

**CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM UM ECOSSISTEMA DE  
MANGUEZAL: EXPERIMENTO *IN VITRO***

**EMILANE PINHEIRO DA CRUZ LIMA**

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF

Campos dos Goytacazes, RJ

Abril de 2015

**CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM UM ECOSISTEMA DE  
MANGUEZAL: EXPERIMENTO *IN VITRO***

**EMILANE PINHEIRO DA CRUZ LIMA**

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para a obtenção de título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo de Rezende.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF  
Campos dos Goytacazes, RJ

Abril de 2015

**CINÉTICA DE LIBERAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA EM UM ECOSSISTEMA DE  
MANGUEZAL: EXPERIMENTO *IN VITRO***

**EMILANE PINHEIRO DA CRUZ LIMA**

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense, como parte das exigências para a obtenção de título de Mestre em Ecologia e Recursos Naturais.

Aprovada em 07 de abril de 2015.

COMISSÃO EXAMINADORA:

---

Prof. Dr. Carlos Eduardo de Rezende - Orientador (UENF)

---

Prof. Dr. Álvaro Ramon Coelho Ovalle (UENF)

---

Prof. Dr. Marcelo Corrêa Bernardes (UFF)

---

Prof. Dr. Antonio Aparecido Mozeto (UFSCar)

---

Dr. Marcelo Almeida – Revisor (UENF)

*Dedico este trabalho a todos que me ensinaram o que aprendi, aos meus queridos através do amor; e aos meus desafetos através da dor. Em especial aos meus pais, Carmem e Moret, e aos meus amigos, sem os quais eu nada seria.*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Carmem Pinheiro e Josemar Moret, que não mediram esforços para eu chegar até aqui, que juntamente comigo realizaram um sonho, e depositaram esperança e fé em mim. Aos demais familiares, em especial meu irmão Evelynder e meu primo Guilherme, que foram motivos de minhas alegrias e distrações.

Ao professor Carlos Eduardo Rezende por novamente depositar sua confiança em mim e me permitir continuar no seu grupo de pesquisa. Por todas as oportunidades oferecidas no meio acadêmico e sua preocupação com a vida pessoal. E por ser um profissional exemplo no qual me espelho.

A Ligia Ribas e Gilvan Yogui por me iniciarem nas pesquisas sobre lignina e me ensinar as bases para construir este trabalho. A paciência e dedicação deles comigo sempre serão lembrados.

Ao Marcelo Almeida por toda paciência durante as atividades de laboratório e esclarecimentos, pela revisão da dissertação, pelo auxílio em todas as análises da composição isotópica, pela amizade, incentivo, e os valiosos ensinamentos, tanto na parte acadêmica como laboratorial.

Ao Jomar Marques, um obrigado especial, além de companheiro de laboratório, um amigo sábio e atencioso, por todos os ensinamentos e por toda paciência. Ao Marcos Franco por toda atenção dedicada à análise dos meus dados.

Aos demais amigos do laboratório, Thiago Rangel, Braulio Cherene, Beatriz Araújo, Beatriz Muniz, Adailés Florence, Tassiana Gonçalves, Diogo Quitete, Jayme Jr., Pedro Gatts, Frederico Brito, pela ótima convivência no Laboratório de Ciências Ambientais e por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos alunos Felipe Rossi, Julya Braga e Thaiza Gomes que me ajudaram na execução do projeto, sempre foram atenciosos, buscando me auxiliar da melhor maneira possível.

Aos meus amigos Laura Lessa, Flávia Bioni, Larissa Caé e Vinícius Godoy, pela paciência, pela descontração, pelo animo e por nunca deixarem sentir-me só. Por fazerem da minha permanência aqui algo agradável e divertido.

As amigas de longa data, Úrsula Reis, Hilda Lessa e Poliana Moreth, que apesar da distância se fizeram presentes.

As companheiras de república, aos colegas de classe e a todos os amigos e familiares, que não cabe aqui mencioná-los e descrevê-los um a um, pois cada um sabe de sua importância tanto nos momentos de descontração quanto era necessário um ombro amigo para chorar.

Aos professores do Laboratório de Ciências Ambientais – UENF pela aprendizagem, pelos conselhos e pelas inspirações durante a realização deste trabalho.

Aos técnicos, em especial Alcemi, e ao Laboratório de Ciências Ambientais da UENF pela viabilização das coletas e realização das análises, disponibilizando os recursos necessários para o desenvolvimento deste trabalho.

A CAPES pela concessão da bolsa, ao programa de pós-graduação em Ecologia e Recursos Naturais da UENF e a secretária Elizabete Costa. Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia sobre a Transferência de Material na Interface Continente – Oceano (CNPq - INCT TMCOcean Proc. 573.601/2008-9) e apoio financeiro da FAPERJ (E- 26/110.032/2011).

Enfim, aqueles que de alguma forma fizeram parte desta jornada e cooperaram para meu êxito. De coração, obrigada!

*“Quanto mais aumenta nosso conhecimento, mais evidente fica nossa ignorância”.*  
*(John F. Kennedy)*

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE TABELAS.....	XII
LISTA DE ANEXOS.....	XIII
ABREVIATURAS.....	XIV
RESUMO.....	XV
ABSTRACT.....	XVI
1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Decomposição.....	17
1.2 Matéria Orgânica Dissolvida (MOD).....	21
1.3 Composição Isotópica, Elementar e Lignina.....	23
2. JUSTIFICATIVA.....	28
3. HIPÓTESES.....	29
4. OBJETIVO GERAL.....	30
4.1 Objetivos Específicos.....	30
5. METODOLOGIA.....	31
5.1 Área de Estudo.....	31
5.2 Desenho Amostral e Experimental.....	32
5.3 Análises.....	34
5.3.1 Variáveis Físico-químicas.....	34
5.3.2 Determinação do Carbono Orgânico Dissolvido (COD).....	34
5.3.3 Determinação da Composição Elementar e Isotópica.....	35
5.3.4 Extração e Determinação dos Fenóis de Lignina.....	36
5.3.5 Estatística.....	38
6. RESULTADOS .....	39
6.1 Variáveis Físico-Químicas.....	39
6.2 Perda de Massa e Carbono Orgânico Dissolvido.....	40
6.3 Composição Elementar e Isotópica.....	43
6.4 Fenóis de Lignina.....	47
7. DISCUSSÃO.....	52
7.1 Lixiviação da MOD.....	52



7.2 Transformação dos Fenóis de Lignina.....	65
8. CONCLUSÃO.....	70
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
10. ANEXOS.....	79

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Estrutura macromolecular da lignina.....25
- Figura 2:** Localização da área de estudo no manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. O círculo vermelho representa a região de coletas das folhas senescentes.....32
- Figura 3:** Esquema da incubação das folhas senescentes de cada espécie nos três ensaios de salinidade. Ag: *Avicennia germinans*; Rm: *Rhizophora mangle*.....33
- Figura 4:** Perda de Massa Foliar (%) ao final do experimento de lixiviação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre espécies.....41
- Figura 5:** Concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) no lixiviado ao longo do período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* (a) e *R. mangle* (b) do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os intervalos de tempo.....41
- Figura 6:** Estimativa da liberação de carbono (%) com base no balanço de massa a folha (a) e para o lixiviado (b) após o período de incubação (168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão).....43
- Figura 7:** Teor de carbono orgânico (%) (a) e (b), nitrogênio total (%) (c) e (d) e razão (C/N)a (e) e (f) das folhas, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (salinidades).....44
- Figura 8:** Composição isotópica do carbono (‰) [(a) e (b)] e do nitrogênio (‰) [(c) e (d)] da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (salinidades).....46
- Figura 9:** Concentração ( $\text{mg.100 mg CO}^{-1}$ ) dos fenóis siríngicos (S), vanílicos (V), cinâmicos (C) e total de fenóis de lignina ( $\lambda 8$ ) da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada em cada parâmetro ( $\lambda 8$ , S, V e C) ao longo do gradiente de salinidade por espécie.....48

**Figura 10:** Razões S/V e C/V da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada na razão S/V e maiúsculas na razão C/V ao longo do gradiente de salinidade por espécie.....49

**Figura 11:** Razões (Ac/Al)<sub>v</sub> e (Ac/Al)<sub>s</sub> do material particulado/folha, inicial e final, e dissolvido/lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada na razão (Ac/Al)<sub>v</sub> e maiúsculas na razão (Ac/Al)<sub>s</sub> ao longo do gradiente de salinidade por espécie.....50

**Figura 12:** Frascos usados no experimento de lixiviação após uma semana de incubação, (a) *Avicennia germinans* e (b) *Rhizophora mangle*.....63

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1:** Valores de Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) medidos nos intervalos de tempos (0h, 24h, 48h e 168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para o controle e as espécies *A. germinans* e *R. mangle* (n=3, desvio padrão  $\leq 10\%$ ). Letras maiúsculas distintas mostram diferenças significativas considerando o controle e as espécies em uma mesma salinidade e letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando o intervalo de tempo em uma salinidade dentro da mesma espécie ( $p < 0,05$ ).....39

**Tabela 2:** Valores de pH medidos nos intervalos de tempos (0h, 24h, 48h e 168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para o controle e as espécies *A. germinans* e *R. mangle* (n=3, desvio padrão  $\leq 10\%$ ). Letras maiúsculas distintas mostram diferenças significativas considerando o controle e as espécies em uma mesma salinidade e letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando o intervalo de tempo em uma salinidade dentro da mesma espécie ( $p < 0,05$ ).....40

**Tabela 3:** Comparação da Perda de massa (%) sob diferentes metodologias. Os valores do presente estudo expressam a faixa de variação nos três tratamentos (salinidade 0, 10 e 35) ao final do experimento (n=3).....53

## LISTA DE ANEXOS

<b>Anexo I:</b> Teor de carbono orgânico (%), nitrogênio total (%), razão (C/N), composição isotópica do carbono (‰) e do nitrogênio (‰) da folha, inicial e após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies <i>A. germinans</i> e <i>R. mangle</i> do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).....	79
<b>Anexo II:</b> Teor de carbono orgânico (%), nitrogênio total (%), razão (C/N), composição isotópica do carbono (‰) e do nitrogênio (‰) do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies <i>A. germinans</i> e <i>R. mangle</i> do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).....	80
<b>Anexo III:</b> Perda de massa foliar e carbono em gramas (g) e porcentagem (%) da folha após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies <i>A. germinans</i> e <i>R. mangle</i> do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).....	80
<b>Anexo IV:</b> Concentração dos fenóis derivados da lignina e razão entre parâmetros da folha, inicial e após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies <i>A. germinans</i> e <i>R. mangle</i> do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).....	81
<b>Anexo V:</b> Concentração dos fenóis derivados da lignina e razão entre parâmetros do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies <i>A. germinans</i> e <i>R. mangle</i> do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).....	82

## ABREVIATURAS

(Ac/Al)s: razão dos fenóis ácido e aldeído dos fenóis do grupo siringil

(Ac/Al)v: razão dos fenóis ácido e aldeído dos fenóis do grupo vanilil

(C/N)a: razão atômica de carbono e nitrogênio

Ac: ácido

Al: aldeído

BSTFA: trimethylsilyl trifluoroacetamida

C/V: total (em mg) de ácidos p-cumárico e ferúlico dividido pelo total (em mg) de vanilina, acetovanilona e ácido vanílico

C: fenóis cinâmicos

CG-FID: cromatográfico a gás equipado com detector por ionização em chama

CO: carbono orgânico

COD: carbono orgânico dissolvido

EP: estuário principal

ES: estuário secundário

$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ : sulfato ferroso amoniacal hexaidratado

HCl: ácido clorídrico

LCA: Laboratório de Ciências Ambientais

MO: matéria orgânica

MOD: matéria orgânica dissolvida

N: nitrogênio

NaOH: hidróxido de sódio

$\text{NaSO}_4$ : sulfato de sódio

rpm: rotação por minuto

S/V: total (em mg) de siringaldeído, acetosiringona e ácido siríngico dividido pelo total (em mg) de vanilina, acetovanilona e ácido vanílico

S: fenóis siríngicos

TMCS: trimethylchlorosilane

UENF: Universidade Estadual do Norte Fluminense

V: fenóis vanílicos

$\lambda_8$ : somatório dos três principais grupos de fenóis (S+V+C)

$\delta^{13}\text{C}$ : composição isotópica do carbono

$\delta^{15}\text{N}$ : composição isotópica do nitrogênio

## RESUMO

O estágio inicial da decomposição do material foliar consiste na lixiviação de compostos solúveis, onde há a remoção de grandes quantidades de compostos orgânicos (30-50%), resultando em perda de biomassa. Tais compostos são liberados como MOD, e a regulação da decomposição e produção dessa MOD é atribuída à lignina. Diversos fatores podem afetar a lixiviação desses compostos solúveis, porém pouca atenção é dada ao efeito da salinidade. O objetivo deste estudo foi quantificar o início do processo de decomposição, sob diferentes forças iônicas, com duas espécies do manguezal do rio Paraíba do Sul (*Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle*). Folhas senescentes dessas espécies foram coletadas, pesadas (10 g) e colocadas em frascos de vidro com 1,8 L de soluções em diferentes salinidades (0, 10 e 35). Nos intervalos 24, 48 e 168 h foram retiradas alíquotas para medição de condutividade, pH, temperatura e carbono orgânico dissolvido. Ao final do experimento, um extrato foi obtido do lixiviado com a MOD eluída em metanol, sendo determinados os fenóis de lignina e a composição elementar e isotópica do carbono e nitrogênio no extrato e nas folhas. Foi observada uma perda de massa e COD evidente através da lixiviação, porém a salinidade parece não afetar. A espécie *A. germinans* exibiu uma maior perda de massa e liberação de COD em relação a *R. mangle*. A diferença entre essas espécies pode ser explicada pelos altos níveis de taninos presentes em *R. mangle* e pelo maior teor de N em *A. germinans*, assim como sua anatomia foliar (presença de tricomas). *A. germinans* se destaca como mais importante contribuidora de MOD para o ambiente natural. Os valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  também não se alteraram em função da salinidade. Ainda assim, deve-se ressaltar o enriquecimento da  $\delta^{13}\text{C}$  nas folhas após a lixiviação e os valores mais leves no lixiviado, sugerindo a liberação de compostos deplecionados em  $\text{C}^{13}$ , como por exemplo, lignina. Os elevados valores de  $\lambda_8$  determinados no lixiviado corroboram o fato da lignina se dissolver, sendo liberada como parte da MOD. *A. germinans* apesar de exibir o maior teor de lignina, apresentou maior lixiviação. Mais uma vez a salinidade parece não influenciar nos rendimentos fenólicos, e conseqüentemente nas razões de lignina. Porém em virtude da solubilização a razão Ac/Al se eleva, sendo observado valores superiores no lixiviado em comparação com as folhas. As razões S/V e C/V também são alteradas em função da lixiviação, sendo observados menores valores nos lixiviados. Baseado nisso, a lixiviação tem que ser levada em consideração, pois a MOD ainda “jovem” pode ter uma assinatura mais “antiga” de lignina. Isto significa que parâmetros usados para verificar a decomposição da MO podem ser mal interpretados como uma assinatura de degradação em ambientes onde simplesmente ocorreu uma mudança de fase na MO. Assim, o marcador lignina deve ser usado com cautela e de forma adequada, e sempre que possível em associação a outro marcador.

Palavras-chave: lixiviação, salinidade, matéria orgânica dissolvida, marcadores moleculares, composição isotópica, lignina, manguezal.

## ABSTRACT

Early stage of decomposition consists in the leaching of soluble compounds of leaf material, with high amounts of organic compounds (30-50%) being removed, resulting in a loss of biomass. Such compounds are released as MOD, and regulation of the decomposition and production of this MOD is attributed to lignin. Several factors can affect leaching of these soluble compounds, but little attention is given to salinity effects. The objective of the present study was to quantify the start of the decomposition process, under different ionic strengths, in two mangrove species (*Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle*) from Paraiba do Sul river. Senescent leaves of these species were collected, weighted (10 g) and placed in glass bottles containing 1.8 L of solutions with distinct salinities (0, 10 and 35). In the 24, 48 and 168 hours intervals, subsamples were taken and conductivity, pH, temperature and dissolved organic carbon were measured. At the end of the experiment, an extract was obtained from the leached portion with the DOM eluted in methanol. Afterward, lignin phenols, elemental and isotopic composition of carbon and nitrogen were determined for the extract and leaves. It was observed a clear loss of biomass and DOC through leaching, but salinity appears to not affect the process. The species *A. germinans* showed a higher loss and biomass and DOC when compared to *R. mangle*. The difference between these species can be explained by the high tannin levels presented in the latter and a greater content of N found in the former, as well as their leaf anatomy (presence of trichomes). *A. germinans* stands out as the most important contributor of MOD to the natural environment. The  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  values also did not changed due to the salinity. Still, it should be noted a  $\delta^{13}\text{C}$  enrichment of the leaves after leaching and lighter values of the leached portion, suggesting a release of  $\text{C}^{13}$ -depleted compounds, such as the lignin. High  $\lambda_8$  values determined for the leached portion corroborated the lignin dissolution released as part of the DOM. The species *A. germinans* displayed the higher lignin content, but it also showed greater leaching. Once again, salinity appears to not influence the phenolics yield and, consequently, lignin ratios. However, due to solubilization Ac/Al ratio increases, being observed higher values for the leached portion when compared to the leaves. S/V and C/V ratios can also changed due to leaching, with lower values being found as a consequence. Based on these results, leaching has to be taken into consideration since “young” DOM can have an “older” lignin signature. This means that parameters used to verify OM decomposition may be mistaken as a degradation signature in environments where a phase shift of MO has taken place. Thus, lignin should be used with proper caution, and where possible in combination with another marker.

Keywords: leaching, salinity, dissolved organic matter, molecular markers, isotopic composition, lignin, mangrove.



## 1. Introdução

### 1.1 Decomposição

A decomposição é de fundamental importância para o funcionamento dos ecossistemas (Lugo e Snedaker, 1974; Ibrahima *et al.*, 1995; Prescott, 2005; Klotzbücher *et al.*, 2011), pois determina a ciclagem dos elementos biogênicos (Ibrahima *et al.*, 1995; Davis III e Childers, 2007; Green *et al.*, 2009). A partir de tal processo, são liberados da biomassa florestal, nutrientes (carbono, oxigênio, nitrogênio), regenerando assim diversas substâncias inorgânicas a partir dos substratos orgânicos como proteínas, carboidratos e lipídeos (Lugo e Snedaker, 1974; Davis III e Childers, 2007; Klotzbücher *et al.*, 2011).

Dessa forma, a decomposição afeta a matéria orgânica depositada no solo (Prescott, 2005; Klotzbücher *et al.*, 2011), determinando sua fertilidade (Ibrahima *et al.*, 1995), assim como o crescimento das plantas, sendo essencial para a produtividade das florestas e sustentando as redes tróficas (Lugo e Snedaker, 1974; Prescott, 2005; Klotzbücher *et al.*, 2011; Moll, 2011). Além disso, participa do fluxo de CO<sub>2</sub>, tendo grande importância para o balanço global de carbono (Prescott, 2005; Klotzbücher *et al.*, 2011).

A decomposição foliar pode ocorrer através de processos físicos, químicos e biológicos, sendo dividida em quatro etapas: lixiviação, atividade microbiana, fragmentação e consumo pela macrofauna (Chale *et al.*, 1993; Moll, 2011). A primeira etapa se torna importante no estágio inicial da decomposição, sendo responsável pela liberação de compostos solúveis do material foliar, o que é evidenciado pela perda substancial de biomassa (Benner *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1990; Ibrahima *et al.*, 1995; Middleton e Mckee, 2001; Kalbitz *et al.*, 2006; Davis III *et al.*, 2006; Davis III e Childers, 2007; Young *et al.*, 2008; Klotzbücher *et al.*, 2011; Moll, 2011).

O processo de lixiviação pode ser definido como a remoção de substâncias do citoplasma vegetal pela ação de soluções aquosas tais como chuva, orvalho, nevoa e nevoeiro, assim como quando os tecidos vegetais são depositados diretamente em ambientes aquáticos (ex.: rios, lagos, estuários). O termo "lixiviação" começou a ser usado em meados da década de 50, enfatizando o fenômeno em si,

e não a fonte ou natureza do material lixiviado, como ocorria com os termos usados até então (Tukey, 1970).

A lixiviação é um processo de curta duração. A maior parte do processo ocorre de dias a semanas (Davis III *et al.*, 2006; Moll, 2011). Em contrapartida, para que ocorra a decomposição completa do material foliar, às vezes, são necessários anos (Moll, 2011). Apesar de ser um processo relativamente curto, a lixiviação pode remover grandes quantidades de MOD resultando em grande perda de massa (Benner *et al.*, 1990), podendo ser responsável pela perda de 30-50% da matéria orgânica de uma folha (Benner *et al.*, 1986), contribuindo para redução de 14-40% do seu peso seco inicial (Moll, 2011) e fundamental para o início da atividade microbiana no substrato orgânico.

O principal fator que promove esta lixiviação é a frequente submersão do material em água. Isso mantém as condições de umidade e temperatura ideal para a decomposição ou alteração do material (Middleton e Mckee, 2001). Após poucos dias as taxas de lixiviação declinam, e pouca quantidade de biomassa é perdida. Acompanhado dessa perda substancial de massa, observa-se a liberação de materiais como carbono, nitrogênio e fósforo para o ambiente (Davis III *et al.*, 2006; Davis III e Childers, 2007). Além desses, diversos elementos inorgânicos como, por exemplo, cálcio, potássio e magnésio entre outros elementos, e compostos orgânicos, como ácidos orgânicos, proteínas e carboidratos solúveis também podem ser liberados rapidamente (Ibrahima *et al.*, 1995).

A matéria orgânica na forma dissolvida apresenta, de modo geral, aproximadamente 10% de proteínas, 30-50% de carboidratos (principalmente celulose), 15-25% de lignina, alguns lipídios e outras biomacromoléculas (Nebbioso e Piccolo, 2013). No entanto, nem todos os compostos solúveis são lixiviados com a mesma facilidade. Sabe-se que as proteínas e os carboidratos são mais fácil e rapidamente lixiviados em relação aos demais compostos (Benner *et al.*, 1990; Ibrahima *et al.*, 1995).

Após a lixiviação, o material foliar remanescente é composto basicamente de polímeros estruturais (Benner *et al.*, 1986), polissacarídeos (celulose e hemicelulose) e lignina (Benner *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1990), e a longo prazo, somente a lignina tende a se acumular (Kaltbitz *et al.*, 2006; Lallier-Vérges *et al.*, 2008). No entanto, Benner *et al.* (1990) verificou a lixiviação dos fenóis de lignina em

quantidades consideráveis ainda na fase inicial de decomposição. E durante a mineralização da matéria orgânica, parte do carbono oriundo da lignina pode ser dissolvido (Bahri *et al.*, 2008).

Os principais fatores que podem influenciar a lixiviação foliar, em termos quantitativos e qualitativos, são as características da espécie e as condições ambientais (Tukey, 1970; Opsahl e Benner, 1995; Ibrahima *et al.*, 1995). O primeiro fator está relacionado com as características morfológicas da planta, tais como presença de cutícula, estruturas escleromórficas (lignificadas) ou espessura das folhas (Ibrahima *et al.*, 1995; Betina, 2006), e a composição química foliar, por exemplo, teor de proteínas, poli fenóis, taninos (Prescott, 2005; Moll, 2011) e lignina. E à lignina é atribuída a regulação da decomposição e a produção de MOD (Ertel e Hedges, 1984; Kalbitz *et al.*, 2006).

Dentre as adaptações morfológicas, a vegetação de mangue apresenta raízes laterais (para sustentação no substrato inconsolidado) e raízes aéreas (que permitem trocas gasosas no sedimento anaeróbico), além de adaptações relacionadas às estratégias reprodutivas, como: viviparidade, autopolinização e produção de propágulos capazes de se dispersarem pelo ambiente aquático (Tomlinson, 1986; Schaeffer-Novelli, 1995; Kathiresan e Bingham, 2001).

Devido às condições adversas encontradas nos manguezais, como as elevadas concentrações de sais, a vegetação também desenvolveu estratégias fisiológicas específicas para sobreviver nesse ambiente hostil. Dentre essas estratégias desenvolvidas, a vegetação se torna tolerante a elevada salinidade do sedimento mediante a exclusão, excreção e acumulação de sais, sendo classificadas como sal-excludentes ou sal-excretoras (Scholander *et al.*, 1962).

As plantas sal-excludentes, como as espécies do gênero *Rhizophora*, possuem um sistema de ultrafiltração em seu sistema radicular que atua como uma barreira de transporte, através da exclusão de sais durante a absorção de água pelas raízes. As sal-excretoras, como as espécies do gênero *Avicennia*, absorvem certa quantidade de sal pelas raízes, mas o excretam de volta ao ambiente através de glândulas de sal especializadas em suas folhas (Tomlinson, 1986; Kathiresan e Bingham, 2001).

Além das características de cada espécie, diversas condições ambientais, como temperatura, luz solar, disponibilidade de água e salinidade, exercem efeito na

lixiviação (Davis III e Childers, 2007). A lixiviação tende a ser acelerada em condições de maior temperatura e luminosidade, assim como pelo aumento da precipitação pluviométrica. Vale ressaltar também que em condições de aerobiose, de modo geral, observa-se maior liberação de compostos solúveis (Ibrahima *et al.*, 1995; Prescott, 2005). O intenso movimento das marés e a alta salinidade também aumentam a taxa de decomposição (Aké-Castillo *et al.*, 2006).

A importância de cada um desses fatores é indiscutível, porém existe a necessidade de se verificar a inter-relação entre eles e sua importância relativa. De modo geral, as taxas de decomposição são reguladas pelas características climáticas (isto é, temperatura média, umidade relativa do ar, índice pluviométrico, vento) nos estágios iniciais e posteriormente pelo teor orgânico, ou seja, composição química das espécies (Prescott, 2005).

A maior parte dos estudos sobre decomposição está relacionada com o material remanescente após a lixiviação e/ou decomposição, como por exemplo, estudos usando sacos de serapilheira "*litterbags*", e uma vasta quantidade de trabalhos podem ser citados (Cundell *et al.*, 1979; Melillo *et al.*, 1982; Opsahl e Benner, 1995; Twilley *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1991; Haddad *et al.*, 1992; Tam *et al.*, 1998; Middleton e Mckee, 2001; Fourqurean e Schrlau, 2003; Chabbi e Rumpel, 2004; Fioretto *et al.*, 2005; Aké-Castillo *et al.*, 2006; Kalbitz *et al.*, 2006; Madritch e Cardinal, 2007; Klotzbucher *et al.*, 2011a; Aponte *et al.*, 2012; Lima, 2013).

Alguns trabalhos tem dado atenção para os compostos solúveis que são lixiviados das folhas, a chamada matéria orgânica dissolvida (MOD) (Benner *et al.*, 1986; Twilley *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1990; Chale *et al.*, 1993; Cleveland *et al.*, 2004; Kalbitz *et al.*, 2006; Bahri *et al.*, 2008; Schmitt, 2009; Klotzbucher *et al.*, 2011a; Moll, 2011). Entretanto, estes trabalhos não visam a componente lignina da MOD, mas sim o carbono orgânico dissolvido como um todo. Além disso, a grande maioria utiliza apenas uma espécie vegetal do ambiente em questão em experimentos de lixiviação, não levando em consideração as diferenças interespecíficas.

## 1.2 Matéria Orgânica Dissolvida (MOD)

Grandes quantidades de matéria orgânica terrestre são transportadas para os oceanos. Este fluxo de materiais vai além da contribuição dos rios, incluindo também estuários e fontes não pontuais (ex.: descarga de água submarina e escoamento superficial ao longo da costa) (Dittmar *et al.*, 2006; Rezende *et al.*, 2010). O transporte fluvial juntamente com o transporte pelas marés constitui uma das principais fontes de matéria orgânica terrestre para as áreas costeiras servindo de base alimentar para diversos tipos de peixes e invertebrados de grande importância econômica (Dittmar *et al.*, 2006). Essa matéria orgânica pode ser transportada na forma particulada ou dissolvida. Além disso, os elementos como carbono e nitrogênio, podem ser encontrados nos ambientes naturais nas formas orgânicas e inorgânicas (Hope *et al.*, 1994; Bauer e Bianchi, 2011).

Tanto a matéria orgânica na forma particulada quanto dissolvida constitui uma importante fonte de energia nos ecossistemas (Hope *et al.*, 1994). A distinção entre essas duas formas é conseguida utilizando-se filtros de fibra de vidro com porosidade entre de 0,1 até 0,7  $\mu\text{m}$ . O material retido no filtro é dito particulado, e o que passa através do mesmo é o dissolvido. Na realidade, a distinção entre estas fases é realizada com membranas de 0,45  $\mu\text{m}$  de diâmetro segundo convenção internacional (Benner *et al.*, 1992; Hope *et al.*, 1994; Kalbitz *et al.*, 2000; Aitkenhead-Peterson *et al.*, 2002; Benner, 2002; Green *et al.*, 2009). Entretanto, não existem membranas de fibra de vidro com esta porosidade. Assim sendo, as membranas de 0,7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, apesar de subestimarem os valores do particulado, tem sido em geral, mais adotada na literatura internacional (Benner *et al.*, 1992; Hope *et al.*, 1994; Aitkenhead-Peterson *et al.*, 2002; Benner, 2002).

MOD é formada por pequenas moléculas orgânicas altamente poliméricas derivadas de detritos vegetais e animais (Benner *et al.*, 1992; Aitkenhead-Peterson *et al.*, 2002). Os ácidos húmicos e fúlvicos representam a maior parte dessa fração dissolvida, cerca de 50-75%. Esses ácidos são responsáveis por 5-10% da carga iônica dos rios, e as substâncias húmicas são agentes da coloração das águas fluviais. Outro componente da fração dissolvida são os coloides, que compreendem cerca de 20% (Hope *et al.*, 1994). A fração particulada é basicamente constituída de restos de vegetais e animais, além de algas, invertebrados, matéria

orgânica erodida do solo e detritos do solo (Benner *et al.*, 1992; Hope *et al.*, 1994; Aitkenhead-Peterson *et al.*, 2002).

A MOD é a forma majoritária de MO em quase todos os ecossistemas aquáticos (Benner, 2002). Exibe um papel fundamental na cadeia alimentar aquática, sendo fonte de energia para uma variedade de organismos, além de mediar a disponibilidade de nutrientes e alterar as propriedades óticas das águas (Gandois *et al.*, 2014; Barber *et al.*, 2001; Benner, 2002), afetando sua transparência (Green *et al.*, 2009). Além disso, o fluxo de MOD é importante por governar o deslocamento de nutrientes, principalmente carbono, dentro e entre os ecossistemas (Cleveland *et al.*, 2004; Green *et al.*, 2009; Mavi *et al.*, 2012). Podendo ainda envolver as diferentes esferas, visto que, contribui para a produção de CO<sub>2</sub> e CH<sub>4</sub> (Gandois *et al.*, 2014).

Além disso, a MOD tem um considerável papel na complexação de metais (como ferro, cobre, alumínio, zinco e mercúrio), podendo afetar sua solubilidade, transporte e toxicidade. Atua também afetando o transporte de poluentes orgânicos, partículas de superfície e coloides. E ainda, pode afetar a fotoquímica das águas naturais e contribuir para a acidez das águas superficiais, podendo afetar a distribuição de íons entre as fases aquosa e sedimentar (Hope *et al.*, 1994), participando do tamponamento do pH (Green *et al.*, 2009; Gandois *et al.*, 2014).

Diversos estudos têm mostrado a dinâmica da MOD nos ambientes terrestres, entretanto, pouco se sabe a respeito dos mecanismos que regulam sua produção. A solubilização da matéria orgânica é a fonte primária de MOD, e pode ser controlada pela interação de fatores bióticos e abióticos (condições ambientais, propriedades do solo e qualidade da matéria orgânica). Já tem sido descrito que os parâmetros físico-químicos exercem um forte controle sobre a produção de MOD, que juntamente com a ação microbiana tem grande influência na mineralização da MO (Toosi *et al.*, 2012).

Além disso, sabe-se que a MOD é altamente móvel e reativa (Mavi *et al.*, 2012; Toosi *et al.*, 2012; Gandois *et al.*, 2014). Nos ambientes aquáticos, esta pode ser transportada e modificada por uma diversidade de processos biogeoquímicos como: degradação microbiológica, fotólise, hidrólise, adsorção, floculação, precipitação e sedimentação. As transformações biológicas podem levar a formação de metabólitos estáveis ou a completa degradação dos componentes da MOD

(Barber *et al.*, 2001). A solubilidade da matéria orgânica devido à sodicidade pode levar a perdas de MOD por lixiviação, e a salinidade, por sua vez, pode levar a floculação (Mavi *et al.*, 2012).

Apesar de ainda pouco conhecida a caracterização dos processos envolvendo MOD, acredita-se que essa seja um importante componente do ciclo do carbono (Toosi *et al.*, 2012; Gandois *et al.*, 2014). Isso se mostra relevante visto que a maior parte do carbono orgânico (>97%) que está no oceano encontra-se sob a forma dissolvida (Benner, 2002), constituindo um dos grandes reservatórios de carbono orgânico na Terra (Druffel *et al.*, 1992) sendo capaz de sustentar a atividade heterotrófica (Hedges, 1992; McCarthy *et al.*, 1996). Portanto, os fatores que influenciam as taxas e transformações da MOD têm um papel central na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Foreman e Covert, 2003).

### 1.3 Composição Isotópica, Elementar e Lignina

Para quantificar a exportação de MO terrestre e detectar sua fonte em misturas orgânicas complexas, tais como MOD, partículas orgânicas em suspensão e sedimentos, são usados marcadores biogeoquímicos específicos, como a composição elementar, isotópica e a lignina (Opsahl e Benner, 1995; Marchand *et al.*, 2005; Dittmar *et al.*, 2006). Devido ao fato de múltiplas fontes contribuírem para tais misturas orgânicas essas ferramentas devem ser usadas em conjunto.

Os organismos vivos exibem diferentes padrões de abundância dos elementos (Hedges, 1990) e as distintas relações entre estes, como por exemplo, a razão atômica entre carbono e nitrogênio (C/N), permitem a identificação qualitativa das fontes de MO (Rezende, 1993; Bouillon *et al.*, 2008). Plantas vasculares terrestres são compostas predominantemente de lignina e celulose, por isso exibem razões C/N mais elevadas, superiores a 20 (Hedges *et al.*, 1997). Durante a decomposição, a composição elementar pode ser alterada pela comunidade microbiana por processos como amonificação, nitrificação e desnitrificação (Ertel *et al.*, 1986; Meyers e Ishiwatari, 1993).

Sabe-se ainda que os elementos exibem diferentes composições isotópicas na natureza (Martinelli *et al.*, 1999). Desse modo, alguns deles existem como uma mistura de isótopos estáveis, como é o caso do carbono. Em geral, as

transformações bioquímicas têm uma pequena preferência pelo isótopo mais leve, contribuindo para diferentes relações entre os isótopos nos distintos grupos de organismos, o que possibilita identificá-los em misturas orgânicas (Hedges, 1990). Além de permitir a discriminação dos principais grupos de plantas, que podem ter sua composição isotópica modificada pelas alterações diagenéticas. A degradação fotoquímica tende a remover lignina, a qual é deplecionada em  $^{13}\text{C}$ , deixando o material remanescente enriquecido em carboidratos (ricos em  $^{13}\text{C}$ ), e desse modo, com uma composição isotópica mais pesada (Benner e Kaiser, 2011; Mayer *et al.*, 2009; Spencer *et al.*, 2009).

Sendo assim, a composição isotópica do carbono vem sendo utilizada em diversos estudos biogeoquímicos para caracterizar e quantificar as fontes de MO (Benner *et al.*, 1987; Hedges *et al.*, 1997; Dittmar e Lara, 2000a; Gonnee *et al.*, 2004; Dittmar *et al.*, 2006). O uso desse parâmetro juntamente com a lignina constitui uma poderosa ferramenta para a determinação confiável da real fonte de MO.

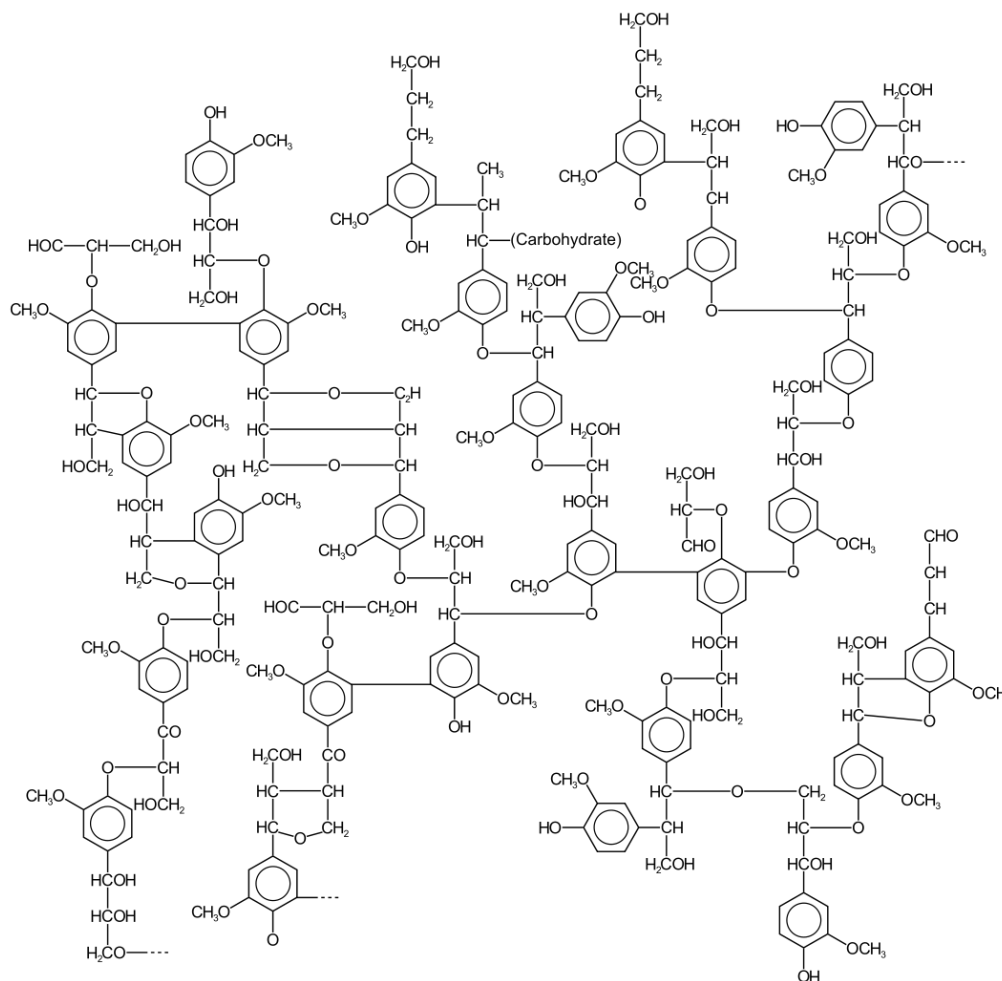
A lignina é uma macromolécula produzida exclusivamente por plantas vasculares terrestres, permitindo assim seu uso como traçador molecular (Hedges e Mann, 1979; Hernes e Benner, 2003; Marchand *et al.*, 2005). Constitui-se do composto aromático mais abundante produzido pelas plantas (Thevenot *et al.*, 2010), sendo uma ferramenta valiosa para o estudo de ciclagem e degradação da matéria orgânica dissolvida (MOD) terrestre (Hernes e Benner, 2003).

Tal molécula contribui grandemente para o balanço de MO que está preservada nos solos, sedimentos e turfa. Em ambientes aquáticos, no entanto, pode ser encontrada na forma dissolvida e particulada, essa última por sua vez, se trata de um marcador molecular estável ao longo do tempo, podendo ser usado para reconstruir a história da vegetação durante os éons (ex.: quarternário) (Hernes *et al.*, 2007; Lobo *et al.*, 2001; Jex *et al.*, 2014).

O controle da decomposição da serapilheira é conferido à lignina, além desta regular também a formação de substâncias húmicas e MOD (Ertel e Hedges, 1984; Kalbitz *et al.*, 2006; Feng *et al.*, 2011). Até a década de 70, acreditava-se que a lignina era resistente à degradação microbiana. No entanto, estudos mais recentes mostraram que pode haver degradação da molécula durante seu transporte na biosfera terrestre (Ward *et al.*, 2013; Jex *et al.*, 2014).



Devido a sua complexa estrutura heteropolimérica (Figura 1), formada por anéis aromáticos unidos a cadeias laterais e grupos  $-OH$  e  $-CH_3$  por ligações covalentes (éter e C-C) (Goñi e Montgomery, 2000; Thevenot *et al.*, 2010), sofre uma lenta decomposição no ambiente natural. Após sua oxidação, tais ligações são clivadas sendo produzidos fenóis, a partir dos quais é possível inferir a origem da MO (distinção taxonômica), o tipo de tecido vegetal e ainda o nível de degradação do material vegetal (Hedges e Mann, 1979; Hedges e Ertel, 1982).



**Figura 1:** Estrutura macromolecular da lignina.

Hedges e Mann (1979) classificaram os fenóis de lignina, exclusivos de plantas vasculares terrestres, em três grupos: os fenóis vanílicos (vanilina, acetovanilona e ácido vanílico), os siríngicos (siringaldeído, acetosiringona e ácido siríngico), e os cinâmicos (ácidos trans-p-cumárico e trans-ferúlico). Com base nesses fenóis são determinados três parâmetros absolutos, V, S e C, definidos como o total de fenóis vanílicos, siríngicos e cinâmicos, respectivamente. A partir destes são obtidas as seguintes razões:

A razão S/V, definida como o somatório dos fenóis siríngicos dividido pelo somatório dos fenóis vanílicos, fornece informação quanto a distinção taxonômica, devido ao fato dos fenóis siríngicos serem característicos dos tecidos de angiospermas. A razão C/V, definida como o somatório dos fenóis cinâmicos dividido pelo somatório dos fenóis vanílicos, é útil para discriminar o tipo de tecido, devido aos fenóis cinâmicos serem característicos de tecidos foliares de angiospermas. E por último, a razão Ac/Al, definida como a relação entre ácidos carboxílicos (Ac) e aldeídos (Al), é indicativa do grau de decomposição do material vegetal devido à decomposição biológica transformar os aldeídos em ácidos carboxílicos.

Deve-se salientar que a C/V também pode ser usada como indicadora de decomposição, visto que os fenóis cinâmicos sofrem perda preferencial durante a degradação biológica. As ligações éster que unem os fenóis cinâmicos à molécula de lignina são facilmente rompidas pelos micro-organismos (Dittmar e Lara, 2001a). Além disso, as razões S/V e (Ac/Al)<sub>v</sub> podem ser indicadoras das transformações fotoquímicas (Opsahl e Benner, 1998).

Embora seja considerada uma molécula resistente à degradação em relação a outras, tais como carboidratos e proteínas (Benner *et al.*, 1990; Meyers e Ishiwatari, 1993; Benner e Kaiser, 2011), vários processos diagenéticos podem alterar a molécula de lignina durante a decomposição, quando a mesma é liberada das plantas para os solos. Apenas uma fração da lignina permanece no solo, o restante é então remineralizado a CO<sub>2</sub> e liberado na atmosfera ou ainda transportado através do escoamento superficial e/ou água subterrânea, tendo importantes implicações para o ciclo global do carbono (Jex *et al.*, 2014).

Do ponto de vista dos agentes diagenéticos, a degradação biológica da lignina tem sido bem documentada por diversos autores (Benner *et al.*, 1984; Benner e Hodson, 1985; Opsahl e Benner, 1995; Tuomela *et al.*, 2000; Filley *et al.*, 2000; Dittmar e Lara, 2001a; Dittmar e Lara, 2001b; Bahri *et al.*, 2008; Kristensen *et al.*, 2008; Osono *et al.*, 2011). Sabe-se que os fungos são os principais organismos a iniciar a degradação, através de enzimas oxidativas. Posteriormente, as bactérias são consumidores secundários. Os efeitos da degradação biológica podem ser observados por alterações nas razões S/V e Ac/Al (Jex *et al.*, 2014).

Neste sentido, destaca-se o pouco conhecimento sobre o efeito das variáveis físico-químicas na alteração dos fenóis e razões específicas entre cada fenol de

lignina. Dentre os agentes abióticos, a foto-oxidação é um importante processo de decomposição abiótica no solo (Jex *et al.*, 2014). Trabalhos recentes vêm mostrando a fotodegradação nas plumas dos rios como um importante mecanismo de alteração dos fenóis de lignina (Lou e Xie, 2006; Feng *et al.*, 2009; Spencer *et al.*, 2009). Há trabalhos ainda que correlacionam ambos os processos, degradação biológica e foto-oxidação como etapas fundamentais na alteração da estrutura química da MOD (Opsahl e Benner, 1998; Hernes e Benner, 2003; Benner e Kaiser, 2011; Feng *et al.*, 2011).

Tem sido descrito que a foto-oxidação provoca alterações na lignina em nível molecular, modificando suas propriedades físico-químicas (Lou e Xie, 2006), podendo reduzir suas concentrações, gerar novos produtos e alterar as razões usadas para detectar fontes (Opsahl e Benner, 1998; Hernes e Benner, 2003; Mayer *et al.*, 2009). Tal processo tende a aumentar a solubilidade da matéria orgânica devido a redução do peso molecular da lignina (Opsahl e Benner, 1998; Feng *et al.*, 2009). Em relação a outros processos físicos, como pH, temperatura, salinidade, não tem sido observado experimentos voltados para a alteração dessa molécula. Mas já existem trabalhos relacionando o efeito da salinidade no COD (Moll, 2011).

## 2. Justificativa

O processo de decomposição da matéria orgânica é uma etapa de fundamental importância para o funcionamento dos ecossistemas, pois participa diretamente dos ciclos biogeoquímicos. Um dos passos iniciais desse processo é a lixiviação, a qual é responsável pela liberação de compostos solúveis do material foliar. Tal processo influencia o fluxo de CO<sub>2</sub> participando do ciclo do carbono.

Sabe-se que a exportação da matéria orgânica sustenta a cadeia trófica marinha. Dittmar *et al.* (2006) estimaram que mais de 10% do fluxo de MOD terrestre para os oceanos são derivados exclusivamente de manguezais, que por sua vez ocupam somente uma área inferior a ~1% da área dos continentes. Neste sentido, o conhecimento dos processos que modulam a dinâmica de decomposição, incluindo o processo de lixiviação, ajudam a entender sobre quantidade e qualidade da matéria orgânica que é exportada das áreas costeiras para o ambiente marinho.

A grande maioria dos estudos relacionados à decomposição e alteração da molécula de lignina consideram apenas os efeitos biológicos, pouco se sabe sobre a degradação por processos físicos. Diversos estudos têm mostrado a dinâmica da MOD nos ambientes terrestres, entretanto, pouco se sabe a respeito dos mecanismos que regulam sua produção. Além disso, nos ambientes como os manguezais, a frequente inundação provocada pela maré afeta uma variedade de parâmetros, dentre eles a salinidade, por isso se torna importante saber o efeito de tal variável sobre a liberação e a qualidade da MOD. Adicionalmente a salinidade afeta diretamente a lise celular, podendo intensificar o processo de lixiviação.

Por fim, conhecer a taxa de lixiviação torna-se importante, pois a perda de massa pode afetar interpretações da influência ambiental nas taxas de degradação. Tais interpretações podem variar em relação à extensão da lixiviação. Vale destacar que esse processo tem início com a folha ainda presa a árvore expondo-se a precipitação, sendo difícil a padronização.

### 3. Hipóteses

1. A salinidade exerce um efeito diferenciado na lixiviação das folhas das espécies *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle*, promovendo diferentes taxas de liberação do carbono orgânico assim como altera diferenciadamente a composição dos fenóis de lignina.
2. A existência de um processo de lixiviação diferenciado entre as espécies definirá os graus de importância entre as espécies no fornecimento de matéria orgânica dissolvida para a região marinha adjacente.

#### 4. Objetivo Geral

Desenvolver experimentos específicos, com diferentes forças iônicas, simulando o início do processo de decomposição das espécies *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, a fim de avaliar a influência da salinidade na liberação de matéria orgânica nas duas espécies e suas respectivas importâncias para o ambiente estudado.

##### 4.1 Objetivos Específicos

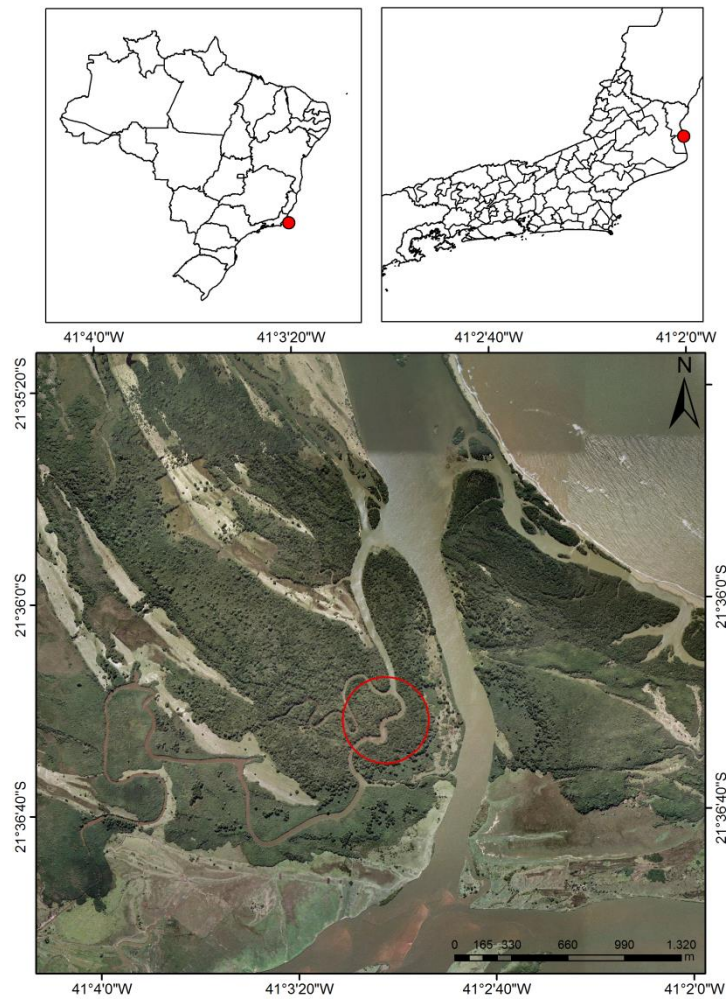
- 1) Determinar a composição elementar e isotópica do carbono e nitrogênio nas folhas de *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle* e no lixiviado após o experimento sob diferentes salinidades;
- 2) Quantificar os fenóis de lignina e, conseqüentemente, suas razões nas folhas de *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle* e no lixiviado após o experimento sob diferentes salinidades;
- 3) Estimar a perda de massa e carbono orgânico das folhas de *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle* durante a lixiviação em diferentes salinidades.

## 5. Metodologia

### 5.1 Área de Estudo

O estuário do rio Paraíba do Sul, localizado na costa norte do estado do Rio de Janeiro, apresenta duas saídas, uma denominada estuário principal (EP), na região de Atafona, São João da Barra e outra, o estuário secundário (ES), ao norte da desembocadura, nas proximidades de Gargaú, São Francisco do Itabapoana (21°36'00" S, 41°03'00" W). Nesta região o clima predominante é quente (com temperatura média mínima de 18° e máxima de 24°) e úmido, com chuvas durante todo o verão. A precipitação média anual encontra-se entre 1.000 e 1.250 mm (Costa 1994; DNAEE 1993). O estuário está sob regime de micromarés, com marés semidiurnas (Bernini, 2003). A região é diversificada, com áreas de manguezal, restinga, brejos, bancos arenosos e lamosos, pasto, monoculturas (ex. coco, goiaba e abacaxi) e urbanização (Bernini, 2008).

O manguezal que se desenvolve no estuário do rio Paraíba do Sul é considerado o maior da região Norte Fluminense, com aproximadamente 800 ha. Tem sido alvo de frequentes ações de degradação, como atividade extrativista de árvores, invasão da pecuária, urbanização, obras de dragagem, entre outras. Sua floresta é constituída pelas espécies vegetais *Avicennia germinans* (L.) Stearn. (Avicenniaceae), *Laguncularia racemosa* (L.) Gaertn. f. (Combretaceae) e *Rhizophora mangle* L. (Rhizophoraceae). Além disso, também são registradas as espécies associadas *Acrostichum aureum* L. (Pteridaceae) e *Hibiscus pernambucensis* Arruda (Malvaceae). (Bernini e Rezende, 2004; Bernini, 2008). Estas espécies arbóreas são angiospermas dicotiledôneas que exibem via fotossintética C3, sendo consideradas plantas halófitas (Marchand *et al.*, 2005).



**Figura 2:** Localização da área de estudo no manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. O círculo vermelho representa a região de coleta das folhas senescentes.

## 5.2 Desenho Amostral e Experimental

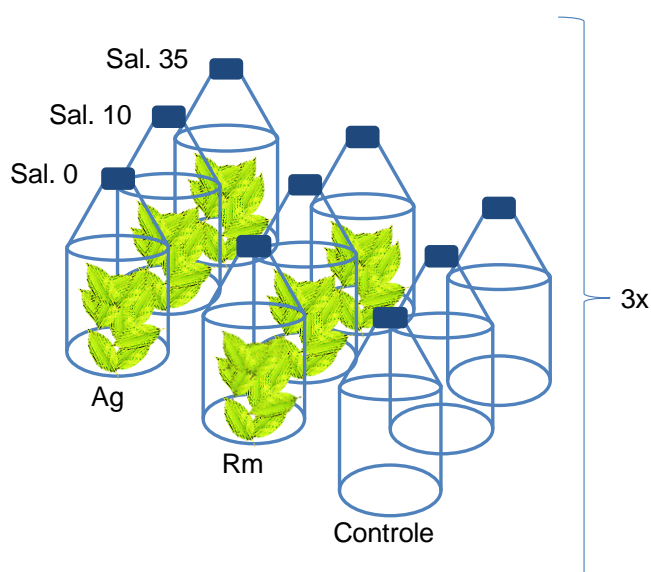
As amostras foram coletadas no manguezal de Gargaú (Figura 2), situado no estuário secundário ( $21^{\circ}36'00''\text{S}$  e  $41^{\circ}03'00''\text{W}$ ) por ser uma área de menor influência antrópica. Nesta região, foram coletadas, ao acaso, folhas amareladas e senescentes com menores sinais de predação para evitar possíveis influências na lixiviação. Das três espécies que ocorrem neste manguezal, apenas *Avicennia germinans* e *Rhizophora mangle* foram amostradas, uma vez que apresentam características distintas, podendo exibir diferentes respostas as condições a que são expostas.

As folhas coletadas foram levadas ao Laboratório de Ciências Ambientais (LCA), na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), onde



foram limpas com auxílio de um algodão e pesadas. Uma parte das folhas foi colocada na estufa a 70°C durante aproximadamente 72 h a fim de se estabelecer um valor inicial para cada material foliar. Depois de seco, o material foi pesado novamente e triturado. Outra parte das folhas, aproximadamente 10 g foi colocada em frascos de vidro de 2 L, previamente lavados com solução sulfocrômica, contendo 1,8 L de soluções aquosas com diferentes salinidades (água ultrapura com adição de NaCl, quando necessário), considerando as situações onde as folhas podem iniciar o processo de lixiviação. Após o experimento tais folhas também se sujeitaram aos procedimentos descritos anteriormente (secas, pesadas e trituradas). A perda de massa foliar foi determinada comparando a massa das folhas não submetidas ao experimento com aquelas sujeitas a lixiviação durante os 7 dias de experimento nos três tratamentos (salinidade 0, 10 e 35).

A parte experimental foi desenvolvida a partir de 3 ensaios laboratoriais com salinidade 0 (água fluvial), 10 (água estuarina) e 35 (água marinha), com 3 réplicas para cada espécie em cada um destes ensaios (Figura 3). Além disso, foi realizado um controle, sem a adição de folhas, nas três salinidades a fim de verificar possíveis concentrações de carbono. A fim de manter a oxigenação adequada, borbulhadores de água foram mantidos mergulhados na solução durante todo o experimento. Os frascos foram cobertos com uma membrana de teflon permitindo as trocas gasosas e evitando a entrada de qualquer material.



**Figura 3:** Esquema da incubação das folhas senescentes de cada espécie nos três ensaios de salinidade. Ag: *Avicennia germinans*; Rm: *Rhizophora mangle*.

Optou-se por não usar biocidas que impedissem o crescimento microbiano porque tais substâncias podem influenciar a lixiviação abiótica (France *et al.*, 1997). Dessa forma, os dados representam tanto processos abióticos quanto algum processo microbiano não quantificado, embora esse não seja considerado como a principal fonte de liberação de matéria orgânica da serapilheira a curto prazo.

Nos intervalos 0 h, 24 h, 48 h e 7 d foram retiradas alíquotas do lixiviado onde foram realizadas as seguintes medidas: condutividade, pH e carbono orgânico dissolvido (COD). Ao final do experimento (7 d), foram realizadas análises de composição elementar e isotópica do carbono de nitrogênio e dos fenóis de lignina tanto das folhas quanto no lixiviado. O percentual de água também foi calculado para que fossem possíveis as correções para peso seco do material utilizado para os experimentos de lixiviação.

Para fazer tais análises no material dissolvido, o lixiviado (~1,8 L) foi devidamente filtrado em filtros de fibra de vidro GF/F (0,7 µm) previamente preparados, limpos em forno mufla (calcinados ~300°C por 4 h). Após a filtração, a fração dissolvida foi acidificada a pH 2 com HCl concentrado (Merck). Em seguida, este lixiviado-filtrado-acidificado passou por uma coluna de resina (PPL Bond Elut – Agilent), metodologia adaptada de Dittmar *et al.* (2008), a fim de isolar e concentrar a MOD. A resina em questão é altamente polar sendo particularmente adequada para a extração eficiente da MOD. Após a passagem da amostra pela coluna foi realizada uma extração por fase sólida, sendo obtido um extrato com a matéria orgânica dissolvida eluída em metanol. Nesse extrato foi então determinado a composição elementar e isotópica do carbono de nitrogênio e os fenóis de lignina.

### 5.3 Análises

#### 5.3.1 Variáveis Físico-químicas

As variáveis físico-químicas, pH (potenciômetro portátil Digimed DM-PV com eletrodo de Ag/AgCl), condutividade e temperatura (Conduvímeter portátil WTW LF96) foram determinadas a cada um dos tempos determinados (0 h, 24 h, 48 h e 7 d) no momento da retirada do lixiviado dos frascos. Aproximadamente 20 mL do

lixiviado foram retirados de cada frasco e transferidos para Becker onde as medidas foram realizadas.

### 5.3.2 Determinação do Carbono Orgânico Dissolvido (COD)

Alíquotas de 30 mL foram retiradas dos frascos em experimentação e foram armazenadas em frascos de vidro âmbar contendo 5% (v/v) de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, sendo estocadas a 4°C em geladeira. Para estas amostras foram retiradas triplicatas analíticas.

A determinação do carbono orgânico dissolvido (COD) foi realizada através de um analisador de carbono total (Shimadzu, TOC-V CPH) por oxidação catalítica em alta temperatura (680°C) com catalisador de platina. As amostras foram acidificadas com HCl 2N e posteriormente purgadas com ar sintético ultrapuro para carregá-las até um detector dispersivo de infravermelho. O processo de purga foi realizado com ar sintético 5.0 durante 5 minutos. O coeficiente de variação das triplicatas de uma mesma amostra foi inferior a 5%. Os valores de COD foram expressos em mg.L<sup>-1</sup>.

Toda a vidraria utilizada para essa análise passou inicialmente por uma lavagem com solução sulfocrômica, seguido por HCl 10% (~15 minutos cada) para extração de possíveis contaminantes orgânicos.

### 5.3.3 Determinação da Composição Elementar e Isotópica

A determinação da composição elementar e isotópica da matéria orgânica dissolvida (lixiviado) e particulada (folhas) foi realizada em aproximadamente ~1 mg de amostras secas e pesadas em cápsulas de estanho apropriadas para cada tipo de matriz. Para as amostras dissolvidas um volume adequado (50 - 300 µL) foi adicionado na cápsula e posteriormente evaporado até secura sob fluxo de N<sub>2</sub> a fim de se obter a massa necessária descrita anteriormente.

A composição elementar e as razões isotópicas de carbono e nitrogênio (<sup>13</sup>C/<sup>12</sup>C e <sup>15</sup>N/<sup>14</sup>N) foram determinadas através do equipamento Flash 2000 (*Organic Elemental Analyzer-Thermo Scientific*), o qual é acoplado a interface Conflo IV e na sequência ao Delta V Advantage (*Isotope Ratio Mass Spectrometer, IRMS - Thermo*

*Scientific*) em um sistema em linha composto por um forno duplo contendo uma coluna de oxidação a 1020°C e uma coluna de redução a 650°C. Os gases resultantes são quimicamente secos e após separação cromatográfica injetados no espectrômetro de massas através do CONFLO IV para determinação das razões isotópicas. A razão isotópica é obtida como descrito abaixo:

$$\delta^N E \text{ ‰} = [(R_{\text{amostras}}/R_{\text{padrão}}) - 1] \times 1000, \quad (1)$$

onde N é o isótopo mais pesado do elemento E (carbono ou nitrogênio) e R é a razão do isótopo mais pesado sobre o mais leve ( $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ) desses elementos. O padrão para carbono é o Pee Dee Belemnite limestone (PDB) e para o nitrogênio, o padrão é o N<sub>2</sub> atmosférico, aos quais são atribuídos valores de  $\delta^N E$  de 0‰. A precisão obtida através das análises das amostras em triplicatas foi:  $\pm 0,02\%$  para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$ . As amostras foram mensuradas em relação aos gases dióxido de carbono e nitrogênio 5.0 analítico, calibrados em relação aos padrões isotópicos de trabalho de ureia (*IVA-Meerbusch- Germany*) (Kenedy et al., 2005; Meyers, 1994).

A quantificação elementar foi realizada utilizando-se curvas de calibração com padrão fornecido pela *Thermo Scientific* acetanilida. Os valores foram expressos em percentual (%), sendo a precisão obtida com três repetições, realizadas a cada 20 amostras. A reprodutibilidade analítica dentro da mesma amostra foi superior a 95%. Os testes de exatidão para C e N realizados *com Standard OAS/isotope - Low Organic Soil (microelemental microanalysis)* foram realizados e revelaram recuperações acima de 94%. O limite de detecção para C e N foram 0,05%, 0,02%, respectivamente.

#### 5.3.4 Extração e Determinação dos Fenóis de Lignina

A extração dos fenóis derivados da lignina foi realizada através da degradação oxidativa das amostras em meio alcalino com óxido cúprico, como descrito por Hedges e Ertel (1982) adaptada por Goñi e Montgomery (2000). Este procedimento é capaz de hidrolisar a lignina em moléculas de menor peso molecular, os fenóis.

Primeiramente, foi preparada uma solução de NaOH 2N (hidróxido de sódio) purgada com N<sub>2</sub> para remover o oxigênio dissolvido da água, pois este interfere na reação de oxidação. A quantidade de amostra pesada para a reação depende do percentual de carbono orgânico contido na mesma. Cada tubo no qual se procede a reação deve conter aproximadamente 5 mg de COrg para amostra particulada e 3 mg de CO para dissolvida. A partir disso, foi estabelecida a massa de amostra particulada a ser pesada e foi estimado o volume do lixiviado a ser usado para a reação de oxidação.

As amostras foram colocadas em tubos para micro-ondas contendo 500 mg de CuO (óxido cúprico) e 50 mg de Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>\*6H<sub>2</sub>O (sulfato ferroso amoniacal hexahidratado). Os tubos foram colocados dentro de uma câmara estanque com luvas (tipo *glovebox*) com um fluxo de N<sub>2</sub> durante aproximadamente 12 horas a fim de se eliminar o O<sub>2</sub> dentro desta câmara. A solução de NaOH borbulhada em N<sub>2</sub> também foi colocada dentro da câmara para sua adição nos tubos contendo a amostra. E em cada tudo foi colocado um agitador magnético. Após o período de 12 horas foi adicionado, ~15 mL de NaOH nos tubos e estes foram fechados. Os tubos foram colocados em um carrossel instalado no micro-ondas (CEM Corporation, MARS Xpress). O tempo de oxidação engloba 8 minutos de rampa de aquecimento, 90 minutos de oxidação a temperatura de 150°C e 25 minutos de resfriamento. Após a oxidação catalítica, os tubos foram removidos do micro-ondas sendo seus conteúdos transferidos para tubos de centrífuga (50 mL) e 100 µL de padrão interno (etilvanilina e ácido trans-cinâmico) foram adicionadas em cada frasco. Os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 10 minutos para separar os sólidos (amostra+CuO) do hidrolisado. O sobrenadante foi decantado em tubos de 50 mL e esta etapa foi repetida duas vezes após a adição de ~5 mL de NaOH 2N em cada tubo de centrífuga.

Após o que, foi adicionado HCl concentrado em cada hidrolisado até obtermos pH ~1. Depois da acidificação, adicionou-se 10 mL de acetato de etila. Os tubos foram agitados separando o conteúdo em duas fases. A fase orgânica foi transferida para um segundo tubo com auxílio de uma pipeta *Pasteur*. As amostras foram filtradas utilizando lã de vidro e NaSO<sub>4</sub> (sulfato de sódio) e após este procedimento foi concentrada em rotavapor até a obtenção de aproximadamente 1 mL, transferidas para frascos âmbar de 2 mL e então, evaporadas com N<sub>2</sub> até secar

completamente. O extrato foi diluído em piridina e nesta etapa 50 µL do padrão de recuperação (ácido 3,4-dimetoxibenzóico) foi adicionado nos frascos.

Antes da injeção no cromatógrafo, foi adicionado aos frascos de 2 mL um volume conhecido de amostra (150 µL), um volume equivalente do derivatizador BSTFA + 1% TCMS (150 µL) e piridina (150 µL). Os frascos foram previamente agitados manualmente, aquecidos por 1 hora a 75 °C, sendo que no intervalo do aquecimento outra agitação se procedeu.

Cerca de 1 µL da amostra derivatizada foi injetada para a análise dos fenóis de lignina. A injeção foi feita em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massa (CG-MS 2010 Plus Shimadzu). A coluna capilar empregada foi a Rtx – 5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm). A injeção da amostra foi feita em injetor sem divisão de fluxo (*splitless*). A temperatura inicial do forno do cromatógrafo foi ajustada em 100° C, elevando-se a uma taxa de 4° C min<sup>-1</sup> até 260° C. Após atingir esta temperatura, a taxa de elevação passou a ser de 10° C min<sup>-1</sup> até 300° C, permanecendo nesta temperatura durante 10 minutos. Os valores foram normalizados pelo teor de carbono orgânico, sendo os resultados expressos em mg/100mgCO.

#### 5.3.5 Estatística

Inicialmente, foi feita uma análise descritiva (média e desvio padrão) dos todos os dados apresentados. A análise de variância fatorial (ANOVA) foi usada para determinar o efeito das diferentes salinidades, tempo de experimento e espécies em todas as medidas realizadas no presente estudo. Posteriormente, quando necessário, foi utilizado o teste *post-hoc* Tukey para comparações múltiplas, uma vez que esse tem a capacidade de detectar pequenas diferenças significativas (Zar, 1996). As análises foram realizadas através do programa STATISTICA 8.0. Os valores foram considerados significativos para  $p < 0,05$ .

## 6. Resultados

### 6.1 Variáveis Físico-Químicas

As variáveis físico-químicas foram medidas nos lixiviados em intervalos regulares de tempo durante o experimento e são apresentados a seguir. Os valores de condutividade elétrica podem ser visualizados na Tabela 1. Os resultados apresentaram um aumento significativo no final do experimento (168h) em relação aos valores iniciais (0h) no tratamento com salinidade 0 para ambas as espécies ( $p < 0,01$ ). Nos demais tratamentos (salinidades 10 e 35) apenas em *A. germinans* mostrou um aumento significativo no valor da condutividade. Além disso, houve diferença estatística entre as espécies no tratamento com salinidade 0 em qualquer tempo.

**Tabela 1:** Valores de Condutividade Elétrica ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) medidos nos intervalos de tempos (0h, 24h, 48h e 168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para o controle e as espécies *A. germinans* e *R. mangle* ( $n=3$ , desvio padrão  $\leq 10\%$ ). Letras maiúsculas distintas mostram diferenças significativas considerando o controle e as espécies em uma mesma salinidade e letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando o intervalo de tempo em uma salinidade dentro da mesma espécie ( $p < 0,05$ ).

Espécie	Salinidade	Inicial (0h)	24h	48h	168h
Controle	0 <sup>A</sup>	2 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	8 <sup>a</sup>	12 <sup>a</sup>
	10 <sup>A</sup>	17420 <sup>a</sup>	17480 <sup>a</sup>	17550 <sup>a</sup>	17563 <sup>a</sup>
	35 <sup>A</sup>	54000 <sup>a</sup>	54467 <sup>a</sup>	54400 <sup>a</sup>	54750 <sup>a</sup>
<i>A. germinans</i>	0 <sup>B</sup>	16 <sup>a</sup>	40 <sup>a</sup>	88 <sup>b</sup>	460 <sup>c</sup>
	10 <sup>AB</sup>	16807 <sup>a</sup>	16737 <sup>a</sup>	17480 <sup>ab</sup>	18000 <sup>b</sup>
	35 <sup>B</sup>	50750 <sup>a</sup>	51800 <sup>a</sup>	53433 <sup>ab</sup>	54700 <sup>b</sup>
<i>R. mangle</i>	0 <sup>C</sup>	3 <sup>a</sup>	15 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	212 <sup>b</sup>
	10 <sup>B</sup>	16617 <sup>a</sup>	16807 <sup>a</sup>	17137 <sup>a</sup>	17613 <sup>a</sup>
	35 <sup>AB</sup>	53200 <sup>a</sup>	51700 <sup>ab</sup>	53733 <sup>a</sup>	55750 <sup>ac</sup>

Os valores de pH podem ser vistos na Tabela 2. De modo geral, o controle apresentou maiores valores de pH para as duas espécies, sendo observadas diferenças estatísticas ( $p < 0,001$ ). Para *A. germinans*, em qualquer salinidade testada, os valores finais de pH foram significativamente maiores que os iniciais

( $p < 0,01$ ), sendo que na salinidade 35 esse aumento é menos evidente. Para *R. mangle*, independente da salinidade, não se observa aumento nos valores de pH.

**Tabela 2:** Valores de pH medidos nos intervalos de tempos (0h, 24h, 48h e 168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para o controle e as espécies *A. germinans* e *R. mangle* ( $n=3$ , desvio padrão  $\leq 10\%$ ). Letras maiúsculas distintas mostram diferenças significativas considerando o controle e as espécies em uma mesma salinidade e letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando o intervalo de tempo em uma salinidade dentro da mesma espécie ( $p < 0,05$ ).

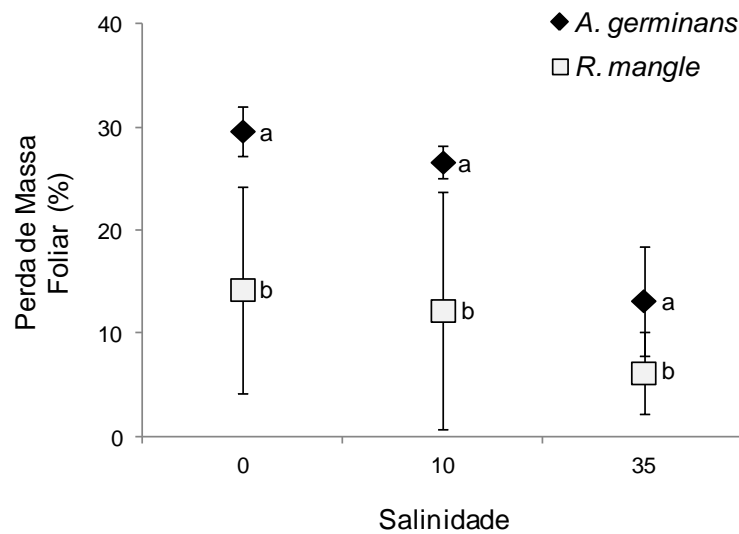
Espécie	Salinidade	Inicial (0h)	24h	48h	168h
Controle	0 <sup>A</sup>	7,46 <sup>a</sup>	7,88 <sup>a</sup>	7,25 <sup>b</sup>	6,97 <sup>a</sup>
	10 <sup>A</sup>	7,09 <sup>a</sup>	7,21 <sup>ab</sup>	7,97 <sup>b</sup>	6,80 <sup>a</sup>
	35 <sup>A</sup>	5,39 <sup>a</sup>	7,88 <sup>b</sup>	7,10 <sup>b</sup>	7,22 <sup>b</sup>
<i>A. germinans</i>	0 <sup>B</sup>	4,33 <sup>a</sup>	4,08 <sup>a</sup>	6,05 <sup>b</sup>	7,40 <sup>c</sup>
	10 <sup>B</sup>	3,84 <sup>a</sup>	4,62 <sup>ac</sup>	5,33 <sup>bc</sup>	6,94 <sup>d</sup>
	35 <sup>B</sup>	5,08 <sup>a</sup>	4,80 <sup>a</sup>	4,97 <sup>a</sup>	6,57 <sup>b</sup>
<i>R. mangle</i>	0 <sup>B</sup>	5,16 <sup>a</sup>	4,28 <sup>ab</sup>	5,82 <sup>ac</sup>	6,30 <sup>ac</sup>
	10 <sup>B</sup>	4,96 <sup>a</sup>	5,03 <sup>a</sup>	5,13 <sup>a</sup>	5,31 <sup>a</sup>
	35 <sup>C</sup>	4,86 <sup>a</sup>	4,62 <sup>a</sup>	4,98 <sup>a</sup>	5,10 <sup>a</sup>

A temperatura de cada frasco também foi aferida e variou de 21,3 a 24,8°C. Esses valores encontram-se dentro da faixa de variação da região na qual as folhas para o experimento foram coletadas, que possui média anual de 23°C.

## 6.2 Perda de Massa e Carbono Orgânico Dissolvido

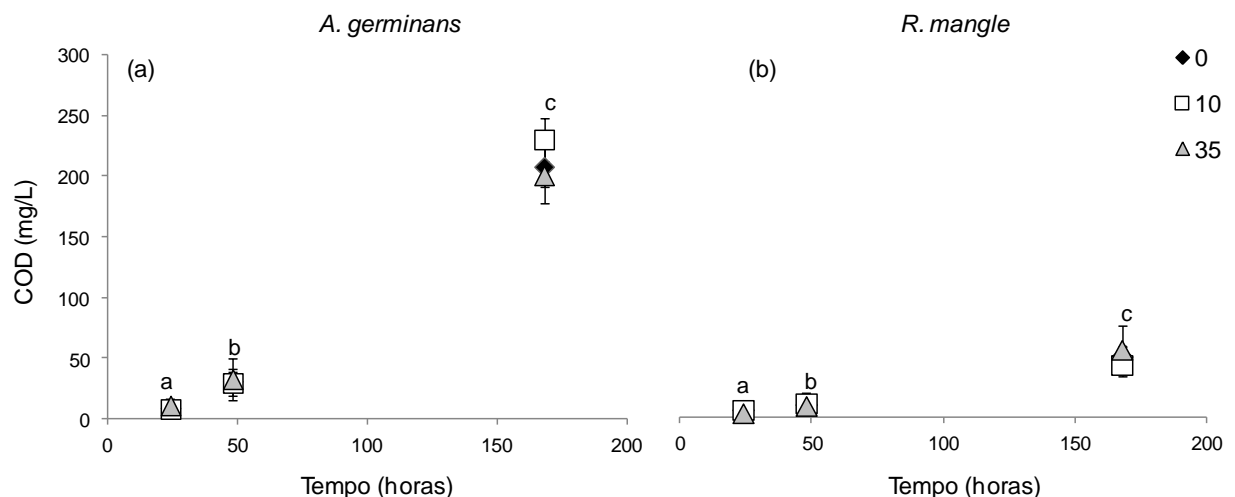
A perda de massa foliar (Figura 4) diferiu estatisticamente entre as espécies ( $p < 0,01$ ). Observa-se claramente uma maior perda de massa foliar para *A. germinans*, principalmente nos tratamentos com salinidade 0 e 10. A maior perda de massa ocorreu no tratamento com salinidade 0 (água ultrapura somente), tanto para *A. germinans* quanto em *R. mangle*,  $29,6 \pm 2,4\%$  e  $14,2 \pm 10,1\%$ , respectivamente. Apesar de não ter sido verificada diferenças estatísticas entre os tratamentos para ambas as espécies, observa-se uma menor perda de massa foliar no tratamento de maior salinidade (35).





**Figura 4:** Perda de Massa Foliar (%) ao final do experimento de lixiviação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre espécies.

A concentração de carbono orgânico dissolvido (COD) liberado ao longo do experimento é mostrada na Figura 5. Não houve diferenças significativas entre as salinidades testadas, ou seja, a liberação de COD foi independente da força iônica para as duas espécies. No entanto, ao se comparar as espécies é possível observar que *R. mangle* apresenta uma menor quantidade de carbono lixiviado, diferindo estatisticamente de *A. germinans* ( $p < 0,001$ ).



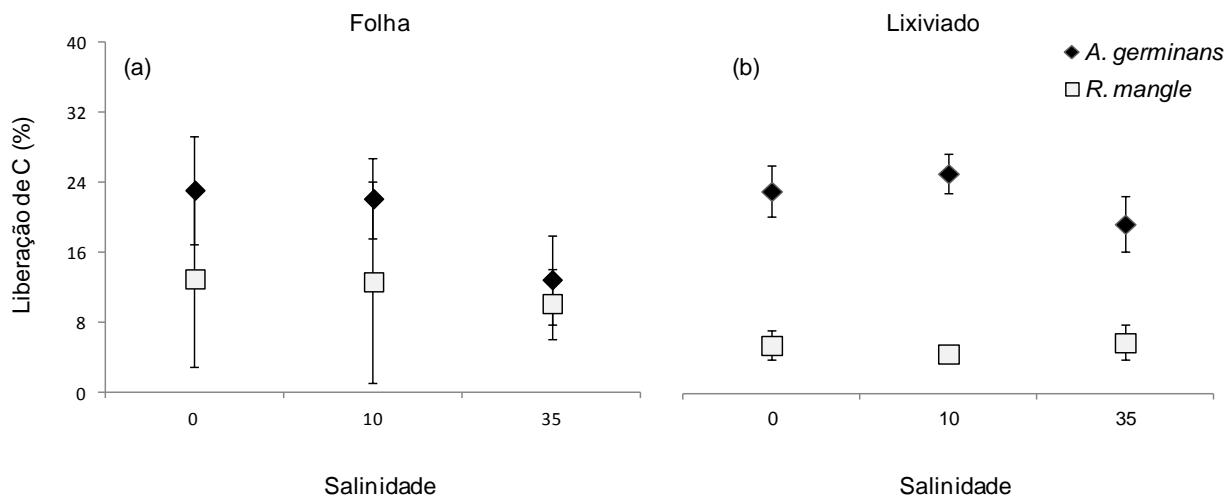
**Figura 5:** Concentração ( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) de Carbono Orgânico Dissolvido (COD) no lixiviado ao longo do período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* (a) e *R. mangle* (b) do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os intervalos de tempo.

As concentrações de COD aumentaram cerca de duas ordens de grandeza em apenas uma semana de lixiviação foliar. Ao final do experimento o total de COD liberado das folhas de *R. mangle* (~ 50 mg.L<sup>-1</sup> COD) foi de cerca de 4 vezes menor que *A. germinans* (~ 210 mg.L<sup>-1</sup> COD), sendo estas diferenças significativas (p<0,001), evidenciando a menor contribuição de *R. mangle* para o COD. Vale ressaltar que os valores de COD no tempo 0h, ou seja, no momento exato da adição de folhas na solução, também foram medidos. No entanto, tais valores variaram de 0 a 0,02 mg.L<sup>-1</sup> COD, demonstrando haver uma concentração insignificante de carbono orgânico na solução.

No experimento controle também foi aferido o COD e o incremento nos valores de COD ao longo do experimento controle. Ao final de 168h foi verificada uma concentração de ~ 2 mg.L<sup>-1</sup> COD. Tais valores não se mostram relevantes quando comparado aos valores encontrados nos lixiviados foliares das duas espécies.

A fim de estimar a real perda de massa de carbono foliar foi feito o balanço de massa (Figura 6) tanto do que foi perdido pela folha, considerando seu peso seco inicial e final, e o teor de carbono (%), quanto do lixiviado, determinado a partir da concentração de COD. A menor perda de massa de carbono ocorreu na maior salinidade (35), mas nenhuma diferença estatística foi verificada para ambas as espécies. Comparando-se as espécies, nenhuma diferença estatística foi encontrada, apesar de nos tratamentos de salinidade 0 e 10, *A. germinans* mostrar uma tendência de maior liberação de carbono em relação a *R. mangle*. Por sua vez, no tratamento de salinidade 35 as espécies exibem valores semelhantes.

Ao analisar o balanço de massa do lixiviado, verifica-se que não há diferença estatística na liberação de carbono em função da salinidade, ou seja, independente da salinidade a liberação de carbono foi a mesma em ambas as espécies. Entre as espécies, contudo, observa-se diferença estatística, com *A. germinans* exibindo maior lixiviação em comparação a *R. mangle*, assim como observado anteriormente para os valores COD. Entretanto, quando se compara a massa foliar de carbono orgânico perdido pela folha com o carbono determinado no lixiviado nota-se que há uma perda de carbono.



**Figura 6:** Estimativa da liberação de carbono (%) com base no balanço de massa a folha (a) e para o lixiviado (b) após o período de incubação (168h) nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão).

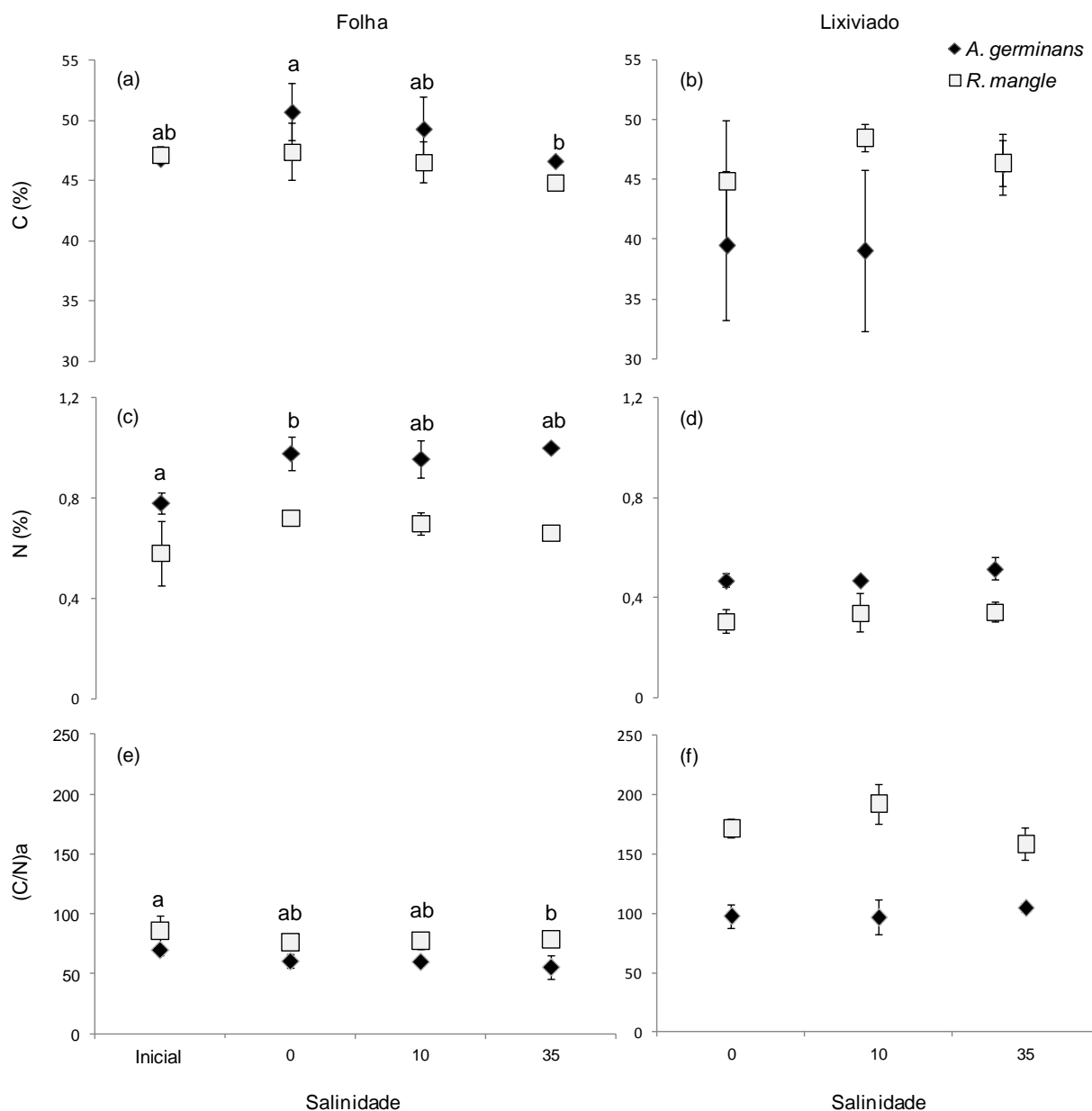
A Área Foliar Específica (AFE) também foi calculada para cada espécie a fim de verificar possíveis diferenças entre as mesmas. No entanto, os valores não diferiram estatisticamente (ANOVA OneWay), para a *A. germinans* o valor observado foi de  $61 \pm 7 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  e para *R. mangle*,  $59 \pm 7 \text{ cm}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

### 6.3 Composição Elementar e Isotópica

O teor de carbono e nitrogênio (%) e a razão atômica (C/N)<sub>a</sub>, medidos nas folhas antes e após o experimento de lixiviação são mostrados na Figura 7. O teor de carbono para ambas as espécies se comportou de maneira semelhante no decorrer do experimento. O teor de carbono foi menor nas folhas de *R. mangle* em comparação a *A. germinans* ( $p < 0,05$ ), variando de 44,8-47,4% e de 46,8-50,7%, respectivamente. Vale ressaltar que para todas as variáveis apresentadas na Figura 7 houve diferença significativa entre as espécies ( $p < 0,05$ ).

Em princípio, o teor de carbono no tratamento com salinidade 0 foi maior que no tratamento 35 ( $p < 0,05$ ) ao final do experimento. *A. germinans* apresentou os maiores valores de teor de carbono nos tratamentos com salinidade 0 ( $50,7 \pm 0,3\%$ ) e 10 ( $49,3 \pm 2,3\%$ ) ao final do experimento, e *R. mangle* mostrou o menor valor no tratamento com salinidade 35 ( $44,8 \pm 1,6\%$ ). Apesar de haver diferença estatística entre as espécies e os tratamentos, não houve diferenças quando os dois fatores

(espécie e salinidade) foram considerados em conjunto, ou seja, um fator independente do outro.



**Figura 7:** Teor de carbono orgânico (%) (a) e (b), nitrogênio total (%) (c) e (d) e razão (C/N)a (e) e (f) das folhas, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (salinidades).

Os valores do teor de carbono nos lixiviados após o experimento de lixiviação também foram medidos (Figura 7 b). Entretanto, diferente do observado nas folhas, o lixiviado de *A. germinans* apresentou menores valores de teor de carbono em comparação com *R. mangle*, variando de 39,0-46,2%, e tais valores foram menores

em relação ao determinado em suas folhas ( $p < 0,01$ ). Em contrapartida, os valores de teor de carbono medidos no lixiviado de *R. mangle* (44,8-48,5%) não diferiram estatisticamente daqueles determinados em suas folhas. Destaca-se que não houve diferenças estatísticas entre as diferentes salinidades testadas para o teor de carbono do lixiviado, porém os lixiviados das duas espécies diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ).

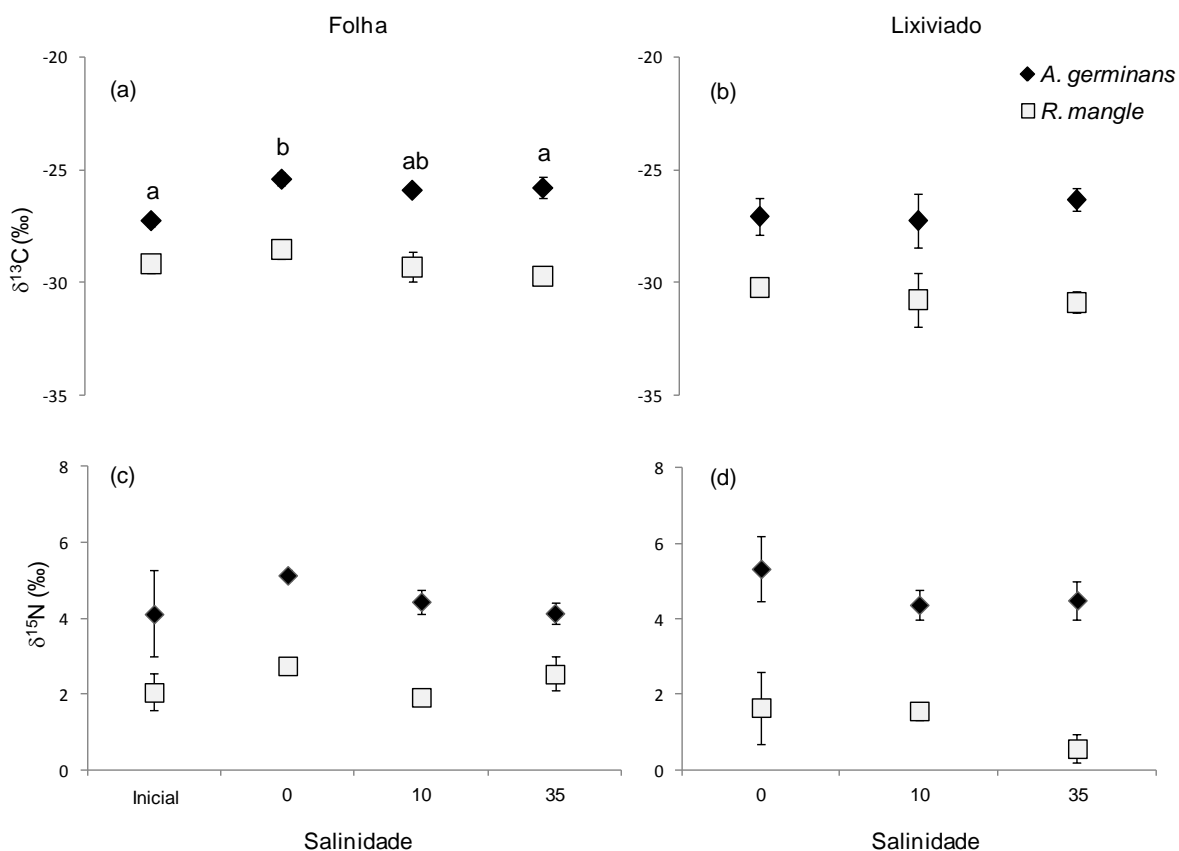
Em relação ao teor de nitrogênio medido nas folhas (Figura 7 c), foi verificada diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os valores iniciais (folhas não submetidas à lixiviação) e as folhas submetidas aos diferentes tratamentos (salinidade 0, 10 e 35). Ao se comparar as espécies, verifica-se que *R. mangle* apresenta valores inferiores aos de *A. germinans* em todas as ocasiões (inicial e experimento), com  $p$  extremamente significativa ( $< 0,001$ ). Após o experimento, as folhas de *A. germinans* apresentaram valores de nitrogênio próximo a 1% e *R. mangle* ~ 0,69%.

Os valores de teor de nitrogênio nos lixiviados (Figura 7 d) foram menores em relação aos determinados nas folhas ( $p < 0,001$ ). E assim como verificado nas folhas, *A. germinans* apresenta valores superiores aos de *R. mangle* ( $p < 0,001$ ). Nos lixiviados a salinidade, assim como visto anteriormente nas folhas, parece também não interferir no teor de nitrogênio, pois nenhuma diferença estatística foi encontrada nos diferentes tratamentos.

Os valores de razão (C/N) podem ser observados na Figura 7(e) e (f). Para *A. germinans* os valores variaram de 56 a 70 e em *R. mangle* foram observados valores entre 77 e 86. Deve-se destacar que os maiores valores para ambas as espécies foram determinados na folha não submetida a lixiviação. Para ambas as espécies, a razão (C/N) foi significativamente maior no lixiviado ( $p < 0,001$ ). Tanto nas folhas quanto nos lixiviados, a razão (C/N) diferiu estatisticamente entre as espécies, com *R. mangle* apresentando os maiores valores. E, novamente, não se observa diferenças em função do tratamento (salinidade 0, 10 e 35).

Os valores da composição isotópica do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) encontrados no presente estudo e sua variação em função da lixiviação pode ser observada na Figura 8(a) e (b). As espécies diferiram estatisticamente ( $p < 0,001$ ), com *A. germinans* apresentando valores mais pesados (-27,2 a -25,4‰), indicando uma matéria orgânica mais enriquecida em  $\text{C}^{13}$  comparado a *R. mangle* (-29,7 a -28,5‰), tanto para os valores determinados nas folhas quanto nos lixiviados.

As folhas iniciais de *A. germinans*, não submetidas à lixiviação, diferiram estatisticamente ( $p < 0,001$ ) das folhas sujeitas a lixiviação nas três salinidades testadas. Sendo assim, percebe-se que após a lixiviação, independente da salinidade, há um leve enriquecimento foliar nesta espécie. Em contrapartida, não se observa variação na composição isotópica do carbono nas folhas de *R. mangle*. Os valores do lixiviado foram mais leves do que os da folha ( $p < 0,01$ ) e não variaram em função da salinidade para ambas as espécies.



**Figura 8:** Composição isotópica do carbono (‰) [(a) e (b)] e do nitrogênio (‰) [(c) e (d)] da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul ( $n=3$ , barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas entre os tratamentos (salinidades).

Assim como para carbono, a composição isotópica do nitrogênio ( $\delta^{15}N$ ) foi significativamente diferente entre as espécies ( $p < 0,001$ ) nas folhas e lixiviados, sendo verificados os maiores valores em *A. germinans* (Figura 8 c e d). Também não houve variação em função das salinidades. Para *A. germinans* não se verifica diferença estatística entre folha e lixiviado, os valores variaram de 4,13 a 5,32‰. Em *R. mangle*, o lixiviado na salinidade 35 apresentou o menor valor (0,56‰) diferindo

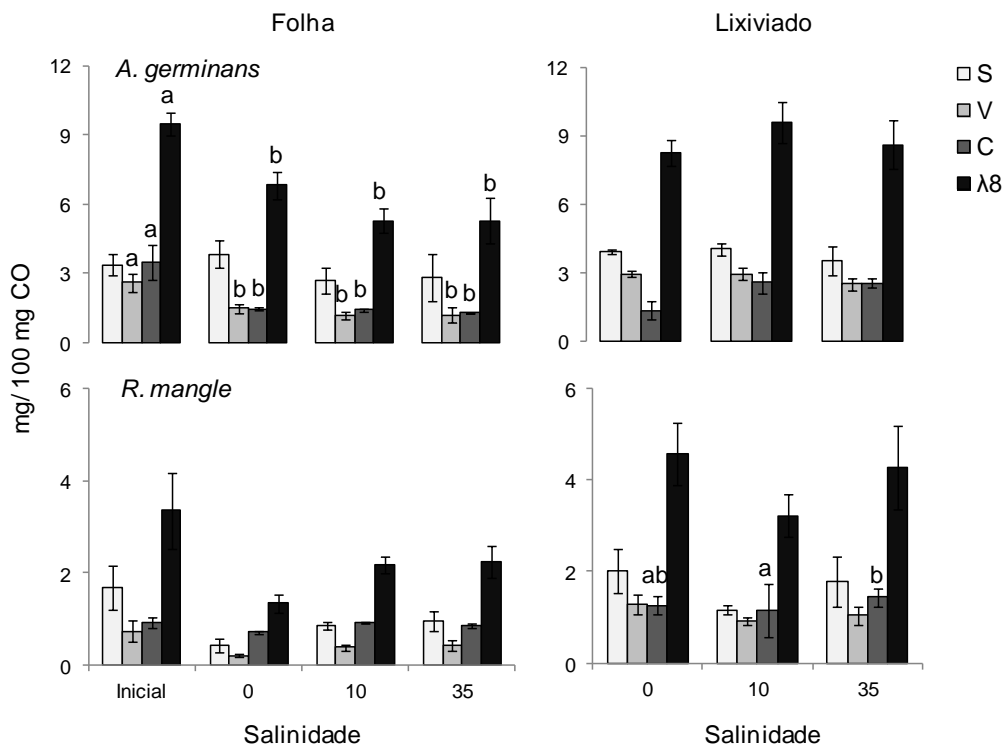
estatisticamente dos demais ( $p < 0,001$ ). Por fim, de modo geral, a salinidade, assim como a lixiviação, parecem não afetar os valores de composição isotópica, as variações observadas são atribuídas a diferenças características de cada espécie.

#### 6.4 Fenóis de Lignina

O efeito da lixiviação e dos tratamentos nos três principais grupos (Siríngico, Vanílico e Cinâmico) de fenóis de lignina pode ser observado na Figura 9, assim como o somatório dos fenóis ( $\lambda 8$ ), utilizado usualmente como indicador do teor de lignina. Todos os rendimentos fenólicos foram normalizados em relação ao teor de carbono orgânico das amostras. E para todas as variáveis analisadas houve diferença significativa entre as espécies ( $p < 0,05$ ).

Em linhas gerais, *A. germinans* exibe maior concentração de lignina em comparação com *R. mangle*. Os grupos fenólicos (S, V e C) assim como o  $\lambda 8$ , diferiram estatisticamente entre essas espécies ( $p < 0,001$ ) tanto na folha (inicial e final) quanto no lixiviado (Figura 9). Ao contrastar os valores determinados nas folhas após o experimento sob os diferentes tratamentos com os valores detectados no lixiviado, observa-se diferença estatística para ambas as espécies, com maiores valores no lixiviado ( $p < 0,001$ ).

Em relação aos diferentes tratamentos (salinidade 0, 10 e 35), no entanto, não foi observada diferença estatística, para ambas as espécies, ou seja, as diferentes salinidades nas quais as folhas foram submetidas a lixiviação não foram capazes de alterar o teor de lignina das mesmas. E ainda, considerando as análises nos lixiviados, para o  $\lambda 8$ , assim como para os grupos S, V e C, não foi verificada diferenças estatísticas entre os tratamentos em qualquer espécie. O  $\lambda 8$  para *A. germinans* no lixiviado foi de 8,8 mg.100 mg CO<sup>-1</sup>, e 4,0 mg.100 mg CO<sup>-1</sup> para *R. mangle* (valores médios dos três tratamentos).



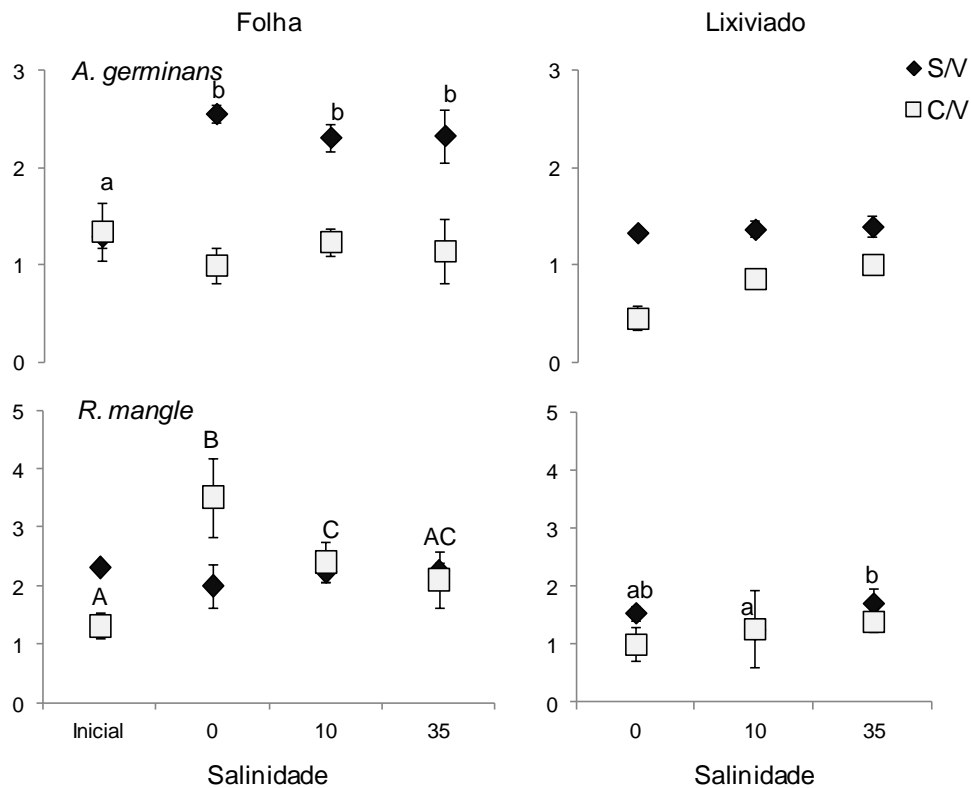
**Figura 9:** Concentração (mg.100 mg CO<sup>-1</sup>) dos fenóis síringicos (S), vanílicos (V), cinâmicos (C) e total de fenóis de lignina ( $\lambda$ 8) da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada em cada parâmetro ( $\lambda$ 8, S, V e C) ao longo do gradiente de salinidade por espécie.

A partir dos grupos fenólicos exibidos acima, são calculadas diversas razões indicativas da origem, tipo e ainda, nível de degradação do material vegetal (Hedges e Mann, 1979; Hedges e Ertel, 1982). Na Figura 10 é possível observar os valores das razões S/V e C/V, usadas para distinção taxonômica e discriminação do tipo de tecido, respectivamente.

Os valores da razão S/V determinados nas folhas foram semelhantes para as duas espécies em qualquer tratamento, não diferindo estatisticamente. Tais valores variaram de 1,30 a 2,56 para *A. germinans* e 2,00 a 2,31 em *R. mangle*. A menor razão foi observada nas folhas de *A. germinans* não submetidas a lixiviação (1,30) diferindo estatisticamente ( $p < 0,001$ ) das demais. Diferentemente das folhas, no lixiviado a razão S/V diferiu entre as espécies com  $p < 0,05$ . No lixiviado tais valores foram significativamente menores ( $p < 0,001$ ) em relação as folhas, sendo observada a faixa de valores de 1,34 a 1,40 e 1,26 a 1,71 para *A. germinans* e *R. mangle*, respectivamente. No lixiviado, em relação ao tratamento, não se verifica de modo



geral nenhum efeito da salinidade, com os valores sendo de certa forma homogêneos.



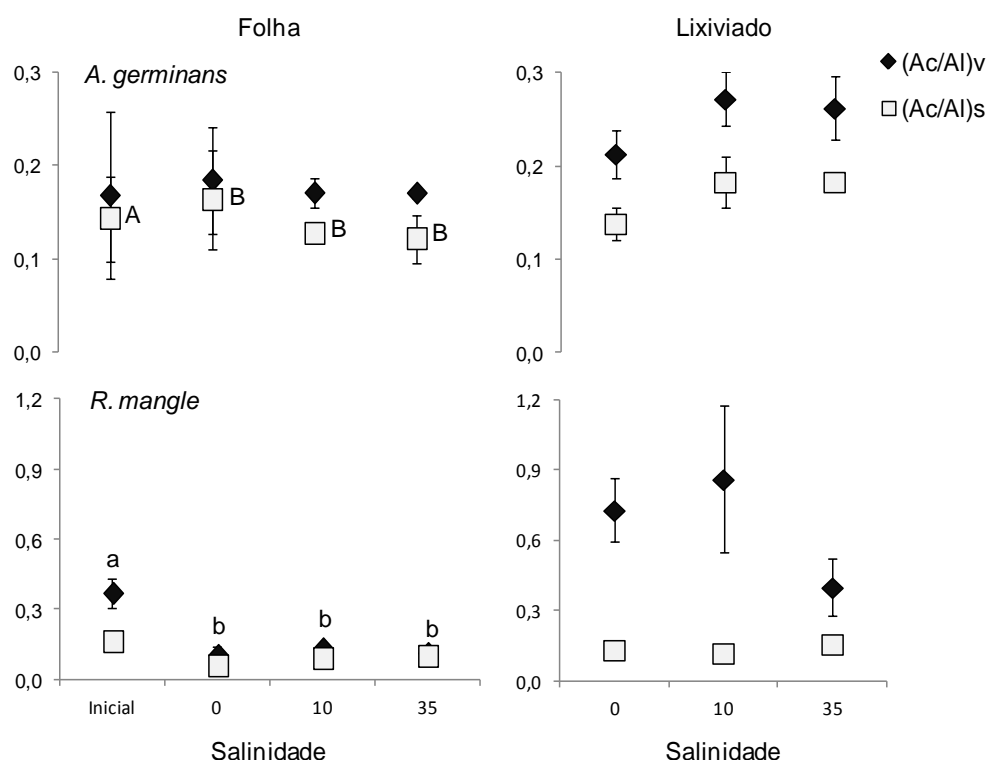
**Figura 10:** Razões S/V e C/V da folha, inicial e final, e do lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada na razão S/V e maiúsculas na razão C/V ao longo do gradiente de salinidade por espécie.

No que diz respeito a razão C/V, os valores se mostraram mais variáveis. Os valores encontrados nas folhas diferiram ( $p < 0,01$ ) entre as espécies e o tratamento. As folhas de *R. mangle* (1,31-3,52) apresentaram os maiores valores após a lixiviação em relação a *A. germinans* (1,00-1,35). Desta vez, *A. germinans* se mostrou mais estável, não sendo observadas diferenças das folhas submetidas ou não a lixiviação (qualquer tratamento). No entanto, para *R. mangle* pode-se destacar as folhas lixiviadas com o tratamento de salinidade 0 (3,52) apresentando o maior valor, diferindo das demais ( $p < 0,001$ ). Além disso, as folhas não submetidas a lixiviação diferiram dos tratamentos 0 e 10.

No lixiviado, por sua vez, as espécies diferiram entre si ( $p < 0,01$ ), com *R. mangle* apresentando os maiores valores, assim como nas folhas. Novamente, *A. germinans* não exibe diferenças entre os tratamentos. Do mesmo modo, para *R. mangle*, os valores da razão C/V também não parecem ser influenciados pelas

diferentes salinidades. No entanto, os valores do lixiviado foram relativamente menores do que os das folhas, com diferença significativamente ( $p < 0,001$ ) para o tratamento com salinidade 0 de *R. mangle*.

As razões Ac/Al tem sido utilizadas para inferências quanto ao nível de degradação da MO. Na Figura 11 é mostrada a variação da razão Ac/Al (V e S) em função da lixiviação. A razão (Ac/Al)<sub>v</sub> não diferiu entre as espécies, com os valores de *A. germinans* bem homogêneos (0,17-0,18) e os valores de *R. mangle* variando de 0,10 a 0,37. Destaca-se as folhas de *R. mangle* não submetidas a lixiviação por apresentarem o maior valor, diferindo estatisticamente dos outros ( $p < 0,001$ ).



**Figura 11:** Razões (Ac/Al)<sub>v</sub> e (Ac/Al)<sub>s</sub> do material particulado/folha, inicial e final, e dissolvido/lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (n=3, barras indicam desvio padrão). Letras minúsculas distintas indicam diferenças significativas considerando a variação observada na razão (Ac/Al)<sub>v</sub> e maiúsculas na razão (Ac/Al)<sub>s</sub> ao longo do gradiente de salinidade por espécie.

No lixiviado, por outro lado, os valores da razão (Ac/Al)<sub>v</sub> diferiram entre as espécies ( $p < 0,001$ ), com *R. mangle* exibindo os maiores valores (0,40-0,86) em relação a *A. germinans* (0,21-0,27), sem mostrar diferenças entre os tratamentos. A não ser em relação ao tratamento com salinidade 35 que diferiu do tratamento 10 para *R. mangle*, exibindo menor valor (0,40). Comparando os valores das folhas

submetidas a lixiviação com o determinado no lixiviado, as folhas de *A. germinans* tiveram menores valores em relação ao lixiviado ( $p < 0,05$ ) nos tratamentos com salinidade 10 e 35. No entanto, esse padrão foi observado para *R. mangle* no tratamento 0.

A razão (Ac/Al)s foi maior nas folhas de *A. germinans* em relação as folhas de *R. mangle* ( $p < 0,001$ ). Os valores variaram de 0,12 a 0,16 e 0,06 a 0,16 para *A. germinans* e *R. mangle*, respectivamente. O maior valor observado para *R. mangle*, foi determinado na folha não submetida a lixiviação (0,16), após a lixiviação há um tendência de diminuição da razão, porém sem diferença estatística. Para *A. germinans* também não há variação, e os valores permaneceram ainda mais homogêneos.

No lixiviado, os valores da razão (Ac/Al)s foram maiores em *A. germinans*, porém mais uma vez não exibe efeito dos diferentes tratamentos. Comparando os valores determinados nas folhas com seus respectivos no lixiviado, apenas *R. mangle* na salinidade 0 exibe diferença estatística ( $p < 0,05$ ). O valor do lixiviado (0,13) para essa espécie foi maior em relação a folha (0,06). Os dados referentes aos fenóis de lignina podem ser visualizados no anexo IV e V desta dissertação.

## 7. Discussão

### 7.1 Lixiviação da MOD

Neste estudo observa-se claramente que uma grande quantidade de carbono na forma dissolvida é liberada da vegetação. Isso evidencia a importância das plantas de manguezal como fontes de carbono (Wang *et al.*, 2014). Acompanhado a isso, também se verifica grandes perdas de massa da vegetação exposta à lixiviação. A rápida perda de massa inicial é atribuída a simples lixiviação de substâncias orgânicas e inorgânicas hidrolisáveis (Rice e Tenore, 1981).

Trabalhos clássicos (Rice e Tenore, 1981; Twilley *et al.*, 1986; Benner *et al.*, 1990; Ibrahima *et al.*, 1995; France *et al.*, 1997) e a literatura contemporânea (Pokharel e Obrist, 2011; Moll, 2011; Wang *et al.*, 2014) vêm mostrando tal efeito da lixiviação na perda de massa das folhas, porém as diferenças metodológicas, incluindo o tempo de incubação e a solução aquosa usada, assim como a omissão de algumas importantes informações metodológicas, não permitem uma padronização, podendo ser responsável pela variação dos resultados encontrados (Tabela 3).

No presente estudo, independente da salinidade, em apenas uma semana verificou-se a perda de massa de 6 a 30%, com *A. germinans* apresentando claramente uma maior perda de massa foliar. Já tem sido descrito, em experimentos de campo, que essa espécie é mais suscetível a decomposição de modo geral (Twilley *et al.*, 1986; Matos, 2007; Lima, 2013). A perda de massa pode indicar uma alta proporção de compostos facilmente solubilizáveis em água (Chale, 1993). Estima-se que a lixiviação possa contribuir para cerca de 47% da perda de massa, e os 53% restantes seja atribuído a fragmentação (Cummins *et al.*, 1972).

**Tabela 3:** Comparação da Perda de massa (%) sob diferentes metodologias. Os valores do presente estudo expressam a faixa de variação nos três tratamentos (salinidade 0, 10 e 35) ao final do experimento (n=3).

Massa	Volume	Fonte de água	Tempo	Espécie	Massa Total Perdida (%)	Referência
10 g	1,8 L	Ultrapura com NaCl (0,10 e 35)	7 dias	<i>Avicennia germinans</i>	13 -30	<b>Este estudo</b>
				<i>Rhizophora mangle</i>	6-14	
10 g	610 L*	Marinha - filtrada	5, 10, 25, 50, 100 e 150 dias	<i>Gracilaria foliifera, Hypnea musciformis, Spatoglossum schroederi, Sargassum filapennidula, Sapartina alterniflora, R. mangle, A. germinans, Thalassia testudinum e Syringodium filiform</i>	20-65	Rice e Tenore, 1981
6-8,8 g	500 mL	Marinha - filtrada	2, 8, 24 e 48 horas	<i>R. mangle e A. germinans</i>	35-89	Twilley <i>et al.</i> , 1986
-	300 mL	Destilada	20 horas	<i>R. mangle</i> (folhas verdes, alaranjadas, amarelas, marrons)	21 (folhas senescentes amarelas)	Benner <i>et al.</i> , 1990
1 g	100 mL	Destilada	98 dias	<i>Avicennia marina</i>	40	Chale, 1993
5 g	1 L	Destilada	1, 6, 24, 72, 168 e 240 horas	<i>Castanea sativa, Fagus sylvatica, Quercus pubescens, Quercus coccifera, Quercus ilex, Cistus monspeliensis e Pinus halepensis</i>	50-80	Ibrahima <i>et al.</i> , 1995

10 g	100 mL	Destilada	1, 7, 14, 21 e 28 dias	Mix de folhas e tecido lenhoso de decíduas e coníferas	6-18	France <i>et al.</i> , 1997
50 g	1 L	Deionizada	1 hora	<i>Abies lasiocar</i> , <i>Acomastylis rossii</i> , <i>Deschampsia cespitosa</i> , <i>Caryocar costaricense</i> e <i>Hieronyma alchorneoides</i> (Folhas picadas)	<1-2	Cleveland <i>et al.</i> , 2004
1 unidade	250 mL	Marinha - filtrada	1, 2, 5, 10 e 21 dias	<i>R. mangle</i>	30	Davis III e Childers, 2007
30 g	15 mL	Ultrapura	18 meses	Floresta decídua mista, floresta de álamo, pinheiro e carvalho	5-31	Pokharel e Obrist, 2011
1 unidade	400 mL	Marinha - artificial (0, 10, 20 e 30 g.L <sup>-1</sup> )	10 segundos a 30 dias	<i>Aegiceras corniculatum</i> , <i>Avicennia marina</i> , <i>Bruguiera gymnorrhiza</i> , <i>Ceriops tagal</i> , <i>Rhizophora apiculata</i> e <i>Sonneratia caseolaris</i> ; <i>Acanthus ilicifolius</i> e <i>Derris trifoliata</i>	11-40	Moll, 2011

\* frascos inseridos em um tanque.

Os valores observados neste estudo encontram-se dentro da faixa relatada na literatura, apesar das diferenças metodológicas, como pode ser observado na Tabela 3. Rice e Tenore (1981), em um trabalho realizado com as mesmas espécies estudadas no presente trabalho, verificou uma perda em torno de 20% da massa seca original em 150 dias de experimento. Por outro lado, Twilley *et al.* (1986), encontrou perda de massa após 148 dias para *A. germinans* de 79-89% e 35-54% para *R. mangle*, e neste caso de forma similar ao presente estudo, *A. germinans* se mostra mais suscetível.

Outros trabalhos utilizaram apenas *R. mangle* em seus experimentos, tais como o de Benner *et al.* (1990), que verificaram a perda de massa seca para folhas senescentes amareladas de *R. mangle* em torno 20,6% durante a lixiviação, em apenas 20h. Há também o de Davis III e Childers (2007), no qual a perda de massa de *R. mangle* por processos abióticos foi de aproximadamente 18% em apenas 2 dias.

Outros autores utilizando espécies do mesmo gênero também encontraram valores semelhantes. Chale (1993), em apenas 24h de experimento de lixiviação verificou a perda de massa em *Avicennia marina* de 18%, após essa perda inicial a degradação foi mais lenta, com perda de 40% em 80 dias. Em contrapartida, Moll (2011) constatou a perda de massa para essa mesma espécie no mesmo período de tempo em torno de 14%, e 36% após 30 dias. Wafar *et al.* (1997) verificou maior perda de massa para *Avicennia officinalis*, com a constante de decomposição de 4-5 vezes maior em comparação a *Rhizophora mucronata* e *Rhizophora apiculata*.

Tem-se ainda trabalhos com espécies arbóreas florestais, como Ibrahima *et al.*, (1995), que observaram, após uma semana de imersão em água, perda de 7-15% de da massa inicial da serapilheira, em se tratando de coníferas e decíduas. Outros autores (France *et al.*, 1997; Cleveland *et al.*, 2004; Kalbitz *et al.*, 2006; Pokharel e Obrist, 2011; Klotzbucher *et al.*, 2011a; Steele e Aintkenhead-Peterson, 2013) também relatam perda de massa e/ou carbono em experimentos de lixiviação usando diversas espécies florestais. Sem contar os autores (Rice e Tenore, 1981; Maie *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2014) que realizaram experimentos com espécies típicas de marismas, os quais são ambientes semelhantes aos manguezais por estarem sujeitos a inundação, como pode ser observado na Tabela 3.

Os experimentos desses trabalhos mostraram uma ampla variação em relação ao tempo de lixiviação, podendo chegar em até 5 meses de incubação. Entretanto, tem sido visto que o processo de lixiviação tem importância ainda nas primeiras semanas. Rice e Tenore (1981) já descrevem que os 10 primeiros dias são essenciais para os efeitos de lixiviação, não sendo necessário, portanto, experimentos em maior período de tempo.

Além do efeito da lixiviação na perda de massa foliar, alguns estudos vêm mostrando que a salinidade também pode influenciar na quantidade de MOD liberada (Davis III e Childers, 2007; Steinke *et al.*, 1993 e Lush e Hynes, 1973 *apud* Moll, 2011; Steele e Aitkenhead-Peterson, 2013). No modelo conceitual clássico de decomposição da serapilheira, a lixiviação e a decomposição são controladas por processos microbianos e nenhuma consideração é dada as características químicas do meio no qual ocorre a lixiviação. Entretanto, a química da solução a qual a vegetação é exposta tem efeito na quantidade de carbono que é lixiviado como documentado por Steele e Aitkenhead-Peterson (2013).

Em se tratando de manguezais, torna-se interessante verificar os efeitos da lixiviação em virtude da salinidade, visto que esses ambientes estão sujeitos a alterações da mesma, baseado na amplitude de maré, aumento do nível dos oceanos, além de alterações na vazão do rio. Alguns estudos sugerem que há uma diminuição do processo de lixiviação devido ao aumento da concentração de íons salinos (Davis III e Childers, 2007; Green *et al.*, 2009; Steinke *et al.*, 1993 e Lush e Hynes, 1973 *apud* Moll, 2011). Em contrapartida, Steele e Aitkenhead-Peterson (2013) acreditam que a exposição ao sal pode ser favorável a lixiviação da MO.

No presente estudo, apesar da tendência de maior perda de massa nas menores salinidades, a força iônica não contribuiu para o aumento de perda de massa foliar. Entretanto, Steinke *et al.*, 1993 (*apud* Moll, 2011) verificaram maior diminuição na massa seca de *A. marina* na água com salinidade 16 em comparação com a 32. Em um estudo com *R. mangle*, Davis III e Childers (2007) observaram que a porcentagem de massa seca remanescente devido a lixiviação, considerando apenas o processo abiótico, foi maior na água com salinidade 16 em relação a água doce.

Além da perda de massa também é evidente a perda de carbono. A maior parte do carbono liberado via lixiviação está na forma de carboidratos e proteínas



(Wang *et al.*, 2014). Neste estudo, a liberação de carbono compreende cerca de 50% da massa foliar perdida, mostrando que outros elementos também contribuem para essa perda inicial de massa, como por exemplo, P, K, Ca, Mg e Mn (Tam *et al.*, 1990, Chale, 1993, Davis III e Childers, 2007). Cummins *et al.* (1972) verificou que compostos de nitrogênio orgânico dissolvido foram rapidamente lixiviados das folhas, contribuindo para a perda de massa.

Outros trabalhos também indicam perda de outros elementos além do carbono. Em um experimento de 10 dias realizado por Ibrahima *et al.* (1995) com espécies de decíduas, o carbono contribuiu para cerca de 50-80% da perda de massa. No entanto, no estudo realizado por Davis III e Childers (2007), a perda de carbono contribuiu apenas para uma pequena porcentagem (<5%) da perda de massa no primeiro dia do experimento com *R. mangle*, período no qual houver maior perda de massa. Nesse mesmo experimento após três semanas, a perda de carbono contribuiu para 30% da perda de massa devido a lixiviação em folhas de *R. mangle*.

A perda de carbono acompanha a perda de massa (os valores de perda de massa e carbono podem ser visto no anexo III deste documento). Novamente, os valores encontrados estão de acordo com a literatura (Rice e Tenore, 1981; Ibrahima *et al.*, 1995; Twilley *et al.*, 1997; Davis III *et al.*, 2003; Maie *et al.*, 2006; Moll, 2011; Steele e Aitkenhead-Peterson, 2013). Para *A. germinans* a perda de carbono foliar foi entre 12-23%, e para *R. mangle* 10-13% em uma semana de lixiviação. Twilley *et al.* (1997) verificaram uma perda de carbono da serapilheira de 20-40% em um período de 10-14 dias devido a lixiviação com água do mar.

Do mesmo modo, Rice e Tenore, (1981) observaram uma diminuição de ~ 20% do carbono nas mesmas espécies deste estudo. Maie *et al.* (2006), verificou lixiviação de 43% de COD em *R. mangle* em apenas uma semana. Steele e Aitkenhead-Peterson (2013) observaram uma lixiviação do carbono total da vegetação entre 0,5 e 17% em apenas 24 horas. Ibrahima *et al.* (1995), por sua vez, verificou que 11-17% do carbono inicial foi lixiviado, a cada 100 g de serapilheira, 5-8g de carbono, sendo que a maior perda de carbono ocorreu entre 24-72h de experimento.

Ao se comparar as duas espécies aqui estudadas, observa-se claramente maior liberação de COD por parte de *A. germinans* em relação a *R. mangle*,

chegando a atingir uma ordem de grandeza a mais ao final do experimento. Em espécies do mesmo gênero foi descrito menores valores para *R. mangle*, com *Rhizophora apiculata* apresentando valores intermediários e *A. marina*, os maiores valores com base nos fluxos de COD (Davis III *et al.*, 2003; Maie *et al.*, 2006; Moll, 2011).

Alguns autores apesar de relatarem influência da salinidade na perda de massa, não observaram o mesmo para a concentração de carbono (Davis III e Childers, 2007; Steinke *et al.*, 1993 *apud* Moll, 2011), assim como no presente trabalho. Contudo, um estudo realizado com folhas senescentes de árvores decíduas mostrou que há uma liberação de COD mais rápida em ambientes de água doce em relação aos marinhos (Lush e Hynes, 1973 *apud* Moll, 2011). Green *et al.* (2009) também afirmam que a salinidade tem efeitos na MOD tanto em experimentos de curto tempo realizados em laboratório, quanto em experimentos de campo. Segundo esses autores, concentrações mais elevadas de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$  diminuem o COD em solução.

Por outro lado, Steele e Aitkenhead-Peterson (2013) acreditam que aumentos na concentração de COD podem ocorrer em função do aumento de Na e sugerem que a exposição ao sal pode ser favorável a lixiviação da MO. Ainda segundo tais autores, a vegetação exposta a águas salgadas terão o carbono e nitrogênio alterado da fase particulada para a dissolvida, contribuindo com uma concentração mais elevada de COD se comparado com a lixiviação do COD em água doce.

Vale ressaltar que esses autores consideraram a salinidade de diferentes maneiras. Eles utilizaram a SAR (razão de adsorção de  $\text{Na}^+$ , com maior proporção deste íon) e observaram efeito na massa de COD liberado em 24 horas, com aumento da SAR nos tecidos das plantas. Esses autores também testaram a salinidade, como concentração total de íons, e viram que não existe uma tendência entre a salinidade e a lixiviação do COD. Além disso, eles afirmam que a concentração dos íons  $\text{Na}^+$  ou  $\text{Ca}^{2+}$  sozinhos não se relacionam com a perda de massa de COD e NOD. Entretanto, o uso de NaCl na solução para lixiviação reduz a massa de COD liberado. Em contrapartida, aumento na condutividade elétrica contribui para aumentar a lixiviação em qualquer tratamento ( $\text{NaCl}-\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaHCO}_3-\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaCl}+\text{CaCl}_2$ ) utilizado por eles (Steele e Aitkenhead-Peterson, 2013).

Moll (2011) também não encontrou nenhuma diferença estatística entre a quantidade de COD lixiviado nos tratamentos (quatro salinidades testadas 0, 10, 20 e 30) para a maioria das espécies, incluindo as espécies do gênero *Rhizophora* (*R. apiculata*) e *Avicennia* (*A. marina*). Apesar da maior parte das espécies mostrarem maior concentração de COD em água destilada, a salinidade teve pouco ou nenhum efeito na taxa de lixiviação de COD (Moll, 2011).

De fato, a pressão osmótica da água ultra pura (Milli-Q) é diferente da água natural, especialmente em relação a água salgada. Sendo assim, algumas células podem não tolerar a mudança repentina na pressão osmótica e estourar no início do período de incubação com água doce, levando a uma liberação inicial mais rápida de MOD (Maie *et al.*, 2006). No entanto, isso não foi verificado e, conseqüentemente, o efeito da salinidade não pode ser generalizado assim como ocorre para as variações entre as espécies.

Ao se comparar os valores de COD no lixiviado com os valores em um canal de maré no manguezal de Gargaú, no qual foram coletadas as amostras para o presente experimento, verificamos claramente maiores valores no lixiviado. No manguezal a concentração do COD, varia entre  $3,5 \pm 0,2 \text{ mg.L}^{-1}$  na estação seca e  $5,0 \pm 2,2 \text{ mg.L}^{-1}$  na estação chuvosa (Brito, 2014). Os menores valores de COD no ambiente natural sugerem que o mesmo seja rapidamente consumido e/ou exportado. O processamento foliar no ambiente natural também irá variar de acordo com as espécies arbóreas e com a fauna que irá consumir os detritos foliares (caranguejos, por exemplo) (Moll, 2011). Durante a incubação em laboratório tais fatores são de fato excluídos.

Além disso, apesar de não ter sido usado um agente antimicrobiano no presente estudo, acredita-se que, se houve, a contribuição microbiana foi mínima para o consumo de carbono. Em alguns estudos semelhantes, bactérias foram encontradas somente a partir de 10 dias ou após três semanas de incubação (Cundell *et al.*, 1979; Davis III e Childers, 2007). As folhas de *R. mangle* submersas na coluna d'água do estuário não foram inicialmente colonizadas por microrganismos (Cundell *et al.*, 1979). E ainda segundo Davis III e Childers (2007), o processo de lixiviação foi mais importante que a degradação microbiana em relação à massa de carbono liberado ao longo das primeiras três semanas.

Entretanto, não se pode desconsiderar totalmente o consumo microbiano. Devido a não utilização de biocidas, os dados aqui apresentados representam uma estimativa, uma vez que algum microrganismo pode ter se desenvolvido a partir da superfície foliar, mesmo que tenha sido limpa a superfície foliar antes de iniciar o experimento, e consumido o substrato orgânico (ex.: COD, NOD, POD).

Um fato curioso é o não fechamento do balanço de massa em relação ao que foi perdido pela folha e o que foi determinado no lixiviado. Isso pode ser devido a dois principais fatores, a saber: 1) adsorção da MOD nas paredes dos frascos de vidro utilizados no experimento, o que de fato ocorre, como verificado em um experimento piloto realizado anteriormente; 2) uma redução da MOD através da floculação física (Cummins *et al.*, 1972); 3) consumo microbiano da MOD (Cummins *et al.*, 1972), como foi descrito acima, por bactérias e fungos (Cundell, *et al.*, 1979); e 4) perda de carbono pela formação de compostos voláteis.

De fato, nos estuários é verificado o processo de coagulação com posterior floculação da MOD (Laurier *et al.*, 2003). Dessa forma, grande parte do material em suspensão pode sedimentar devido a floculação ao entrar em contato com a água do mar com um pH alcalino e maior força iônica (Lacerda, 1983), resultando em precipitação do COD em um gradiente de condutividade elétrica (Goñi *et al.*, 2003).

Moll (2011) também relata que provavelmente a concentração máxima medida de COD não representa o máximo liberado, uma vez que, microrganismos poderiam ter sido trazidos junto as folhas que não foram limpas no início do experimento. Cerca de 28 espécies diferentes de fungos marinhos podem crescer em árvores de *Avicennia* e *Rhizophora*. As folhas de *R. mangle* podem ser colonizadas de 75-100% dentro das primeiras 24h de submersão foliar. Em um estudo anterior, folhas de *R. mangle*, foram submetidas a água pura e com adição de azida sódica (bactericida) e mostrou que parte do COD lixiviado pode ser consumido por microrganismos dentro de três dias após a lixiviação (Maie *et al.*, 2006).

Diferenças na lixiviação estão relacionadas à composição química e estrutural da espécie e estágio de desenvolvimento da planta. Em relação à composição foliar, a presença de proteínas, polifenóis, lipídeos e taninos podem explicar as diferentes taxas de lixiviação (Wafar *et al.*, 1997). Geralmente, quanto mais retículos de lignina e celulose, mais resistente será o material em relação aqueles com minerais solúveis, nitrogênio orgânico e outros compostos hidrolisáveis (Rice e Tenore, 1981).

A taxa de decomposição pode ser menor em *R. mangle* devido a seus altos níveis de inibidores, tais como taninos (Ashton *et al.*, 1999). Além do tanino, a presença de cutículas cerosas e epidermes grossas podem retardar a decomposição (Cundell *et al.*, 1979). Além disso, as folhas do gênero *Avicennia* são mais finas que as de *Rhizophora* e tendem a se fragmentar mais facilmente, e conseqüentemente exibem uma decomposição mais rápida (Wafar *et al.*, 1997).

Por conseguinte, *A. germinans* possui características fisiológicas específicas por ser uma planta sal excretora (Tomlinson, 1986; Schaeffer-Novelli, 1995; MacFarlane e Burchett, 1999). Além disso, outra característica se destaca no que diz respeito à morfologia de suas folhas. Tem sido relatada na literatura que essa espécie apresenta no geral uma elevada densidade de tricomas ao longo de toda superfície foliar (Tomlinson, 1986). A presença de tricomas nas folhas pode conferir a espécie maior área de contato, permitindo maior exposição da área foliar para lixiviação da MOD.

Moll (2011) explica que a alta concentração de COD liberado por folhas de *A. marina* poderia ser devido aos defeitos foliares pela presença de larvas de insetos. Nesse estudo, no entanto, não foi contabilizado a presença ou ausência de insetos e/ou danos nas folhas. Contudo, se esse gênero (*Avicennia*) é mais suscetível à colonização por parte dos organismos, um aumento da área superficial total pode resultar em maiores taxas de atividade microbiana e lixiviação.

Os maiores valores de pH e condutividade ao final do experimento para *A. germinans* corroboram o fato de tal espécie liberar mais solutos em solução que *R. mangle*. Grandes quantidades de solutos podem ser liberados pela vegetação em solução, ocasionando o aumento da condutividade elétrica (Steele e Aitkenhead-Peterson, 2013). Além disso, os resíduos vegetais podem promover a elevação do pH (Pavinato e Rosolem, 2008).

De forma geral, observa-se maior taxa de decomposição em folhas que apresentam maior teor de nitrogênio e menor razão (C/N)<sub>a</sub> (Twilley *et al.*, 1986; Mckee e Faulkner, 2000). No presente estudo, tais características foram observadas para a espécie *A. germinans* em comparação a *R. mangle*. Esses resultados estão de acordo com o padrão descrito por Matos *et al.* (2012), o qual avaliou as taxas de decomposição nas folhas de serapilheira das mesmas espécies no manguezal do rio Paraíba do Sul, destacando *A. germinans* como a espécie que apresentou a maior

taxa de decomposição ( $k=1,95$ ) e o menor tempo de meia-vida (64 dias), ou seja, o tempo necessário para que ocorra a decomposição de 50% de suas folhas.

O teor de nitrogênio também parece ser determinante não apenas para decomposição, mas também para a lixiviação. De modo geral, folhas com maior teor de nitrogênio exibem uma maior perda de massa associado primeiramente com a lixiviação (France *et al.*, 1997). Na literatura essa diferença de teor de nitrogênio tem sido descrita (Rice e Tenore 1981; Twilley *et al.*, 1986; Mckee e Faulkner, 2000; Bernini *et al.*, 2006; Ribas, 2012;), assim como a maior decomposição para *A. germinans* (Matos *et al.*, 2012).

Rice e Tenore (1981) já descrevem que os detritos foliares de *A. germinans* contém uma maior quantidade de compostos solúveis de carbono e nitrogênio em relação a *R. mangle* o que contribui para maior lixiviação de COD, assim como maior perda de massa daquela espécie. Os maiores valores de nitrogênio após a submersão foliar e os menores valores encontrados nos lixiviados indicam que a solubilidade do nitrogênio depende da complexidade dos compostos em que ele está presente (Ibrahima *et al.*, 1995). Devido aos menores valores de nitrogênio no lixiviado, a razão (C/N)<sub>a</sub> possui maiores valores comparado ao determinado nas folhas.

Os valores de razão (C/N)<sub>a</sub> encontrados neste estudo para ambas as espécies nas folhas e lixiviados foram maiores que 20, o que de fato era esperado, por se tratar de plantas vasculares, as quais apresentam uma estrutura rica em lignina, carboidratos e pobre em proteínas (Hedges *et al.*, 1997; Prasad *et al.*, 2010). Tal razão é usada como um índice de qualidade, sendo considerada como fator que regula a velocidade de decomposição (Melillo *et al.*, 1982; Ibrahima *et al.*, 1995).

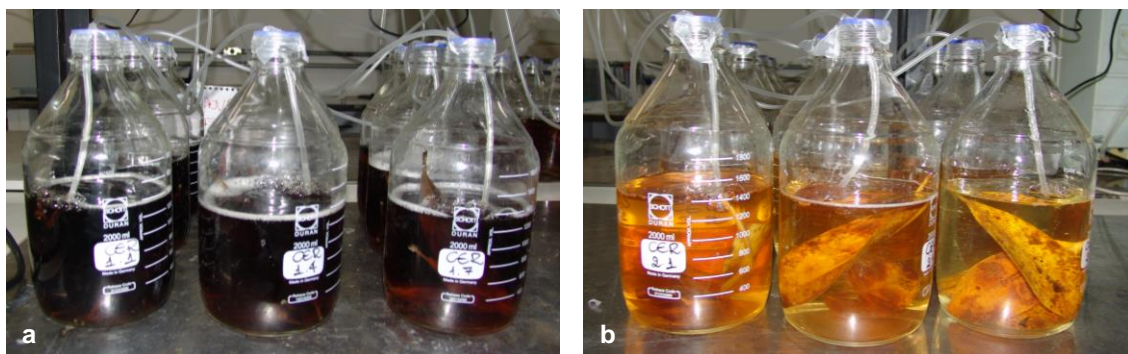
No presente estudo, a razão (C/N)<sub>a</sub> praticamente não se alterou durante a lixiviação. O mesmo foi observado por Ibrahima *et al.* (1995), em que a dinâmica inicial de lixiviação pareceu não influenciar esse parâmetro. Isso pode ser explicado pela decomposição resultar de processos microbianos, e em contrapartida, a lixiviação, processo físico-químico não sendo capaz de afetar tal razão.

De modo geral, a salinidade parece não afetar os valores de composição isotópica, tanto de nitrogênio quanto de carbono, durante a lixiviação. As variações observadas são atribuídas a diferenças características de cada espécie, com *A.*

*germinans* apresentando valores mais pesados. Ribas (2012), em seu trabalho com as mesmas espécies coletadas no mesmo sítio, também encontrou valores semelhantes ao relatados neste estudo e, igualmente os valores de *A. germinans* foram mais pesados em relação a *R. mangle*.

Vale ressaltar o enriquecimento da  $\delta^{13}\text{C}$  nas folhas após o experimento de lixiviação e os valores mais leves no lixiviado, neste estudo, sugerindo a liberação de compostos deplecionados em  $\text{C}^{13}$ , como por exemplo, a lignina. O  $\text{C}^{13}$  está praticamente ausente em tal molécula em relação a MO como um todo (Benner *et al.*, 1987; Gandois *et al.*, 2014), e sua liberação para a solução contribui para valores mais leves da  $\delta^{13}\text{C}$  no lixiviado.

A água usada na lixiviação começa a apresentar uma coloração logo a partir de 24h de experimento. Ao final de uma semana a coloração era bem forte sugerindo que um alto teor de matéria orgânica foi de fato liberado do material foliar (Figura 12). Chale (1993), em seu experimento com *A. marina* também relata tal fato. Ademais, é possível verificar a coloração mais forte do lixiviado em *A. germinans* em relação a *R. mangle*. Sendo assim, apenas com base nessas fotografias já fica evidente a maior liberação de MO por parte de *A. germinans*, fato corroborado pela maior perda de massa foliar e maior liberação de COD, como discutido anteriormente nesta seção.



**Figura 12:** Frascos usados no experimento de lixiviação após uma semana de incubação, (a) *Avicennia germinans* e (b) *Rhizophora mangle*.

Se considerarmos que no ambiente natural o movimento da maré e ação das ondas resulta numa turbulência, a quantidade de carbono liberado no experimento sem movimento na água foi significativo. Sendo assim, a dinâmica de lixiviação e taxa de liberação de carbono é bem maior no ambiente do manguezal (Wang *et al.*,

2014). No ambiente natural a liberação de COD é relevante, visto que, o carbono lixiviado pode precipitar-se como partículas coloidais, devido a coagulação e floculação, como dito anteriormente, tornando-se disponível para microrganismos (Ibrahima *et al.*, 1995; Moll, 2011).

Em um trabalho anterior realizado no manguezal do rio Paraíba do Sul, foi contabilizada a produção total de serapilheira para as mesmas espécies do presente estudo. Foi verificada maior produção para a floresta de *R. mangle* ( $4,26 \pm 2,84 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ ), em relação a *A. germinans* ( $3,59 \pm 3,18 \text{ g.m}^{-2}.\text{dia}^{-1}$ ) (Bernini e Rezende, 2010). Outro trabalho realizado na mesma região com as mesmas espécies revela a área basal das três espécies que ocorrem na região. Tais autores encontraram que *A. germinans* foi dominante em termos de área basal (53%), seguida por *Laguncularia racemosa* (28%) e *R. mangle* (19%) (Bernini e Rezende, 2011).

Considerando os dados de produção de serapilheira relatados por Bernini e Rezende (2010) juntamente com a liberação de COD, deste estudo, para cada espécie, observa-se que *A. germinans* contribui para aproximadamente  $7,2 \text{ kg C.ha}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ , enquanto *R. mangle* contribui apenas com  $5,1 \text{ kgC.ha}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ . Tal informação mostra a importância relativa de cada espécie para a MOD que é liberada no ambiente natural, enfatizando a *A. germinans* como principal contribuidora.

Independente da salinidade, previsões para o aumento do nível do mar (0,75 a 1,90 metros) no final deste século (Vermeer e Rahmstorf, 2009) poderá causar inundações nas regiões costeiras, incluindo áreas dominadas por manguezais. Tais inundações poderão provocar a liberação de uma fração significativa de COD a partir da lixiviação dos tecidos foliares em um período de tempo relativamente curto (Wang *et al.*, 2014). Além disso, uma lixiviação duradoura poderia transformar a serapilheira em um material mais facilmente biodegradável (Ibrahima *et al.*, 1995). E isto representa uma importante fonte de carbono lábil não apenas para as regiões costeiras, mas também para o oceano, e atmosfera como consequência da respiração (Wang *et al.*, 2014).



## 7.2 Transformação dos Fenóis de Lignina

Os rios recebem dos ambientes terrestres cerca de 1,9 Pg C ano<sup>-1</sup>, em contrapartida, exportam para o oceano aproximadamente 0,9 Pg C ano<sup>-1</sup>, em relação a carbono orgânico. Isso torna claro que grande parte da lignina é degradada ou conservada nos ambientes aquáticos terrestres (Jex *et al.*, 2014). De forma contrária ao que se imaginava, a lignina presente nos tecidos foliares de plantas de manguezal, diferentemente dos demais tecidos de plantas vasculares, é perdida a praticamente na mesma taxa que os polissacarídeos. Efetivamente polímeros grandes e relativamente insolúveis, como esses são também suscetíveis à lixiviação (Benner *et al.*, 1990).

Os valores de  $\lambda_8$  determinados no lixivado de ambas as espécies, neste estudo, foram próximos aos encontrados no material foliar não submetido a lixiviação. Isto indica que parte considerável da lignina se dissolve, sendo liberada certamente como MOD. Além disso, os valores das folhas após a submersão também foram menores, corroborando o fato da lignina ser liberada em função da lixiviação. Este resultado, contraria várias referências clássicas que afirmam ser estes fenóis compostos conservativos e não seriam facilmente perdidos, e, portanto, um excelente indicador das fontes vasculares (Hedges e Mann, 1979; Hedges e Ertel, 1982; Ertel e Hedges, 1984).

Tal fato já havia sido mencionado, na década de 90, por Benner *et al.* (1990), que destacaram em seus resultados a liberação de parte dos fenóis de lignina para fração dissolvida. Esses autores encontraram valores de  $\lambda_8$  na folha senescente de *R. mangle* em torno de 2,89 mg.100 mg CO<sup>-1</sup> e no lixiviado 3,17 mg.100 mg CO<sup>-1</sup>. Apesar disso essa discussão ficou negligenciada ao longo das últimas décadas sendo retomada por Hernes *et al.* (2007).

Tecidos com maior quantidade de lignina são ditos mais resistentes a degradação (Ertel e Hedges, 1984; Kalbitz *et al.*, 2006; Feng *et al.*, 2011; Jex *et al.*, 2014). No entanto, neste estudo, *A. germinans* apesar de exibir um maior teor de lignina (aproximadamente duas vezes maior) em comparação com *R. mangle*, apresenta maior perda de massa, como discutido na seção anterior. Dessa forma, não pode ser atribuída exclusivamente a lignina a estabilidade dos tecidos foliares

em termos de suscetibilidade a lixiviação. E novamente, a salinidade parece não influenciar nos rendimentos fenólicos, e conseqüentemente nas razões de lignina.

Em ambientes aquáticos a lignina pode ter seu sinal alterado devido à mobilização e translocação da lignina dissolvida (Jex *et al.*, 2014). E, devido a isso, a composição do polímero remanescente na planta pode diferir daquele que foi lixiviado do material vegetal (Benner *et al.*, 1990). O fracionamento da MO nas fases dissolvida e particulada é acompanhado pelo fracionamento de seus componentes moleculares. Isso pode ocorrer pela diferente solubilidade e superfície reativa de cada composto. E, de fato, os monômeros da lignina (fenóis) possuem diferentes reatividades (Hernes *et al.*, 2007).

A maior parte dos estudos de degradação da lignina utilizam a razão Ac/Al como indicador do estado diagenético (Hernes *et al.*, 2007). E se tratando de lixiviação, os maiores efeitos tendo sido relatados para tal razão entre a folha e fração lixiviada. A razão Ac/Al na lignina dissolvida, tais como as substâncias húmicas, pode ser relativamente alta em virtude da solubilização da MO (Benner *et al.*, 1990; Hernes *et al.*, 2007; Gandois *et al.*, 2014; Jex *et al.*, 2014), mesmo na ausência de degradação biológica (Benner *et al.*, 1990).

Essa tendência de maiores valores da razão (Ac/Al)<sub>v</sub> nos lixiviados podem ser observados neste estudo. Para *R. mangle* o aumento chegou a atingir cerca de 78% (com base na média dos tratamentos) comparando os valores determinados nas folha com os do lixiviado. Para *A. germinans*, no entanto, os maiores valores no lixiviado para razão (Ac/Al)<sub>v</sub> foram observados principalmente nas salinidade 10 e 35, e o aumento foi mais discreto (47%). Considerando-se que praticamente não houve decomposição microbiana durante o experimento, tais valores superiores nos lixiviados indicam que realmente a lixiviação é capaz de alterar tal parâmetro.

Diferentemente dos resultados descritos neste estudo, em que a lixiviação altera os valores da razão (Ac/Al)<sub>v</sub>, Lima (2013) em um experimento de decomposição *in situ* utilizando sacos de serapilheira, com as mesmas espécies deste trabalho, constatou que essa razão não se alterou de forma significativa no material foliar remanescente, mantendo-se constante. Neste caso, a presença de microrganismos era evidente e não se mostrou alterar tal parâmetro, enfatizando a importância do processo abiótico.

No estudo de Benner *et al.* (1990), com *R. mangle*, o ácido vanílico foi recuperado em altos rendimentos no lixiviado. Fato que contribui para a elevada razão (Ac/Al)<sub>v</sub> (0,71) em relação ao material foliar (0,29), sugerindo que os componentes estruturais da lignina que originam o ácido vanílico são mais solúveis em água e provavelmente tem menor peso molecular que o núcleo da lignina.

Do mesmo modo, Hernes *et al.* (2007) em seu experimento com angiospermas e gimnospermas de regiões temperadas, também verificaram alta razão (Ac/Al)<sub>v</sub> no lixiviado (0,5), cerca de duas vezes maior em relação a serapilheira (0,27). Tais autores atribuíram essa diferença simplesmente a solubilização da MO. Esses autores afirmam, ainda, que a MOD ainda fresca e jovem pode apresentar uma assinatura diagenética de MO degradada por ser formada a partir da serapilheira via lixiviação. E acrescentam o processo de sorção da MOD nos solos como contribuinte para tais aumentos na razão Ac/Al. Esses dois processos somados, são mais importantes que a decomposição microbiana ou a foto-oxidação para o estabelecimento da MOD em sistemas de água doce.

Baseado nisso, a MOD pode apresentar uma elevada razão Ac/Al em comparação com o material particulado de mesma “idade”. Assim, surgiu um paradigma de que a MOD é mais degradada e que a MO nos rios representa remanescentes de plantas vasculares altamente degradados nos solos (Hernes *et al.*, 2007). Dessa forma, parâmetros usados para verificar a decomposição da MO podem ser mal interpretados como uma assinatura de degradação em ambientes onde simplesmente ocorreu uma mudança de fase, tendo seu uso duvidoso ao comparar os fenóis do particulado com o dissolvido (Hernes *et al.*, 2007; Jex *et al.*, 2014).

Não apenas o aumento da razão Ac/Al pode ocorrer em virtude da lixiviação, também podem ser vistas diminuições dos fenóis do grupo V, comprometendo o uso das razões que distinguem fontes (Hernes *et al.*, 2007; Jex *et al.*, 2014). No presente estudo, os menores valores da razão S/V encontrados no lixiviado indicam que os fenóis S não se solubilizam facilmente, em contrapartida pode haver uma maior lixiviação dos fenóis V. Em comparação, a razão C/V também foi menor nos lixiviados foliares, o que indicaria matéria orgânica mais degradada, no entanto, tal fator pode ser atribuído a simplesmente maior lixiviação dos fenóis V. De fato, no

presente estudo, no entanto, os valores dos fenóis V foram maiores no lixiviado, mostrando sua solubilização.

Benner *et al.*, (1990) também encontraram uma menor razão S/V no lixiviado (0,61) em comparação com folhas senescentes (1,07). Segundo esses autores, tal fato indica que componentes estruturais da lignina que originam os fenóis síringicos, foram relativamente mais resistentes a lixiviação em relação aos componentes que originam os fenóis vanílicos. Contrariamente, no estudo de Hernes *et al.* (2007), para duas espécies arbóreas (pau-brasil e carvalho), a razão C/V foi maior no lixiviado podendo refletir as instáveis ligações dos fenóis do grupo C. Tal aumento da razão, segundo esses autores, poderia levar a uma subestimação da contribuição da MOD se apenas os valores da serapilheira forem considerados. Porém, para as demais espécies usadas em seu estudo, tal razão diminuiu.

Hernes *et al.* (2007) também relatam que os fenóis do grupo V podem ser afetados em função da lixiviação. Em seu estudo, o grupo V foi 43% menor no lixiviado em comparação com a serapilheira, indicando que a solubilização da MO pode ser importante fator para diminuição deste grupo na MOD. Esses autores consideraram apenas os fenóis do grupo V uma vez que já é conhecida a reatividade dos fenóis S e C em função de outros mecanismos de degradação, e sua diferença nas fontes de MO.

Sendo assim, os parâmetros usados para verificar a decomposição da MO podem ser mal interpretados como uma assinatura de degradação em ambientes onde simplesmente ocorreu uma mudança de fase (Jex *et al.*, 2014). Devido a isso, a lixiviação tem que ser levada em consideração, pois a MOD ainda “jovem” pode ter uma assinatura aproximada da lignina mais “antiga” gerando, portanto, equívocos nas interpretações das matrizes ambientais (Hernes *et al.*, 2007; Spencer *et al.*, 2008; Jex *et al.*, 2014).

Desse modo, ao utilizar lignina como traçador em ambientes aquáticos o grupo V do lixiviado deve ser usado como um marcador da MOD e não simplesmente o determinado nos detritos com se faz usualmente (Jex *et al.*, 2014). Existe um efeito direto da lixiviação sobre a razão Ac/Al, desse modo, as transformações da lignina podem ocorrer mais rápido na água intersticial do que no solo. No solo, a lignina pode ser preservada por séculos e milênios (Gandois *et al.*, 2014).

No entanto, apesar da degradação, o uso da lignina como biomarcador tem tido sucesso devido a baixa variação das razões S/V, C/V e Ac/Al em solos e sedimentos. Além do mais, outros marcadores da MO podem ser usados em conjunto para determinar fontes e grau de degradação, como por exemplo,  $\delta^{13}\text{C}$ , lipídeos e pólen (Jex *et al.*, 2014).

## 8. Conclusão

A partir dos dados de perda de massa e liberação de COD, fica evidente que uma grande quantidade de carbono é liberada da vegetação, evidenciando a importância das plantas de manguezal como fontes de carbono. Devido ao tipo de experimento realizado, a rápida perda de massa inicial é atribuída a simples lixiviação de substâncias orgânicas e inorgânicas hidrolisáveis. Além da liberação de carbono, que compreende cerca de 50% da massa foliar perdida, outros elementos também foram liberados contribuindo para a perda inicial de biomassa.

*A. germinans* claramente mostrou uma maior perda de massa foliar, assim como de carbono, mostrando maior importância em termos de contribuição para a MOD liberada no ambiente de manguezal. Essa espécie contribui com cerca de 40% a mais de COD em relação a *R. mangle*. Esse processo pode ser atribuído a diferenças na anatomia foliar. Por outro lado, a salinidade parece não afetar. Sendo assim, o efeito da salinidade não pode ser generalizado como ocorre para as variações interespecíficas.

Baseado nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\lambda_8$  fica evidente a liberação de lignina na forma dissolvida, contrariando diversos relatos que atribuíam resistência aos tecidos de plantas em função da presença de tal molécula. Arelado a isso, destaca-se o fato de *A. germinans*, apesar de exibir o maior teor de lignina, apresentar maior lixiviação. As razões Ac/AI, S/V e C/V parecem ser impactadas pela lixiviação porém nada conclusivo pode-se encontrar a respeito da salinidade. Em virtude da solubilização, a razão (Ac/AI)<sub>v</sub> se eleva, e em contrapartida, os valores das razões S/V e C/V diminuem no lixiviado, devido provavelmente a maior solubilização dos fenóis V.

Assim, destaca-se a importância na caracterização dos fenóis de lignina durante a lixiviação da MOD. Este tipo de estudo possibilita elucidar os mecanismos de transferência entre as fases, particulada e dissolvida, que geram sinais relativos a diagênese recente da matéria orgânica. Isto significa que parâmetros usados para verificar a decomposição da MO podem ser mal interpretados e os marcadores de lignina devem ser usados com cautela e integrados a outros marcadores.

## 9. Referências Bibliográficas

- Aitkenhead-Peterson, J. A.; McDowell, W. H.; Neff, J. C. 2003. Sources, production, and regulation of allochthonous dissolved organic matter inputs to surface waters. *Aquatic Ecosystems, Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Academic Press/Elsevier, San Diego, CA, 25–70.
- Aké-Castillo, J.A.; Vázquez, G.; López-Portillo, J. 2006. Litterfall and decomposition of *Rhizophora mangle* L. in a coastal lagoon in the southern Gulf of Mexico. *Hydrobiologia*, 559: 101-111.
- Aponte, C.; García, L. V.; Maranon, T. 2012. Tree species effect on litter decomposition and nutrient release in Mediterranean oak forests changes over time. *Ecosystems*, 15(7): 1204-1218.
- Ashton, E. C., Hogarth, P. J., e Ormond, R. 1999. Breakdown of mangrove leaf litter in a managed mangrove forest in Peninsular Malaysia. *Hydrobiologia*, 413, 77-88.
- Bahri, H.; Rasse, D. P.; Rumpel, C.; Dignac, M. F.; Bardoux, G.; Mariotti, A. 2008. Lignin degradation during a laboratory incubation followed by <sup>13</sup>C isotope analysis. *Soil Biology & Biochemistry*, 40: 1916–1922.
- Barber, L. B.; Leenheer, J. A.; Noyes, T. I.; Stiles, E. A. 2001. Nature and transformation of dissolved organic matter in treatment wetlands. *Environmental Science and Technology*, 35: 4805-4816.
- Bauer, J. E. e Bianchi, T. S. 2011. Dissolved Organic Carbon Cycling and Transformation. Treatise on Estuarine and Coastal Science. *Waltham: Academic Press*. 5: 7–67.
- Benner R.; Fogel M. L.; Sprague, K. E. 1991. Digenesis of belowground biomass of *Spartina alterniflora* in salt-marsh sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 36: 1358-1374.
- Benner, R. e Hodson, R. E. 1985. Microbial degradation of the leachable and lignocellulosic components of leaves and wood from *Rhizophora mangle* in a tropical mangrove swamp. *Marine Ecology Progress Series*, 23: 221.
- Benner, R. e Kaiser, K. 2011. Biological and photochemical transformations of amino acids and lignin phenols in riverine dissolved organic matter. *Biogeochemistry*, 102(1-3): 209-222.
- Benner, R., 2002. Chemical composition and reactivity. Em: Hansell, D.A., Carlson, C.A. (eds.), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, New York, NY, 59–85.
- Benner, R.; Fogel, M. L.; Sprague, E. K.; Hodson, R. E. 1987. Depletion of <sup>13</sup>C in lignin and its implication for carbon isotope studies. *Nature*, 329, n°6141: 708-710.
- Benner, R.; Maccubbin, A. E.; Hodson, R. E. 1984. Anaerobic biodegradation of the lignin and polysaccharide components of lignocellulose and synthetic lignin by sediment microflora. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(5): 998-1004.
- Benner, R.; Pakulski, J.; McCarthy, M.; Hedges, J.; Hatcher, P. G. 1992. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*, 255, 1561–1564.
- Benner, R.; Peele, E.R.; Hodson, R. E. 1986. Microbial utilization of dissolved organic matter from leaves of the red mangrove *Rhizophora mangle* in the Fresh Creek estuary, Bahamas. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 23(5): 607-619.
- Benner, R.; Weliky, K.; Hedges, J. I. 1990. Early diagenesis of mangrove leaves in a tropical estuary: Molecular-level analyses of neutral sugars and lignin-derived phenols. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 54: 1991-2001.
- Bernini, E. 2003. Estrutura da vegetação e concentração de nutrientes das folhas e do sedimento das espécies em florestas de mangue do estuário do Rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro,

Brasil. Dissertação de Mestrado. Campos dos Goytacazes – RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 84p.

- Bernini, E. e Rezende, C. E. 2004. Estrutura da vegetação em florestas de mangue do estuário do rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 18(3): 491-502.
- Bernini, E. e Rezende, C. E. 2011. Vegetation structure in a mangrove forest in Southeastern Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences, Rio Grande*, 6, 193-209.
- Bernini, E., e Rezende, C. E. 2010. Litterfall in a mangrove in Southeast Brazil. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 5(4), 508-519.
- Bernini, E., Silva, M. A. B. D., Carmo, T. M. S. D., e Cuzzuol, G. R. F. 2006. Chemical composition of sediments and leaves of mangrove species at the São Mateus river estuary, Espírito Santo State, Brazil. *Brazilian Journal of Botany*, 29(4), 689-699.
- Bouillon, S., Connolly, R. M., e Lee, S. Y. 2008. Organic matter exchange and cycling in mangrove ecosystems: recent insights from stable isotope studies. *Journal of Sea Research*, 59(1), 44-58.
- Brito, F. P. de 2014. Composição e Fluxo da Matéria Orgânica em um Canal de Maré no Ecossistema de Manguezal do Estuário do Rio Paraíba do Sul, Costa Norte do Rio de Janeiro. Dissertação. Centro de Biociências e Biotecnologia, Laboratório de Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 103p.
- Chabbi, A.; Rumpel, C. 2004. Decomposition of plant tissue submerged in an extremely acidic mining lake sediment: phenolic CuO-oxidation products and solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy. *Soil Biology & Biochemistry*, 36: 1161–1169.
- Chale, F. M. M. 1993. Degradation of mangrove leaf litter under aerobic conditions. *Hydrobiologia*, 257(3), 177-183.
- Cleveland, C. C.; Neff, J. C.; Townsend, A. R.; Hood, E. 2004. Composition, dynamics, and fate of leached dissolved organic matter in terrestrial ecosystems: results from a decomposition experiment. *Ecosystems*, 7(3): 175-285.
- Costa, G. 1994. Caracterização histórica, geomorfológica e hidráulica do estuário do rio Paraíba do Sul. Dissertação de Mestrado. Rio do Janeiro – RJ, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 97p.
- Cummins, K. W., Klug, J. J., Wetzel, R. G., Petersen, R. C., Suberkropp, K. F., Manny, B. A., J. C. Wuycheck e Howard, F. O. 1972. Organic enrichment with leaf leachate in experimental lotic ecosystems. *BioScience*, 719-722.
- Cundell, A. M.; Brown, M. S.; Stanford, R. 1979. Microbial degradation of *Rhizophora* mangrove leaves immersed in the sea. *Estuarine and Coastal Marine Science*, 9: 281-286.
- Davis III, S. E. e Childers, D. L. 2007. Importance of water source in controlling leaf leaching losses in a dwarf red mangrove (*Rhizophora mangle* L.) wetland. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 71(1): 194-201.
- Davis III, S. E.; Childers, D. L.; Noe, G. B. 2006. The contribution of leaching to the rapid release of nutrients and carbon in the early decay of wetland vegetation. *Hydrobiologia*, 569(1), 87-97.
- Davis, S. E., Corronado-Molina, C., Childers, D. L., e Day, J. W. 2003. Temporally dependent C, N, and P dynamics associated with the decay of *Rhizophora mangle* L. leaf litter in oligotrophic mangrove wetlands of the Southern Everglades. *Aquatic Botany*, 75(3), 199-215.
- Dittmar, T. e Lara, R. 2001. Molecular evidence for lignin degradation in sulfate reducing mangrove sediments (Amazônia, Brazil). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 65: 1403-1414.



- Dittmar, T. e Lara, R. 2001a. Driving forces behind nutrient and organic matter dynamics in a mangrove tidal creek in North Brazil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52: 249-259.
- Dittmar, T.; Hertkorn, N.; Kattner, G.; Lara, R. 2006. Mangroves, a major source of dissolved organic carbon to the oceans. *Global Biogeochemical Cycles*, 20: GB1012.
- Dittmar, T.; Koch, B.; Hertkorn, N.; Kattner, G. 2008. A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. *Limnol. Oceanogr. Methods*, 6, 230-235.
- DNAEE – Departamento Nacional de Águas e Energia Elétrica. Projeto Paraíba do Sul: Implantação da Agência Técnica e Diagnóstico da Bacia, Brasília, 1993.
- Druffel, E. R. M.; Williams, P. M.; Bauer, E.; Ertel, J. R. 1992. Cycling of Dissolved and Particulate Organic Matter in the Open Ocean. *Journal of Geophysical Research*, 97(C10), 15639–15659.
- Ertel, J. R. e Hedges, J. I. 1984. The lignin component of humic substances: Distribution among soil and sedimentary humic, fulvic, and base-insoluble fractions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48(10): 2065-2074.
- Ertel, J.R.; Hedges, J.I.; Devol, A.H.; Richey, J.E., 1986. Dissolved humic substances of the Amazon River system. *Limnology and Oceanography*, 31: 739-754.
- Feng, X.; Hills, K. M.; Simpson, A. J.; Whalen, J. K.; Simpson, M. J. 2011. The role of biodegradation and photo-oxidation in the transformation of terrigenous organic matter. *Organic Geochemistry*, 42(3): 262-274.
- Feng, X.; Hills, K.; Simpson, A. J.; Simpson, M. J. 2009. Molecular-level transformations of lignin during photo-oxidation and biodegradation. In *EGU General Assembly Conference Abstracts*, 11: 1554.
- Filley, T. R.; Hatcher, P. G.; Shortle, W. C.; Praseuth, R. T. 2000. The application of <sup>13</sup>C-labeled tetramethylammonium hydroxide (<sup>13</sup>C-TMAH) thermochemolysis to the study of fungal degradation of wood. *Organic Geochemistry*, 31(2): 181-198.
- Fioretto, A.; Di Nardo, C.; Papa, S.; Fuggi, A. 2005. Lignin and cellulose degradation and nitrogen dynamics during decomposition of three leaf litter species in a Mediterranean ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*, 37: 1083–1091.
- Foreman, C. M. e Covert, J. C. 2003. Linkages between DOM Composition and Microbial Community Structure. *Aquatic Ecosystems, Interactivity of Dissolved Organic Matter*. Academic Press/Elsevier, San Diego, CA, 343–362.
- Fourqurean, J. W.; Schrlau, J. E. 2003. Changes in nutrient content and stable isotops ratios of C and N during decomposition of seagrasses and mangrove leaves along a nutrient availability gradient in Florida Bay, USA. *Chemical Ecology*, 1: 373-390.
- France, R., Culbert, H., Freeborough, C., e Peters, R. 1997. Leaching and early mass loss of boreal leaves and wood in oligotrophic water. *Hydrobiologia*, 345(2-3), 209-214.
- Gandois, L., Teisserenc, R., Cobb, A. R., Chieng, H. I., Lim, L. B. L., Kamariah, A. S., Hoyt, A. e Harvey, C. F. 2014. Origin, composition, and transformation of dissolved organic matter in tropical peatlands. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 137, 35-47.
- Goneea, M. E.; Paytan, A.; Herrera-Silveira, J. A. 2004. Tracing organic matter sources and carbon burial in mangrove sediments over the past 160 years. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 61: 211-227.

- Goñi, M. A. e Montgomery, S. 2000. Alkaline CuO Oxidation with a Microwave Digestion System: Lignin Analyses of Geochemical Samples. *Analytical Chemistry*, 72: 3116-3121.
- Goñi, M. A.; Teixeira, M. J.; Perkey, D. W. 2003. Sources and distribution of organic matter in a river-dominated estuary (Winyah Bay, SC, USA). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, vol. 57, p.1023-1048.
- Green, S. M., Machin, R., e Cresser, M. S. 2009. Does road salting induce or ameliorate DOC mobilisation from roadside soils to surface waters in the long term? *Environmental monitoring and assessment*, 153(1-4), 435-448.
- Haddad, R. I.; Martens, C. S.; Farrington, J. W. 1992. Quantifying early diagenesis of fatty acids in a rapidly accumulating coastal marine sediment. *Organic Geochemistry*, 19(1): 205-216.
- Hedges, J. I. 1990. Compositional indicators of organic acid sources and reactions in natural environments. In: *Organic Acids in Aquatic Ecosystems*. E. M. Perdue; E. T. Gjessing (Eds.). *Dahlem Konferenzen*. 43-63.
- Hedges, J. I. 1992. Global biogeochemical cycles: progress and problems. *Marine Chemistry*, 39(1-3): 67-93.
- Hedges, J. I. e Mann, D. C. 1979. The characterization of plants tissues by their lignin oxidation products. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43: 1803-1807.
- Hedges, J. I.; Ertel, J. R. 1982. Caracterization of lignin by gas capillary chromatography of cupric oxide oxidation products. *Analytical Chemistry*, 54: 174-178.
- Hedges, J.; Keil, R.G.; Benner, R. 1997. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? *Organic Geochemistry*, 27: 195-212.
- Hernes, P. J. e Benner, R. 2003. Photochemical and microbial degradation of dissolved lignin phenols: Implications for the fate of terrigenous dissolved organic matter in marine environments. *Journal of Geophysical Research*, 108(C9): 3291.
- Hernes, P. J., Robinson, A. C., e Aufdenkampe, A. K. 2007. Fractionation of lignin during leaching and sorption and implications for organic matter "freshness". *Geophysical Research Letters*, 34(17).
- Hope, D.; Billett, M. F.; Cresser, M. S. 1994. A review of the export of carbon in river water: fluxes and processes. *Environmental Pollution*, 84: 301-324.
- Ibrahima, A; Jofre, R.; Gillon, D. 1995. Changes in litter during the initial leaching phase: an experiment on the leaf litter of mediterranean species. *Soil Biol. Biochem*, 27(7): 931-939.
- Jex, C. N., Pate, G. H., Blyth, A. J., Spencer, R. G., Hernes, P. J., Khan, S. J., e Baker, A. 2014. Lignin biogeochemistry: from modern processes to Quaternary archives. *Quaternary Science Reviews*, 87, 46-59.
- Kalbitz, K., Solinger, S., Park, J. H., Michalzik, B., e Matzner, E. 2000. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: a review. *Soil science*, 165(4), 277-304.
- Kalbitz, K.; Kaiser, K.; Barcholz, J.; Dardenne, P. 2006. Lignin degradation controls the production of dissolved organicmatter in decomposing foliar litter. *European Journal of Soil Science*, 57: 504-516.
- Kathiresan, K., Bingham, B.L. 2001. Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems. *Advances in Marine Biology*, 40: 81-251.
- Klotzbücher, T.; Filley, T. R.; Kaiser, K.; Kalbitz, K. 2011a. A study of lignin degradation in leaf and needle litter using <sup>13</sup>C-labelled tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis:

- Comparison with CuO oxidation and van Soest methods. *Organic Geochemistry*, 42: 1271–1278.
- Klotzbücher, T.; Kaiser, K.; Guggenberger, G.; Gatzek, C.; Kalbitz, K. 2011. A new conceptual model for the fate of lignin in decomposing plant litter. *Ecology*, 92(5): 1052–1062.
- Kristensen, E.; Bouillon, S.; Dittmar, T.; Marchand, C. 2008. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: A review. *Aquatic Botany*, 89(2): 201-219.
- Lacerda, L. D. 2002. Mangrove ecosystems: function and management. Springer Science & Business Media. 292p.
- Lallier-Vérges, E.; Marchand, C.; Disnar, J.R.; Lottier, N. 2008. Origin and diagenesis of lignin and carbohydrates in mangrove sediments of Gadeloupe (French West Indies): Evidence for a two-step evolution of organic deposits. *Chemical Geology*, 255: 388-398.
- Laurier, F. J. G., Cossa, D., Gonzalez, J. L., Breviere, E., e Sarazin, G. 2003. Mercury transformations and exchanges in a high turbidity estuary: The role of organic matter and amorphous oxyhydroxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(18), 3329-3345.
- Lima, E. P. C. 2013. Variação da composição de fenóis derivados da oxidação alcalina (CuO) ao longo da degradação foliar, em espécies do manguezal do rio Paraíba do Sul. Monografia. Centro de Biociências e Biotecnologia, Laboratório de Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 69p.
- Lobo, I.; Mozeto, A. A.; Aravena, R. 2001. Paleohydrological investigations in the Infernao Lake, Moji-Guacu River watershed, SE Brazil. *J. Paleolim.*, EUA, v. 26, p. 119-129.
- Lou, T., e Xie, H. 2006. Photochemical alteration of the molecular weight of dissolved organic matter. *Chemosphere*, 65(11): 2333-2342.
- Lugo, A. E. e Snedaker, S. C. 1974. The ecology of mangroves. *Annual Review of Ecology and Systematic*, 5: 39-64.
- MacFarlane, G. R., e Burchett, M. D. 1999. Zinc distribution and excretion in the leaves of the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. *Environmental and Experimental Botany*, 41(2), 167-175.
- Madritch, M. D. e Cardinale, B. J. 2007. Impacts of tree species diversity on litter decomposition in northern temperate forests of Wisconsin, USA: a multi-site experiment along a latitudinal gradient. *Plant and soil*, 292(1-2): 147-159.
- Maie, N., Jaffé, R., Miyoshi, T., e Childers, D. L. 2006. Quantitative and qualitative aspects of dissolved organic carbon leached from senescent plants in an oligotrophic wetland. *Biogeochemistry*, 78(3), 285-314.
- Marchand, C.; Disnar, J. R.; Lallier-Vergèr, E.; Lottier, N. 2005. Early diagenesis of carbohydrates and lignin in mangrove sediments subject to variable redox conditions (French Guiana). *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(1): 131-142.
- Martinelli, L.A.; Ometto, J.P.H.B.; Ferraz, E.S.; Victoria, E.L.; de Carmargo, P.B.; Moreira, M.Z. 2009. Desvendando Questões Ambientais com Isótopos Estáveis. *Ed. Oficina de textos*, 1ª edição, 144p.
- Matos, T. B. 2007. Decomposição de folhas de *Avicennia germinans*, *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa* do manguezal do estuário do Rio Paraíba do Sul, Estado do Rio de Janeiro. Monografia. Campos dos Goytacazes – RJ. Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 37p.

- Mavi, M. S.; Marschner, P.; Chittleborough, D. J.; Cox, J. W.; Sanderman, J. 2012. Salinity and sodicity affect soil respiration and dissolved organic matter dynamics differentially in soils varying in texture. *Soil Biology and Biochemistry*, 45: 8-13.
- Mayer, L. M.; Schick, L. L.; Bianchi, T. S.; Wysocki, L. A. 2009. Photochemical changes in chemical markers of sedimentary organic matter source and age. *Marine Chemistry*, 113(1): 123-128.
- McCarthy, M.; Hedges, J.; Benner, R. 1996. Major biochemical composition of dissolved high molecular weight organic matter in seawater. *Marine Chemistry*, 55(3): 281-297.
- McKee, K. L., e Faulkner, P. L. 2000. Restoration of biogeochemical function in mangrove forests. *Restoration Ecology*, 8(3), 247-259.
- Melillo, J. M.; Aber, J. D.; Muratore, J.F.1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* 63: 621–626.
- Meyers, P. A. e Ishiwatari, R. 1993. The early diagenesis of organic matter in lacustrine sediments. *Organic Geochemistry - Principles and Applications*. M. H. Engel; S. A. Macko (Eds.), New York: Plenum Press, 861p.
- Middleton, B. A. e Mckee, K. L. 2001. Degradation of mangrove tissues and implications for peat formation in Belizean island forests. *Journal of Ecology*, 89: 818–828.
- Moll, R. 2011. Impact of mangroves and an agriculture-dominated hinterland on the carbon and nutrient biogeochemistry in the Segara Anakan Lagoon, Java, Indonesia. Tese de Doutorado. Leibniz-Zentrum für Marine Tropenökologie, 177 p.
- Nebbioso, A. e Piccolo, A. 2013. Molecular characterization of dissolved organic matter (DOM): a critical review. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 405(1), 109-124.
- Opsahl, S. e Benner, R. 1995. Early diagenesis of vascular plant tissues: Lignin and cutin decomposition and biogeochemical implications. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59 (23): 4889-4904.
- Opsahl, S. e Benner, R. 1998. Photochemical reactivity of dissolved lignin in river and ocean waters. *Limnology and Oceanography*, 43: 1297-1304.
- Osono, T.; Hobara, S.; Hishinuma, T.; Azuma, J.I. 2011. Selective lignin decomposition and nitrogen mineralization in forest litter colonized by *Clitocybe* sp. *European Journal of Soil Biology*, 47(2): 114-121.
- Pavinato, P. S., e Rosolem, C. A. 2008. Disponibilidade de nutrientes no solo: decomposição e liberação de compostos orgânicos de resíduos vegetais. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 911-920.
- Pokharel, A. K., e Obrist, D. 2011. Fate of mercury in tree litter during decomposition. *Biogeosciences*, 8(9), 2507-2521.
- Prasad, M. B. K., Dittmar, T., e Ramanathan, A. L. 2010. Organic matter and mangrove productivity. In *Management and Sustainable Development of Coastal Zone Environments* (pp. 175-193). Springer Netherlands.
- Prescott, C. E. 2005. Do rates of litter decomposition tell us anything we really need to know?. *Forest Ecology and Management*, 220(1): 66-74.
- Rezende, C. E.; Pfeiffer, W. C.; Martinelli, L. A.; Tsamakis, E.; Hedges, J. I.; Keil, .G. 2010. Lignin phenols used to infer organic matter sources to Sepetiba Bay – RJ, Brasil. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, (87): 479-486.

- Rezende, C.E. 1993. Origem, transporte e destino da matéria orgânica na interface fluvio- marinha, sob diferentes condições de uso do solo e sua relação com o trânsito de poluentes metálicos na baía de Sepetiba - RJ. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 193p.
- Ribas, L. M. 2012. Caracterização de Fontes de Matéria Orgânica do Estuário do Rio Paraíba do Sul, RJ, Brasil. Tese. Centro de Biociências e Biotecnologia, Laboratório de Ciências Ambientais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 131p.
- Rice, D. L., e Tenore, K. R. 1981. Dynamics of carbon and nitrogen during the decomposition of detritus derived from estuarine macrophytes. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 13(6), 681-690.
- Schaeffer-Novelli, Y. 1995. Manguezal: ecossistema entre a terra e o mar. São Paulo: *Caribbean Ecological Research*, 64p.
- Schmitt, B. B. 2009. Characterisation of organic nitrogen compounds in sediment and leaves of a mangrove ecosystem in north Brazil. Dissertação de Mestrado. Faculty of Biology and Chemistry of the University of Bremen, 204p.
- Scholander, P. F., Hammel, H. T., Hemmingsen, E. A., Garey, W. 1962. Salt balance in mangrove. *Plant Physiology*. 37:722-729.
- Spencer, R. G., Aiken, G. R., Wickland, K. P., Striegl, R. G., e Hernes, P. J. 2008. Seasonal and spatial variability in dissolved organic matter quantity and composition from the Yukon River basin, Alaska. *Global Biogeochemical Cycles*, 22(4).
- Spencer, R. G.; Stubbins, A.; Hernes, P. J.; Baker, A.; Mopper, K.; Aufdenkampe, A. K.; ... Six, J. 2009. Photochemical degradation of dissolved organic matter and dissolved lignin phenols from the Congo River. *Journal of Geophysical Research*, 114(G3): G03010.
- Steele, M. K., e Aitkenhead-Peterson, J. A. 2013. Salt impacts on organic carbon and nitrogen leaching from senesced vegetation. *Biogeochemistry*, 112(1-3), 245-259.
- Tam, N. F. Y. 1998. Effects of wastewater discharge on microbial populations and enzyme activities in mangrove soils. *Environ. Pollut.*, 102: 233-242
- Thevenot, M.; Dignac, M. F.; Rumpel, C. 2010. Fate of lignin in soils: A review. *Soil Biology & Biochemistry*, 42: 1200-1211.
- Tomlinson, P. B. 1986. The botany of mangroves. New York: Cambridge University Press, 170p.
- Toosi, E. R.; Doane, T. A.; Horwath, W. R. 2012. Abiotic solubilization of soil organic matter, a less-seen aspect of dissolved organic matter production. *Soil Biology and Biochemistry*, 50: 12-21.
- Tukey Jr, H. B. 1970. The leaching of substances from plants. *Annual review of plant physiology*, 21(1): 305-324.
- Tuomela, M.; Vikman, M.; Hatakka, A.; Itävaara, M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology*, 72: 169-183.
- Twilley, R. R., Pozo, M., Garcia, V. H., Rivera-Monroy, V. H., Zambrano, R., e Boderó, A. 1997. Litter dynamics in riverine mangrove forests in the Guayas River estuary, Ecuador. *Oecologia*, 111(1), 109-122.
- Twilley, R. R.; Lugo, A. E.; Patterson-Zucca, C. 1986. Litter production and turnover in basin mangrove forests in southwest Florida. *Ecology*, 67(3): 670-683.

- Vermeer, M., e Rahmstorf, S. 2009. Global sea level linked to global temperature. *Proceedings of the national Academy of Sciences*, 106(51), 21527-21532.
- Wafar, S., Untawale, A. G., e Wafar, M. 1997. Litter fall and energy flux in a mangrove ecosystem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 44(1), 111-124.
- Wakeham, S. G., Lee, C., Hedges, J. I., Hernes, P. J., e Peterson, M. J. 1997. Molecular indicators of diagenetic status in marine organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 61(24), 5363-5369.
- Wang, X., Chen, R. F., Cable, J. E., e Cherrier, J. 2014. Leaching and microbial degradation of dissolved organic matter from salt marsh plants and seagrasses. *Aquatic Sciences*, 76(4), 595-609.
- Young, R. G.; Matthaei, C. D.; Townsend, C. R. 2008. Organic matter breakdown and ecosystem metabolism: functional indicators for assessing river ecosystem health. *J. N. Am. Benthol. Soc.*, 27(3): 605–625.

## 10. Anexo

**Anexo I:** Teor de carbono orgânico (%), nitrogênio total (%), razão (C/N)<sub>a</sub>, composição isotópica do carbono (‰) e do nitrogênio (‰) do material particulado/folha, inicial e após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).

<b>Espécie</b>	<b>Salinidade</b>	<b>C (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>(C/N)<sub>a</sub></b>	<b>δ<sup>13</sup>C(‰)</b>	<b>δ<sup>15</sup>N(‰)</b>
<i>A. germinans</i>	Inicial	46,82 ± 0,27	0,78 ± 0,04	70,03 ± 4,03	-27,24 ± 0,26	4,13 ± 1,13
	0	50,73 ± 2,34	0,98 ± 0,07	60,66 ± 5,95	-25,41 ± 0,30	5,15 ± 0,11
	10	49,31 ± 2,69	0,96 ± 0,08	60,16 ± 1,51	-25,90 ± 0,18	4,45 ± 0,31
	35	46,64 ± 0,68	1,00 ± 0,21	55,69 ± 9,76	-25,80 ± 0,47	4,15 ± 0,28
<i>R. mangle</i>	Inicial	47,16 ± 0,70	0,58 ± 0,13	86,15 ± 12,25	-29,15 ± 0,41	2,07 ± 0,49
	0	47,40 ± 2,39	0,72 ± 0,01	76,60 ± 4,35	-28,52 ± 0,41	2,76 ± 0,17
	10	46,54 ± 1,73	0,70 ± 0,04	77,83 ± 6,80	-29,30 ± 0,66	1,94 ± 0,06
	35	44,85 ± 1,63	0,66 ± 0,01	79,02 ± 3,23	-29,70 ± 0,35	2,55 ± 0,45

**Anexo II:** Teor de carbono orgânico (%), nitrogênio total (%), razão (C/N)<sub>a</sub>, composição isotópica do carbono (‰) e do nitrogênio (‰) do dissolvido/lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).

Espécie	Salinidade	C (%)	N (%)	(C/N) <sub>a</sub>	δ <sup>13</sup> C(‰)	δ <sup>15</sup> N(‰)
<i>A. germinans</i>	0	39,49 ± 6,16	0,47 ± 0,03	97,83 ± 9,75	-27,06 ± 0,84	5,32 ± 0,85
	10	39,04 ± 6,73	0,47 ± 0,01	96,65 ± 14,75	-27,24 ± 1,19	4,37 ± 0,39
	35	46,23 ± 2,56	0,52 ± 0,04	104,70 ± 3,49	-26,32 ± 0,51	4,49 ± 0,51
<i>R. mangle</i>	0	44,84 ± 5,12	0,31 ± 0,05	171,66 ± 7,69	-30,20 ± 0,21	1,65 ± 0,95
	10	48,47 ± 1,14	0,34 ± 0,08	192,53 ± 16,66	-30,74 ± 1,20	1,56 ± 0,23
	35	46,37 ± 1,90	0,34 ± 0,04	158,46 ± 13,88	-30,87 ± 0,46	0,56 ± 0,37

**Anexo III:** Perda de massa foliar e carbono em gramas (g) e porcentagem (%) do material particulado/folha após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média ± desvio padrão, n= 3).

Espécie	Salinidade	Perda de Massa (g)	Perda de Massa (%)	Perda de C (g)	Perda de C (%)
<i>A. germinans</i>	0	0,99 ± 0,08	29,60 ± 2,4	0,36 ± 0,09	23,14 ± 6,11
	10	0,89 ± 0,06	26,59 ± 1,6	0,35 ± 0,07	22,16 ± 4,57
	35	0,44 ± 0,18	13,13 ± 5,3	0,20 ± 0,08	12,90 ± 5,08
<i>R. mangle</i>	0	0,46 ± 0,33	14,22 ± 10,1	0,20 ± 0,22	13,00 ± 14,22
	10	0,39 ± 0,37	12,19 ± 11,5	0,19 ± 0,21	12,66 ± 13,78
	35	0,20 ± 0,13	6,13 ± 4,00	0,15 ± 0,10	10,17 ± 6,71



**Anexo IV:** Concentração dos fenóis derivados da lignina e razão entre parâmetros do material particulado/folha, inicial e após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3).

<b>Espécie</b>	<b>Salinidade</b>	<b>S</b>	<b>V</b>	<b>C</b>	<b>S/V</b>	<b>C/V</b>	<b>(Ac/Al)v</b>	<b>(Ac/Al)s</b>	<b><math>\lambda 8</math></b>
<i>A. germinans</i>	Inicial	3,38 $\pm$ 0,48	2,62 $\pm$ 0,40	3,50 $\pm$ 0,74	1,30 $\pm$ 0,12	1,35 $\pm$ 0,30	0,17 $\pm$ 0,09	1,43 $\pm$ 0,46	9,49 $\pm$ 1,15
	0	3,84 $\pm$ 0,62	1,50 $\pm$ 0,20	1,47 $\pm$ 0,09	2,56 $\pm$ 0,08	1,00 $\pm$ 0,18	0,18 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,05	6,81 $\pm$ 0,73
	10	2,70 $\pm$ 0,54	1,16 $\pm$ 0,17	1,43 $\pm$ 0,05	2,31 $\pm$ 0,08	1,24 $\pm$ 0,14	0,17 $\pm$ 0,02	0,13 $\pm$ 0,01	5,29 $\pm$ 0,75
	35	2,82 $\pm$ 1,01	1,19 $\pm$ 0,32	1,29 $\pm$ 0,02	2,33 $\pm$ 0,28	1,14 $\pm$ 0,33	0,17 $\pm$ 0,01	0,12 $\pm$ 0,03	5,29 $\pm$ 1,36
<i>R. mangle</i>	Inicial	1,69 $\pm$ 0,48	0,73 $\pm$ 0,23	0,93 $\pm$ 0,12	2,31 $\pm$ 0,06	1,31 $\pm$ 0,22	0,37 $\pm$ 0,06	0,16 $\pm$ 0,03	3,36 $\pm$ 0,83
	0	0,42 $\pm$ 0,14	0,21 $\pm$ 0,04	0,71 $\pm$ 0,04	2,00 $\pm$ 0,37	3,52 $\pm$ 0,68	0,10 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,01	1,35 $\pm$ 0,19
	10	0,86 $\pm$ 0,08	0,39 $\pm$ 0,06	0,92 $\pm$ 0,03	2,24 $\pm$ 0,18	2,41 $\pm$ 0,34	0,13 $\pm$ 0,02	0,09 $\pm$ 0,02	2,18 $\pm$ 0,17
	35	0,96 $\pm$ 0,20	0,43 $\pm$ 0,11	0,87 $\pm$ 0,04	2,25 $\pm$ 0,15	2,10 $\pm$ 0,49	0,11 $\pm$ 0,02	0,10 $\pm$ 0,02	2,26 $\pm$ 0,34

**Anexo V:** Concentração dos fenóis derivados da lignina e razão entre parâmetros do dissolvido/lixiviado após o período de incubação nos três tratamentos (salinidades 0, 10 e 35) para as espécies *A. germinans* e *R. mangle* do manguezal do estuário do rio Paraíba do Sul (média  $\pm$  desvio padrão, n= 3).

<b>Espécie</b>	<b>Salinidade</b>	<b>S</b>	<b>V</b>	<b>C</b>	<b>S/V</b>	<b>C/V</b>	<b>(Ac/Al)v</b>	<b>(Ac/Al)s</b>	<b><math>\lambda 8</math></b>
<i>A. germinans</i>	0	3,94 $\pm$ 0,09	2,95 $\pm$ 0,12	1,36 $\pm$ 0,39	1,34 $\pm$ 0,02	0,46 $\pm$ 0,12	0,21 $\pm$ 0,03	0,14 $\pm$ 0,02	8,25 $\pm$ 0,60
	10	4,05 $\pm$ 0,27	2,96 $\pm$ 0,29	2,58 $\pm$ 0,45	1,37 $\pm$ 0,09	0,87 $\pm$ 0,08	0,27 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,03	9,59 $\pm$ 0,91
	35	3,55 $\pm$ 0,62	2,52 $\pm$ 0,26	2,54 $\pm$ 0,19	1,40 $\pm$ 0,11	1,01 $\pm$ 0,07	0,26 $\pm$ 0,03	0,18 $\pm$ 0,01	8,61 $\pm$ 1,05
<i>R. mangle</i>	0	2,02 $\pm$ 0,49	1,29 $\pm$ 0,22	1,26 $\pm$ 0,19	1,55 $\pm$ 0,13	1,01 $\pm$ 0,28	0,73 $\pm$ 0,14	0,13 $\pm$ 0,02	4,57 $\pm$ 0,69
	10	1,16 $\pm$ 0,10	0,92 $\pm$ 0,08	1,14 $\pm$ 0,58	1,26 $\pm$ 0,01	1,27 $\pm$ 0,67	0,86 $\pm$ 0,31	0,12 $\pm$ 0,02	3,22 $\pm$ 0,47
	35	1,79 $\pm$ 0,55	1,04 $\pm$ 0,19	1,43 $\pm$ 0,21	1,71 $\pm$ 0,26	1,40 $\pm$ 0,19	0,40 $\pm$ 0,12	0,16 $\pm$ 0,02	4,27 $\pm$ 0,92