

Formação de compostos húmicos a partir da degradação de *Scirpus cubensis* e *Cabomba piauhyensis*.

CUNHA¹, M.B. & BIANCHINI JR^{1,2}, I.

¹ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais; ² Departamento de Hidrobiologia. Universidade Federal de São Carlos - Via Washington Luiz, km 235, São Carlos (SP). CEP: 13565-905. e-mail: mbcunha@cosmo.com.br e irineu@power.ufscar.br

RESUMO: Formação de compostos húmicos a partir da degradação de *Scirpus cubensis* e *Cabomba piauhyensis*. Neste trabalho são descritas as cinéticas de formação de substâncias húmicas, a partir da degradação aeróbia de duas espécies de macrófitas aquáticas: *Cabomba piauhyensis* e *Scirpus cubensis*. Para cada espécie, foram montadas 10 câmaras de decomposição. A cada dia de amostragem desmontou-se uma câmara de cada espécie e quantificaram-se os teores de substâncias húmicas (ácidos húmicos e ácidos fúlvicos) dos detritos particulados e da fração dissolvida. A partir dos resultados obtidos verificou-se que nas composições das substâncias húmicas predominaram os ácidos fúlvicos. As frações particuladas dos detritos contribuíram em maior proporção para as formações das substâncias húmicas. Para os detritos de ambas as espécies as formações de substâncias húmicas foram equivalentes.

Palavras-chave: macrófitas aquáticas, humificação, mineralização, ácido húmico, ácido fúlvico.

ABSTRACT: Humic substance formation from the decay of *Cabomba piauhyensis* and *Scirpus cubensis*. This study shows the kinetics of humic substances, derived from the degradation of two species of aquatic macrophytes: *Cabomba piauhyensis* and *Scirpus cubensis*. For each plant, 10 decomposition chambers were used. Particulate fraction was fractionated from the solution and the humic and fulvic acids were quantified. The results showed that the fulvic acid fraction dominated over the humic acid. Particulate fraction was responsible for a higher production of humic substance and its formation was similar for both species.

Key-words: aquatic macrophytes, humification, decomposition, humic acid, fulvic acid.

Introdução

A morte das plantas aquáticas pode proporcionar o aporte de grandes quantidades de matéria orgânica, para o sistema aquático (Pieczyńska, 1993; Wetzel, 1995; Cunha & Bianchini Jr., 1998a). Durante os primeiros estágios da degradação, os microrganismos utilizam os compostos de metabolismo mais fácil, convertendo-os em dióxido de carbono ou assimilando-os (Murray & Hodson, 1990; Morán & Hodson, 1994; Wetzel, 1995; Zech *et alii*, 1997). Os compostos de difícil degradação, em particular, a celulose e a lignina, tendem a se acumular e com o desaparecimento dos compostos lábeis, formarão a maior parte dos detritos (Münster & Chróst, 1990). Na medida em que ocorre a decomposição do material vegetal há um aumento gradual de material amorfo e de coloração escura, que é, de maneira geral, definido como substância húmica (Malcolm, 1990).

Muitas rotas são possíveis para a formação dos compostos húmicos (Lu *et alii*, 2001). As primeiras hipóteses sobre sua formação consideravam apenas os processos oxidativos não biológicos. Atualmente, vários aspectos da ação dos microrganismos são conhecidos, tais como: o envolvimento das oxidações bacterianas da lignina, das proteínas e da celulose. Desta forma, os compostos

húmicos são considerados produtos poliméricos da degradação de carboidratos, ligninas, proteínas e gorduras em diferentes estágios de decomposição, ou seja, as moléculas complexas e grandes de substâncias húmicas ocorrem a partir de condensações ou polimerizações (enzimáticas ou químicas) de produtos relativamente simples da decomposição (Ertel *et alii*, 1984; Hautala *et alii*, 1997).

Com base em suas características hidrofóbicas, as substâncias húmicas podem ser diferenciadas em duas categorias: ácido húmico e ácido fúlvico (Malcolm, 1990; Tate, 1995). Embora as substâncias húmicas sejam consideradas produtos finais do metabolismo, estudos realizados por Tranvik (1994) e Cunha (1999) mostram que, através da atividade bacteriana, ocorre o seu decaimento. Nos ecossistemas aquáticos, a mineralização das substâncias húmicas depende do número e da atividade das bactérias heterotróficas presentes e também da ocorrência de matéria orgânica de fácil degradação. Além da decomposição química das substâncias húmicas, a oxidação pela atividade metabólica dos organismos, também ocorre (Golterman, 1975). Em adição a degradação microbiológica, deve-se considerar, ainda, que as substâncias húmicas são fotodegradadas pela ação da UV-B (Miller & Moran, 1997). Em muitos casos, os produtos fotodegradados podem gerar formas mais disponíveis para a degradação microbiana. Desta forma, o aumento da penetração da UV-B e a decomposição microbiana podem gerar um mecanismo de retroalimentação positivo, acelerando a remoção das substâncias húmicas dos ambientes aquáticos (Moran & Zepp, 1997; Corin *et alii*, 1998).

Considerando a importância dos processos de humificação e mineralização para o funcionamento de ecossistemas aquáticos, este estudo visa descrever e discutir aspectos cinéticos do processo de formação de compostos húmicos, a partir da degradação aeróbia de duas espécies de macrófitas aquáticas, que colonizam uma lagoa marginal. Este trabalho faz parte de um programa de pesquisa mais abrangente denominado "Projeto Jataí", dentre outros objetivos, este programa visa descrever a estrutura e função das lagoas marginais da planície de inundação do rio Mogi Guaçu (SP).

Materiais e métodos

As macrófitas aquáticas utilizadas neste experimento foram *Scirpus cubensis* Poepp & Kunth e *Cabomba piauhyensis* Gradn. Foram coletadas em uma lagoa marginal do rio Mogi Guaçu, a Lagoa do Infernã - S.P. (21° 35' S e 47° 51' W). Para a remoção do material aderido (perifíton, sedimentos, detritos, etc.), após serem colhidas, as plantas foram lavadas no local. Na seqüência, foram levadas ao laboratório, onde foram novamente lavadas, com água corrente e em seguida, secas em estufa (40 °C), até peso constante.

Para cada espécie de macrófita, foram montadas 10 câmaras de decomposição. As câmaras continham água da lagoa do Infernã, previamente filtrada (em lâ de vidro) e fragmentos da *S. cubensis* ou de *C. piauhyensis*, na proporção de 10,0g (PS) de planta para cada litro de água. As garrafas foram mantidas no escuro, em temperatura ambiente e sob condições aeróbias, através do borbulhamento constante de ar comprimido. O experimento teve a duração de 120 dias. Neste período, para a realização das análises, duas câmaras (uma para cada espécie) foram desativadas nos dias 1, 3, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 90 e 120. A cada dia de amostragem, a fração particulada (FP) da matéria orgânica contida nas câmaras foi separada da fração dissolvida (FD) por pré-filtração em rede de nylon (0,4 mm de diâmetro de poro) e, em seguida, por centrifugação (1 hora, 978 g). O centrifugado (fração <0,4 mm) foi incorporado ao material retido na rede (fração >0,4 mm) compondo a FP, enquanto que a FD constituiu-se do sobrenadante.

As amostras da FP (fragmentos de planta e detritos) foram secas em estufa (40 °C) até peso constante, tendo sua massa final determinada por gravimetria. A partir de sub-amostras da FP (0,1 g), foram efetuadas as extrações das substâncias húmicas

(SH) do material particulado. Estas extrações foram realizadas, sob agitação, a partir de adições de NaOH (0.5 mol.l⁻¹) aos detritos. Após 24 horas, o material solúvel em álcali foi retirado e armazenado. Este procedimento foi repetido até que os extractantes não apresentassem mais cor. Ao término da extração, os ácidos húmicos (AH) e os ácidos fúlvicos (AF) foram fracionados com base nas propriedades hidrofóbicas destas substâncias em meio ácido. As acidificações dos extratos alcalinos resultaram na precipitação dos AH. Os AF são solúveis em álcali e em ácido. Por definição, a humina (HU) é a porção da matéria orgânica que é insolúvel tanto em ácido quanto em álcali (Koivula & Hänninen, 2001).

Para as quantificações gravimétricas da FD, alíquotas de 250 mL foram desidratadas (por evaporação a 45 °C) até peso constante. Os volumes restantes das câmaras de decomposição (= 150 mL) foram utilizados para as extrações de AH e AF dissolvidos. Para eliminar a HU alíquotas das FD tiveram seus pHs ajustados para 8 e foram submetidas a centrifugação (45 minutos, 978 g). Em seguida, os valores de pH foram rebaixados para 2 e as soluções foram novamente centrifugadas para o fracionamento dos AH e AF. As concentrações dos AH e AF foram determinadas por espectrofotometria ($\lambda = 450 \text{ nm}$), a partir de curvas padrão previamente elaboradas, com AH (pH 8) e AF (pH 5).

Os teores de matéria orgânica consumida (MOC) foram estimados através das diferenças entre os conteúdos iniciais de detrito (MOT = material orgânica total ° HU) e os remanescentes obtidos nos dias de amostragem (FD + FP).

A partir da estimativa de MOC foi possível estabelecer um modelo para a descrição dos processos de mineralização e humificação dos detritos de *S. cubensis* e *C. piauhyensis*. Para tanto, admitiu-se que os processos cinéticos de formação das SH e mineralização sejam de primeira ordem e que a humina (\equiv matriz orgânica original do detrito) seja a precursora dos compostos húmicos. As hipóteses propostas são apresentadas por meio das Equações 1 a 3.

$$\frac{dHU}{dt} = -k_T HU_1 - k_4 HU_2 \quad \dots\dots\dots(\text{Eq. 1})$$

$$\frac{dSHT}{dt} = k_T \left(\frac{k_2}{k_T} HU_1 \right) - k_3 SHT \quad \dots\dots\dots(\text{Eq. 2})$$

$$\frac{dMOC}{dt} = k_T \left(\frac{k_1}{k_T} HU_1 \right) + k_4 HU_2 \quad \dots\dots\dots(\text{Eq. 3})$$

onde:

- HU = humina;
- HU₁ = fração de humina lábil/reactiva;
- HU₂ = fração de humina refratária;
- SH = substância húmica total (a partir da FD e FP);
- MOC = matéria orgânica consumida;
- k_T = coeficiente global de decaimento de humina devido aos processos de mineralização e humificação (k₁+ k₂);
- k₁ = coeficiente de mineralização das frações lábeis de humina;
- k₂ = coeficiente de humificação;
- k₃ = coeficiente de mineralização dos compostos húmicos e,
- k₄ = coeficiente de mineralização das frações refratárias de humina.

Resultados e discussão

A Fig. 1 representa as variações temporais da MOC (formação de CO₂) e do conjunto de SH provenientes das FP e FD, decorrentes do processo aeróbio de decomposição dos detritos de *S. cubensis* e *C. piauhyensis*.

Com base na Fig. 1 (A e B) é possível observar que houve, do início do experimento até aproximadamente o 20º dia, intensos decréscimos dos teores de HU das fra-

ções solúveis (FD) e particuladas (FP) par ambas as espécies (≈ 35% para *S. cubensis* e ≈ 50% para *C. piauhyensis*). Na seqüência, os teores de HU para ambas as frações passaram a decrescer de modo mais lento, sendo que no final do experimento estes remanescentes corresponderam a 48% e 25% dos detritos de *S. cubensis* e de *C. piauhyensis*, respectivamente. Os decaimentos lentos (mineralização) observados para a HU provavelmente refletem a natureza refratária e pouco reativa destes compostos remanescentes.

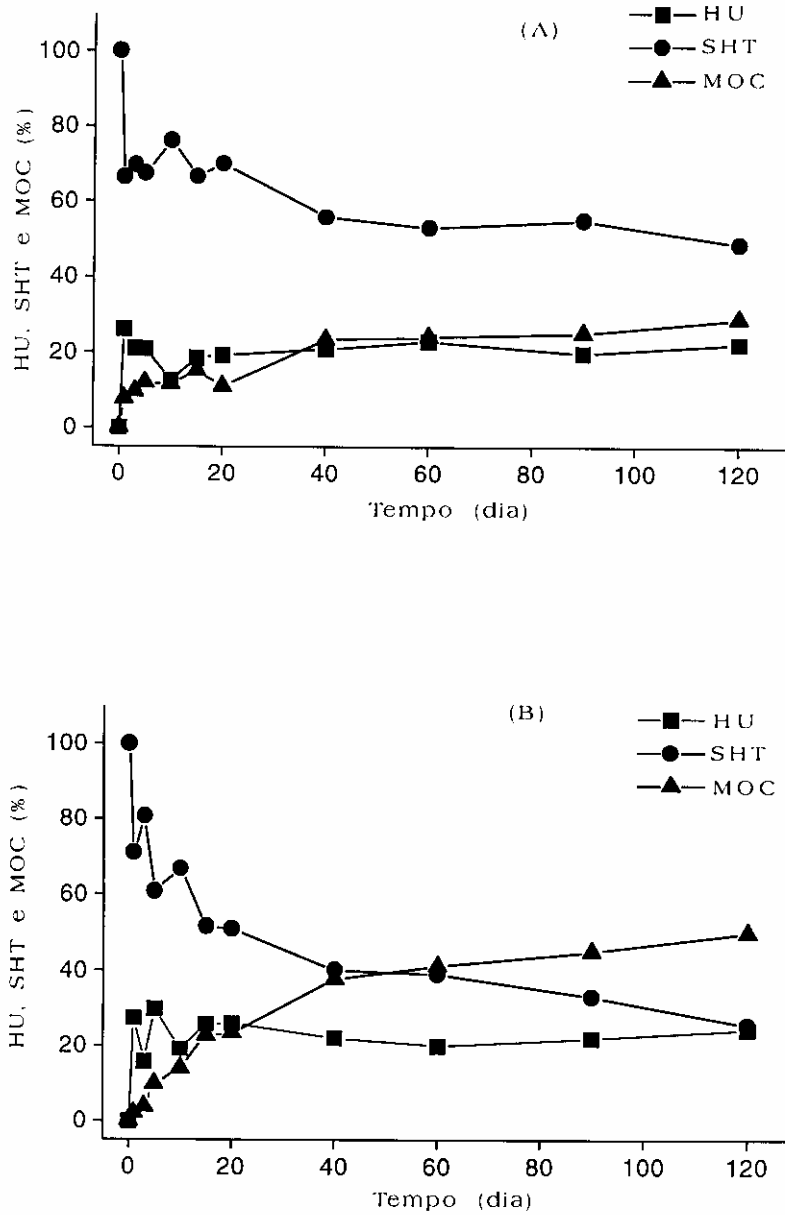


Figura 1: Variações temporais dos teores de humina (HU), substâncias húmicas (SH) e matéria orgânica consumida (MOC), durante a decomposição de *Scirpus cubensis* (A) e de *Cabomba piauhyensis* (B).

Em decorrência dos decaimentos intensos dos teores de HU observados no início do experimento notou-se, incrementos nos teores de SH (\approx 22% para ambas espécies). Verificou-se que entre o 1º e o 10º dia de experimento as concentrações de SH oscilaram, mas ainda assim tenderam ao incremento. Provavelmente estas oscilações sejam decorrentes: i) da formação de SH por rearranjos moleculares; ii) produção, consumo e imobilização de produtos de ressíntese e iii) mineralização específica de frações lábeis (Zech *et alii*, 1997). Após o 15º dia, observou-se que as concentrações destes compostos tenderam à estabilização até o final do experimento. Esta estabilização sugere uma maior refratibilidade dos compostos húmicos formados, frente aos processos de mineralização (oxidação). Com relação às oscilações observadas a partir do 10º dia, é possível ainda, que tais registros incluam as variações decorrentes do procedimento experimental adotado.

Com relação às cinéticas de mineralização (MOC) verificou-se, para as duas espécies de macrófitas aquáticas, que no início do experimento houve intensificação dos processos de consumo até, aproximadamente, o 20º dia. No decorrer do tempo as velocidades de mineralização tenderam decair (Fig. 1). Estes resultados sugerem que no início do experimento houve a predominância do consumo das frações lábeis e com o passar do tempo, houve a alternância gradual para o consumo das formas mais resistentes, tais como a lignina, a celulose e os produtos de ressíntese. Sugerem, ainda, que a partir do 20º dia tenha ocorrido equivalência entre as taxas de oxidação e de formação de SH. Ou seja, que a tendência à estabilidade do processo seja resultante de coeficientes semelhantes de formação e de oxidação do recurso.

A partir dos ajustes dos resultados a modelos cinéticos de primeira ordem, de acordo com procedimentos sugeridos por Bianchini Jr. & Toledo (1996) verificou-se que no processo de humificação aeróbia dos detritos de *C. piauhyensis*, houve intenso decaimento da HU. Este decaimento resultou de dois processos ocorridos em simultâneo: a mineralização (7,6%) e humificação (23,9%) das frações lábeis (HU_1) e a mineralização das frações refratárias (HU_2) de humina. Nesse contexto, estimou-se que a mineralização das frações refratárias sejam responsáveis pelo decaimento de 68,5% desta espécie, o coeficiente de oxidação referente a este processo (k_2) foi estimado em $9,58 \cdot 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$, que corresponde a um tempo de meia-vida de 72 dias.

Para a *S. cubensis* o coeficiente de mineralização das frações refratárias da HU, foi $3,17 \cdot 10^{-3} \text{ dia}^{-1}$, correspondendo a um tempo de meia-vida da ordem de cerca de 219 dias. Com base na parametrização do modelo cinético adotado, estimou-se que este processo tenha envolvido cerca de 70,4% dos detritos. Na comparação entre estes processos (mineralização das frações refratárias) verificou-se que os ocorridos nos detritos de *C. piauhyensis* foram aproximadamente 3 vezes mais rápidos, e envolveram praticamente a mesma quantidade de detritos que os constatados para a *S. cubensis*.

Independente da origem do detrito, os coeficientes globais de mineralização e de humificação das frações lábeis de HU foram semelhantes ($k_1 = 2,2 \text{ dia}^{-1}$); no entanto, para *S. cubensis* as frações facilmente oxidadas corresponderam a 9% da MOT, contra 7,6% das presentes nos detritos de *C. piauhyensis*. A análise destes coeficientes indicou que os processos de mineralização destas frações lábeis foram relativamente rápidos visto que apresentaram uma meia vida da ordem de, apenas, 0,31 dias (\approx 8 horas).

Na decomposição destas duas espécies de macrófitas aquáticas, as formações de SH foram semelhantes. Em termos relativos, corresponderam por cerca de 20,6% para a *S. cubensis* e 23,9% para a *C. piauhyensis*. De acordo com a hipótese cinética desenvolvida, os processos de humificação apresentaram mecanismos semelhantes. No entanto, os coeficientes de mineralização dos compostos húmicos (k_3) sugerem que as SH formadas a partir da degradação de *C. piauhyensis* sejam menos refratárias que as formadas a partir dos detritos de *S. cubensis*, pois o coeficiente de mineralização das SH provenientes dos detritos da primeira espécie ($k_3 = 6,2 \cdot 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$) foi 10 vezes maior que o verificado na mineralização das SH formadas a partir de *S. cubensis* ($k_3 = 6,0 \cdot 10^{-5} \text{ dia}^{-1}$). É provável que as diferenças, verificadas

nos coeficientes de mineralização das SH, refletem a maior participação dos carboidratos na estrutura dos compostos húmicos conforme demonstrado por Cunha & Bianchini Jr. (1998b).

Estudo realizado por Cunha & Bianchini Jr. (1998a) sobre o decaimento de celulose e lignina em *S. cubensis* e *C. piauhyensis* indicou que o coeficiente de decaimento da lignina a partir do 15º dia foi maior que o de decaimento global do detrito (resíduo particulado orgânico). As perdas dos teores de lignina verificadas após o 15º dia de experimento sugeriram que após a utilização/lixiviação dos componentes lábeis, os microrganismos passaram a utilizar compostos de natureza mais refratária, apesar de possuírem estrutura mais complexa e mais estável estruturalmente. Segundo Bianchini Jr. (1985), este fato sugere que, no caso dos detritos de plantas aquáticas, a lignina estaria sendo utilizada para a formação de substância húmica, tanto do ponto de vista estrutural quanto na manutenção e desenvolvimento dos microrganismos decompositores responsáveis pelos produtos de ressíntese.

Comparando-se os resultados obtidos do processo de humificação das frações particuladas de ambas espécies, observou-se que houve uma maior formação de compostos húmicos, nos detritos de *S. cubensis* em relação aos detritos de *C. piauhyensis*, sendo que nos dois casos houve maior formação de AF em relação à de AH. As diferenças entre as curvas de decaimento da HU e a formação concomitante de SH nas duas espécies, provavelmente referem-se a composição estrutural do detrito, ou seja, da contribuição relativa de cada classe de substância nos fragmentos das plantas. Isto sugere que a natureza química, assim como a forma de combinação dos produtos de resíntese destas substâncias direcionem a formação das SH. Desta maneira, supõe-se que, por apresentarem maiores quantidades de celulose e lignina (Cunha & Bianchini Jr., 1998a) os detritos de *S. cubensis* formaram, em média, mais AF (30%) e AH (42%) que os detritos de *C. piauhyensis*.

Através dos resultados apresentados por meio da Fig. 2 (A e B) foi possível verificar, para as duas espécies de macrófitas aquáticas, a predominância da contribuição dos detritos particulados para os processos de humificação. Comparando-se a procedência dos detritos, notou-se que esta predominância foi mais acentuada para os detritos de *S. cubensis*. Independente do tempo, notou-se que, em média, os compostos húmicos formados a partir das FD, corresponderam a 30,65% ± 12,93 (dp) nas câmaras contendo detritos de *C. piauhyensis* e 7,7% ± 2,46 (dp) nas câmaras com fragmentos de *S. cubensis*.

A partir da Fig. 2 (C e D), observou-se que os AF foram os principais constituintes nas composições das SH de ambas espécies de macrófitas aquáticas, tanto das frações dissolvidas quanto das particuladas. Esta predominância provavelmente esteja relacionada com o fato do AF ser um suposto precursor do AH (Stevenson, 1982). Com base nestes resultados foi possível, ainda, estabelecer a seguinte ordem com relação a predominância dos compostos e suas origens: AF-FP, AH-FP, AF-FD e AH-FD.

Estudos realizados por Cunha (1999) demonstraram que as substâncias húmicas provenientes da degradação de *S. cubensis* e *C. piauhyensis* constituem-se de frações heterogêneas do ponto de vista estrutural, apresentando uma parte lábil e uma refratária. Para ambas as espécies de macrófitas (*S. cubensis* e *C. piauhyensis*) as frações lábeis dos compostos húmicos corresponderam, em média a 21,1%, apresentando um coeficiente médio de mineralização de 1,05 dia⁻¹. As frações refratárias foram, em média, 3,74 vezes mais elevadas que as lábeis (78,9%), apresentando um coeficiente de mineralização de 0,013 dia⁻¹ (valor médio). Os coeficientes de decaimento das SH (k_d) foram sensivelmente menores que os verificado por Cunha (1999) pois, naquele estudo só foram considerados os processos de oxidação (mineralização) e no presente, estes coeficientes incorporaram, ainda, o processo de formação de húmus (principalmente das frações particuladas).

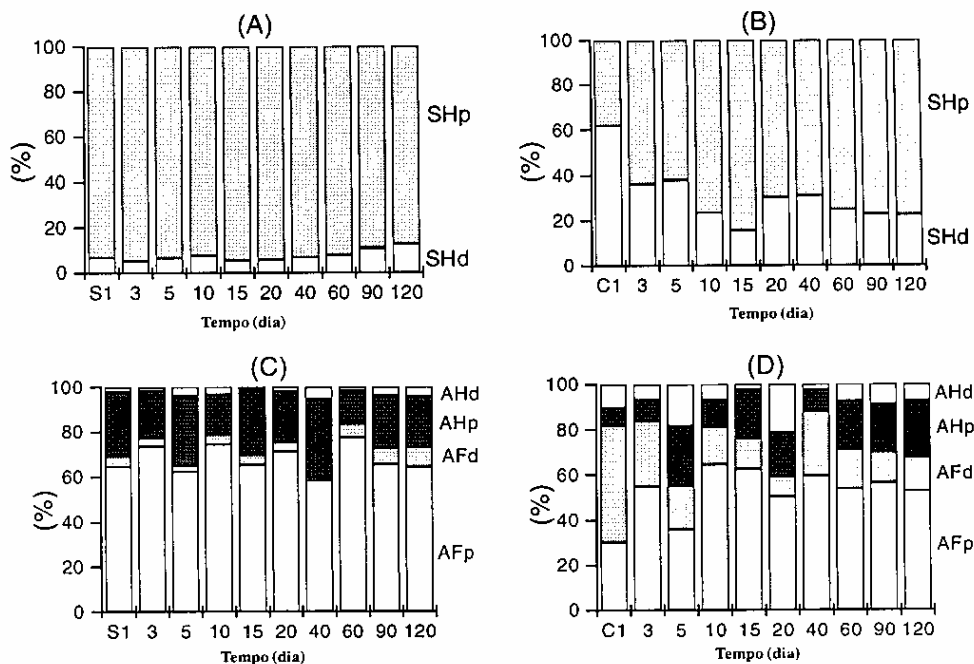


Figura 2. Variação temporal da composição das substâncias húmicas totais extraídas da fração particulada e da dissolvida, originadas da decomposição de *S. cubensis* (A) e *C. piauhyensis* (B). Variação temporal dos teores de AF e AH dos detritos particulados e da fração dissolvida, originados da decomposição de *S. cubensis* (C) e *C. piauhyensis* (D) e contribuição relativa de cada fração para o teor de substância húmica total.

Tendo em vista os baixos coeficientes de mineralização da SH formadas a partir da degradação de *S. cubensis* e *C. piauhyensis*, sugere-se que, em termos de metabolismo da lagoa do Infernã, os decaimentos destas frações sejam processos bastante lentos, e que estes compostos devam ser intensamente incorporados no sedimento permanente deste ambiente. Ainda, em relação ao destino destas substâncias na lagoa do Infernã, deve-se considerar outras características destes compostos, tais como, complexação com íons metálicos (Ashley, 1996; Petrovic, & Kastelan-Macan, 1996) e floculação em função do balanço iônico de H^+ e OH^- do ambiente (De Paolis & Kukkonen, 1997).

Com base nos procedimentos experimentais adotados, concluiu-se que: i) em termos relativos, a formação de substâncias húmicas foram, similares para os detritos de ambas as espécies, correspondendo por cerca de 20,6% para a *S. cubensis* e 23,9% para a *C. piauhyensis*; ii) os compostos húmicos originados da decomposição de *S. cubensis* apresentaram coeficiente de mineralização cerca de 10 vezes menor que o proveniente dos detritos de *C. piauhyensis*; iii) houve predominância da formação da substância húmica nas frações particuladas dos detritos de ambas as espécies e iv) na composição das substâncias húmicas formadas, predominaram as frações de AF em relação as de AH, e as frações particuladas dos detritos contribuíram em maior proporção para o processo de humificação.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Proc. n°: 95/0119-8) pelo financiamento parcial deste estudo, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de estudo (PIBIC-UFSCar).

Referências citadas

- Ashley, J. T. F. 1996. Adsorption of Cu(II) and Zn(II) by estuarine, riverine and terrestrial humic acids. *Chemosphere*, 33:2175-2187.
- Bianchini Jr., I. 1985. Estudos dos processos de humificação de *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze. São Carlos, UFSCar, 285p (Tese).
- Bianchini Jr., I. & Toledo, A. P. P. 1996. Estudo da mineralização de *Nymphoides indica* (L.) O. Kuntze. In: Anais do VIII Seminário Regional de Ecologia. UFSCAR, São Carlos. p.57-72.
- Corin, N., Backlund, P. & Wiklund, T. 1998. Bacterial growth in humic waters exposed to UV-radiation and simulated sunlight. *Chemosphere*, 36:1947-1958.
- Cunha, M. B. 1999. Mineralização de compostos húmicos da lagoa do Infernã (Luiz Antonio, SP). São Carlos, UFSCar, 141p (Dissertação).
- Cunha, M. B. & Bianchini Jr., I. 1998a. Cinéticas de mineralização aeróbia de celulose e lignina durante a degradação de *Cabomba piauhyensis* e *Scirpus cubensis*. *Acta Limnol. Bras.*, 10(2):59-69.
- Cunha, M. B. & Bianchini Jr. I. 1998b. Mineralização de carboidratos dos detritos de duas espécies de macrófitas aquáticas. In: Anais do VIII Seminário Regional de Ecologia. UFSCAR, São Carlos. v. 3:1301-1314.
- De Paolis, F. & Kukkonen, J. 1997. Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: influence of pH and the structure of humic material. *Chemosphere*, 34:1693-1704.
- Ertel, J. R., Hedges, J. I. & Perdue, E. M. 1984. Lignin signature of aquatic humic substances. *Science*, 223:485-487.
- Golterman, H. L. 1975. *Physiological Limnology*. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. 480p.
- Hautala, K., Peuravuori, J. & Pihlaja, K. 1997. Estimation of origin of lignin in humic DOM by CuO-oxidation. *Chemosphere*, 35:809-817.
- Koivula, N. & Hänninen, K. 2001. Concentrations of monosaccharides in humic substances in the early stages of humification. *Chemosphere*, 44:271-279.
- Lu, X. Q., Hanna, J. V. & Johnson, W. D. 2001. Evidence of chemical pathways of humification: a study of aquatic humic substances heated at various temperatures. *Chem. Geol.*, 177:249-264.
- Malcolm, R. L. 1990. Variations between humic substances isolated from soils, stream waters, and groundwaters as revealed by ¹³C-NMR spectroscopy. In: Selected Reading by American Society of Agronomy and Soil Society of America (eds.) *Humic Substances in Soil and Crop Science*. Madison. p.13-35.
- Miller, W. L. & Moran, M. A. 1997. Interaction of photochemical and microbial processes in the degradation of refractory dissolved organic matter from coastal marine environment. *Limnol. Oceanogr.*, 42:1317-1324.
- Moran M. A. & Hodson R. E. 1994. Dissolved humic substances of vascular plant origin in a coastal marine environment *Limnol. Oceanogr.*, 39:762-771.
- Moran M. A. & Zepp, R. G. 1997. Role of photoreactions in the formation of biologically labile compounds from dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 42:1307-1316.
- Murray, R. E. & Hodson, R. E. 1990. Influence of macrophyte decomposition on growth rate and community structure of Okfenokee Swamp Bacterioplankton. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51:293-301.
- Münster U. & Chróst R. J. 1990. Origin, composition and microbial utilization of dissolved organic matter In: Overbeck J. & Chróst, R.J. (eds.) *Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches*. Springer Verlag, New York. p. 8-46.
- Petrovic, M. & Kastelan-Macan, M. 1996. The uptake of inorganic phosphorus by insoluble metal-humic complexes. *Water Sci. Technol.*, 34(7-8):253-258.
- Ploczynska, E. 1993. Detritus and nutrient dynamics in the shore zone of lakes: a review. *Hydrobiologia*, 251:49-58.
- Stevenson, F. J. 1982. *Humus Chemistry*. Wiley Interscience Publication, New York, 443p.

- Tate, R. L. 1995. Soil Microbiology. Wiley & Sons Inc., New York. 398p.
- Tranvik, L. J. 1994. Effects of colloidal organic matter on the growth of bacteria and protists in lake water. *Limnol. Oceanogr.*, 39:1276-1285.
- Wetzel, R. G. 1995. Death, detritus and energy flow in aquatic ecosystems. *Freshwater Biol.*, 33:83-89.
- Zech, W., Senesi, N., Guggenberg, G., Kaiser, K., Lehmann, J., Miano, T. M., Miltner, A. & Schroth, G. 1997. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79:117-161.

Recebido em: 10 / 10 / 2000

Aprovado em: 03 / 08 / 2001