

Parte III

ÁGUA

Capítulo 7

Amostragem de água para análises biológicas

Mariana Pinheiro Silveira e Júlio Ferraz de Queiroz

7.1. Amostragem das águas de superfície

7.1.1. Rios

Os rios, ou ambientes lóticos, são caracterizados pela constante movimentação das águas. Essa turbulência freqüentemente gera uma distribuição heterogênea de parâmetros físicos, químicos e biológicos neste ambiente. Outra característica marcante dos rios é que o seu volume varia temporalmente. Assim, ao se planejar uma amostragem, é preciso contemplar dois fatores: a amostragem em diferentes seções transversais e longitudinais do canal estudado, e a amostragem em diferentes épocas do ano, a fim de se observar as variações temporais de vazão do rio em estudo. Assim como a turbulência, a vazão do rio também terá influência sobre os parâmetros físico-químicos e biológicos da água.

7.1.1.1. Localização dos pontos de amostragem

O número de pontos de amostragem e a sua localização dependerão do objetivo da pesquisa. Devem ser levados em conta pelo pesquisador fatores como o tamanho da amostra e número de unidades amostrais.

Estudos limnológicos de pesquisa básica geralmente envolvem a mensuração de medidas físicas e químicas da água, a determinação da biomassa e da densidade de populações aquáticas e a variação destes parâmetros (físico-químicos e biológicos) no tempo e no espaço.

De maneira geral, quando se quer avaliar o impacto de algum poluente agrícola, por exemplo, a amostragem deve abranger três seções do rio estudado: a região à montante do impacto sofrido, para se avaliar as condições naturais sem o impacto; a região afetada diretamente pelo impacto, ou seja, a região de origem da fonte poluidora; e a região a jusante do impacto, para que se avalie o grau de autodepuração ou de recuperação do rio após o impacto sofrido. Entretanto, é preciso ressaltar que esta metodologia é válida apenas para casos de poluição pontual, onde a localização e a identificação dos efluentes é conhecida. Já em casos de poluição difusa, seria mais adequada a amostragem ao longo de todo o rio (desde a nascente até a foz). A poluição difusa ou não pontual é mais freqüentemente encontrada, pois em rios urbanos ou próximos a cidades são várias as fontes poluidoras: esgoto doméstico, poluição industrial e agrícola, entre outras. Muitas vezes os efluentes são liberados nos rios *in natura* (sem tratamento) e em cargas superiores à capacidade de depuração do rio. Esta mistura de diferentes fontes poluidoras ainda pode causar efeitos sinérgicos, piorando a situação de poluição e dificultando a aplicação de medidas mitigadoras.

7.1.1.2. Metodologia de amostragem

Além das amostras de água, é necessário medir alguns parâmetros fisiográficos importantes e influentes tanto nas características físico-químicas como nos parâmetros biológicos (fito e zooplâncton) que caracterizarão com mais propriedade as amostras de água. Como exemplo, deve ser considerada a largura e a profundidade média do canal, a velocidade média da correnteza e a vazão.

a) Largura e profundidade

Em rios de pequeno porte, a medição destes parâmetros básicos requer apenas uma estaca de madeira de 1 metro a 1 metro e meio, milimetrada com caneta para retroprojeter (à prova d'água). A medição é feita colocando-se a estaca horizontalmente na superfície da água, de uma margem à outra. Assim, obtém-se a largura. Ao mesmo tempo em que se marca a largura do

A amostragem de água para análises biológicas

canal, a cada metro percorrido coloca-se a estaca na posição vertical, até que ela toque no leito do canal, obtendo-se a profundidade. Assim, ao final será obtido um perfil transversal e longitudinal do rio estudado, com suas respectivas largura e profundidades (Fig. 1).

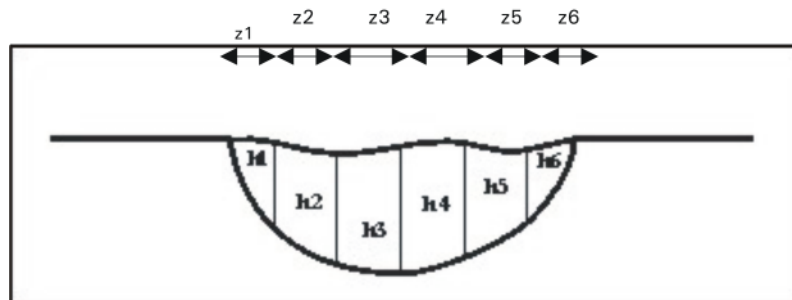


Fig. 1. Esquema da seção transversal de um rio dividida em diferentes subseções. z – larguras das subseções; h – altura de cada subseção transversal.

Já em caso de rios profundos ou grandes rios, a medição pode ser feita com um ecobatímetro. O princípio deste equipamento consiste em que um feixe de ondas sonoras (freqüência menor que 18KHz) ou ultra-sonoras (freqüência maior que 18KHz) seja transmitido verticalmente por emissor instalado na embarcação, atravessando o meio líquido até atingir o fundo submerso, e aí se reflete, retornando à superfície, onde é detectado por um receptor. O tempo decorrido entre a emissão do sinal e a recepção do eco refletido do fundo submerso é convertido em profundidade, visto que a velocidade do som na água é conhecida ou determinada. O registrador então representa visualmente ou graficamente o perfil transversal da profundidade.

b) Velocidade da correnteza

O molinete é um instrumento que mede a velocidade da correnteza com base no número de voltas por unidade de tempo, na medida em que passa o fluxo de água.

O método do flutuador também pode ser utilizado para calcular a velocidade da correnteza em rios de pequeno porte, embora seja um método

mais grosseiro. Neste método, uma seção reta do canal é selecionada, e é definida uma distância. O flutuador pode consistir em uma laranja ou bola de tênis. Então, o tempo em que o flutuador percorrerá a distância definida é medido várias vezes. Este método é menos preciso do que o molinete porque a velocidade da água não é homogênea ao longo de qualquer seção transversal ao canal e nem ao longo da profundidade. Deste modo, o método do flutuador é mais adequado para riachos e rios de pouca profundidade.

c) Vazão

A vazão de um rio é uma medida de grande importância na avaliação da qualidade da água, pois o volume de água numa determinada seção influirá na capacidade de autodepuração do corpo d'água. A vazão pode ser definida como o volume de água que passa por determinada seção na unidade de tempo. A sua medida se dá pelo produto da área da seção transversal amostrada e a velocidade da corrente naquela seção. O fluxo de água é dado pelo volume na unidade de área e de tempo.

$$Q = A \cdot v \quad (1)$$

em que:

Q = vazão ou descarga de água;

A = seção transversal;

v = velocidade da corrente.

Em geral, o medidor de velocidade da correnteza se posiciona no meio da calha do rio, obtendo o valor médio da velocidade naquele ponto. Porém, em casos de rios profundos e grandes, pode-se dividir a calha do rio em várias seções transversais e, de dentro de um barco, medir a velocidade da água com auxílio de um molinete, em cada uma das seções estabelecidas. Assim, é possível obter várias "vazões", uma para cada seção transversal (Fig. 1). Ao final, faz-se o somatório das vazões para se obter a vazão total.

$$Q = \sum Q_n = z_1 h_1 V_1 + \dots + z_n h_n V_n \quad (2)$$

A amostragem de água para análises biológicas

Onde:

z = largura da seção transversal;

h = profundidade da seção transversal;

V = velocidade da água na seção transversal.

d) Coleta de água

O principal coletor de amostras de elementos dissolvidos da água (fase líquida) é a garrafa de Van Dorn, cujo funcionamento e estrutura são semelhantes à garrafa de Ruttner (Fig. 2). Esta garrafa possui um dispositivo, chamado mensageiro, que consiste em um peso metálico que corre ao longo da corda que sustenta o aparelho para desarmar o mecanismo de trava das tampas. Podem ser feitas de metal ou material sintético. As sintéticas são preferíveis por serem mais leves e práticas de operar e por não apresentarem risco de contaminação do zooplâncton em caso de estudos ecotoxicológicos. Sensores de alguns parâmetros físico-químicos, tais como: temperatura da água, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido podem ser acoplados na garrafa de Van Dorn, para medição no campo. Em lagos eutróficos (com grande quantidade de nutrientes) pode-se usar garrafa de pequeno volume (1 a 2 litros), mas em lagos oligotróficos (com pouca quantidade de nutrientes) são preferidas as garrafas de maior volume (5 litros) (COELHO, 2004).

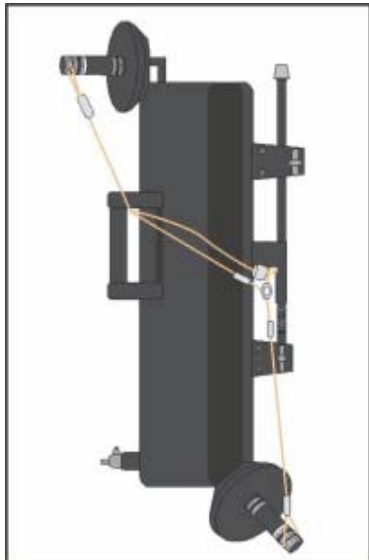


Fig. 2. Amostrador de fitoplâncton: Garrafa de Ruttner.

Diferentemente do material dissolvido, o material particulado não se distribui homogeneamente na coluna d'água. Por isso, existe a necessidade de um amostrador que colete amostras em diferentes profundidades. Estes coletores devem percorrer toda a coluna d'água com velocidades constantes de subida e de descida. Os coletores de material particulado geralmente consistem de garrafas com sacos plásticos dentro que, após a coleta, são removidos.

e) Armazenagem e preservação das amostras

As amostras de água devem ser acondicionadas em frascos apropriados, pois o material do qual o recipiente é feito pode acarretar em contaminações da amostra. Para a análise de parâmetros comuns como nitrogênio, amônia, ortofosfato, dureza, condutividade, as garrafas plásticas são adequadas. Os frascos de borosilicato ou de polietileno (de preferência escuros e resistentes a álcalis) são indicados para as análises de resíduos.

Quando não houver como fazer as análises em campo, a amostra deverá ser preservada para que não haja alterações em sua composição físico-química até o momento da análise em laboratório. Em geral, a maioria dos métodos de preservação inclui a adição de ácidos, de modo que a amostra preservada atinja um pH de 1-2. Para metais, utiliza-se ácido nítrico, que deve ser destilado antes do uso; o cloreto de mercúrio é usado na preservação de compostos orgânicos. Já os gases (gás carbônico, oxigênio dissolvido) exigem medidas especiais de amostragem e preservação. Por fim, a preservação de sedimentos em suspensão demanda apenas resfriamento.

7.1.2. Lagos, lagoas e represas

Uma das características de sistemas ecológicos é sua variação não aleatória, resultando na existência de padrões no espaço e no tempo. Nos lagos, lagoas e represas (ambientes lênticos) são comuns as estratificações vertical e horizontal. Nessas condições, medidas comparativas entre unidades amostrais, como similaridade, dissimilaridade e diferenças em diversidade de espécies, serão dependentes do tamanho das unidades amostrais.

A amostragem de água para análises biológicas

Em represas, particularmente, a variação do nível da água é mais evidente do que em lagos e lagoas, uma vez que há entrada contínua de água através de seus tributários; e há também saída constante de água, por meio de vazão vertida e turbinada. Essas variações implicam em mudanças espaço-temporais na concentração de nutrientes e sedimento na água do reservatório.

7.1.2.1. Localização dos pontos de amostragem

Geralmente, em amostragens no ambiente lântico (de águas paradas) a coleta é feita na área litorânea (das margens) e na área pelágica (central).

Em grandes reservatórios, geralmente a coleta é feita em braços e na sua região central, em áreas próximas ao vertedouro, na região mais profunda, ou em pontos distribuídos ao longo do eixo principal e próximo à desembocadura do(s) rio(s) formador(es). Já em pequenos reservatórios, geralmente se amostra na região mais profunda, junto ao vertedouro ou nas áreas central e litorânea.

Em lagoas costeiras, as áreas coletadas costumam ser aquelas proximais ou distais em relação à conexão com o mar e a proximidade de afluentes.

Em pequenos lagos de inundação, a região coletada é a mais profunda, a região litorânea junto a macrófitas e a área de conexão ou de maior profundidade com o rio. As épocas de coleta são no mínimo quatro: período de estiagem, de enchente, de cheia e de vazante, representando as variações estacionais.

7.2. Parâmetros biológicos

7.2.1. Fitoplâncton

Em águas interiores, podem ser encontrados representantes de praticamente todos os grupos de algas. A predominância de um ou outro grupo em determinado ecossistema é função, principalmente, das características

do meio. Como exemplo, nos lagos distróficos (ricos em compostos húmicos), ocorrem predominantemente as algas Chlorophyta, representada pela família Desmidiaceae. Dentre os grupos principais presentes na água doce, temos: Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta, Chrysophyta, Pyrrophyta (ESTEVES, 1998).

A comunidade do fitoplâncton constitui a base da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos, e é a principal responsável pela produção de oxigênio dissolvido na água.

O fitoplâncton também pode ser bioindicador da qualidade da água. Assim, quando a concentração de nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo) atinge níveis extremos nos ambientes aquáticos, ocorre a proliferação de algas (*bloom* de algas), em função da grande oferta de alimento. O resultado final é o decréscimo do oxigênio dissolvido na água, cujo consumo, é indicado pela Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO, que aumenta muito. A proliferação demasiada de algas pode levar a morte de peixes e organismos aquáticos através da falta de oxigênio. Assim, o crescimento descontrolado do fitoplâncton é um indicativo de poluição orgânica nos ecossistemas aquáticos.

Algumas algas cianofíceas (*Anabaenopsis raciborskii*) e diatomáceas (*Asterionella* spp) são indicadoras de eutrofização. Os gêneros *Anabaena* e *Mycrocystis* liberam toxinas (geosmina e microcistina, respectivamente) comprometendo a potabilidade das águas para abastecimento. Por isso, a Portaria 1469/01 do Ministério da Saúde recomenda o monitoramento constante nos mananciais de abastecimento. E ainda, a proporção da biomassa de Clorophyta/Cyanophyta pode indicar proporção de N e P nos ecossistemas aquáticos.

a) Amostragem

Em geral, as pesquisas com fitoplâncton estudam os padrões de distribuição espacial e temporal e a sua correlação com os fatores ambientais que regulam essas distribuições.

A amostragem de água para análises biológicas

Alguns exemplos de amostradores para a comunidade do fitoplâncton são: van Dorn ou Ruttner (Fig. 2). As amostras são então processadas pelos métodos de sedimentação e concentração que permitem o aumento do número de indivíduos a serem enumerados, geralmente em microscópio óptico convencional, entre lâmina e lamínula. A análise quantitativa do fitoplâncton é a única que permite determinar tanto a biomassa ou densidade quanto a estrutura taxonômica das populações.

O método de quantificação das populações fitoplanctônicas mais utilizado é o de Utermöhl (1958). Ele se baseia no uso de uma câmara, no qual uma subamostra de 5-50 ml é colocada e deixada para sedimentar em câmaras de volume definido e contagem em microscópio invertido. Com este método, de enumeração dos organismos em campos aleatórios, as estimativas numéricas são mais próximas da população estatística. É recomendável, sempre que possível, a enumeração de 400 indivíduos da espécie mais freqüente para um intervalo de confiança de 95% (LUND et al., 1958), e um coeficiente de variação de 20% a 30% entre as amostras. Entretanto, isto só é possível quando ocorrem altas densidades populacionais, como em períodos de florações.

b) Distribuição espacial e temporal

As populações do fitoplâncton são influenciadas por variações nas massas d'água, as quais sofrem constantes alterações por processos físicos de circulação da água (advecção, convecção, turbulência, ondas internas, etc), e por processos biológicos (taxas de crescimento, herbivoria, mecanismos de flutuação das algas, etc).

Para a detecção de padrões espaciais, segundo Huszar & Giani (2004), é interessante aumentar o número de unidades amostrais, reduzindo a freqüência de coleta; e para detectar padrões temporais é desejável aumentar a freqüência das amostragens em menor número de compartimentos do lago.

b. 1) Distribuição vertical

A heterogeneidade vertical da coluna d'água é comum em ambientes termicamente estratificados. Nesses casos, as maiores densidades populacionais se localizam nas camadas mais superficiais. O número de unidades

amostrais dependerá, então, do grau dessa estruturação vertical. No Brasil, a estruturação vertical tem sido avaliada a partir de unidades amostrais coletadas arbitrariamente na superfície dos lagos, na metade da coluna d'água e junto ao fundo ou, então, a profundidades que correspondem a diferentes intensidades luminosas (100%, 75%, 50%, 10% e 1% da luz na subsuperfície). Ambientes rasos (cerca de 2m) são, muitas vezes, amostrados na superfície e no fundo ou apenas na superfície, supondo ausência de estruturação vertical (HUSZAR & GIANI, 2004).

O crescimento repentino e descontrolado de algas, fenômeno freqüente em ambientes eutrofizados, pode ter relação com a migração do fitoplâncton na coluna d'água. A proliferação sem controle de espécies de algas dinoflageladas, ocasionado pela disponibilidade de nutrientes em excesso, foi correlacionado com a migração vertical da espécie (*Gymnodinium splendens*), em um lago no Estado de Washington, nos Estados Unidos (ALBERSTON et al., 1995).

b.1.1) Amostragem ideal:

A fim de se obter uma amostra mais completa, Huszar e Giani (2004) sugerem amostragens integradas nos estratos homogêneo e estratificado, em estudos de reconhecimento de padrões, ou em zonas eufótica e afótica, para trabalhos sobre produção primária. A vantagem seria a maior abrangência da variabilidade no campo, com mesmo esforço de quantificação das populações fitoplanctônicas em laboratório. Segundo estas autoras, em um mesmo estrato, poderiam ser coletadas amostras a diferentes profundidades e depois misturadas, ou ser utilizados amostradores que integrem as porções desejadas da coluna d'água.

A amostragem estratificada ao acaso vem sendo considerada eficiente por assegurar cobertura mais completa da variabilidade, sem perder as propriedades da aleatoriedade (IRISH & CLARKE, 1984). Para eficiência máxima, os estratos deveriam ser internamente homogêneos, com variabilidade máxima entre estratos.

A amostragem de água para análises biológicas

b.2) Dimensão horizontal

Em sistemas lênticos, a heterogeneidade horizontal forma mosaicos, cujo tamanho e duração estão relacionados aos processos físicos e intrínsecos à comunidade. Tais mosaicos são formados de acordo com padrões de fluxo (advectivo e convectivo), os quais são mantidos pelo tempo em que a dinâmica das populações, por meio de seus processos de crescimento e perda, exceda as taxas de erosão em seus bordos. Em regiões onde haja algas de rápido crescimento, assim como regiões de maior variabilidade ambiental, espera-se maior heterogeneidade (HUSZAR & GIANI, 2004).

Na dimensão horizontal, o intervalo temporal de coleta é crucial, pois, dependendo da extensão horizontal, da velocidade de escoamento da massa d'água e do tempo de geração das populações, a variabilidade detectada também pode estar relacionada às mudanças intrínsecas à comunidade, e não somente, aos fatores externos que regulam suas distribuições. Segundo Huszar & Giani (2004), para a detecção de padrões horizontais, é desejável aumentar o número de unidades amostradas, reduzindo a frequência de coleta e utilizando amostras superficiais ou integradas.

b. 3) Dimensão temporal

As variações cíclicas de luz e temperatura resultam em variações na biomassa e na composição do fitoplâncton. Assim, algumas coletas abrangem um calendário anual ou interanual. As variações diárias são abordadas pelas coletas que acompanhem o comportamento nictemeral dos organismos. Em um estudo italiano, no lago Di Tovel, Baldi (1941) estudou a migração vertical do fitoplâncton causada por fototaxia. No verão, este lago apresentava uma cor avermelhada durante o dia e esverdeada durante a noite. A cor avermelhada começava a surgir por volta das 9 horas alcançando seu máximo às 14 horas. Isto é provocado pela migração da alga dianofíceia *Glenodinium sanguineum*, que acumula gotículas de lipídeos com carotenóides durante esse período do dia, sendo atraída pela luz para a superfície (fototaxia positiva). A produtividade também é afetada pelo horário. No lago Castanho, na Amazônia, Schmidt (1973) observou que a produtividade das 14:00 às 18:00 foi significativamente inferior àquela observada no restante do dia.

As coletas devem estar em acordo com o tempo de geração das algas planctônicas, que normalmente é de 1 a 10 dias. Portanto, amostragens semanais e quinzenais têm sido recomendadas (PADISÁK et al., 1993). Coletas mensais podem ser adequadas em pesquisas de longo prazo, em que as falhas na variação anual são compensadas pelas longas séries temporais (WILLÉN & WILLÉN, 1978). Entretanto, quando o objetivo é conhecer, em detalhe, a dinâmica sucessional da comunidade, devem ser adotadas escalas semanais, de preferência, ou quinzenais. Por outro lado, para estudo de processos que ocorrem em escalas de tempo menores, como a migração vertical do fitoplâncton na coluna d'água, são recomendadas coletas que acompanhem o deslocamento das populações nictemerais. Já para estudos de descrição geral da composição e da biomassa do fitoplâncton, a frequência de coleta pode ser em intervalos de tempo maiores.

7.2.2. Zooplâncton

Coleta

A comunidade do zooplâncton é composta por consumidores primários (herbívoros) e predadores de diferentes níveis tróficos. Sua importância se deve ao fato de estarem posicionados na base da cadeia alimentar e, graças ao seu metabolismo, são capazes de influenciar processos ecológicos fundamentais, como ciclagem de nutrientes e magnitude da produção biológica. Estes organismos vivem em lagos, reservatórios, assim como em grandes rios, e estão dispersos na coluna d'água. Por isso, sua coleta quase sempre envolve concentração prévia por meio de algum tipo de filtragem.

As redes para coleta foram desenvolvidas já no século XIX (DE BERNARDI, 1984). Consistem em redes acopladas a um cone que concentra a amostra, ao fazer a filtragem. Segundo Coelho (2004), as redes mais eficientes devem ser dotadas de cone redutor e a área de filtragem deve ser, aproximadamente, três vezes maior do que a área da boca da rede (Fig. 3).

A amostragem de água para análises biológicas

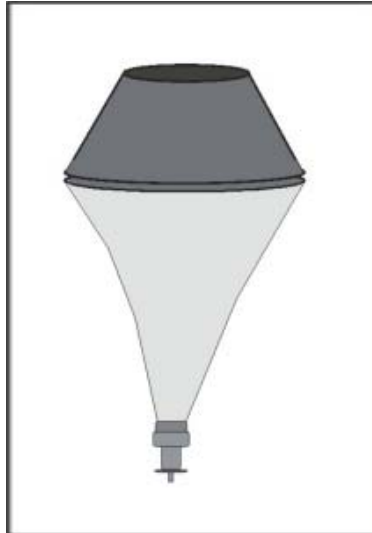


Fig. 3. Rede coletora de zooplâncton.

O volume filtrado é calculado pela seguinte fórmula:

$$V_f = \Pi.r^2.d \quad (3)$$

em que:

V_f = volume filtrado;

r = raio da boca da rede;

d = distância percorrida.

Normalmente, os programas de amostragem de zooplâncton regulares devem considerar dois tamanhos distintos de poros para o coletor. Para o microzooplâncton (organismos menores do que 200 μm), sugere-se a adoção de redes com malha de 50-65 μm e, para organismos mesozooplanctônicos (> 200 μm), sugere-se o uso de redes com malha na faixa de 120-160 μm . Além disso, normalmente as redes obtêm maiores eficiências quando são desenhadas especificamente para o ambiente onde são operadas. Assim, um lago eutrófico, dominado por pequenos organismos, poderá ser amostrado utilizando rede pequena, com diâmetro entre 20 e 40 cm e abertura de malha por volta de 70 micrômetros, desde que os arrastos sejam relativamente pequenos para que a rede não fique colmatada. Já num lago oligotrófico, dominado por grandes cladóceros e calanóides, a malha

recomendada é de 200 µm com diâmetro de 60 a 80 cm de abertura (COELHO, 2004).

Como o zooplâncton apresenta distribuição irregular na coluna d'água, e migração vertical diurna, foram desenvolvidas redes especiais dotadas de mecanismos que permitem abertura e fechamento do cone coletor em determinadas profundidades. Na maioria dos casos, esse mecanismo é acionado por mensageiros (descritos anteriormente na coleta de fitoplâncton).

As armadilhas de plâncton também são bastante utilizadas, pois apresentam precisão do volume filtrado, e possuem um modo de fechamento especial. Um exemplo é a armadilha de Clarke-Juday. A armadilha de Schindler (Fig. 4) é feita de acrílico e tem a vantagem de diminuir o efeito do mecanismo de fechamento oblíquo, além de ser mais simples e leve. Esta última armadilha é útil para a captura de copépodes e organismos de grande porte.

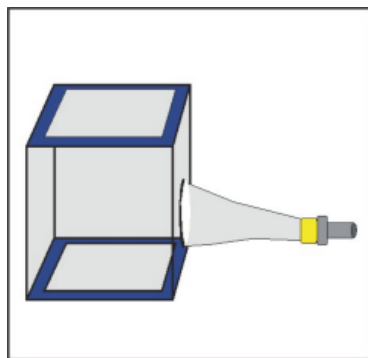


Fig. 4. Armadilha de Schindler para coleta do zooplâncton.

Preservação

A preservação dos organismos pode ser feita com agentes químicos (formalina com corante) ou por meio de diferentes processos físicos (congelamento com posterior liofilização), dependendo do tipo de estudo (COELHO, 2004).

a) Preservação com formalina: a concentração final deve ser entre 3% e 4%, adicionando-se uma parte de formol para nove partes de água. O tamponamento utiliza bórax para obter pH neutro. A adição de sacarose

A amostragem de água para análises biológicas

(1:4) na solução de formalina também é comum, fornecendo maior resistência à quitina dos organismos, e preservando-os por mais tempo. O corante utilizado na fixação é o Rosa de Bengala. A adição de corante é necessária para facilitar a contagem e o processo de identificação dos organismos.

b) Os estudos ligados à ecofisiologia e à bioquímica requerem fixação do zooplâncton sem usar calor ou preservativos químicos. O congelamento rápido seguido da liofilização é usado para pesquisas que requerem determinações precisas da biomassa e estudos sobre composição elementar (C, N e P), bioquímica (carboidratos, lipídeos, enzimas, ácidos nucléicos) ou de natureza toxicológica (metais, traços radioativos, biocidas). Os organismos podem ser congelados a -18°C , utilizando gelo seco (-44°C) ou nitrogênio líquido (ponto de ebulição a $-195,8^{\circ}\text{C}$). Após o congelamento, o zooplâncton é liofilizado (secagem a ultravácuo em que a água é sublimada – passando diretamente do estado sólido para o vapor).

Contagem

As lâminas de contagem podem ser: Neubauer ($h = 0,100\text{ mm}$, $A = 0,0625\text{ mm}^2$), Fuchs-Rosenthal ($h = 0,200\text{ mm}$, $A = 0,0625\text{ mm}^2$) ou Sedwick-Rafter ($\text{vol} = 1\text{ ml}$). As duas primeiras são mais adequadas para o nanoplâncton (organismos maiores do que 2 micrômetros). Já para o micro e mezoplâncton, a contagem é feita com a cubeta de Sedwick-Rafter. Em geral, a contagem do zooplâncton envolve a escolha entre trabalhar com pequenas subamostras e contá-las em microscópio com grande resolução óptica ou trabalhar com grandes subamostras, ou mesmo toda a unidade amostral, e utilizar estereoscópio com menor resolução óptica (COELHO, 2004).

7.2.2.1. O zooplâncton como bioindicador de qualidade de água

Estudando o Reservatório Ibitinga (SP), Güntzel et al. (2002) verificaram que o gênero *Pompholix* e as espécies *Brachionus calyciflorus*, *Euchlanis dilatata* e *Notodiptomus iheringi*, ocorriam concomitantemente na porção superior do reservatório, afirmando o seu papel como indicadores de condições eutróficas. Por outro lado, espécies do gênero *Synchaeta* e os

cladóceros *Bosminopsis deitersi* e *Moina minuta* foram dominantes nos tributários dos rios Jacaré-Pepira e Jacaré-Guaçu. Estas mesmas espécies foram encontradas em reservatórios oligotróficos do Estado de São Paulo (HEREDIA-SEIXAS, 1981, ROCHA & GÜNTZEL, 1999).

Quanto à sensibilidade a pesticidas, também há registro de respostas do zooplâncton. Quando os pesticidas temefos, chlorpyrifos e dursban foram aplicados em áreas alagadas de Minnesota (EUA) em concentrações típicas observadas no campo, houve a morte de copépodos e cladóceros (HELGEN et al., 1988). Os herbicidas também podem aumentar a dominância de espécies adaptadas a ambientes abertos (ex: cladóceros), uma vez que a sua base alimentar (algas) aumenta muito após a redução do sombreamento originário da vegetação aquática.

7.2.3. Bactérias

O papel da comunidade microbiana nos ecossistemas aquáticos é crucial para o seu funcionamento. Os fluxos de carbono e energia estão fortemente acoplados dentro da comunidade microbiana, e o comportamento dinâmico do elo microbiano é, basicamente, resultado de três processos: comensalismo (produção de matéria orgânica dissolvida pelo fitoplâncton e sua utilização por bactérias), competição (por nutrientes entre bactérias e fitoplâncton, sendo influenciada pela disponibilidade de substratos) e predação (por flagelados, ciliados e microzooplâncton, que promovem o *feedback* de nutrientes e parte da matéria orgânica dissolvida) (STOCKNER & PORTER, 1988).

As amostras para análise de bactérias devem ser coletadas *in natura*, utilizando amostrador ZoBell ou frascos de vidro de boca larga esterilizados (ATLAS & BARTHA, 1993). O uso de garrafas amostradoras (Ruttner, Van Dorn, etc.) é adequado, sendo importante retirar primeiro a unidade amostral destinada à análise das bactérias, a fim de evitar a contaminação ou alteração da referida unidade.

A amostragem de água para análises biológicas

Vários fixadores (formaldeído, glutaraldeído, paraformaldeído) em diferentes concentrações (1%-5%), tamponados ou não, têm sido utilizados para fixação de bactérias (KEMP et al., 1993). Para ecossistemas de água doce, formaldeído 2%-3% (concentração final) pode ser recomendado. As unidades amostrais devem ser acondicionadas em frascos escuros, protegidas da luz e transportadas a baixas temperaturas (4-10°C), mas nunca congeladas. O tempo de armazenagem das amostras ainda não está definido. No entanto, para unidades amostrais fixadas com aldeídos e mantidas a 5°C (como para bactérias), podem ser armazenadas por uma ou duas semanas.

O volume de unidade amostral a ser coletado, geralmente, está relacionado ao grau de trofia do ambiente (quantidade de nutrientes disponíveis). Segundo Kirchmann et al. (1982), de 100ml a 1L são adequados para o estudo de bactérias.

O uso de meios de cultura é importante nos processos de contagem de bactérias. Com o método de espalhamento em placa (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC) ou pela determinação do número mais provável (NMP), obtém-se o número de células cultiváveis, que é cerca de duas a quatro ordens de magnitude menor que o número total (GOMES et al., 1998).

O número de bactérias do grupo Coliforme é bastante comum para se caracterizar a balneabilidade das águas, sendo um parâmetro de grande importância na definição das classes de águas estabelecidas pela Resolução CONAMA 357/05. Há dois tipos: coliformes totais e fecais, estando presentes em amostras de água poluídas e não poluídas. Vale ressaltar que não existe relação quantificável entre coliformes totais e microorganismos patogênicos. A desvantagem do uso de coliformes como indicadores de qualidade de água é a sua curta persistência no ambiente, sendo sensíveis à luz e ao cloro, podendo assim permanecer nas amostras por apenas 48 horas. Uma alternativa é complementar as pesquisas com bactérias heterotróficas, pois são patógenos e não são exclusivamente de origem fecal (ex: *Pseudomonas aeruginosa*), sendo ideais para águas doces com baixas taxas de indicadores fecais.

A relação entre coliformes fecais e estreptococos fecais (CF/EF) é um bom indicador sobre a origem da contaminação. Quanto maior o valor da relação CF/EF, considera-se que seja maior a contribuição relativa de origem humana (VON SPERLING, 1996).

Referências

ALBERTSON, S.; NEWTON, J.; EISNER, L.; JANZEN, C.; BELL, S. **Sinclair and Dyes inlet seasonal monitoring report**. Washington: Department of Ecology. 1995. 91p. 1992 Disponível em: <<http://www.ecy.wa.gov/biblio/95345.html>>. Acesso em: 21 maio 2004.

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 2. ed. Menlo Park: the Benjamin/Cummings Publishing Company, 1993. 573p.

BALDI, E. Ricerche idrobiologiche sul Lago di Torcl. **Mem. Mus. Stor. Nat. Venezia Tridentina**, v.6, 1941.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, 18 de março de 2005.

COELHO, R. M. P. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia**. São Carlos: Editora Rima, 2004. p. 149-166.

DE BERNARDI, R. Methods for the estimation of zooplankton abundance. In: DOWNING, J.; RIGLER, F. H. (Ed.). **A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters**. London: Blackwell Scientific Publication, 1984. p. 59-86. (IBP Handbook, n. 17).

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

GOMES, E. A. T.; ARCIFA, M.S.; MESCHIATTI, A.J. Aquatic bacteria in a tropical coastal lagoon. **Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 26, n. 3, p. 1468-1472, 1998.

A amostragem de água para análises biológicas

GÜNTZEL, A. M.; ROCHA, O.; MATSAMURA-TUNDISI, T. **Zooplankton assemblages as indicators of spatial heterogeneity and temporal variability in Ibitinga Reservoir, middle Tietê River, SP, Brazil.** Disponível em: <<http://www.hbu.cas.cz/ResLim2002/PRINT/110-113.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2004.

HELGEN, J.C.; LARSON, N.J.; ANDERSON, R.L. Responses of zooplankton and Chaoborus to temephos in a natural pond and in the laboratory. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 17, p. 459-471, 1988.

HEREDIA-SEIXAS, M. **Aspectos ecológicos das populações de Cladocera (Crustacea) no Reservatório do Lobo ("Broa"), São Carlos, São Paulo, Brasil.** 1981. 156p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

HUSZAR, V. L. M.; GIANI, A. Amostragem da comunidade fitoplanctônica em águas continentais: reconhecimento de padrões espaciais e temporais. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia.** São Carlos: Editora Rima, 2004. p. 133-147.

IRISH, A. E.; CLARKE, R. T. Sampling designs for the estimation of phytoplankton abundance in limnetic environments. **British Phycological Journal**, v. 19, p. 57-66, 1984.

KEMP, P. F.; SHERR, B.F.; SHERR, E.B.; COLE, J.J. (Ed.). **Handbook of methods in aquatic microbial ecology.** Boca Ratón: Lewis Publishers, 1993. 777p.

KIRCHMANN, D. L.; KNEES, E.; HODSON, R.E. Statistical analysis of the direct count method for enumerating bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, p. 376-382, 1982.

LUND, J. W. G.; KIPLING, C.; LE-CREN, D. The inverted microscope method of estimating algal numbers and statistical basis of estimation by counting. **Hydrobiologia**, v. 11, p. 43-170, 1958.

PADISÁK, J.; REYNOLDS, C. S.; SOMMER, U. **The intermediate disturbance hypothesis in phytoplankton ecology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. 199p.

ROCHA, O.; GÜNTZEL, A. Crustacea Branchiopoda. In: ISMAEL, D.; VALENTE, W.C.; MATSUMURA, T.; TUNDISI, J.; ROCHA, O. (Ed.). **Invertebrados de água doce**. São Paulo: FAPESP, 1999. v.1, p. 109–120.

SCHMIDT, G. W. Primary production of phytoplankton in the three types of Amazonian waters. III Primary productivity in a tropical floodplain lake of Central Amazonia, lago do Castanho. Amazonas. Brasil. **Amazoniana**, v. 4, p.379-404, 1973.

STOCKNER, J. G.; PORTER, K. G. Microbial food webs in freshwater planktonic ecosystems. In: CARPENTER, S. R. (Ed.). **Complex interactions in lake communities**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 69-83.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v.9, p. 1-38, 1958.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**. 2.ed. Belo Horizonte: UFMG, 1996. 243p.

WILLÉN, E., WILLÉN, T. About freshwater phytoplankton. In: SOURINA, A. (Ed.). **Phytoplankton manual**. Paris: Unesco, 1978. p. 297-300.