Geochimica Brasiliensis

## CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DO APORTE DE MATÉRIA ORGÂNI-CA EM SISTEMAS COSTEIROS: HIDROCARBONETOS BIOGÊNIC-OS EM FOLHAS DE MANGUE

Belligotti F.M.<sup>1</sup>, Carreira, R.S.<sup>1,\*</sup> e Soares, M.L.G.<sup>2</sup>

 <sup>1</sup>Departamento de Oceanografia e Hidrologia, Laboratório de Geoquímica Orgânica Marinha (LaGOM), UFRJ Rua São Francisco Xavier, 524 sala 4026-E, Maracanã – Rio de Janeiro CEP 20.550-900
<sup>2</sup>Departamento de Oceanografia e Hidrologia, Núcleo de Estudos em Manguezais (NEMA), UERJ Rua São Francisco Xavier, 524 sala 4019-E Maracanã – Rio de Janeiro CEP 20.550-900
\*E-mail: carreira@uerj.br

Recebido em Janeiro de 2006 e aceito para publicação em Setembro de 2006

### RESUMO

Folhas verdes e senescentes de *Rhizophora mangle, Avicennia schaueriana* e *Laguncularia racemosa*, oriundas de manguezais das baías de Sepetiba e Guanabara, foram analisadas para carbono orgânico, nitrogênio total e hidrocarbonetos alifáticos. As médias da razão C:N de folhas verdes  $(30, 1 \pm 7, 2)$  e senescentes  $(56, 5 \pm 12, 4)$  indicaram retranslocação de N com o envelhecimento das folhas. As diferenças nas concentrações de hidrocarbonetos alifáticos (239,7 a 2147,8 µg g<sup>-1</sup>) entre as espécies e tipo de folhas, assim como os índices calculados entre n-alcanos individuais, refletem características fisiológicas das plantas. O índice médio entre os n-alcanos (ACL) se mostrou uma ferramenta promissora em estudos de biogeoquímica e paleoceanografia.

### ABSTRACT

Green and senescent leaves of *R.mangle*, *A.schaueriana* and *L.racemosa*, collected in mangrove areas of Sepetiba and Guanabara bays, were analysed for their organic carbon, total nitrogen and total aliphatics contents. Mean C:N ratios of green  $(30.1 \pm 7.2)$  and senescent  $(56.5 \pm 12.4)$  leaves indicated retranslocation of N during decaying of leaves. The differences in aliphatic hydrocarbon concentration (range of 239.7 to 2147.8 µg g<sup>-1</sup>), as well as the source diagnostic ratios among selected n-alkanes, were consistent with physiological characteristics of the trees. In addition, the alkylated chain length (ACL) index seemed a potential tool in biogeochemical and paleoceanographic studies.

### INTRODUÇÃO

A relevância ecológica e econômica do ecossistema manguezal é amplamente reconhecida (Lugo & Snedaker, 1974; Cintron & Schaeffer-Novelli, 1983; Hutchings & Saenger, 1987; Alongi *et al.*, 2001). Entre outros aspectos, os manguezais são fundamentais ao fornecimento de detritos orgânicos às áreas marinhas adjacentes (Hogg & Gillan, 1984; Wafar *et al.*, 1997), contribuindo para a manutenção da biodiversidade costeira e constituindo a base de importantes teias tróficas.

Por outro lado, há incertezas relacionadas com o real papel dos manguezais na exportação de matéria orgânica nos sistemas costeiros, em função da dificuldade em estabelecer a área de influência dos aportes costeiros e das variações sazonais tanto da produção primária da floresta de mangue como da produção fitoplanctônica (Wafar *et al.*, 1997; Dodd *et al.*, 1998). Além disto, tem-se demonstrado recentemente que as variações climáticas são fatores adicionais que devem ser considerados (Soares *et al.*, 2005).

O uso de ferramentas indicadoras da origem da matéria orgânica (Hedges, 1992; Canuel, 2001; Jaffé et al., 2001; Goñi et al., 2003) pode auxiliar na compreensão do papel dos manguezais no ciclo da matéria orgânica em sistemas costeiros. A presença abundante de cadeias longas de n-alcanos (hidrocarbonetos alifáticos de cadeia linear saturada) nas plantas superiores e a predominância de cadeias ímpares nas ceras epicuticulares das folhas de tais plantas (Reddy et al., 2000; Wang et al., 2003) sugerem o uso destes compostos como indicadores da origem da matéria orgânica. Este padrão de composição de n-alcanos é relatado também em sedimentos marinhos em locais onde o aporte terrígeno de matéria orgânica é significativo (Prahl *et al.*, 1994; Logan *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 2000; Pearson & Eglinton, 2000; Wang *et al.*, 2003). Além disto, a composição qualitativa dos n-alcanos das ceras epicuticulares também fornece informações sobre respostas fisiológicas das plantas a fatores ambientais, tais como a produção de n-alcanos de cadeias mais longas em maiores temperaturas e menor disponibilidade hídrica (Zhou *et al.*, 2005 e referências citadas).

Em função da carência de dados específicos sobre a composição química de folhas de espécies de mangue no Brasil, o presente trabalho tem como objetivo principal apresentar as diferenças na composição química (C, N e hidrocarbonetos alifáticos) em folhas de três espécies arbóreas típicas dos manguezais do nosso litoral (*Rhizophora mangle*, *Avicennia schaueriana* e *Laguncularia racemosa*), visando dar subsídios ao estudo da ciclagem de matéria orgânica em manguezais



**Figura 1:** Visão geral das áreas de amostragem. Área 1: manguezal de Guaratiba, próximo aos rios Piração e Piraquê; Área 2: manguezal do rio Suruí.

do Estado do Rio de Janeiro. Na escolha das áreas de estudo (ver adiante), foram considerados os possíveis efeitos de fatores ambientais (salinidade, impacto antrópico), o estado de maturidade das folhas (verdes ou senescentes) e diferenças interespecíficas, sobre a composição dos n-alcanos das ceras epicuticulares das folhas.

## ÁREA DE ESTUDO

No presente trabalho foram escolhidas duas áreas de manguezais localizados na porção centro-sul do estado do Rio de Janeiro (Figura 1). A primeira área está localizada no lado leste da Baía de Sepetiba, entre os rios Piração e Piraquê e próximo à Restinga da Marambaia, e integra um dos principais sistemas de manguezais do estado (Soares, 1997). Apresenta nas margens dos rios a dominância de R.mangle, e com a distância das margens há, numa primeira zona, aumento na representatividade de A. schaueriana e L. racemosa. Numa zona posterior, ainda mais afastada das margens, volta o predomínio de R. mangle, porém com redução na sua estrutura, seguido de florestas arbustivas de A. schaueriana e L. racemosa. Por fim, encontra-se um apicum (planície hipersalina), caracterizado por manchas de Salicornia gaudichaudiana, indivíduos isolados de A. schaueriana e áreas totalmente desprovidas de vegetação (Soares, 1997).

A segunda área estudada está localizada ao fundo da Baía de Guanabara, a norte da Ilha de Paquetá e a oeste da APA (Área de Proteção Ambiental) de Guapimirim. O manguezal é adjacente ao rio Suruí e sofre impactos antrópicos crônicos e agudos diversos, tendo sido atingido pelo óleo derramado na Baía de Guanabara em janeiro de 2000 (1.300 m<sup>3</sup> de óleo tipo MF-380). A estrutura vegetal desse manguezal apresenta a L. racemosa como espécie dominante, embora nas franjas dos rios (floresta ribeirinha) tal dominância seja dividida com as demais espécies (A. schaueriana e R. mangle). As zonas interiores formam uma floresta de bacia, dominada inicialmente por L. racemosa e R. mangle (na região mais próxima ao rio Suruí), seguida por uma zona onde A. schaueriana divide o espaço com *L. racemosa* (na região próxima ao rio Suruí-Mirim) (Soares, 2002; Soares *et al.*, 2003). Ainda segundo o mesmo autor, o vazamento de óleo atingiu fortemente a franja do manguezal, onde somente alguns indivíduos da espécie *L. racemosa* sobreviveram, mas nas zonas mais internas da floresta apenas algumas classes de tamanho morreram.

### **METODOLOGIA**

#### Amostragem

Em cada um dos manguezais estudados (Guaratiba e rio Suruí), foram escolhidas algumas das estações de coleta regularmente monitoradas pelo NEMA (Núcleo de Estudos em Manguezais), do Departamento de Oceanografia da UERJ. Especificamente neste trabalho, foram coletadas amostras numa estação dita "ribeirinha" (estação A), de maior freqüência de inundação pelas marés, e, conseqüentemente, de menor salinidade da água intersticial; e outra mais distante do rio ou estuário (estação B), onde a freqüência de inundação pelas marés é menor e o acúmulo de água salobra - e sua evaporação - causa um acréscimo na salinidade da água intersticial do solo.

Nas estações escolhidas, a salinidade da água intersticial é monitorada regularmente pelo NEMA/UERJ, através de refratometria, e os valores médios são os seguintes: (i) Guaratiba:  $28,2 \pm 4,9$  (estação ribeirinha) e  $49,0 \pm 5,3$  (estação interna); (ii) rio Suruí:  $26,9 \pm 4,1$  (estação ribeirinha) e  $39,1 \pm 4,9$ (estação interna).

As folhas foram coletadas apenas em indivíduos adultos, preferencialmente à sombra e pertencentes ao terceiro par de folhas. Foram coletadas separadamente folhas verdes maduras e folhas em processo de decaimento, ditas senescentes (mas que ainda estavam ligadas à planta). Em cada estação, as amostras foram compostas por folhas coletadas de diferentes indivíduos, totalizando 22 amostras: folhas verdes e folhas senescentes das três espécies nas estações Suruí A, Suruí B e Piracão A, além de amostras de *A. schaueriana* e *R.*  *mangle* na estação Piraquê B (nesta última, não foi possível encontrar indivíduos de *L. racemosa*).

# Determinação de hidrocarbonetos e composição elementar (C e N)

As folhas foram preparadas para análise da seguinte forma: lavagem superficial com água deionizada, exclusão do pecíolo, secagem em estufa à 60 °C e corte em pequenos pedaços, visando maximizar a homogeneização das amostras. Cerca de 0,5 g de folhas foram pesadas (precisão ±0,01 g) em papel de filtro e adicionados 5000 ng de padrões sub-rogados deuterados (n $dC_{16}$ ,  $n-dC_{24}$  e  $n-dC_{30}$ ) para acompanhar a recuperação do procedimento analítico (as concentrações finais não foram corrigidas para a recuperação). Os hidrocarbonetos foram extraídos com cerca de 200 mL de solução diclorometano:acetona (1:1; v:v) por 24 horas em extrator Soxhlet. O volume do extrato bruto foi reduzido em evaporador rotativo e a fração dos hidrocarbonetos alifáticos isolada através de cromatografia de coluna. Para isto, foi usada uma coluna de vidro (30 cm por 1,3 cm de diâmetro interno) preenchida com 2,5 g de sílica-gel e 4,65 g de alumina (ambas ativadas a 160 °C e parcialmente desativadas com 5 % em massa de água) e a eluição da fração dos alifáticos (F1) foi feita com 25 mL de n-hexano. A fração purificada foi novamente concentrada em evaporador rotativo e o volume final reduzido a 1 mL com fluxo de N<sub>2</sub>.

A determinação quali-quantitativa dos hidrocarbonetos alifáticos (usando os extratos diluídos 10 vezes) foi feita em cromatografia em fase gasosa (Hewllet-Packard modelo 6890) e detector de ionização por chama (CG-DIC), utilizando uma coluna do tipo HP-5 com 30 m de extensão, 0,32 mm de diâmetro interno e filme interno de 0,25 µm. He foi usado como gás carreador, no fluxo de 2 mL min<sup>-1</sup>. O programa de temperatura foi de 60 °C iniciais por 0,5 min, com rampas de temperatura de 11 °C min<sup>-1</sup> até 130 °C, 5,5 °C min<sup>-1</sup> até 180 °C e novamente a 11 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C, permanecendo em isoterma por 14 min. A temperatura do injetor foi de 300 °C e a do detector de 300 °C. A identificação

de cada composto individual foi feita por tempo de retenção determinado pela injeção de mistura padrão de n-alcanos (faixa de  $n-C_{14}$ a  $n-C_{34}$ ). A quantificação dos hidrocarbonetos alifáticos foi feita por fator de resposta da mistura padrão de n-alcanos relativa ao 9,10-diidroantraceno, utilizado como padrão interno e adicionado ao extrato final antes da sua injeção no aparelho.

O tripernóide esqualeno (2, 6, 10, 15, 19, 23 - hexametil - 2, 6, 10, 14, 18, 20 - tetrahexaneno) foi encontrado em grandes concentrações nos extratos da F1 (ver Resultados e Discussão), sendo quantificado admitindo-se o mesmo fator de resposta usado para os n-alcanos em relação ao padrão interno 9,10-diidroantraceno.

Em algumas amostras selecionadas, foi feita ainda a confirmação dos compostos (incluindo o esqualeno) por cromatografia em fase gasosa acoplado a espectrômetro de massa (Finnigan modelo TraceGC/ Polaris Q), operando no modo EI (70 eV) e em *full scan* (50-550 ums), mantendo-se a mesma programação de temperatura da análise no cromatógrafo com detector de ionização por chama.

A composição elementar das amostras foi determinada pelo método de combustão a seco (Hedges & Stern, 1984). Entre 5-10 mg de massa de folha seca foram pesadas (precisão de  $\pm$  0,01 mg) diretamente em cápsulas de estanho e inseridas no analisador elementar Carlo Erba, modelo EA1110. O equipamento foi calibrado diariamente com padrão de cistina, e a quantificação de C e N realizada através de fator de resposta. A exatidão do método foi avaliada pela análise de sedimento padrão (PCAS-2, com 3,3 % de Ctotal), e a precisão das análises foi de  $\pm 10\%$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### Composição elementar das folhas

Os resultados obtidos para C e N das folhas analisadas estão listados na Tabela 1. Os valores percentuais de carbono foram relativamente similares em todas as folhas,

<b>Tabela 1:</b> Relaçã estado da folha (v	o dos principai /d – verde, sc -	is parâmetros o - senescente).	btidos. As amo:	stras são ider	itificadas pela espéc	ie (Av – A. sch	<i>iaueriana</i> , Lg –	L. racemosa,	Rh – <i>R</i> .	<i>mangle</i> ) e
Manguezal	Amostras	Carbono Orgânico	Nitrogênio	Razão Molar C:N	Hidrocarbonetos Totais	n-alcanos Totais	Esqualeno	n-alcano Principal	IPC <sup>1</sup>	ACL <sup>2</sup>
	-	<u>()</u>	(%)	-		(hg.g <sup>-1</sup> )		I		
	Av vd	42,42	2,48	19,9	652,7	481,1	171,6	n-C31	3,6	30,71
Ìυ Α "ει	Av sc	42,31	1,16	42,4	1585,2	557,8	1027,5	n-C31	6,1	30,41
nné Jni Jni	Lg vd	44,12	1,55	33,2	495,2	345,7	149,5	n-C29	8,3	28,63
2 o taç iiəd	Lg sc	42,54	0,85	58,1	1160,9	698,6	462,4	n-C29	7,2	28,51
Rib Es din'	Rh vd	47,03	1,94	28,2	869,4	77,3	706,1	n-C29	9,4	29,21
,	Rh sc	47,07	1,66	33,0	514,5	74,1	365,0	n-C29	10,0	29,53
	Av vd	39,54	2,16	21,3	545,2	515,5	29,7	n-C31	4,4	31,08
а, В (	Av sc	39,31	1,01	45,2	1218,2	803,2	415,0	n-C31	5,2	30,76
ruí šão rna	Lg vd	42,17	1,52	32,3	890,0	855,3	34,7	n-C29	10,8	28,73
ng bet ətr	Lg sc	40,65	0,81	58,8	1329,8	1014,5	315,3	n-C29	8,2	28,65
s∃ ii"	Rh vd	45,81	1,72	31,1	239,7	58,1	126,3	n-C29	6,1	29,62
	Rh sc	46,46	0,97	55,6	896,0	84,8	731,6	n-C29	8,0	29,66
	Av vd	43,06	2,03	24,8	469,3	375,4	94,0	n-C31	6,7	30,86
о А ( "БГ	Av sc	41,25	0,90	53,7	2147,8	1117,4	1030,4	n-C29	4,5	29,83
ieci Sec Ini	Lg vd	42,96	1,22	41,0	493,8	426,2	67,5	n-C29	10,7	28,64
ira taç iəo	Lg sc	37,98	0,62	71,6	1251,5	872,0	379,5	n-C29	10,0	28,74
P Es "rib	Rh vd	45,21	1,22	43,1	328,0	47,8	230,8	n-C29	8,2	29,61
I	Rh sc	44,06	0,68	76,0	658,0	82,8	489,5	n-C29	10,1	29,33
ê	Av vd	40,81	1,99	23,9	992,1	740,5	251,6	n-C31	9,7	30,64
יני. 11 B nb	Av sc	38,46	0,74	60,3	2083,3	1108,6	974,7	n-C29	4,8	30,17
ira te∃ ni"	Rh vd	43,66	1,60	31,9	434,1	66,5	324,5	n-C29	13,1	29,51
l d	Rh sc	42,85	0,75	66,5	1256,2	124,1	1047,5	n-C29	10,1	29,56

<sup>2</sup>ACL = average chain length ou comprimento médio de cadeia e dito por  $ACL = \sum_{i=1}^{n} Ci^* [Ci]_{i=1}^{n}$ , onde [Ci] é a concentração do n-alcano com número de carbono

Ci, na faixa de 27 a 33 (Zhou *et al.*, 2005)

Belligotti, F. M., et al./ Geochim. Brasil., 21(1)071 -085,2007

com média de 42,7  $\pm$  2,6 %. Por outro lado, as concentrações de N apresentaram um alto coeficiente de variação (40,8 %), com concentração média de 1,3  $\pm$  0,5 %.

A grande variabilidade nas concentrações de N para o grupo de folhas analisadas devese aos menores valores observados para esse elemento nas folhas senescentes (Tabela 1). O decréscimo de N nas folhas senescentes ocorre devido a uma adaptação fisiológica das plantas visando à conservação de nutrientes. Através desse processo, conhecido como retranslocação, as árvores reabsorvem os nutrientes das folhas, conforme essas passam ao estado de senescência, de forma que os mesmos possam ser reaproveitados (Soto, 1992; Wang & Lin, 2000; Lin & Wang, 2001). Tal processo já foi, inclusive, descrito para a região de Guaratiba (Rio de Janeiro), em estudo realizado por Corrêa (2003).

A razão molar C:N é diretamente afetada pela variabilidade nas concentrações de N. A média da razão C:N nas folhas verdes é de  $30,1 \pm 7,2$ , enquanto nas folhas senescentes é de  $56,5 \pm 12,4$ . Embora esses valores estejam dentro da faixa normalmente encontrada em matéria orgânica de origem terrestre (Meyers & Ishiwatari, 1993; Goñi *et al.*, 2003), eles indicam que é necessário ter cautela ao se estabelecer um valor típico de C:N para material produzido no manguezal e, conseqüentemente, no seu uso para caracterizar matéria orgânica proveniente desses sistemas.

## Hidrocarbonetos alifáticos – concentração total e compostos individuais

No presente trabalho, apenas a fração do extrato bruto isolada com n-hexano (F1), formada basicamente por hidrocarbonetos alifáticos foi considerada, embora diversos outros compostos mais polares sejam encontrados em folhas de mangue, tais como esteróis, álcoois graxos e álcoois (Wannigama *et al.*, 1981; Misra *et al.*, 1986; Misra *et al.*, 1987; Dodd *et al.*, 1999; Reddy *et al.*, 2000).

As concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais, representada pela soma de

n-alcanos individuais na faixa de n- $C_{14}$  a n- $C_{34}$  e por outros compostos resolvidos, tais como o esqualeno, variaram uma ordem de grandeza (239,7  $\mu$ g g<sup>-1</sup> a 2147,8  $\mu$ g g<sup>-1</sup>; Tabela 1). As principais características observadas na distribuição de hidrocarbonetos alifáticos totais nas folhas estudadas foram: (i) as folhas de *R.mangle* possuem menores teores de alifáticos totais - principalmente nalcanos - que as folhas de A.schaueriana e L.racemosa; (ii) maiores concentrações nas folhas senescentes em comparação com folhas verdes, independente da espécie considerada; (iii) presença de n-alcanos de cadeias longas, principalmente dos homólogos n-C29 ou n-C31, mas o composto individual mais abundante foi o isoprenóide esqualeno, que pode atingir até 80 % dos alifáticos totais nas folhas de R.mangle.

As menores concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais nas folhas de R.mangle refletem-se nos baixos teores de n-alcanos (<100 µg g<sup>-1</sup>) em comparação com as outras espécies de manguezal estudadas (que possuem valores entre 340 e 1200 µg g-1; Tabela 1). Os n-alcanos são um dos principais constituintes das ceras cuticulares (Dominguez and Heredia, 1998; Reddy et al., 2000), que por sua vez têm como uma das funções o controle das trocas de água entre a planta e o meio externo (Heredia et al., 2000). Portanto, o baixo teor de n-alcanos nas folhas de R.mangle é coerente com a menor resistência dessa espécie a ambientes com forte estresse hídrico e salino

Em quase todas as amostras, as folhas senescentes possuem maior concentração de hidrocarbonetos alifáticos totais (Tabela 1). Isto possivelmente está associado ao acúmulo de alifáticos ao longo do crescimento da folha e à baixa degradação desses compostos durante o processo de senescência.

Em relação à composição de n-alcanos individuais, o predomínio de homólogos com número ímpar de C na cadeia é típico de vegetais superiores (Reddy *et al.*, 2000 e referências citadas no texto), mas podem ser observadas diferenças na distribuição desses compostos entre as diferentes espécies

seco) dos n-alcanos encontrados nas folhas. As amostras são identificadas pela espécie (Av – A. schaueriana, Lg	olha (vd – verde, sc – senescente). <th></th>	
bela 2: Concentração (em μg.g <sup>-1</sup> em peso seco) dos n-alcanos encor	<u>L. racemosa, Rh – R. mangle) e estado da folha (vd – verde, sc – senes</u>	,06 µg.g <sup>-1</sup> ).

$ \begin{array}{c ccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$ \begin{array}{cccccccccccccccccccccccccccccccccccc$
$ \begin{array}{ c c c c c c c c c c c c c c c c c c c$
4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4     4     4     4       4     4     4     4     4
4   4



**Figura 2:** Análise de agrupamento das 22 amostras de folhas em função dos seguintes parâmetros: hidrocarbonetos totais, IPC, razão molar C:N, % C, % N, % n-alcanos totais e % esqualeno. As amostras são identificadas pela espécie (Av – *A. schaueriana*, Lg – *L. racemosa*, Rh – *R. mangle*), estado da folha (vd – verde, sc – senescente) e estação de coleta (sA: Suruí A, sB: Suruí B, pA: Piracão A, pB: Piraquê B).

estudadas (Tabela 2) – o uso de índices entre os n-alcanos será discutido posteriormente. No geral, as folhas de *L.racemosa* possuem basicamente n- $C_{27}$  e n- $C_{29}$ , com predomínio desse último homólogo. Nas folhas de *A.schaueriana* há maior número de nalcanos (entre n- $C_{27}$  e n- $C_{33}$ ), com maiores concentrações de n- $C_{31}$  na maioria das amostras, tanto verdes como senescentes. Já em *R.mangle*, são encontrados principalmente 3 compostos (n- $C_{27}$ , n- $C_{29}$  e n- $C_{31}$ ), com predomínio do homólogo n- $C_{29}$ .

## *Caracterização da composição química das folhas por análise de agrupamento*

Na tentativa de considerar o maior número possível de variáveis medidas para caracterizar a composição química das folhas e relacioná-las à influência de fatores internos (p.ex., fisiologia da planta) e/ou externos (p.ex., salinidade da água intersticial, influência antrópica), foi feita uma análise de agrupamento pelo método de ligação completa, em que os grupos são determinados pelos mais baixos coeficientes de associação mútua. Foram consideradas sete variáveis: concentração total de n-alcanos e esqualeno (total de hidrocarbonetos identificados), índice de preferência de carbono, razão molar C:N e percentuais de carbono e nitrogênio, além dos valores percentuais da concentração de n-alcanos totais e de esqualeno em relação ao total de hidrocarbonetos encontrados. O teste foi realizado pelo programa *Statistica*, da Statsoft, versão 6.0.

A análise de agrupamento isolou, em primeiro lugar, as folhas verdes e senescentes das espécies *A. schaueriana* e *L. racemosa*, confirmando a grande diferença na concentração de hidrocarbonetos alifáticos totais e na razão molar C:N em função do estado de maturidade das folhas (Figura 2). Outro grupo isolado é composto pelas folhas de *R.mangle*, independente do seu estado de maturação (verde ou senescente), o que está associada às concentrações até uma ordem de grandeza inferiores de n-alcanos para as folhas dessa espécie.

Por outro lado, na Figura 2 também se observa que não há distinção entre as estações de coleta, ou seja, a localização das árvores em manguezais distintos e sob diferentes regimes de maré (e, conseqüentemente, de salinidade da água intersticial) não afetou de forma significativa na composição das folhas estudadas. Outros trabalhos mostram evidências de variações biogeográficas e diferenciação genética na composição das ceras (Misra et al., 1988; Rafii et al., 1996; Dodd et al., 1998; Dodd et al., 1999), assim como os efeitos de submersão periódica pelas marés (Misra et al., 1986), e por isto é necessário a coleta de um número maior de folhas para confirmar que não há influência de fatores ambientais na composição química das folhas de manguezal na área estudada.

## Índices calculados entre os n-alcanos presentes nas folhas

A identificação da contribuição relativa de determinada fonte (terrestre, marinha ou antropogênica) para o total de matéria orgânica sedimentar pode ser feita pela consideração de razões (índices) entre determinados compostos. Para o caso específico do aporte de matéria orgânica terrestre, entre as diversas possibilidades encontradas na literatura, serão discutidos dois índices entre os alcanos: (i) índice preferencial de carbono (IPC), calculado segundo a fórmula de Bray & Evans (1961) entre n- $C_{14}$  e n- $C_{34}$  e (ii) comprimento médio da cadeia, ou ACL (alkylated chain lenght), calculado segundo Zhou et al. (2005) e referências citadas) entre n-C<sub>27</sub> e n-C<sub>33</sub>. Na Tabela 1 são apresentadas as fórmulas usadas no cálculo desses índices.



**Figura 3:** (A), espectro de massa do  $n-C_{29}$ , mostrando os íons típicos 57, 71, 85 e 99, derivados da perda de radical  $-CH_{2}$ . (B), espectro observado na região do  $n-C_{28}$ , mostrando também a perda de  $-CH_{2}$ , mas com predomínio de íons diferentes (69, 83, 97, 111, 125, 139 e 153) aos observados em n-alcanos e confirmando a presença de coeluição (ver texto para maiores detalhes).

Os valores calculados para o IPC oscilaram entre 3,6 e 13,1, sendo igual a 5,7  $\pm$  2,0 nas folhas de *A. schaueriana*, 9,4  $\pm$  1,6 em folhas de *L. racemosa* e 9,8  $\pm$  2,5 nas folhas de *R. mangle* (Tabela 1). Essa faixa de variação para o IPC está de acordo com dados de literatura para vegetais superiores (Colombo *et al.*, 1989; Sicre *et al.*, 1993; Fernandes & Sicre, 2000; Reddy *et al.*, 2000; Silliman & Schelske, 2003; Tolosa *et al.*, 2004).

Nas folhas de *R.mangle* o cálculo do IPC não levou em conta as concentrações de  $n-C_{28}$  e o  $n-C_{30}$ . Isto porque na análise por espectrometria de massas descobriu-se que havia coeluição, possivelmente olefinas ou outros alcanos insaturados, com esses dois n-alcanos (Figura 3) na determinação por CG-DIC. Reddy *et al.* (2000) apresentam evidências de que dados publicados sobre a composição de folhas de vegetais superiores que apresentam valores "incomuns" de IPC podem ser, na verdade, decorrentes de erro na identificação de n-alcanos. Nas folhas de *A.schaueriana* e *L.racemosa* também foram identificados problemas de coeluição, mas em proporção bem menor e foi possível quantificar o n- $C_{28}$  e o n- $C_{30}$ .

O ACL (*average chain length*), ou comprimento médio da cadeia de n-alcanos, é um índice que pode ser utilizado para caracterizar respostas fisiológicas das plantas a fatores ambientais. Em climas tropicais quentes e com menor disponibilidade hídrica, plantas vasculares biosintetizam compostos de cadeia mais longa para compor suas ceras superficiais, enquanto que em climas temperados e maior disponibilidade hídrica, compostos de cadeia mais curta são



**Figura 4:** Mediana (símbolo), percentis (caixa) e min./máx. (barras) para o comprimento médio da cadeia de n-alcanos (ACL – *alkylated chain lenght*) nas folhas de *A.schaueriana*, *L.racemosa* e *R.mangle* coletadas nas duas áreas de estudo. Ver Tabela 1 para detalhes sobre a fórmula para o cálculo do

produzidos (Zhou *et al.*, 2005 e referências citadas).

Os valores de ACL, calculados para as folhas verdes e senescentes de cada espécie, variaram entre 28,4 e 31,2 (Tabela 1). Esses valores são, como esperado, concordantes com o encontrado em plantas de clima quente (Zhou *et al.*, 2005 e referências citadas). Por outro lado, é interessante notar que ao separar os dados para cada espécie e juntando folhas verdes e senescentes, os valores de ACL (30,6  $\pm$  0,4 para *A. schaueriana*; 28,7  $\pm$  0,1 para *L. racemosa* e 29,5  $\pm$  0,2 para *R. mangle*) são estatisticamente diferentes entre si (teste de Kruskall-Wallis) ao nível de p<0,01 (Figura 4).

Embora sejam resultados ainda preliminares, que precisam ser confirmados pela análise de um número maior de folhas de diferentes áreas, os valores mais altos de ACL para o conjunto de folhas de A.schaueriana indicam que essa espécie suportaria uma maior restrição hídrica, enquanto a L.racemosa, com menor ACL, seria a menos adaptada para isto (Figura 4). No entanto, a distribuição das espécies estudadas em Guaratiba (Soares, 1997; Corrêa, 2003) caracteriza-se pela ocorrência de A.schaueriana e L.racemosa em áreas de elevada salinidade, na transição entre a floresta de mangue e a planície hipersalina, onde existe um forte estresse hídrico. Esse fato nos remete à possibilidade de diferentes mecanismos para conservação de água. No caso de A. Schaueriana, o mecanismo utilizado é o recobrimento da folhas com compostos com cadeia mais longa. Já para L. Racemosa, que possui compostos de cadeia mais curta (menor ACL), haveria outras formas de adaptação, como, por exemplo, aumento da suculência de suas folhas em ambientes com estresse hídrico (Biebl & Kinzel, 1965; Smith et al., 1989; Medina, 1999). Esse mesmo raciocínio explicaria a menor tolerância de R. mangle a ambientes com maior estresse hídrico, pois, como apresentado, pois essa espécie possui um menor teor de n-alcanos nas folhas, quando comparada com as demais espécies,

e, também, uma menor suculência do que folhas de *L. racemosa* (Biebl & Kinzel, 1965; Lamberti, 1969; Soares, 1997). Portanto, *R.mangle* não apresenta um mecanismo alternativo de tolerância ao estresse hídrico.

Por fim, os resultados obtidos para o ACL indicam a possibilidade de utilizá-lo em testemunhos de sedimento como uma ferramenta adicional no estudo de evolução desses ecossistemas em escalas temporais de décadas ou centenas de anos. Para confirmar a utilidade do ACL em estudos de biogeoquímica e de paleoceanografia, estão sendo planejadas coletas de folhas de árvores de outras regiões na costa brasileira.

#### **CONCLUSÕES**

## As principais observações e conclusões do presente trabalho são as seguintes:

- As folhas de *A.schaueriana*, *L.racemosa* e *R.mangle* contém teores semelhantes de carbono, tanto nas folhas verdes como nas senescentes. No entanto, os valores de N apresentam alta variabilidade, principalmente na comparação entre folhas verdes e senescentes, o que afeta diretamente na razão C:N e impões restrições ao estabelecimento de valores de referência desse índice para caracterizar matéria orgânica proveniente de manguezais.

- As folhas de *R.mangle* são diferentes das outras duas espécies por possuírem menores concentrações de hidrocarbonetos alifáticos totais, que são os principais componentes das ceras cuticulares. Os menores teores de ceras nas folhas de *R.mangle* podem explicar, em parte, a baixa tolerância dessas plantas aos estresses hídrico e salino.

- Nas espécies *A.schaueriana* e *L.racemosa*, é nítida a separação entre folhas verdes e senescentes tanto para a razão C:N como para o teor de hidrocarbonetos alifáticos totais. No primeiro caso, os valores mais altos de C:N das folhas senescentes, devido à perda de N, são devido ao processo de retranslocação de nutrientes pelas plantas. Em relação ao teor de hidrocarbonetos, as concentrações mais altas nas folhas senescentes podem ocorrer devido à produção desses compostos ao longo da vida das folhas.

- As espécies *A.schaueriana* e *L.racemosa* apresentam, como esperado, perfis de n-alcanos típicos de vegetais superiores, com compostos de alto peso molecular (n- $C_{27}$  a n- $C_{34}$ ) e dominados pelos homólogos n- $C_{27}$ , n- $C_{29}$  e n- $C_{31}$ . O índice preferencial de carbono (IPC), que mede a razão entre n-alcanos ímpares em relação aos pares é também dentro do esperado, oscilando entre 5 e 10. Para as folhas de *R.mangle*, a composição dos n-alcanos é semelhante à das outras espécies, mas a sua identificação requer um maior cuidado analítico devido à coeluição de compostos ramificados e/ou insaturados com o n- $C_{28}$  e o n- $C_{30}$ . Caso esses cuidados não sejam tomados, obtém-se valores de irreais de IPC (<0.9).

- Os valores de ACL (alkylated chain lenght), ou comprimento médio da cadeia de alifáticos, foram estatisticamente diferentes entre as espécies de manguezal estudadas. Caso esses valores típicos sejam confirmados em estudos com maior densidade amostral e que incluam manguezais sujeitos a outros regimes climáticos, o ACL poderá ser uma ferramenta adicional a ser usada em estudos de biogeoquímica, ecofisiologia e de paleoceanografia em ambientes costeiros.

- A identificação da influência de fatores naturais (salinidade, p.ex.) e/ou antrópicos sobre a composição química das folhas de árvores de manguezal, tanto em relação ao teor de carbono e nitrogênio como de hidrocarbonetos alifáticos, requer um estudo mais amplo, com densidade amostral mais elevada e réplicas de amostragem.

### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem aos integrantes do NEMA-UERJ pelo auxílio durante as coletas e ao Dr. Arthur L. Scofield, Dra. Claudia Hamacher e Dra. Angela R. L. Wagener do LABMAN-PUC pelas análises no CG/EM.

## REFERÊNCIAS

- ALONGI, D.M., WATTAYAKORN, G., PFITZNER, J., TIRENDI, F., ZAGORSKIS, I., BRUNSKILL, G.J., DAVIDSON, A., CLOUGH, B.F. (2001) Organic carbon accumulation and metabolic pathways in sediments of mangrove forests in southern Thailand. Mar. Geol., 179(1-2): 85-103.
- BIEBL, R. & KINZEL, H. (1965) Blattbau und Salzhaushalt Von Laguncularia racemosa (L.) Gaertn. f. Und andere Mangrovebäune auf Puerto Rico. Österreichische Botanische Zeitschrift, 112: 56-93.
- BRAY, E.E. & EVANS, E.D. (1961) Distribution of n-paraffins as a clue to recognition of source beds. Geochim. et Cosmochim. Acta, 22: 2-15.
- CANUEL, E.A. (2001) Relations between river flow, primary production and fatty acid composition of particulate organic matter in San Francisco and Chesapeake Bays: a multivariate approach. Org. Geochem., 32: 563-583.
- CINTRON,G. & SCHAEFFER-NOVELLI,Y. (1983) Introduccion a la ecologia del manglar. Oficina Regional de Ciencia y tecnologia de la UNESCO Para América Latina y el Caribe - ROSTLAC. Montevideo.109 p.
- COLOMBO, J.C., PELLETIER, E., BROCHU, C., KHALL, M., CATOGGIO, J.A. (1989) Determination of hydrocarbon sources using n-alkanes and polyaromatic hydrocarbon distribution indexes. Case study: Rio de la Plata Estuary, Argentina. Environ. Sci. & Technol., 23: 888-894.

- CORRÊA, F.M. (2003) Retranslocação e teores totais de macronutrientes em folhas das espécies de mangue em Guaratiba, Rio de Janeiro. Tese de Doutorado, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 229 pp.
- DODD, R.S., BLASCO, F., RAFII, Z.A. TORQUEBIAU, E. (1999) Mangroves of the United Arab Emirates: ecotypic diversity in cuticular waxes at the bioclimatic extreme. Aquat. Bot., 63(3-4): 291-304.
- DODD, R.S., RAFII, Z.A., FROMARD, F., BLASCO, F. (1998) Evolutionary diversity among Atlantic coast mangroves. Acta Oecol., 19(3): 323-330.
- DOMINGUEZ, E. & HEREDIA, A. (1998) Waxes: a forgotten topic in lipid teaching. Biochem. Educ., 26(4): 315-316.
- FERNANDES, M.B. & SICRE, M.-A. (2000) The importance of terrestrial organic carbon inputs on Kara Sea Shelves as revealed by n-alkanes, OC and d13C values. Org. Geochem., 31: 363-374.
- 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). Est., Coast. and Shelf Sci., 57(5-6): 1023-1048.
- HEDGES, J.I. (1992). Global biogeochemical cycles: progress and problems. Mar. Chem., 39: 67-93.
- HEDGES, J.I. & STERN, J.H. (1984) Carbon and nitrogen determinations of carbonatecontaining solids. Limnol. and Oceanog., 29(3): 657-663.
- HEREDIA, A., MATAS, A., DOMINGUEZ, E. (2000) Investigating plant lipid biopolymers. Biochem. Edu., 28(1): 50-51.
- HOGG, R.W. & GILLAN, F.T. (1984) Fatty acids, sterols and hydrocarbons in the leaves from eleven species of mangrove. Phytochem., 23(1): 93-97.
- HUANG, Y., DUPONT, L., SARNTHEIN, M., HAYES, J.M., EGLINTON, G. (2000) Mapping of C4 plant input from North West Africa into North East Atlantic sediments. Geochim. et Cosmochim. Acta, 64(20): 3505-3513.
- HUTCHINGS, P.A. & SAENGER, P. (1987) Ecology of mangroves. University of Queensland Press. Brisbane. 388 p.
- JAFFÉ, R., MEAD, R., HERNANDEZ, M.E., PERALBA, M.C., DIGUIDA, O.A. (2001) Origin and transport of sedimentary organic matter in two subtropical estuaries: a comparative, biomarker-related study. Org. Geochem., 32: 507-526.
- LAMBERTI, A. (1969) Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas de manguezal de Itanhaém. Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da USP, 317 (Botânica), 23: 217 pp.
- LIN, P. & WANG, W. (2001) Changes in the leaf composition, leaf mass and leaf area during leaf senescence in three species of mangroves. Ecol. Engineering, 16: 415-424.
- LOGAN, G.A., SMILEY, C.J., EGLINTON, G. (1995) Preservation of fossil leaf waxes in association with their source tissues, Clarkia, northern Idaho, USA. Geochim. et Cosmochim. Acta, 59(4): 751-763.
- LUGO, A.E. & SNEDAKER, S.C. (1974) The ecology of mangroves. Annual Rev. of Ecol. and Systematics, 5: 39-64.

- MEDINA, E. 1999. Mangrove physiology: the challenge of salt, heat, and light stress under recurrent flooding. In: Yáñez-Arancibia, A., Lara-Domínguez, A.L. (Eds.) Ecosistemas de Manglar en América Tropical. Instituto de Ecología, A.C. México, UICN/ORMA, Costa Rica, NOAA/NMFS Silver Spring MD USA, pp.109-126.
- MEYERS, P.A. & ISHIWATARI, R. (1993) Lacustrine organic geochemistry an overview of indicators of organic matter sources and diagenesis in lake sediments. Org. Geochem., 20(7): 867-900.
- MISRA, S., CHOUDHURY, A., CHATTOPADHYAY, S., GHOSH, A. (1988) Lipid composition of Porteresia coarctata from two different mangrove habitats in India. Phytochem., 27(2): 361-364.
- MISRA, S., CHOUDHURY, A., PAL, P.K., GHOSH, A. (1986) Effect on the leaf lipids of three species of mangrove of periodic submergence in tidal water. Phytochem., 25(5): 1083-1087.
- MISRA, S., DATTA, A., CHATTOPADHYAY, A., CHOUDHURY, S., GHOSH, A. (1987) Hydrocarbons and wax esters from seven species of mangrove leaves. Phytochem, 26(12): 3265-3268.
- PEARSON, A. & EGLINTON, T.I. (2000) The origin of n-alkanes in Santa Monica Basin surface sediment: a model based on compound-specific d14C and d13C data. Org. Geochem., 31(11): 1103-1116.
- PRAHL, F.G., ERTEL, J.R., GONI, M.A., SPARROW, M.A., EVERSMEYER, B. (1994) Terrestrial organic carbon contributions to sediments on the Washington margin. Geochim. et Cosmochim. Acta, 58(14): 3035-3048.
- RAFII, Z.A., DODD, R.S., FROMARD, F. (1996) Biogeographic Variation in Foliar Waxes of Mangrove Species. Biochem. Syst. and Ecol. 24(4): 341-345.
- REDDY, C.M., EGLINTON, T.I., PALIC, R., BENITEZ-NELSON, B.C., STOJANOVIC, G., PALIC, I., DJORDJEVIC, S., EGLINTON, G. (2000) Even carbon number predominance of plant wax n-alkanes: a correction. Org. Geochem., 31(4): 331-336.. (1993) Sources and transport of particulate hydrocarbons in the meso-tidal Changjiang estuary. Est., Coast. and Shelf Sci., 37(6): 557-573.
- Silliman, J.E. & Schelske, C.L. (2003) Saturated hydrocarbons in the sediments of Lake Apopka, Florida. Org. Geochem., 34(2): 253-260.
- SMITH, J.A.C., POPP, M., LÜTGE, U., CRAM, W.J., DÍAZ, M., GRIFFITHS, H., LEE, H.S.J., MEDINA, E., SCHÄFER, C., STIMMEL, K.H., THONKE, B. (1989) Ecophysiology of xerophytic and halophytic vegetation of a coastal alluvial plain in northern Venezuela. VI. Water relations and gas exchange of mangroves. New Phytol., 111, 293-307.
- SOARES, M.L.G., 1997. Estudo da Biomassa Aérea de Manguezais do Sudeste do Brasil -Anállise de Modelos. Tese de Doutorado, Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, 294 pp.
- SOARES, M.L.G., 2002. Diagnóstico de Danos Causados aos Manguezais da Baía de Guanabara pelo Derramamento de Óleo Ocorrido em Janeiro de 2000, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, 274 pp.
- SOARES, M.L.G., CHAVES, F.O., CORRÊA, F.M., JÚNIOR, C.M.G.S., 2003. Diversidade estrutural de bosques de mangue e sua relação com distúrbios de origem antrópica: o caso da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro). An. do Inst. de Geociências UFRJ, 26: 101-116.

- SOARES, M.L.G, TOGNELLA-DE-ROSA, M.M.P., OLIVEIRA, V.F., CHAVES, F.O., SILVA JR., C.M.G., PORTUGAL, A.M.M., ESTRADA, G.C.D., BARBOSA, B., DE ALMEIDA, P.M.M. (2005) Ecological Impacts of Climatic Change and Variability: Coastal Environments - Mangroves and Salt Flats. In: Environmental Changes in South America in the Last 10k Years: Atlantic and Pacific Controls and Biogeophysical Effects. Report to the Inter-American Institute for Global Change Research, Brazil. 62 p.
- SOTO, R. (1992) Nutrient concentration and retranslocation in coastal vegetation and mangroves from the Pacific coast of Costa Rica. Brenesia, 0(37): 33-50.
- TOLOSA, I., DE MORA, S., SHEIKHOLESLAMI, M.R., VILLENEUVE, J.-P., BARTOCCI, J., CATTINI, C. (2004) Aliphatic and aromatic hydrocarbons in coastal Caspian Sea sediments. Mar. Poll. Bull., 48(1-2): 44-60.
- WAFAR, S., UNTAWALE, A.G., WAFAR, M. (1997) Litter Fall and Energy Flux in a Mangrove Ecosystem. Est., Coast. and Shelf Sci., 44(1): 111-124.
- WANG, W. & LIN, P., 2000. Transfer of salt and nutrients in Bruguiera gymnorrhiza leaves during development and senescence. Mang. and Saltmarshes, 3: 1-7.
- WANG, X.-C., CHEN, R.F., BERRY, A. (2003) Sources and preservation of organic matter in Plum Island salt marsh sediments (MA, USA): long-chain n-alkanes and stable carbon isotope compositions. Est., Coast. and Shelf Sci., 58(4): 917-928.
- WANNIGAMA, G.P., VOLKMAN, J.K., GILLAN, F.T., NICHOLS, P.D., JOHNS, R.B. (1981) A comparison of lipid components of the fresh and dead leaves and pneumatophores of the mangrove Avicennia marina. Phytochem., 20(4): 659-666.
- ZHOU, W., XIE, S., MEYERS, P.A., ZHENG, Y. (2005) Reconstruction of late glacial and Holocene climate evolution in southern China from geolipids and pollen in the Dingnan peat sequence. Org. Geochem., 36(9): 1272.