

Capítulo 2:

MÉTODOS DE AMOSTRAGEM E DE ESTUDO DO PLÂNCTON

2.1- UM POUCO DE HISTÓRIA

As primeiras colheitas qualitativas de organismos zooplanctónicos com o auxílio de redes de plâncton foram realizadas há cerca de 175 anos. J. Vaughan-Thompson utiliza pela primeira vez em 1828 uma rede de plâncton para amostrar estados larvares de *Brachyura* e *Cirripedia*. C. Darwin utilizou igualmente a bordo do "Beagle" uma rede de plâncton e em 1844, Müller recorreu ao uso de uma rede cónica para amostrar um grande número de planctontes. Durante a expedição do H.M.S. "Challenger", que percorreu todos os oceanos entre 1872 e 1876, diversos tipos de engenho de colheita foram utilizados para amostrar planctontes a diversas profundidades. O primeiro engenho munido de um dispositivo de abertura e fecho foi concebido por Sigsbee em 1880 tendo sido utilizado para a colheita de planctontes em águas profundas. Em 1883, Pavesi utiliza redes de plâncton munidas de um dispositivo idêntico que arrastou segundo um trajecto horizontal para colher zooplanctontes em lagos. Chierchia descreve minuciosamente este engenho que se abria e se fechava automaticamente e estava munido de um termómetro e de uma sonda de profundidade. O termo plâncton ainda não se encontrava generalizado (só veio a ser introduzido por Hensen em 1887), e Chierchia descreve um grande número de animais de pequenas dimensões desconhecidos na época.

Em 1885, diversos autores, nomeadamente Imhof, Turbyne, e mais tarde (1887/1889) Pouchet, Chabry, Príncipe Alberto do Mónaco, Chun-Petersen e Hoyle desenvolvem e aperfeiçoam diversos engenhos de colheita de planctontes. Este tipo de engenhos apresentam já características similares aos engenhos actuais. Hensen, um dos fundadores da Estação de Biologia Marítima de Kiel desenvolve uma das redes de plâncton mais utilizadas (forma cónica) que era sobretudo arrastada segundo um trajecto vertical (Figura 2.1). Em 1889 o Príncipe Alberto do Mónaco descreve uma rede pelágica desenvolvida com a finalidade de explorar as "profundidades intermédias entre a superfície e os fundos marinhos". Foi deste modo possível estudar pela primeira vez a distribuição batimétrica de algumas formas planctónicas e as suas migrações verticais.



Figura 2.1- Redes de Hensen (ca. 1892).

Em 1893, Tanner desenvolve uma rede que podia efectuar colheitas de planctontes a diversas profundidades, munida de um dispositivo de fecho. Outros autores desenvolveram dispositivos de abertura e fecho accionados pela pressão. Surgem pela primeira vez as redes com uma abertura não circular (quadrada e rectangular) e os primeiros engenhos concebidos para a colheita de neustontes. Em 1896, Townsend arrasta pela primeira vez uma rede de plâncton segundo um trajecto oblíquo. Em 1910, Richard descreve um engenho que foi bastante utilizado pelo Príncipe Alberto do Mónaco e que possuía uma abertura quadrada de 5m de lado. Um ano mais tarde, Kofoid idealiza uma rede de plâncton que permitiu estudar os movimentos verticais dos organismos planctónicos. Outros engenhos mais fáceis de manipular e utilizados sobretudo em arrastos verticais foram igualmente descritos, nomeadamente por Bigelow. No mesmo ano (1911), Monti descreve o primeiro engenho munido de uma armadura metálica rígida de forma cilíndrica que podia ser arrastado a velocidades elevadas. Em 1915 Nansen, concebe uma rede de plâncton que ainda é utilizada hoje em dia sobretudo devido ao dispositivo de abertura e fecho ser muito simples e fiável. Juday, em 1916, ensaia a utilização de pequenas redes de plâncton utilizadas na colheita de planctontes dulciaquícolas. Em 1922, Birge e Juday concebem um sistema de colheita de planctontes através da bombagem de água.

A primeira rede internacional para a colheita de plâncton é descrita em 1924 por Ostenfeld e Jespersen, na tentativa de standardizar a rede de Nansen. Russel e Hardy utilizam diversas redes de plâncton para estudar a distribuição vertical dos planctontes em 1925. Durante a expedição do "Discovery" realizada em 1925 Hardy utiliza pela primeira vez e de um modo sistemático, redes de plâncton que são arrastadas a velocidades elevadas (ca. 8 nós). É descrito o "Continuous Plankton Recorder" por Hardy que o utiliza igualmente durante esta expedição. Este engenho, arrastado regularmente por navios mercantes, permite estudar a distribuição horizontal dos planctontes em vastas áreas do Atlântico Norte.

As redes de plâncton cónicas e cilíndrico-cónicas passam a ser utilizadas por um grande número de investigadores. Em 1929 J. Schmidt descreve diversas redes deste tipo. Em 1933, Kunne compara a eficiência de diversos engenhos de colheita com a finalidade de uniformizar os métodos e as estratégias de amostragem. Em 1934, Harvey utiliza pela primeira vez um fluxómetro na tentativa de avaliar o volume de água filtrado pelo engenho de colheita. Bogorov desenvolve em 1936 diversas redes de plâncton para colher

organismos zooplânctônicos de pequenas dimensões nas grandes profundidades oceânicas. Clarke e Bumpus descrevem em 1940 uma rede que podia ser arrastada a velocidades superiores a 8 nós, que ainda é utilizada regularmente por um grande número de investigadores. Smith e Ahlstrom concebem em 1946 um engenho similar. É nesta época que são descritas um grande número de redes que permitem colher planctontes a altas velocidades tais como as redes "Gulf" I, II e III. Em 1953 Isaacs e Kidd descrevem uma rede para amostrar micronecton e organismos planctônicos de maiores dimensões. Em 1961 Tregouboff concebe a rede de plâncton Juday-Bogorov e propõe que esta seja utilizada como rede standard no Mediterrâneo. São descritas as primeiras redes para a colheita quantitativa de organismos neustônicos, nomeadamente por Savilov, Zaitsev e David em 1965 (OMALY, 1966).

As redes de plâncton mais utilizadas presentemente na colheita quantitativa de zooplânctontes foram concebidas nas décadas de 60 e de 70 tendo sofrido pequenas modificações na década de 80: rede "Bongo"; Rede de Bé e "*Multiple-Opening-Closing-Net*"; Rede WP-2; Rede FAO; "Gulf" III e modificações deste engenho; Modificações da rede "Continuous Plankton Recorder".

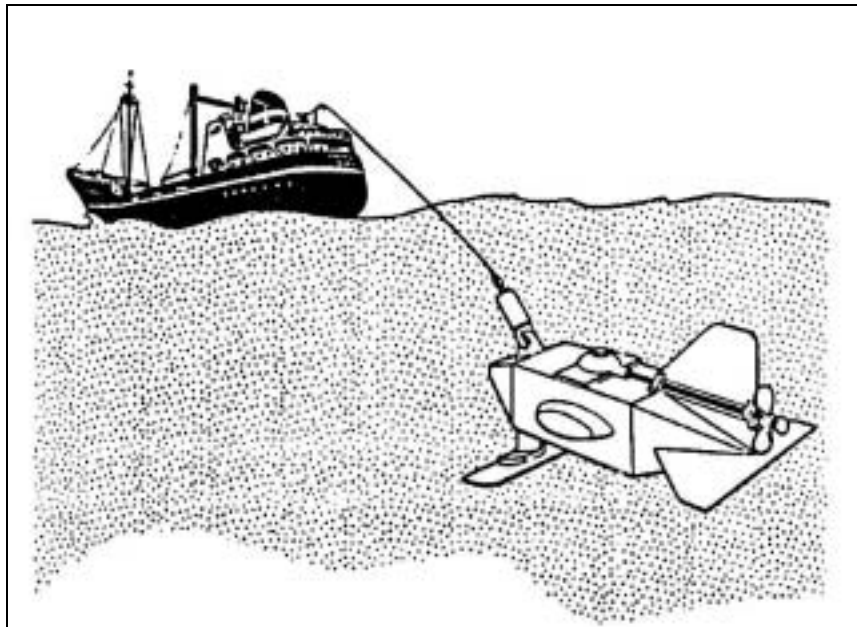


Figura 2.2- *Continuous Plankton Recorder* (ca. 1925).

2.2- MÉTODOS DE AMOSTRAGEM

Os organismos planctônicos podem ser encontrados em maior ou menor concentração nos domínios dulciaquícola, marinho e estuarino. Os métodos e estratégias de amostragem destes planctontes são muito variados. Não existe um único método standard de amostragem de uma comunidade ou de uma população planctónica.

Diversos factores devem ser considerados previamente se se pretender amostrar qualitativa- ou quantitativamente uma comunidade planctónica (*e.g.* tipo de engenho a utilizar, estratégia de amostragem, evitamento dos organismos a amostrar, migrações verticais, microdistribuição, evitamento, extrusão, colmatagem, entre outros).

A estratégia de amostragem a empregar reveste-se de igual importância relativamente às análises e técnicas utilizadas no laboratório. A informação contida numa determinada amostra depende sobretudo da precisão com que esta foi obtida. Uma estratégia de amostragem bem concebida é fundamental para a correcta descrição da comunidade planctónica que se pretende estudar.

Uma estratégia de amostragem bem delineada deve ter em consideração entre outros os seguintes aspectos:

(i) Formulação dos objectivos do estudo, incluindo:

- o principal objectivo e os objectivos secundários a atingir, as hipóteses a testar, etc.;
- os métodos analíticos a utilizar;
- a precisão com que os dados são recolhidos.

(ii) Definição da comunidade ou população a estudar:

- a determinação do engenho ou engenhos de colheita mais adequados;
- a determinação do tipo de amostragem tendo em consideração os objectivos previamente estabelecidos.

A definição da comunidade ou população planctónica a estudar reveste-se de particular importância uma vez que desta depende em grande medida a utilização de diversos tipos de engenhos de colheita com características e finalidades distintas. A distinção entre estratégias de amostragem quantitativas ou meramente qualitativas é um dos aspectos a considerar de início.

As colheitas qualitativas podem permitir o estudo da riqueza específica de uma comunidade planctónica, da distribuição dos planctontes e das variações estacionais entre outros aspectos. Usualmente as colheitas são realizadas em estações determinadas que são amostradas sucessivamente ao longo de um determinado período numa área em que as características hidrológicas são conhecidas. As características do engenho de colheita a utilizar são naturalmente dependentes da comunidade que se pretende amostrar. Habitualmente utiliza-se de um modo sistemático um único engenho de colheita no estudo da composição específica e abundância de uma comunidade planctónica numa região particular. Esta metodologia permite em muitos casos amostrar tanto qualitativa- como quantitativamente os organismos planctónicos.

Os estudos quantitativos revestem-se de dificuldades superiores. Os primeiros planctonologistas que aplicaram métodos quantitativos na interpretação dos resultados dedicaram-se fundamentalmente ao problema da amostragem. Os referidos trabalhos foram baseados nos axiomas fundamentais da estatística - a amostragem: (i) não deve ser selectiva, (ii) deve ser efectuada ao acaso e as (iii) amostras devem ser consideradas como independentes entre si. Estes princípios nunca são integralmente respeitados em planctonologia sendo praticamente impossível "controlar" o conjunto das perturbações introduzidas no momento da amostragem (excepto talvez em estudos desenvolvidos numa área muito vasta). É exactamente esta contradição que faz com que exista uma *ambiguidade inerente à planctonologia quantitativa* (IBANEZ, 1976).

A análise matemática dos acontecimentos ecológicos em planctonologia é relativamente recente. A razão principal deste facto prende-se fundamentalmente com a dificuldade que o planctonologista sente na amostragem de um "*meio móvel*".

Em ecologia terrestre, o investigador pode destringir, ao nível da sua planificação, as dimensões espacial e temporal. No entanto, em planctonologia esta destringência torna-se difícil, senão mesmo impossível. Com efeito, se bem que no primeiro caso seja possível seguir a evolução de um determinado fenómeno espaço-temporal no local, o mesmo é extremamente difícil no segundo caso uma vez que é praticamente impossível efectuar uma experiência na mesma massa de água, devido sobretudo aos movimentos da embarcação e do meio líquido.

Teoricamente, para evitar qualquer interacção espaço-temporal seria necessário efectuar todas as amostras simultaneamente em todas as estações previamente estabelecidas e em todas as profundidades no caso de um estudo espacial, ou seguindo a mesma massa de água no caso de um estudo temporal. Esta necessidade, totalmente irrealizável materialmente, obriga o investigador a introduzir erros sistemáticos, que dependem necessariamente das características espaço-temporais inerentes à estratégia de amostragem.

Esta interacção entre a amostragem e a interpretação da realidade deve ser entendida como uma função da escala da experiência. Se se considerarem campanhas oceanográficas cobrindo uma área considerável, ou uma amostragem desenvolvida ao longo de vários anos, os acontecimentos ecológicos dominantes podem ser reconhecidos. Por outro lado, em áreas restritas, as referidas situações são de difícil interpretação devido à aparição simultânea de fenómenos espaço-temporais de igual amplitude.

No meio estuarino todas estas dificuldades são acrescidas uma vez que se tem de considerar a influência das marés. As estratégias de amostragem a desenvolver devem considerar previamente o estado da maré e as condições gerais de circulação das massas de água. Pode estudar-se a distribuição horizontal e vertical dos planctontes relativamente ao transporte de maré ou realizar estudos específicos. Estas estratégias específicas de amostragem podem ser por exemplo de ponto fixo (*eulerianas*) ou de seguimento da massa de água (*lagrangianas*). As estratégias de amostragem eulerianas ou de ponto fixo correspondem à obtenção de valores referentes aos diversos parâmetros biológicos num local fixo (*e.g.* abundância, distribuição vertical, mortalidade, ritmos de actividade dos planctontes, entre outros) e físico-químicos (*e.g.* temperatura, salinidade, turbidez, oxigénio dissolvido, pH, intensidade e direcção da corrente, entre outros) a intervalos de tempo regulares, produzindo-se deste modo para cada parâmetro uma série cronológica de dados. As amostragem *lagrangianas* ou de seguimento da massa de água, baseiam-se na obtenção de séries cronológicas de parâmetros biológicos e físico-químicos numa determinada massa de água, marcada com o auxílio de uma bóia ou "drogue", durante um determinado intervalo de tempo, usualmente correspondente a um ou vários períodos de maré.

2.2.1- Bacterioplâncton

O Bacterioplâncton pode ser amostrado recorrendo ao auxílio de diversas garrafas para colheita de água. Utilizam-se geralmente garrafas do tipo Johnson-ZoBell e Niskin, entre outras, que podem efectuar colheitas a diversas profundidades da coluna de água. Pode igualmente amostrar-se unicamente a camada superficial da água recorrendo a dispositivos específicos. Os dispositivos de colheita têm de ser previamente esterilizados.

As amostras obtidas através destes processos têm de ser subdivididas para estudo ulterior do Bacterioplâncton (SIEBURTH, 1979, RHEINHEIMER, 1987).

2.2.2- Fitoplâncton e Microzooplâncton

As técnicas e métodos utilizados na colheita de fitoplanctontes são essencialmente idênticos aos usados na amostragem de microzooplâncton. A utilização de redes de plâncton de poro reduzido resulta geralmente na sua colmatagem e conseqüentemente na diminuição da eficiência de filtragem. Para obviar estas dificuldades utilizam-se geralmente garrafas ou bombas de água para a colheita quantitativa deste tipo de planctontes.

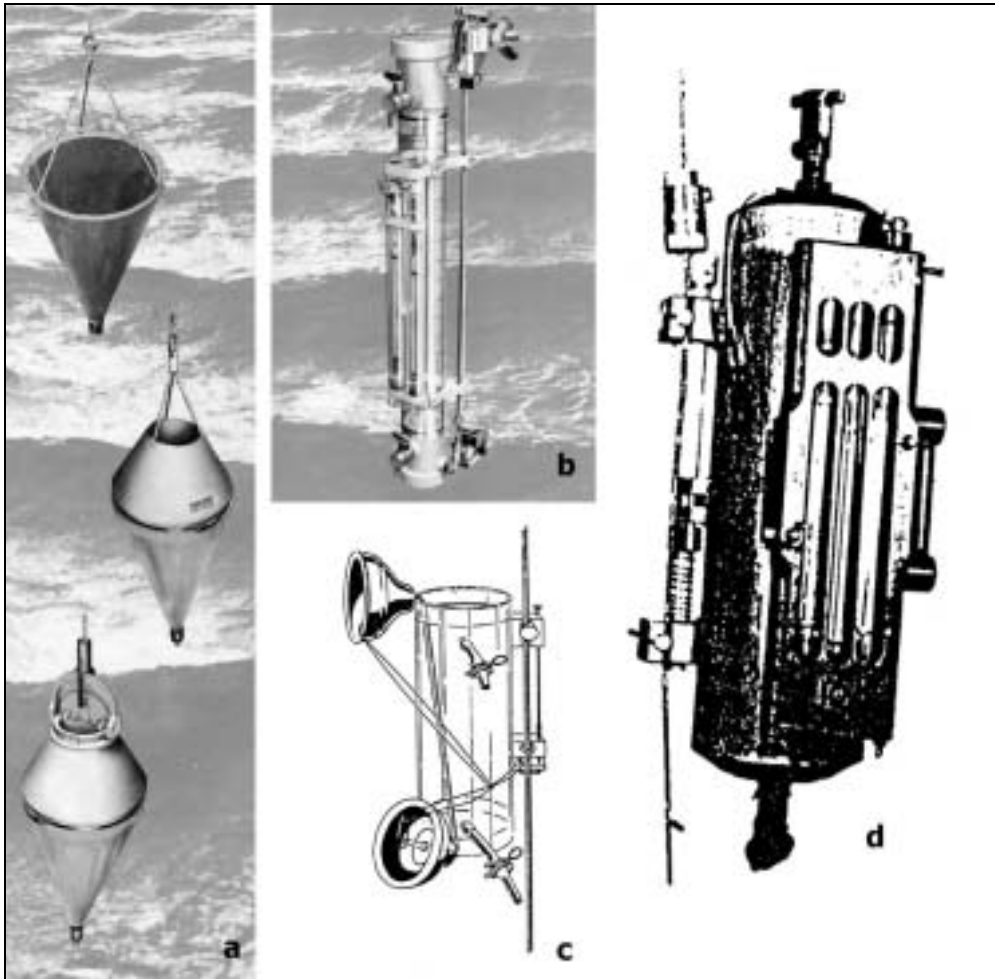


Figura 2.3- Engenhos utilizados na colhoeta de fitoplactontes e microzooplantontes: (a) redes de planctôn cónicas e cilíndrico-cónicas; (b) garrafa de Nansen; (c) garrafa de Van Dorn; (d) garrafa de Niskin.

As garrafas para a colheita de água são essencialmente idênticas às utilizadas pelos oceanógrafos físicos. Podem ser usadas individualmente ou em bateria de forma a obter uma amostragem ao longo de toda ou parte da coluna de água (por exemplo unicamente na zona eufótica). Pode recorrer-se ao uso de garrafas do tipo Nansen, Niskin, Van Dorn, etc. Todos estes engenhos de colheita foram concebidos com a mesma finalidade: recolher amostras de água de volume variável a diversas profundidades. São munidos de dispositivos mecânicos que permitem fechar a garrafa à profundidade desejada. Podem ainda ser acoplados dispositivos diversos de determinação de parâmetros físico-químicos da água (*e.g.* termómetros de inversão, sondas multiparâmetro, etc.) (Figura 2.3).

A colheita quantitativa de fitoplanctontes pode ser ainda efectuada com o auxílio de bombas de filtração de água de diversos tipos. É deste modo possível colher organismos planctónicos a uma determinada profundidade ou integrar toda a coluna de água. A determinação de alguns parâmetros físico-químicos pode ser efectuada simultaneamente e o volume de água filtrado é facilmente avaliado. Este tipo de engenhos não é, no entanto, de fácil utilização requerendo meios operacionais importantes (a sua praticabilidade restringe-se normalmente aos primeiros 100m da coluna de água). Existem ainda outras desvantagens decorrentes do seu uso, nomeadamente: (i) a fricção da água no interior do tubo utilizado pode provocar turbulência e conseqüentemente a "contaminação" de amostras efectuadas a diferentes níveis batimétricos; (ii) o volume de água filtrado por uma bomba de filtração é usualmente inferior ao volume amostrado com o auxílio de uma rede de plâncton; (iii) os planctontes capturados através deste processo são quase sempre danificados ou sofrem efeitos fisiológicos adversos.

O Fitoplâncton e Microzooplâncton pode ser amostrado qualitativamente recorrendo a redes de plâncton cónicas ou cilíndrico-cónicas com um tecido filtrante de poro compreendido entre 30 e 75 μm . As colheitas efectuadas com o auxílio destes engenhos são unicamente qualitativas uma vez que a colmatagem é usualmente muito elevada (baixa eficiência de filtragem) sendo deste modo muito difícil quantificar o volume de água filtrado (SOURNIA, 1978) (Figura 2.3).

2.2.3- Zooplâncton

Os zooplanctontes são usualmente amostrados recorrendo ao auxílio de redes de plâncton arrastadas em trajectos diversos. São sobretudo três os tipos de redes utilizadas: (i) cónicas; (ii) cilíndrico-cónicas e (iii) cónicas com uma redução da abertura igualmente cónica. Foram igualmente concebidas redes com uma abertura quadrada ou rectangular e uma estrutura cónica. Estas redes podem ser acopladas ao cabo de arrasto de modo diverso.

A utilização de redes de plâncton permite amostrar um volume de água variado (dependente do engenho utilizado e da velocidade de arrasto). Os principais problemas associados à amostragem quantitativa de zooplâncton são fundamentalmente três: (i) evitamento dos organismos relativamente à rede; (ii) extrusão dos mesmos através dos poros da rede e (iii) variações na eficiência de filtragem devido à colmatagem do tecido filtrante. A minimização de um destes inconvenientes usualmente acarreta o aumento dos restantes. Por exemplo a utilização de redes de plâncton arrastadas a velocidades elevadas minimiza os fenómenos de evitamento mas tende a aumentar os fenómenos de extrusão e colmatagem.

O tecido filtrante das redes de plâncton é uma gaze de nylon de poro calibrado. As dimensões do poro podem variar entre 10 e 1400 μm ou seja entre (190 e 5,4 poros por cm). As redes de poro mais reduzido têm maior tendência a colmatar o que acarreta uma diminuição da sua eficiência de filtragem. Ao contrário as redes de plâncton de poro elevado são utilizadas na colheita de zooplanctontes de dimensões elevadas perdendo conseqüentemente por extrusão os organismos de tamanho mais reduzido. É deste modo fácil de deduzir que não existe uma única rede de plâncton adequada para a colheita das diversas categorias de organismos planctónicos. A rede usualmente utilizada como standard para a colheita de zooplâncton (rede WP-2) apresenta um tecido filtrante com um poro de 200 μm (TRANter, 1968).

A massa de plâncton amostrada com o auxílio deste tipo de engenhos é habitualmente recolhida num copo terminal. Este copo deve possuir duas a quatro aberturas munidas de um tecido filtrante de poro igual ao da rede de forma a minimizar os danos provocados nos planctontes pelo processo de colheita.

A eficiência de filtragem (F) de uma rede de plâncton pode ser calculada através da seguinte fórmula:

$$F = \frac{V}{A D}$$

em que :

V = volume de água filtrado pela rede de plâncton (m³)

A = área da boca da rede de plâncton (m²)

D = distância percorrida pela rede de plâncton durante a amostragem (m)

Esta eficiência de filtragem é grandemente influenciada pela forma da rede de plâncton e pelo poro do tecido filtrante entre outros factores. Teoricamente F decresce gradualmente com o aumento da distância percorrida pela rede (D).

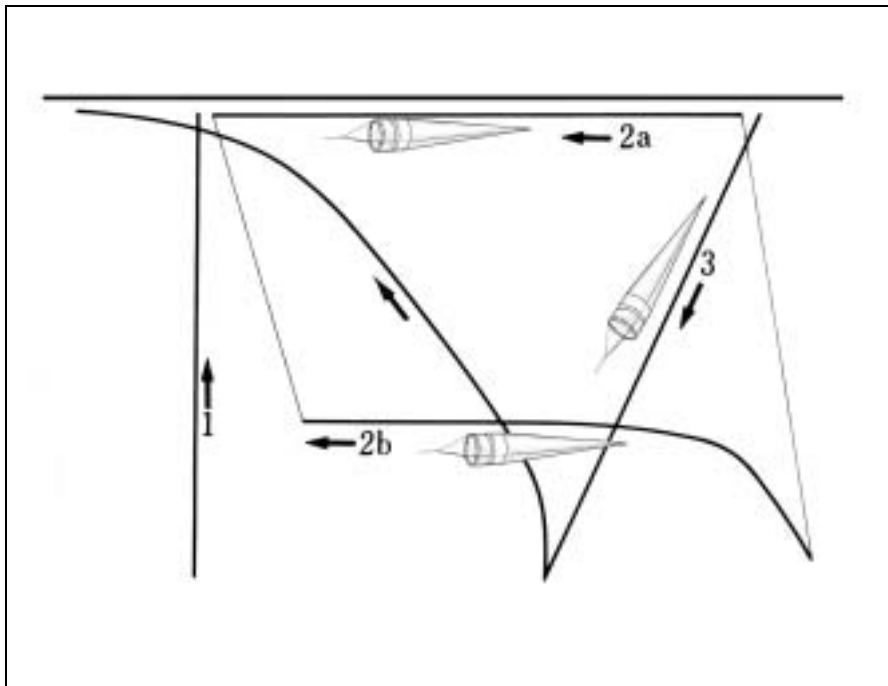


Figura 2.4- Principais tipos de arrastos efectuados com o auxílio de redes de plâncton: 1- vertical; 2a- horizontal sub-superficial; 2b- horizontal profundo; 3- oblíquo. Adaptado (parte) de OMORI & IKEDA (1984).

As redes de plâncton podem ser arrastadas segundo três trajectos principais: (i) vertical; (ii) horizontal e (iii) oblíquo. A velocidade de arrasto pode ser variável dependendo do tipo de engenho utilizado e do tipo de planctontes a amostrar (Figura 2.4).

As colheitas efectuadas segundo um trajecto vertical são usualmente efectuadas a baixa velocidade (0,7 a 1,0 ms⁻¹), recorrendo-se por vezes à lastragem do engenho (dependente do tipo de rede utilizada). Os arrastos horizontais podem ser realizados a diversas profundidades e as redes utilizadas podem estar munidas de dispositivos de abertura e

fecho. Podem ser realizados a velocidades lentas (1 a 2 nós) ou rápidas (4 a 8 nós). Num arrasto oblíquo a rede é geralmente lastrada com um auxílio de um depressor de forma a estabilizá-la durante o trajecto. Os arrastos verticais e os arrastos oblíquos são talvez os mais utilizados na colheita quantitativa de zooplâncton. Nalguns estudos específicos, tais como a avaliação das migrações verticais nictemerais, ou ainda a colheita de zooplâncton estuarino, os arrastos horizontais a diversas profundidades da coluna de água são realizados de um modo sistemático.

A distância percorrida pelo engenho de colheita, o volume de água filtrado e a profundidade máxima atingida por este podem ser avaliadas recorrendo a diversos dispositivos (fluxómetros, inclinómetros, sondas batimétricas, etc.). Os fluxómetros são utilizados na determinação do volume de água filtrado pela rede de plâncton durante a amostragem. Estes dispositivos contêm uma hélice e um contador de revoluções que, após uma calibração prévia, permitem a avaliação rigorosa da distância percorrida, da velocidade de arrasto e finalmente do volume de água filtrado. O volume de água filtrado por uma rede de plâncton (V) pode ser avaliado através da fórmula:

$$V = A \times N \times F$$

em que :

A = área da boca da rede de plâncton (m²)

N = número de revoluções do fluxómetro

F = factor de calibração do fluxómetro (m/revolução)

A distância percorrida pela rede de plâncton durante a amostragem (D) pode ser calculada através do produto de N por F. A velocidade de arrasto pode igualmente ser avaliada através do quociente entre "D" e o tempo total da amostragem. O fluxómetro deve ser acoplado centrado ou descentrado na boca da rede de plâncton dependendo da concepção desta.

A profundidade máxima atingida pela rede de plâncton durante a amostragem (P) pode ser obtida através do uso de sondas batimétricas ou utilizando um inclinómetro. Este último dispositivo permite determinar o ângulo (α) que o cabo utilizado apresenta relativamente à vertical durante o arrasto (geralmente oblíquo ou horizontal).

$$P = C \times \cos \alpha$$

em que :

C = número de metros de cabo largado durante a amostragem

Após a realização de cada colheita deve efectuar-se imediatamente a leitura do fluxómetro e da sonda batimétrica e posteriormente proceder à lavagem cuidadosa da rede utilizando água corrente, com a finalidade de evitar a "contaminação" de amostras ulteriores. Esta operação deve ser efectuada utilizando uma pressão da água suficiente para destacar os organismos planctónicos aderentes à rede, sem no entanto os danificar. A massa de plâncton concentrada no copo da rede é posteriormente fixada e conservada para estudo ulterior, recorrendo a diversos produtos químicos (formol, álcool, lugol, líquido de Bouin, etc.) (STEEDMAN, 1976).

Os principais tipos de engenhos utilizados actualmente na colheita de zooplâncton são diversos e dependem fundamentalmente do tipo de objectivos a atingir. As redes de

plâncton concebidas para serem arrastadas a velocidades lentas (*ca.* 1 a 2 nós) são talvez as mais expandidas (redes Hensen, Namsen, WP-2, FAO, Bongo, "*Multiple-opening-closing-net*" etc). As redes do tipo "Gulf" são as mais utilizadas em colheitas efectuadas a velocidades elevadas (Figuras 2.5 a 2.8).

Principais tipos de redes de plâncton actuais (adaptado de OMORI & IKEDA, 1984)

Rede	Área da boca (m ²)	Forma	Poros (µm)
Ori 1000	2,00	Cilíndrico-cónica	1000
"Indian ocean" Standard	1,00	Cilíndrico-cónica	330
"Large Tropical Juday"	1,00	Cónica c/ redução da abertura	450
"Multiple-opening-closing-net"	1,00	Cónica	300
CalCOFI Standard	0,79	Cilíndrico-cónica	550
Fao	0,78	Cilíndrico-cónica	500
Bongo	0,28	Cónica	505/333
Unesco Wp-2	0,25	Cilíndrico-cónica	200
Norpac Standard	0,16	Cónica	330

Existem ainda redes que foram concebidas para fins específicos, tais como as redes de neuston (tipo "David" e "Hempel-Weikert", etc.), ou redes para colheita de plâncton epibentónico (Figura 2.9).

A rede "*Longhurst-Hardy Plankton Recorder*" foi desenvolvida na década de 60 e mais recentemente, na década de 80, foram concebidos modelos mais sofisticados comandados com o auxílio de um computador. Este tipo de redes permite amostrar em contínuo e ao longo de um determinado trajecto as comunidades planctónicas, obtendo-se deste modo uma boa cobertura horizontal ou vertical das comunidades planctónicas (Figura 2.10).

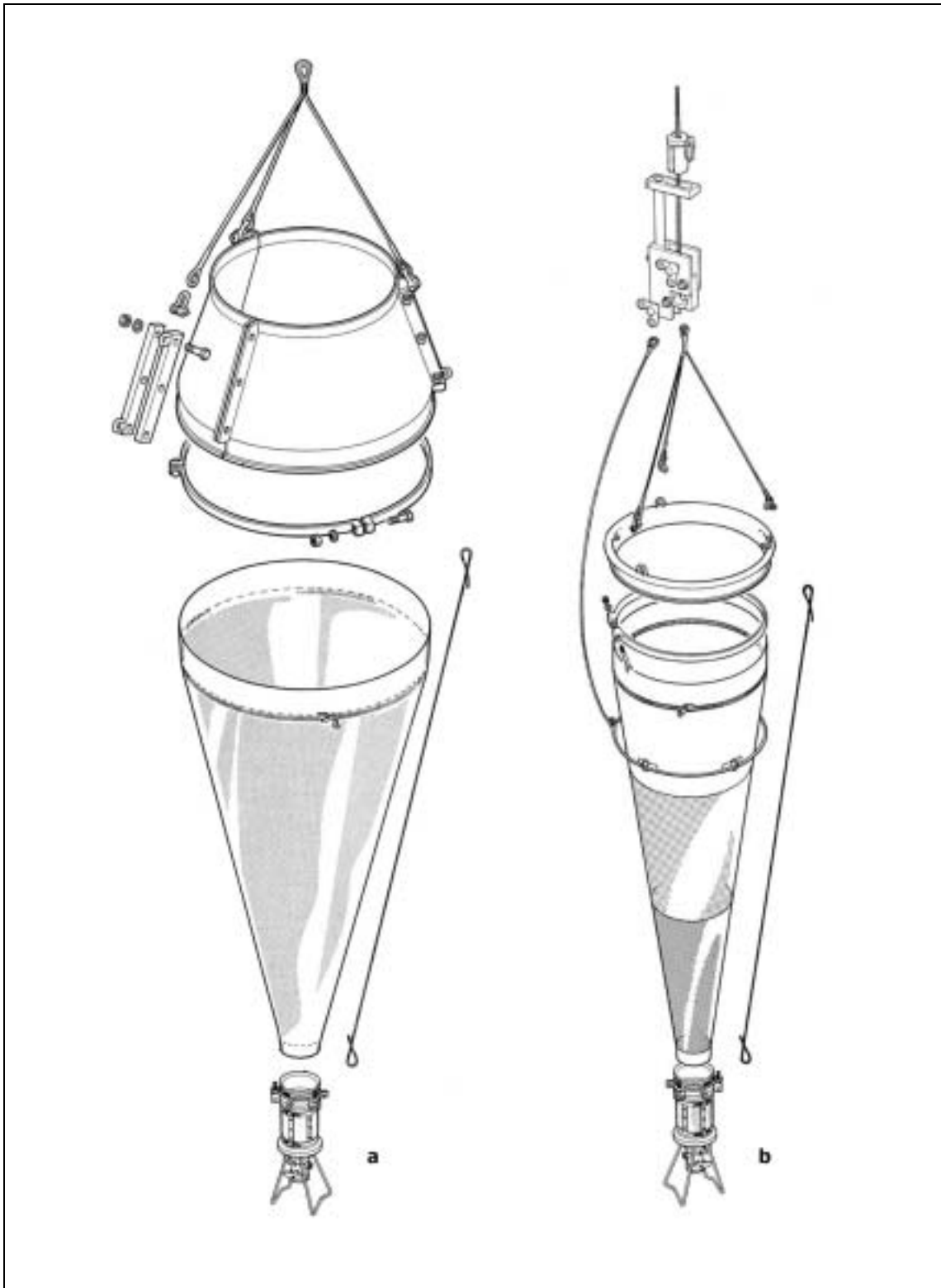


Figura 2.5- Redes Hensen (a) e Nansen (b).

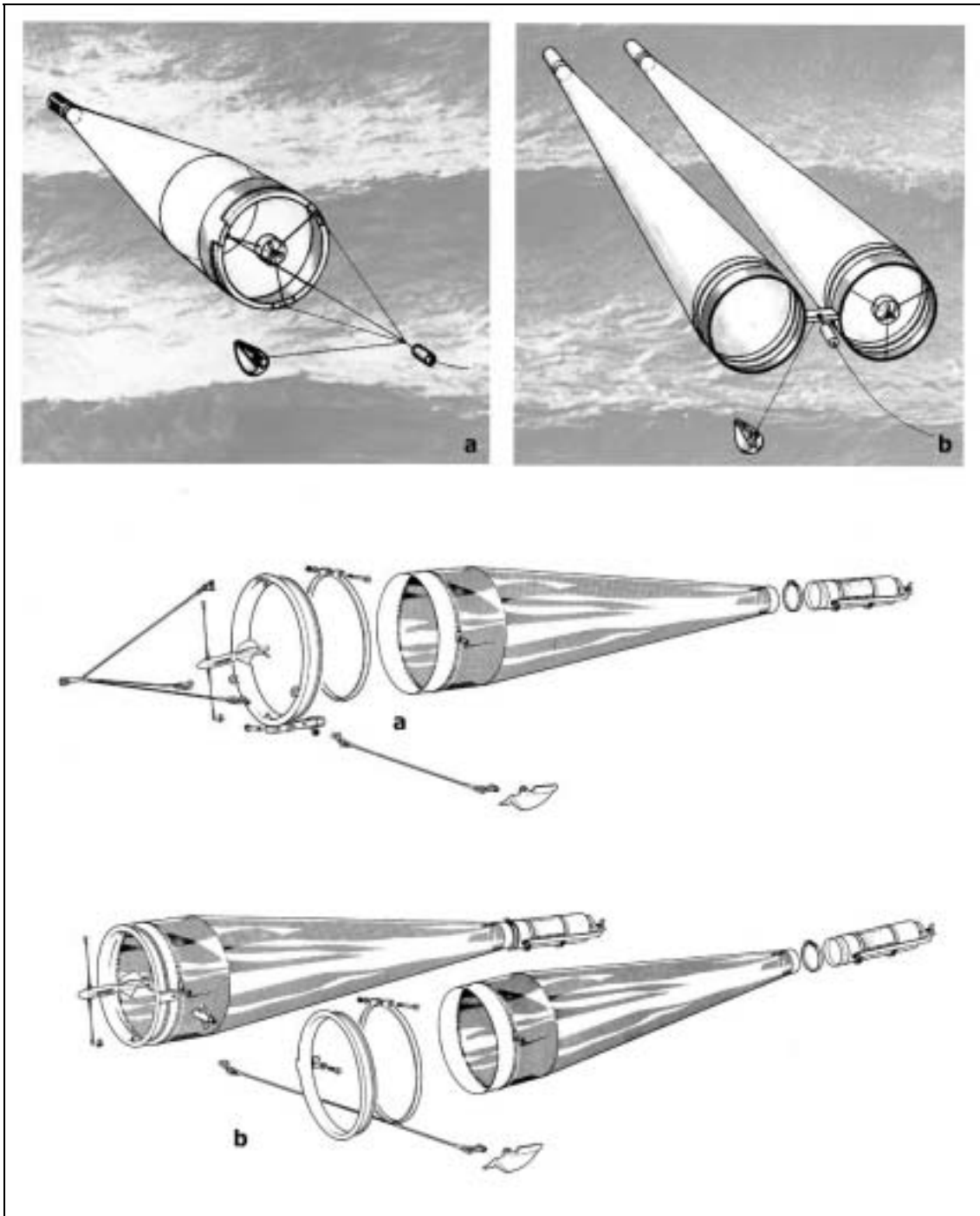


Figura 2.6- Redes Fao ou *ring trawl* (a) e Bongo (b).

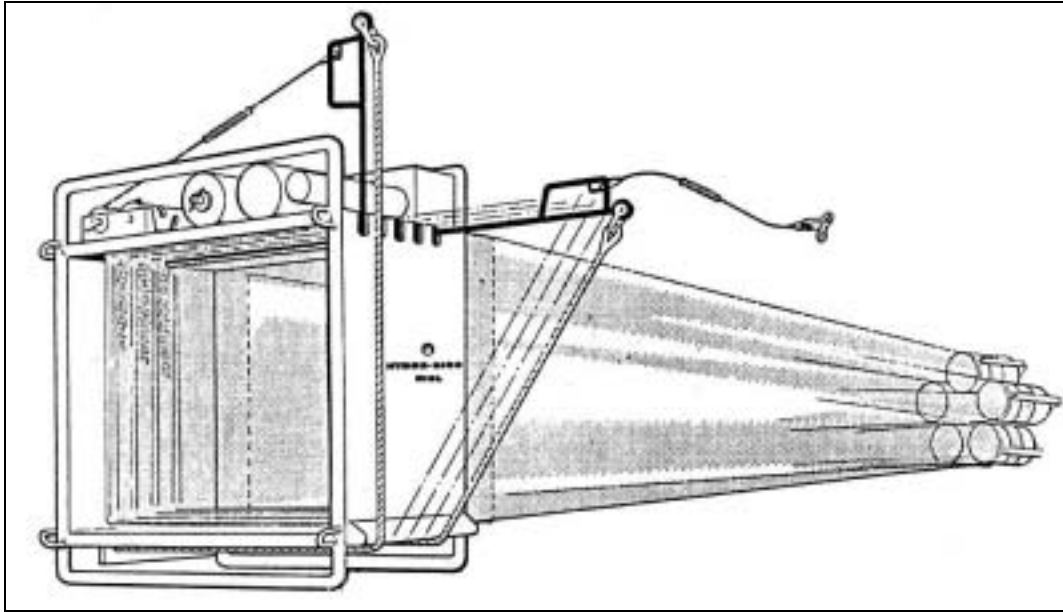


Figura 2.7- *Multiple-Opening-Closing-Net.*

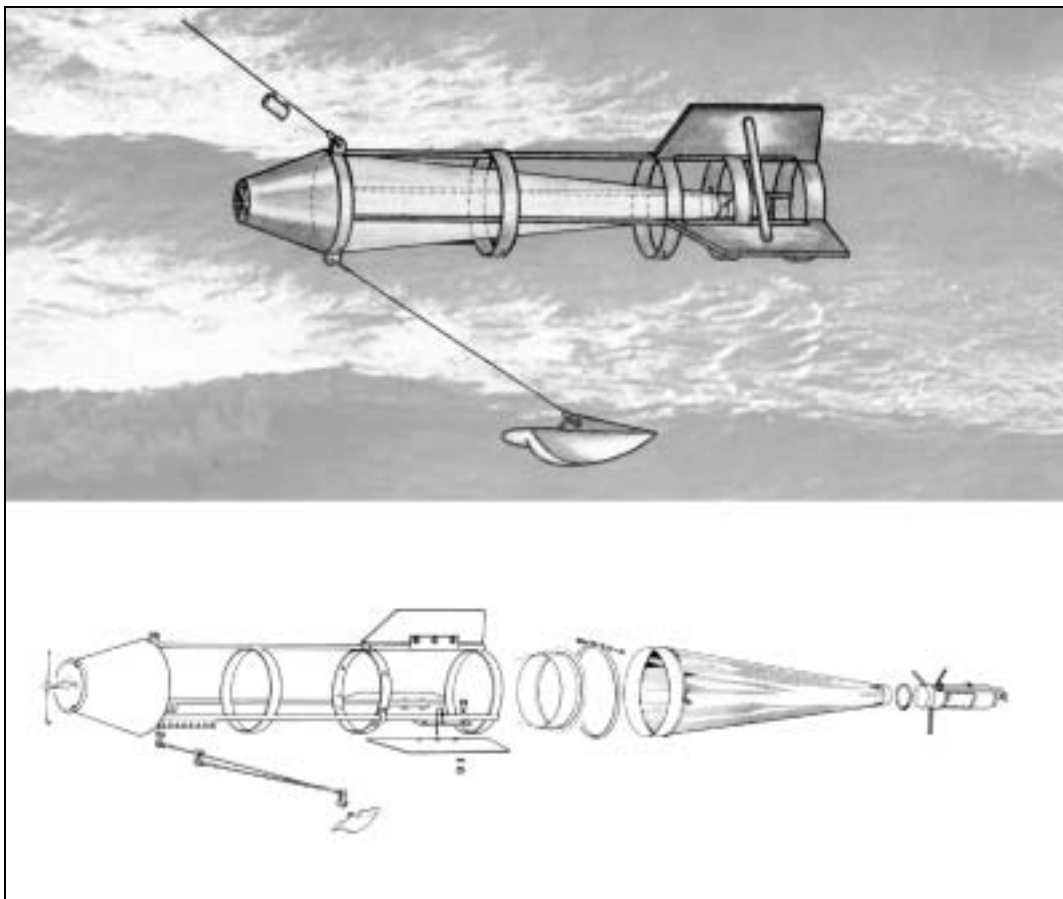


Figura 2.8- Rede de plâncton tipo "Gulf".

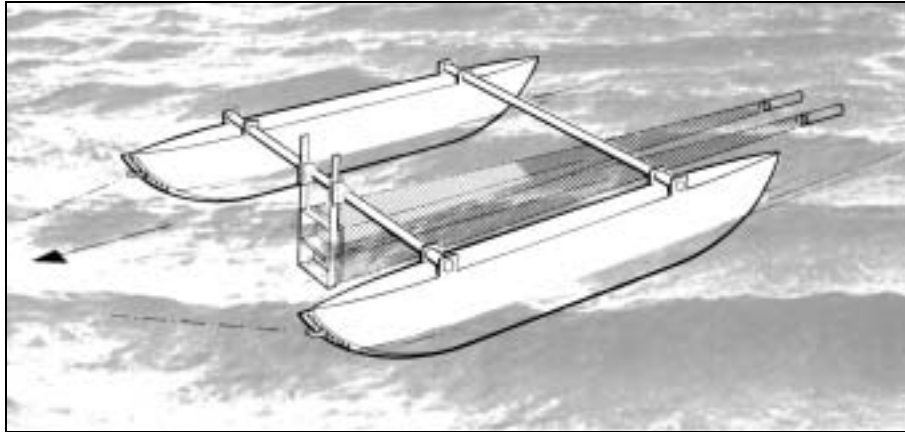


Figura 2.9- Rede de neuston tipo "David/Hempel".

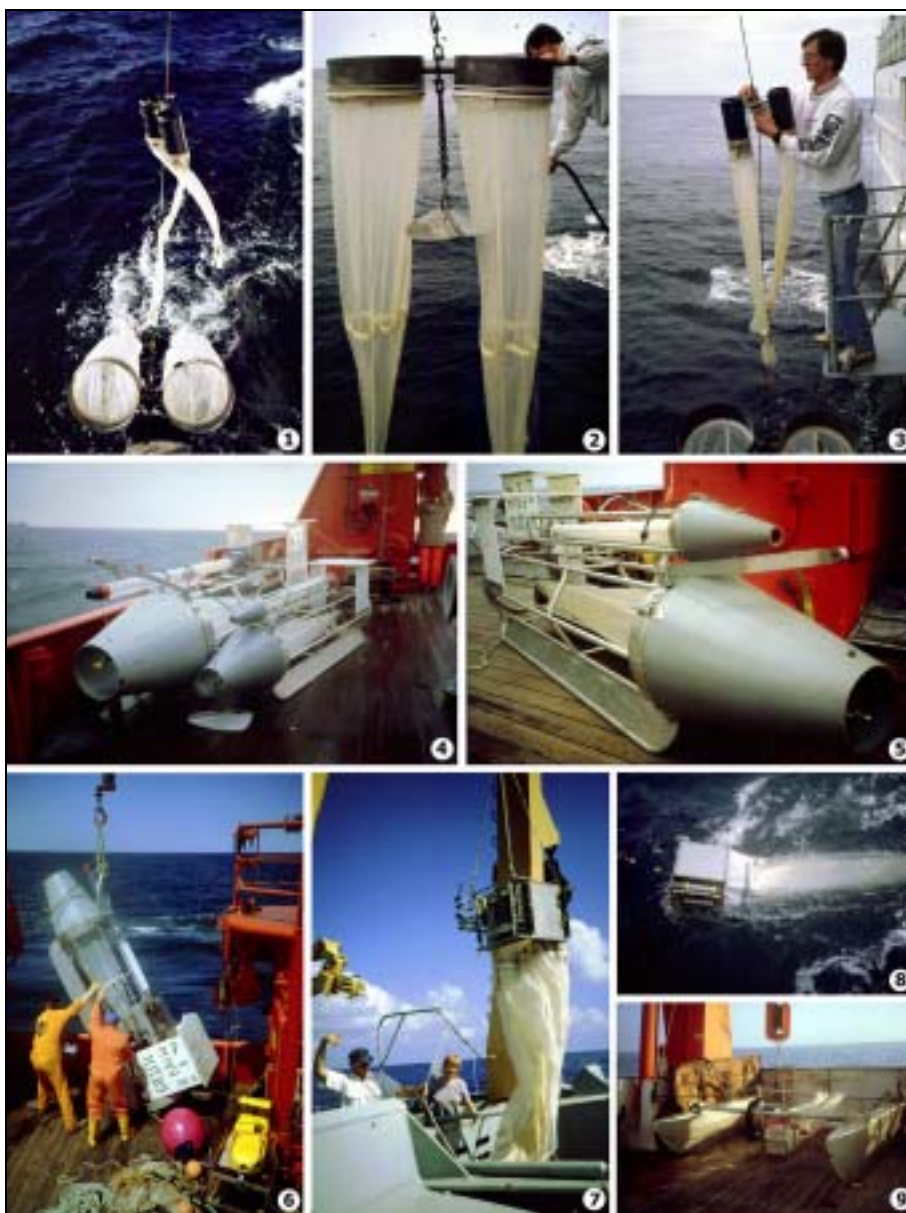


Figura 2-10- Redes de plâncton actuais: 1, 2 e 3 – Rede Bongo; 4 e 5 – Rede Tipo Gulf III; 6- Rede LHPR (*Longhurst-Hardy Plankton Recorder*); 7 e 8- *Multiple-opening-closing-net*, 9- Rede de neuston.

2.3- FIXAÇÃO E CONSERVAÇÃO

Após a realização de uma colheita os planctontes devem ser imediatamente fixados recorrendo-se à utilização de diversos produtos químicos. A fixação rápida do material recolhido minimiza a degradação dos planctontes (os fenómenos de autólise e degradação bacteriana têm início logo após a morte).

O fixador e conservante mais utilizado é o formol. Podem no entanto usar-se outros produtos químicos com bons resultados. A fixação do Fitoplâncton pode ser efectuada por exemplo com Lugol. Um grande número de organismos microzooplânctónicos é destruído durante o processo de fixação tornando a sua posterior identificação praticamente impossível (neste caso é por vezes necessário proceder à análise da amostra não fixada). As amostras de zooplâncton são habitualmente fixadas com formol a 3 ou 5% tamponado (por exemplo com tetraborato de sódio). É importante que o Ph do líquido fixador seja básico (compreendido entre 8 e 9) para que as substâncias esqueléticas dos zooplânctontes se mantenham intactas. Podem utilizar-se anestésicos previamente à fixação no intuito de preservar em melhores condições os planctontes (*e.g.* MS-222).

A conservação definitiva dos organismos planctónicos deve ser efectuada alguns dias após a sua fixação. O líquido conservante deve ser escolhido tendo em consideração os *taxa*. Cnidaria, Ctenophora, Annelida e Cordata podem ser conservados em álcool. Na maioria dos casos, no entanto, os planctontes devem ser conservados de um modo definitivo com formol tamponado (pH 8,5) em concentrações de 2,5 a 5% (STEEDMAN, 1976).

As amostras de plâncton devem ser armazenadas em frascos de vidro com uma capacidade adequada (o líquido conservante deve preencher pelo menos 2/3 do volume do recipiente) convenientemente etiquetados. A conservação definitiva dos planctontes deve ser igualmente efectuada em frascos de vidro de pequenas dimensões.

2.4- TRATAMENTO LABORATORIAL

Na análise laboratorial de uma amostra de plâncton é comum recorrer-se à subdivisão da mesma com a finalidade de facilitar o seu estudo. O número de planctontes recolhido é usualmente muito elevado pelo que se torna impraticável estudar a totalidade da amostra.

Podem utilizar-se diversos fraccionadores, nomeadamente: (i) pipeta de Stempel; (ii) fraccionador de Folsom ("Folsom Plankton Splitter"); (iii) fraccionador de Motoda, entre outros (BOURDILLON, 1971, OMORI & IKEDA, 1984) (Figura 2.11).

A pipeta de Stempel é habitualmente usada no estudo das comunidades fitoplânctónicas e microzooplânctónicas. O fraccionador de Folsom e o de Motoda (cilíndrico ou paralelepípedo) têm uma utilização mais expandida. Ambos permitem subdividir a amostra em sucessivas alíquotas com um grau de precisão variável. A utilização do fraccionador de Folsom permite obter erros compreendidos entre 5 e 15% nas estimativas de abundância. O estudo dos planctontes efectuada com base nestas subamostras pode ser posteriormente extrapolado para a totalidade da colheita.

Após as sucessivas subamostras terem sido realizadas torna-se necessário separar ou triar e enumerar os planctontes. A separação dos planctontes a estudar pode ser efectuada na totalidade (no caso destes serem pouco abundantes) ou em parte da amostra. A enumeração dos mesmos pode ser realizada simultaneamente (Figura 2.12).

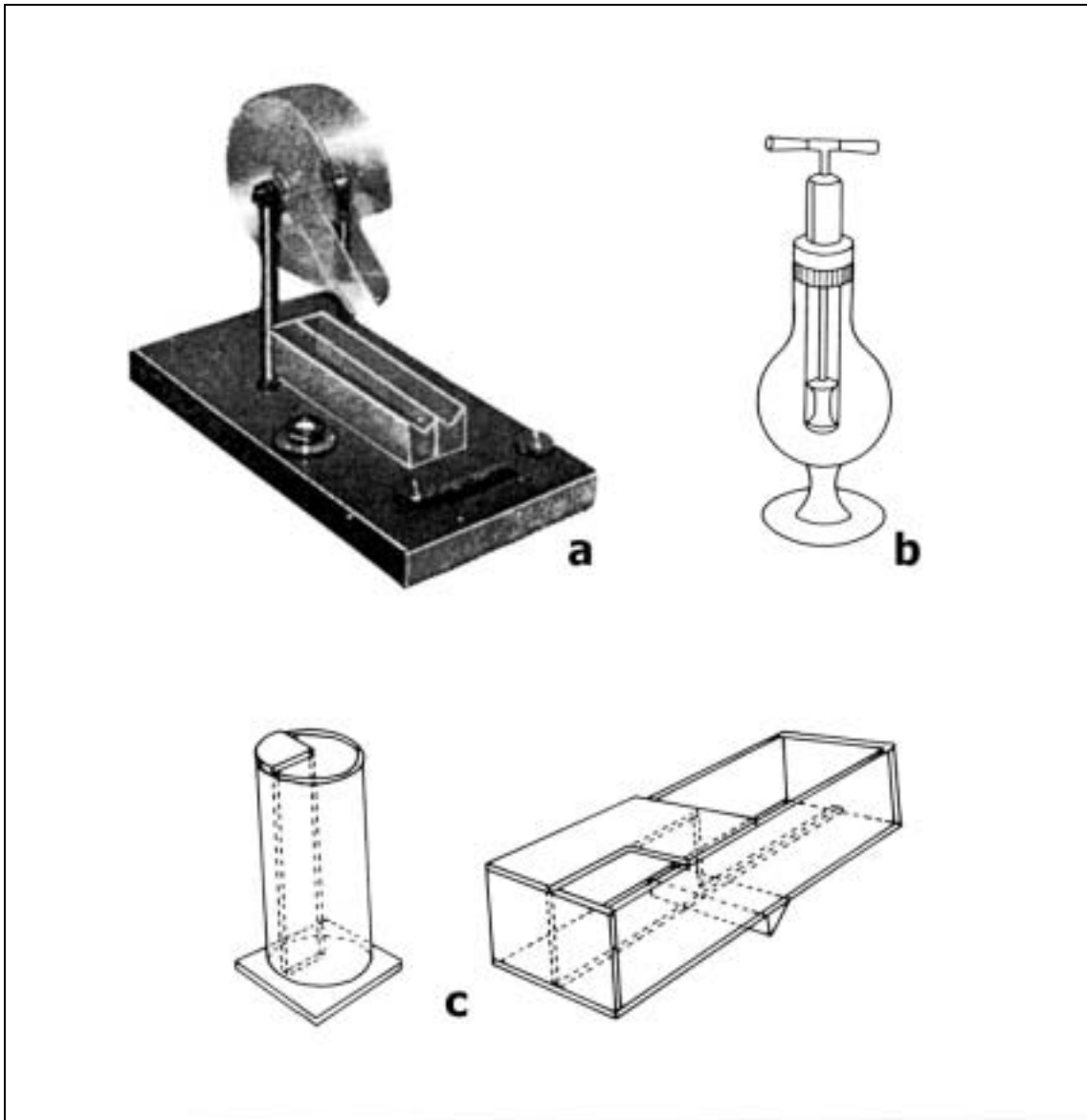


Figura 2.11- Fraccionadores de amostras de plâncton: a- fraccionador de Folsom “Folsom Plankton Splitter”; b- pipeta de Stempel; c- fraccionador de Motoda. Adaptado (parte) de OMORI & IKEDA (1984).



Figura 2.12- Fraccionador de Folsom e câmaras de contagem de zooplânctontes.

A triagem e enumeração dos planctontes é efectuada com o auxílio de um microscópio (microscópio de inversão no caso do estudo de fitoplanctontes e microzooplanctontes) e de uma lupa estereoscópica (zooplanctontes). Estas operações são realizadas em câmaras específicas de contagem (*e.g.* câmara de sedimentação, câmara de Dollfus, câmara de Bogorov, câmara de Sedwick-Rafter, etc.).

Os estudos quantitativos do fitoplâncton são usualmente efectuados recorrendo à avaliação dos pigmentos, particularmente da clorofila. A concentração em clorofila *a*, *b*, e *c* (expressa em $\mu\text{g/ml}$ ou mg/m^3) permitem avaliar a biomassa clorofilina de fitoplâncton. Estas medições são efectuadas recorrendo a métodos espectrofotométricos ou fluorimétricos. A biomassa do fitoplâncton pode igualmente ser expressa através da avaliação do volume celular ou volume plasmático por unidade de volume (mm^3 ou μ^3 de água). A biomassa deduzida através do volume das células fitoplanctónicas é no entanto menos precisa e mais morosa (envolve a observação e medição de um grande número de fitoplanctontes com o auxílio de um microscópio de inversão) relativamente à determinação da biomassa clorofilina.

O volume de plâncton representa uma medida aproximada da biomassa zooplanctónica. Esta pode ser usualmente expressa em termos do volume de sedimentação, volume deslocado, peso fresco, peso seco, peso orgânico seco, etc. Os métodos mais utilizados para avaliar a biomassa zooplanctónica são a determinação do biovolume deslocado e do peso fresco. Estas determinações devem no entanto ser efectuadas com algumas precauções uma vez que não representam um valor preciso da biomassa. As determinações da biomassa são muitas vezes usadas em estudos de produtividade, da condição nutricional e do papel desempenhado pela espécie em questão na cadeia trófica.

O volume deslocado de uma amostra de zooplâncton pode ser avaliado determinando em primeiro lugar o volume da totalidade do líquido conservante incluindo a amostra. Em seguida esta é filtrada com o auxílio de filtros com um poro inferior ao da rede usada, e o volume do líquido é de novo medido. A diferença das duas medições representa o volume do plâncton. O volume de sedimentação pode ser medido com o auxílio de uma proveta graduada cilíndrica ou cónica, após um período de sedimentação não inferior a 24h, procedendo ou não à remoção do líquido conservante.

O peso fresco de uma amostra de zooplâncton é determinado após a remoção, tão completa quanto possível, da água intersticial. Esta pode ser eliminada por filtração em vácuo ou utilizando papel de filtro. Os valores são usualmente expressos em mg/m^3 . O peso seco e o peso orgânico seco devem ser idealmente determinados em amostras de plâncton frescas uma vez que a sua fixação e ulterior conservação altera consideravelmente o valor obtido. Estes procedimentos inviabilizam geralmente a análise ulterior das amostras (STEEDMAN, 1976, OMORI & IKEDA, 1984).

A determinação das dimensões dos zooplanctontes é importante no estudo da idade e crescimento de algumas populações. As taxas de crescimento podem ser avaliadas determinando as dimensões dos planctontes numa escala temporal. Pode igualmente determinar-se a variação temporal do volume dos zooplanctontes. As medições necessárias são efectuadas com o auxílio de um microscópio ou de uma lupa estereoscópica munidos de uma ocular micrométrica previamente calibrada.

Os estudos da composição química dos organismos planctónicos devem ser efectuados em material fresco. Amostras conservadas não são adequadas para este efeito. As amostras

recolhidas com esta finalidade podem ser congeladas (-20 °C) ou liofilizadas (OMORI & IKEDA, 1984).

2.5- IDENTIFICAÇÃO

Existem numerosas referências bibliográficas relacionadas com a identificação dos fitoplanctontes. Não existem monografias completas que permitam identificar com segurança a totalidade dos organismos fitoplanctónicos presentes numa determinada área. Uma listagem mais ou menos exaustiva das principais referências bibliográficas pode ser encontrada em SOURNIA (1978). Relativamente à identificação do microzooplâncton, pode encontrar-se igualmente na mesma obra uma lista de referências relevantes.

No que diz respeito aos restantes zooplanctontes existem diversas obras de carácter geral e outras de âmbito mais restrito que permitem identificar um grande número de formas zooplanctónicas, nomeadamente: "Nordisches Plankton : Zoologisches Teil" (1901), "Fiches d'identification du Zooplancton, Fiches d'identification des oeufs et larves de Poissons, Fiches d'identification du Plancton" (editadas pelo "Conseil International pour l'Exploration de la Mer, 1949-1986), TRÉGOUBOFF & ROSE (1957), HARDY (1958), FRASER (1962), NEWELL & NEWELL (1963), RUSSELL (1953, 1976), WIMPENNY (1966).

2.6- BIBLIOGRAFIA

ANON. (1966). *Determination of photosynthetic pigments in sea-water*. Unesco, Paris : 69pp.

BOURDILLON, A. (1971). L'échantillonnage du zooplancton marin. *In* Lamotte, M. & Bourlière, F. (1971). *Problèmes d'écologie : l'échantillonnage des peuplements animaux des milieux aquatiques*. Masson et Cie. ed., Paris : 109-164.

BOUGIS, P. (1974). *Ecologie du plancton marin. Tome I - Le phytoplancton*. Masson et Cie. ed., Paris : 195pp.

BOUGIS, P. (1974). *Ecologie du plancton marin. Tome II - Le zooplancton*. Masson et Cie. ed., Paris : 200pp.

FRASER, J.H. (1962). *Nature adrift. The story of marine plankton*. Foulis, London : 178pp.

HARDY, A. (1958). *The open sea. Its natural history. Part I. The world of plankton*. 2^e ed., Collins, London : 335pp.

HARRIS, R.P., P.H. WIEBE, J. LENZ, H.R.SKJODAL & M. HUNTLEY (2000). *Zooplankton Methodology Manual*. Academic Press.

HEMPEL, G. (ed.) (1973). Fish egg and larval surveys (contributions to a manual). *FAO Fisheries Technical Paper*, (122) : 82pp.

IBANEZ, F. (1976). Contribution à l'analyse mathématique des événements en écologie planctonique. *Bulletin de l'Institut Océanographique du Monaco*, 72 (1431) : 1-96.

- KRAMER, D. ; KALIN, M.J. ; STEVENS, E.G. ; THRAIKILL, J.R. & ZWEIFEL, J.R. (1972). Collecting and processing data on fish eggs and larvae in the California current region. *NOAA Technical Report NMFS Circ-370* : 38pp.
- NEWELL, G.E. & NEWELL, R.C. (1963). *Marine Plankton. A practical guide*. Hutchinson, London : 244 pp.
- OMALY, N. (1966). Moyens de prélèvement du zooplancton. Essai historique et critique. *Pelagos*, (5) : 169pp.
- OMORI, M. ; IKEDA, T. (1984). *Methods in marine zooplankton ecology*. John Willey & Sons, New York : 332pp.
- RHEINHEIMER, G. (1987). *Microbiologia de las aguas*. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza : 299pp.
- RUSSELL, F.S. (1953). *The Medusae of the British Isles*. Cambridge. The University Press : 530pp.
- RUSSELL, F.S. (1976). *The eggs and planktonic stages of British marine fishes*. Academic Press, London : 524pp.
- SIEBURTH, J.M.S. (1979). *Sea microbes*. Oxford University Press, New York : 491pp.
- SMITH, P.E. & RICHARDSON, S.L. (1977). Standard techniques for pelagic fish egg and larva surveys. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 175 : 100pp.
- SOURNIA, A. (ed.) (1978). *Phytoplankton manual*. Unesco, Paris : 337pp.
- STEEDMAN, H.F. (ed.) (1976). *Zooplankton fixation and preservation*. Unesco, Paris : 350pp.
- TRANTER, D.J. (ed.) (1968). *Zooplankton sampling*. Unesco, Paris: 174pp.
- TREGOUBOFF, G. & ROSE, M. (1957). *Manuel de Planctologie Méditerranéenne*. Vol. I e II., Paris : 587pp.
- WIEBE, P.H. & M.C. BENFIELD (2003). From the Hensen net towards four-dimensional biological oceanography. *Progress in Oceanography*, 56: 7-136.
- WIMPENNY, R.S. (1966). *The plankton of the sea*. Faber and Faber, London, : 426pp