature of nitrate-reducing bacteria from estuarine sediments: Species composition and competition for nitrate. *Fems Microbiology Ecology*, 23: 11-22.
- PIÑA-OCHOA, E. & ALVAREZ-COBELAS, M. 2006. Denitrification in aquatic environments: A cross-system analysis. *Biogeochemistry*, 81: 111-130.
- PIÑA-OCHOA, E.; HOGSLUND, S.; GESLIN, E.; CEDHAGEN, T.; REVSBECH, N.P.; NIELSEN, L.P.; SCHWEIZER, M.; JORISSEN, F.; RYSGAARD, S. & RISGAARD-PETERSEN, N. 2010. Widespread occurrence of nitrate storage and denitrification among Foraminifera and Gromiida. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107: 1148-1153.
- POSTGATE, J.R. 1970. Biological nitrogen fixation. *Nature*, 226: 25-27.
- REVSBECH, N.P.; JORGENSEN, B.B. & BLACKBURN, T.H. 1980. Oxygen in the sea bottom measured with a microelectrode. *Science*, 207: 1355-1356.
- RISGAARD-PEDERSEN, N.; RYSGAARD, S.; NIELSEN, L.P. & REVSBECH, N.P. 1994. Diurnal-variation of denitrification

- and nitrification in sediments colonized by benthic. *Limnology and Oceanography*, 39: 573-579.
- RISGAARD-PETERSEN, N.; MEYER, R.L.; SCHMID, M.; JETTEN, M.S.M.; ENRICH-PRAST, A.; RYSGAARD, S. & REVSBECH, N.P. 2004a. Anaerobic ammonium oxidation in an estuarine sediment. *Aquatic Microbial Ecology*, 36: 293-304.
- RISGAARD-PETERSEN, N.; NICOLAISEN, M.H.; REVSBECH, N.P. & LOMSTEIN, B.A. 2004b. Competition between ammonia-oxidizing bacteria and benthic microalgae. *Applied and Environmental Microbiology*, 70: 5528-5537.
- RISGAARD-PETERSEN, N.; LANGEZAAL, A.M.; INGVARSDEN, S.; SCHMID, M.C.; JETTEN, M.S.M.; OP DEN CAMP, H.J.M.; DERKSEN, J.W.M.; PIÑA-OCHOA, E.; ERIKSSON, S.P.; NIELSEN, L.P.; REVSBECH, N.P.; CEDHAGEN, T. & VAN DER ZWAAN, G.J. 2006. Evidence for complete denitrification in a benthic foraminifer. *Nature*, 443: 93-96.
- RYSGAARD, S.; THASTUM, P.; DALSGAARD, T.; CHRISTENSEN, P.B. & SLOTH, N.P. 1999. Effects of salinity on NH₄⁺ adsorption capacity, nitrification, and denitrification in Danish estuarine sediments. *Estuaries*, 22: 21-30.
- RYSGAARD, S.; GLUD, R.N.; RISGAARD-PETERSEN, N. & DALSGAARD, T. 2004. Denitrification and anammox activity in Arctic marine sediments. *Limnology and Oceanography*, 49: 1493-1502.
- SANTORO, A.L. 2010. Microbial nitrogen cycling at the saltwater-freshwater interface. *Hydrogeology Journal*, 18: 187-202.
- SANTORO, A.L. & ENRICH-PRAST, A. 2009. Salinity control of nitrification in saline shallow coastal lagoons. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 21: 6.
- SCHINDLER, D.W. 1977. Evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*, 195: 260-262.
- SCHMID, M.; WALSH, K.; WEBB, R.; RIJPSRA, W.I.C.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.; VERBRUGGEN, M.J.; HILL, T.; MOFFETT, B.; FUERST, J.; SCHOUTEN, S.; DAMSTE, J.S.S.; HARRIS, J.; SHAW, P.; JETTEN, M. & STROUS, M. 2003. Candidatus "Scalindua brodae", sp nov., Candidatus "Scalindua wagneri", sp nov., two new species of anaerobic ammonium oxidizing bacteria. *Systematic and Applied Microbiology*, 26: 529-538.
- SCHUBERT, C.J.; DURISCH-KAISER, E.; WEHRLI, B.; THAMDRUP, B.; LAM, P. & KUYPERS, M.M.M. 2006. Anaerobic ammonium oxidation in a tropical freshwater system (Lake Tanganyika). *Environmental Microbiology*, 8: 1857-1863.
- SCOTT, J.T.; MCCARTHY, M.J.; GARDNER, W.S. & DOYLE, R.D. 2008. Denitrification, dissimilatory nitrate reduction to ammonium, and nitrogen fixation along a nitrate concentration gradient in a created freshwater wetland. *Biogeochemistry*, 87: 99-111.
- SEITZINGER, S.P. 1988. Denitrification in fresh-water and coastal marine ecosystems - Ecological and geochemical significance. *Limnology and Oceanography*, 33: 702-724.
- SEITZINGER, S.; HARRISON, J.A.; BOHLKE, J.K.; BOUWMAN, A.F.; LOWRANCE, R.; PETERSON, B.; TOBIAS, C. & VAN DRECHT, G. 2006. Denitrification across landscapes and waterscapes: A synthesis. *Ecological Applications*, 16: 2064-2090.
- SILVER, W. L.; HERMAN, D.J. & FIRESTONE, M.K. 2001. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium in upland tropical forest soils. *Ecology*, 82: 2410-2416.
- SINSABAUGH, R.L.; ANTIBUS, R.K. & LINKINS, A.E. 1991. An Enzymatic Approach to the Analysis of Microbial Activity During Plant Litter Decomposition. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 34: 43-54.
- SMIL, V. 1997. Global population and the nitrogen cycle. *Scientific American*, 277: 76-81.
- SOVIK, A.K.; AUGUSTIN, J.; HEIKKINEN, K.; HUTTUNEN, J.T.; NECKI, J.M.; KARJALAINEN, S.M.; KLOVE, B.; LIIKANEN, A.; MANDER, U.; PUUSTINEN, M.; TEITER, S. & WACHNIEW, P. 2006. Emission of the greenhouse gases nitrous oxide and methane from constructed wetlands in Europe. *Journal of Environmental Quality*, 35: 2360-2373.
- STANFORD, G. & SMITH, S.J. 1972. Nitrogen mineralization potentials of soils. *Soil Science Society of America Proceedings*, 36: 465-&.
- STIEF, P. & SCHRAMM, A. 2010. Regulation of nitrous oxide emission associated with benthic invertebrates. *Freshwater Biology*, 55: 1647-1657.
- STIEF, P.; POULSEN, M.; NIELSEN, L.P.; BRIX, H. & SCHRAMM, A. 2009. Nitrous oxide emission by aquatic

- macrofauna. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106: 4296-4300.
- STRAUSS, E.A. & LAMBERTI, G.A. 2000. Regulation of nitrification in aquatic sediments by organic carbon. *Limnology and Oceanography*, 45: 1854-1859.
- STRAUSS, E.A. & LAMBERTI, G.A. 2002. Effect of dissolved organic carbon quality on microbial decomposition and nitrification rates in stream sediments. *Freshwater Biology*, 47: 65-74.
- STROUS, M. & JETTEN, M.S.M. 2004. Anaerobic oxidation of methane and ammonium. *Annual Review of Microbiology*, 58: 99-117.
- STROUS, M.; PELLETIER, E.; MANGENOT, S.; RATTEL, T.; LEHNER, A.; TAYLOR, M.W.; HORN, M.; DAIMS, H.; BARTOL-MAVEL, D.; WINCKER, P.; BARBE, V.; FONKNECHTEN, N.; VALLENET, D.; SEGURENS, B.; SCHENOWITZ-TRUONG, C.; MEDIGUE, C.; COLLINGRO, A.; SNEL, B.; DUTILH, B.E.; OP DEN CAMP, H.J.M.; VAN DER DRIFT, C.; CIRPUS, I.; VAN DE PAS-SCHOONEN, K.T.; HARHANGI, H.R.; VAN NIFTRIK, L.; SCHMID, M.; KELTJENS, J.; VAN DE VOSSENBERG, J.; KARTAL, B.; MEIER, H.; FRISHMAN, D.; HUYNEN, M. A.; MEWES, H. W.; WEISSENBAACH, J.; JETTEN, M.S.M.; WAGNER, M. & LE PASLIER, D. 2006. Deciphering the evolution and metabolism of an anammox bacterium from a community genome. *Nature*, 440: 790-794.
- SUMI, T. & KOIKE, I. 1990. Estimation of ammonification and ammonium assimilation in surficial coastal and estuarine sediments. *Limnology and Oceanography*, 35: 270-286.
- SVENSSON, J.M. & LEONARDSON, L. 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.; ENRICH-PRAST, A. & LEONARDSON, L. 2001. Nitrification and denitrification in a eutrophic lake sediment bioturbated by oligochaetes. *Aquatic Microbial Ecology*, 23: 177-186.
- SWEERTS, J.; STLOUIS, V. & CAPPENBERG, T.E. 1989. Oxygen concentration profiles and exchange in sediment cores with circulated overlying water. *Freshwater Biology*, 21: 401-409.
- TIEDJE, J.M.; SEXSTONE, A.J.; MYROLD, D.D. & ROBINSON, J.A. 1982. Denitrification - Ecological niches, competition and survival. *Antonie Van Leeuwenhoek Journal of Microbiology*, 48: 569-583.
- TILMAN, D. 1987. Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients. *Ecological Monographs*, 57: 189-214.
- TONNO, I. & NOGES, T. 2003. Nitrogen fixation in a large shallow lake: rates and initiation conditions. *Hydrobiologia*, 490: 23-30.
- TRAVIESO, L.; BENITEZ, F.; SANCHEZ, E.; BORJA, R. & COLMENAREJO, M.F. 2006. Production of biomass (algae-bacteria) by using a mixture of settled swine and sewage as substrate. *Journal of Environmental Science and Health Part a-Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering*, 41: 415-429.
- VAN DONGEN, U.; JETTEN, M.S.M. & VAN LOOSDRECHT, M.C.M. 2001. The SHARON® - Anammox® process for treatment of ammonium rich wastewater. *Water Science and Technology*, 44: 153-160.
- VANZELLA, A.; GUERRERO, M.A. & JONES, R.D. 1989. Effect of CO and light on ammonium and nitrite oxidation by chemolithotrophic bacteria. *Marine Ecology-Progress Series*, 57: 69-76.
- VITOUSEK, P.M. & HOWARTH, R.W. 1991. Nitrogen Limitation on land and in the sea - How can it occur. *Biogeochemistry*, 13: 87-115.
- VITOUSEK, P.M.; ABER, J.D.; HOWARTH, R.W.; LIKENS, G.E.; MATSON, P.A.; SCHINDLER, D.W.; SCHLESINGER, W.H. & TILMAN, D.G. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. *Ecological Applications*, 7: 737-750.
- VOLKENBORN, N.; POLERECKY, L.; HEDTKAMP, S.I.C.; VAN BEUSEKOM, J.E.E. & DE BEER, D. 2007. Bioturbation and bioirrigation extend the open exchange regions in permeable sediments. *Limnology and Oceanography*, 52: 1898-1909.
- WANG, H.J.; LU, J.W.; WANG, W.D.; YANG, L.Y. & YIN, C.Q. 2006. Methane fluxes from the littoral zone of hypereutrophic Taihu Lake, China. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres*, 111:
- WILKIE, A.C. & MULBRY, W.W. 2002. Recovery of dairy manure nutrients by benthic freshwater algae. *Bioresource Technology*, 84: 81-91.

ZEHR, J.P. & WARD, B.B. 2002. Nitrogen cycling in the ocean: New perspectives on processes and paradigms. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 1015-1024.

ZHANG, M.; XU, J. & XIE, P. 2008. Nitrogen dynamics in large shallow eutrophic Lake Chaohu, China. *Environmental Geology*, 55: 1-8.

ZHU, G.B.; JETTEN, M.S.M.; KUSCHK, P.; ETTWIG, K.F. & YIN, C.Q. 2010. Potential roles of anaerobic ammonium and methane oxidation in the nitrogen cycle of wetland ecosystems. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 86: 1043-1055.

Submetido em 14/09/2010

Aceito em 18/11/2010