

Isadora Menegon<sup>1</sup>, David da Motta Marques<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Engenharia Hídrica - UFRGS, isamenegon@hotmail.com; <sup>2</sup>Docente do Programa de Graduação e Pós-Graduação em Recursos Hídricos e Saneamento Ambiental, Instituto de Pesquisas Hidráulicas (IPH/UFRGS)

## INTRODUÇÃO

A análise do fitoplâncton é fundamental para a compreensão do regime de mudanças nos ecossistemas aquáticos, porém a metodologia tradicional, através do uso de microscópio óptico ou invertido, é altamente demorada e impõe uma série de limitações. Na busca por um processo mais eficiente, vem sendo testada uma metodologia que utiliza um equipamento automatizado de fluxo contínuo – *FlowCAM*. Este equipamento, representa os organismos presentes numa amostra de água através de um conjunto de imagens e proporciona a análise de abundância e tamanho das partículas, além de reduzir o tempo de processamento e dependência do operador.

## OBJETIVO

Comparar a eficiência na quantificação e classificação da comunidade fitoplanctônica (composição e densidade) através do método de microscopia tradicional e o *FlowCAM*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras coletadas em escala nictemeral nos meses de julho e agosto de 2013, na zona pelágica da lagoa Manguieira - RS (Fig. 1), fixadas com solução aquosa de formalina a 3-5%. Para realização de testes preliminares foi coletada uma amostra em abril de 2016, na região sul da Lagoa Manguieira, que foi mantida em cultivo (não fixada). A Lagoa Manguieira é uma grande lagoa costeira situada no sul do Rio Grande do Sul, que possui uma profundidade média de 2,6 m, com 90 km de comprimento e 3-10 km de largura. Tanto as amostras fixadas quanto a amostra não fixada foram quantificadas através de duas metodologias. A metodologia tradicional de microscopia segue o Método de Utermöhl (1958) e tempo de sedimentação de Lund (1958) (Fig.2). A metodologia de fluxo contínuo (*FlowCAM*, Version 3.2, May 2012; VisualSpreadsheet® 3.4, Portable), cuja amostra flui através da célula de fluxo com espessura é de 50µm e aumento de 20X, quantifica automaticamente o fitoplâncton (Fig. 3). A densidade (indivíduos por mililitros – ind./ml) dos organismos foi quantificada em um volume amostral de 2 ml para ambos os métodos. Para comparar a densidade total das algas entre os dois métodos de quantificação foi utilizado o de Teste de Mann-Whitney (não paramétrico).

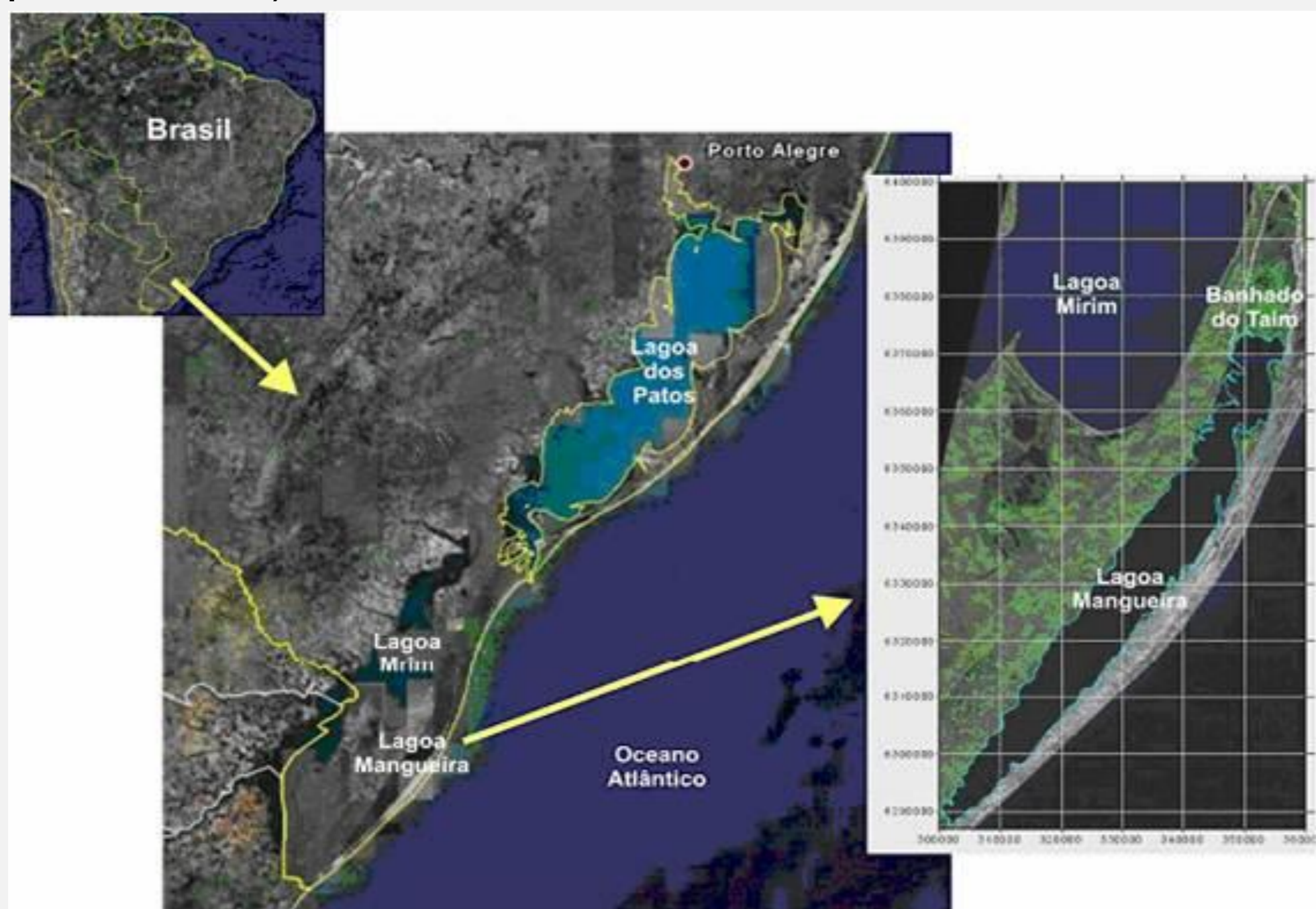


Fig. 1. Lagoa Manguieira, RS, Sistema Hidrológico do Taim (SHT).

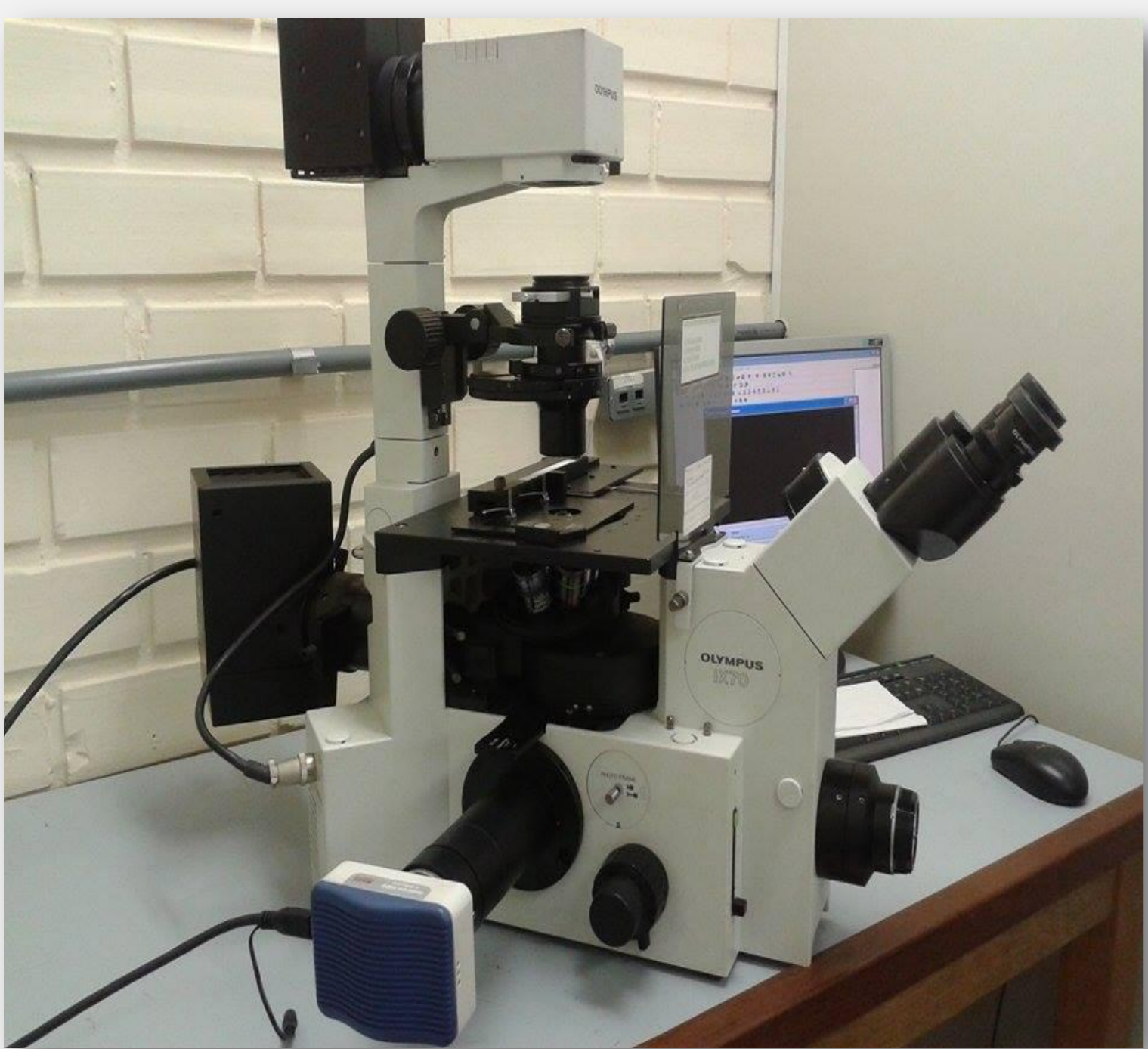


Fig. 2. Microscópio invertido utilizado na quantificação através do método de Utermöhl.



Fig. 3. Equipamento automático de fluxo contínuo – *FlowCAM*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvares E, Moyano M, Lopez-Urrutia A, Nogueira E, Scharek R. 2014. Routine determination of plankton community composition and size structure: a comparison between *FlowCAM* and light microscopy. *J. Plankton Res.* 36(1): 170–184.
- FlowCAM*® Manual. Version 3.4, May 2013.
- Lund JWG, Kipling C, LeCren ED. 1958. The invert microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia.* 11:143-170.
- Utermöhl H. 1958. Zur Vervollkommnung der quantitativen Phytoplankton. *Method Mitt Int Ver Limnol.* 9: 1–38.
- VisualSpreadsheet® 3.4, Portable, Open Benchtop, Benchtop, PV Models. Manual edited by Benjamin Spaulding, Laboratory Manager.
- Wang C, Wu X, Tian C, Li Q, Tian Y, Feng B, Xiao B. 2015. A quantitative protocol for rapid analysis of cell density and size distribution of pelagic and benthic *Microcystis* colonies by *FlowCAM*. *J Appl Phycol.* 27: 711–720.

## AGRADECIMENTOS

PIBIC CNPq-UFRGS – Processo 148385/2015-0  
Laboratório de Ecotecnologia e Limnologia – IPH - UFRGS

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados preliminares com a amostra não fixada indicaram que a diferença de densidade algal total encontrada entre a microscopia tradicional e o *FlowCAM* foi de 99,8% (53.286 e 53.361 ind./ml, respectivamente). Este resultado evidencia que o método representa uma boa ferramenta quanto à qualidade dos resultados. No entanto, quando utilizadas as amostras fixadas baixou para 56% (1.242.247,3 e 695.907 ind./ml, respectivamente). Nesse caso, a maior densidade algal foi obtida através do método tradicional, conforme se pode observar nas figuras 4 e 5.

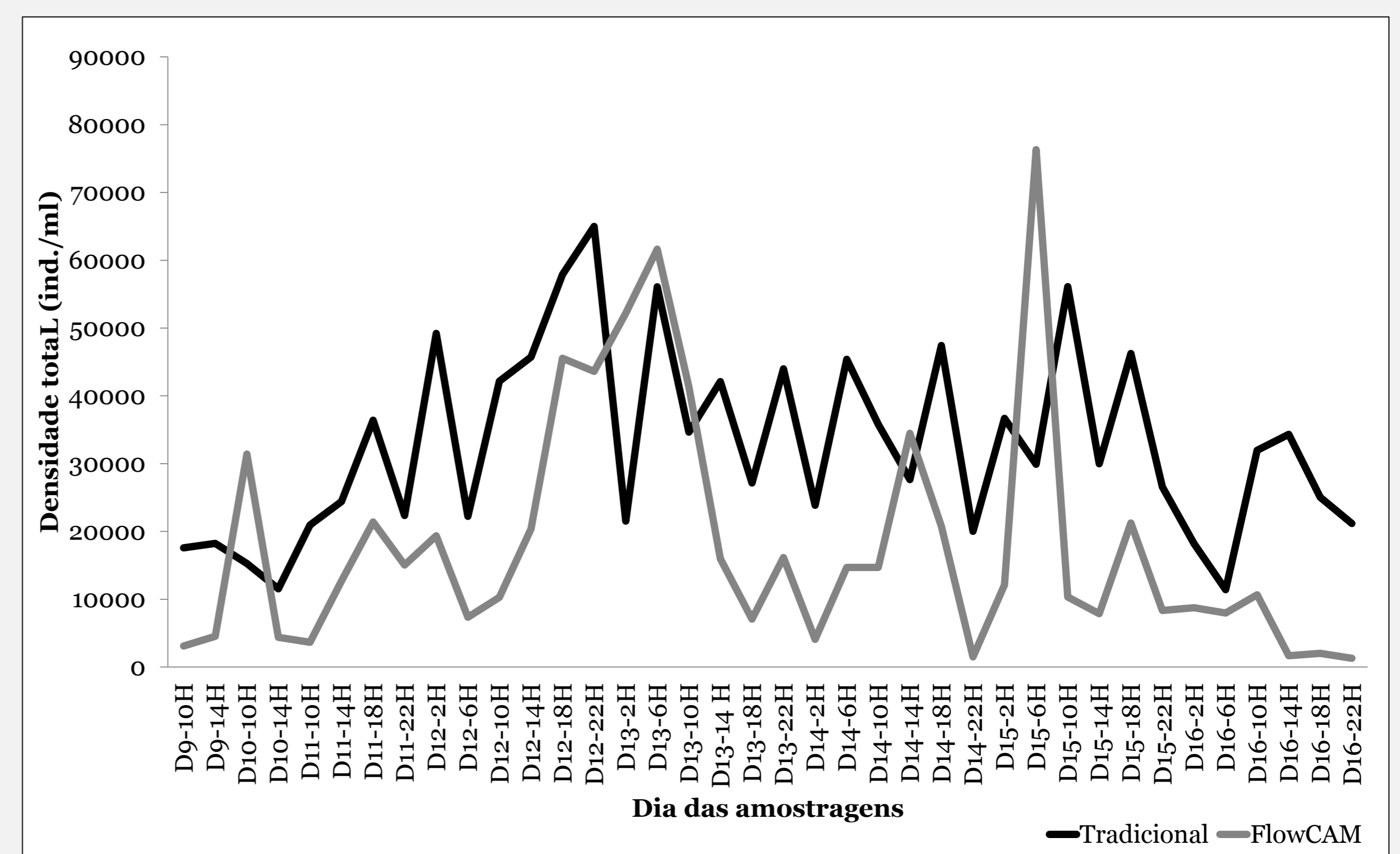


Fig. 4. Comparação da densidade total entre o método tradicional e *FlowCAM* em relação aos dias e hora das amostras coletadas na Lagoa Manguieira, RS, entre julho e agosto de 2013.

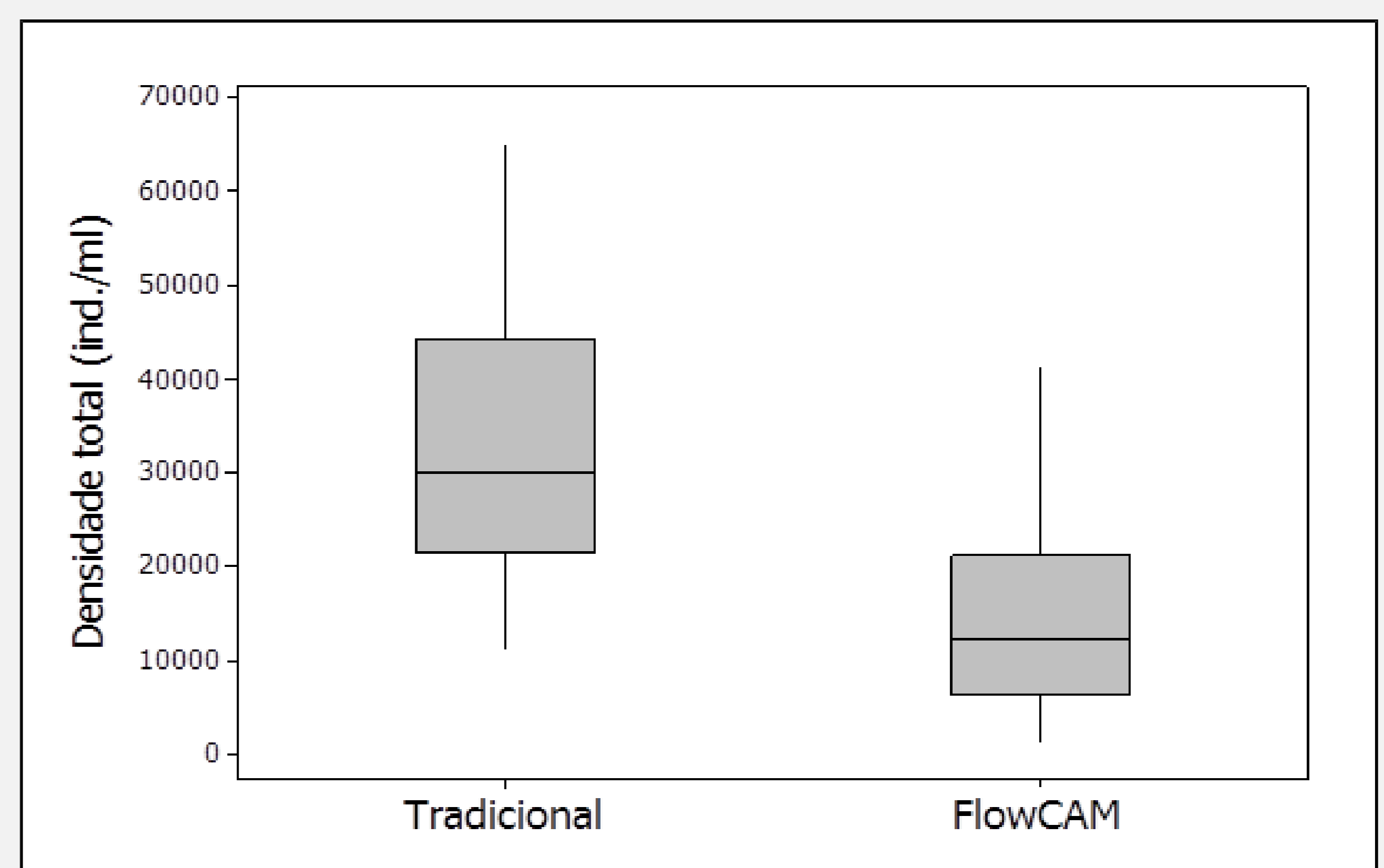


Fig. 5. Comparação da densidade total encontrada entre os dois métodos testados (Lagoa Manguieira, RS, julho a agosto de 2013).

A densidade total de algas variou significativamente entre os dois métodos ( $U= 1896,0$ ,  $p<0,001$ ).

O *FlowCAM* é um método automático que já exibiu uma excelente precisão em estimativas de abundância, espectros de tamanho, biomassa e diversidade taxonômica da comunidade fitoplanctônica (nanoplâncton e microplâncton) quando comparados com os resultados obtidos por análise microscópica tradicional das mesmas amostras (Álvares et al. 2014). Inclusive, alguns resultados já encontrados em outros trabalhos sugerem que as variações naturais nos atributos da comunidade fitoplanctônica são de maior magnitude, do que o erro introduzido pelos métodos e que um método totalmente automático é adequado para explorar estas variações (Álvares et al. 2014; Wang et al. 2015).

Nesse estudo, essa precisão e adequação, não pode ser observada, e ajustes no equipamento são necessários, especialmente para amostras fixadas que provavelmente não tem a mesma limpidez em relação as amostras vivas.

Além disso, ainda, não foi possível determinar a composição florística da comunidade fitoplanctônica, uma vez que o estudo continua em andamento, uma metodologia está sendo testada, e uma biblioteca digital de espécies do fitoplâncton da lagoa Manguieira está sendo elaborada. Após, o término dessa biblioteca será possível quantificar a densidade e a biomassa de cada espécie, bem como aperfeiçoar a metodologia com o método de fluxo contínuo.

Em seguida, espera-se que o *FlowCAM* represente uma boa ferramenta quanto determinação da composição e densidade fitoplanctônica, demonstrando qualidade, eficiência e confiabilidade nos resultados obtidos.

## CONCLUSÃO

Até o momento, o método de microscopia tradicional demonstrou maior eficiência que o *FlowCAM* em relação a densidade total das algas da Lagoa Manguieira, RS.