

PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS E CONTAGEM DE ORGANISMOS FITOPLANCTÔNICOS

Sérgio Roberto¹
Denise Navas Pereira¹

RESUMO - O trabalho apresenta considerações e observações realizadas em laboratório com relação a interferências nos resultados de estudos quantitativos e qualitativos de organismos fitoplanctônicos provocados pelos procedimentos de coleta, homogeneização, estocagem, manuseio, transporte e preservação indevidos ou não observados a contento, causando alterações significativas e mascarando os resultados finais de contagem, bem como conduzindo a erros na identificação. Algumas das observações mais significativas podem ser atribuídas aos procedimentos de coleta, homogeneização e preservação, que podem provocar ruptura de organismos, adesão de determinadas espécies às paredes do frasco, perda de flagelos, ou não decantação de algumas espécies que, mesmo após a preservação, ainda permanecem na superfície da amostra. Em função das observações efetuadas, conclui-se que há necessidade de uma padronização de metodologia, desde a coleta até o processamento final das amostras.

ABSTRACT - Laboratory observations about the interferences of undue field sampling, equalizing, handling, transport, preservation and keeping procedures on the results of quantitative/qualitative phytoplankton analysis are commented. These interferences cause significant sample changes leading either to quantitative or qualitative errors. The most significant errors can be attributed to sampling, equalizing and preservation procedures. These may cause breakdown of cells/colonies, loss of flagella, adhesion of cells that still remain on the surface layer of the sample, even after preservation. In order to solve these problems, the standardization of methodology is recommended, from the very beginning of field collection until the final handling of the samples.

INTRODUÇÃO

O levantamento da comunidade fitoplanctônica se constitui em uma das mais valiosas informações para melhor conhecimento de ambientes aquáticos. Através do conhecimento das espécies existentes no meio e do "standing-stock", hoje, pela melhor interpretação do significado sanitário de gêneros e espécies mais amplamente divulgados, da aplicação de índices, e de correlações com dados físico-químicos, podemos caracterizar o tipo e a qualidade deste ambiente principalmente quanto ao grau de eutrofização.

Para o estudo desta comunidade, é de fundamental importância a obtenção de amostras representativas. Sabe-se que organismos planctônicos realizam migrações verticais e encontram-se naturalmente distribuídos na coluna d'água, restringindo-se aos limites da camada eufótica, onde a existência de luz permite a continuidade do processo fotossintético e consequentemente a produção orgânica. Assim, a adoção de técnicas laboratoriais seguras, principalmente no que se refere à contagem de organismos fitoplanctônicos, faz-se cada vez mais necessária, devido ao fato de que nenhum método é perfeito e de que em todos os métodos existem limites de certeza (Lund et alii, 1959).

O presente trabalho contribui com algumas considerações e observações realizadas em laboratório com relação a interferências nos resultados de estudos quantitativos e qualitativos de or-

ganismos fitoplanctônicos, provocados pela coleta, estocagem, manuseio, transporte e preservação indevidos ou não observados a contento, causando alterações muitas vezes significativas, mascarando os resultados finais de contagem, bem como conduzindo a erros de taxonomia. Sugere-se, também, uma possível padronização de metodologia utilizada por diversas organizações, entidades e áreas de estudo afins, que envolvam o levantamento da comunidade algal.

POSSÍVEIS INTERFERÊNCIAS DEVIDAS A PROCEDIMENTOS

O primeiro passo a ser dado é quanto à adequação do tipo e forma de coleta ao objetivo do estudo e técnica de processamento.

Para o estudo da comunidade fitoplanctônica, como já mencionado, é de fundamental importância a obtenção de amostras representativas. A determinação da quantidade de pontos e níveis de profundidade de coleta deve ser adequada aos recursos financeiros disponíveis, nunca relegando para segundo plano o fato de que, de modo geral, a distribuição vertical destes organismos na coluna d'água acha-se restrita aos limites da camada eufótica, onde a existência de luz permite a continuidade do processo fotossintético, e consequentemente produção orgânica, limitando e especificando organismos nos seus estratos mais adequados (Moreira, 1976).

¹ Biólogos da CETESB

Deve-se também levar em conta o tipo de ambiente que será estudado, devido às diferenças entre ambiente marinho e de água doce, cada um com características muito particulares (Moreira, op. cit.), o mesmo acontecendo com ambientes oligotróficos e eutróficos.

As amostras coletadas por intermédio de rede, para estudo quantitativo, são desaconselháveis do ponto de vista da precisão dos resultados, por mais meticulosas que sejam as coletas e as medições de velocidade, correntes etc. Estes resultados nunca serão tão precisos como os de uma amostra total.

A utilização de rede para coleta de fitoplâncton proporciona ainda um agravo tanto na análise quantitativa quanto qualitativa, uma vez que os organismos enquadrados no nanoplâncton (2 a 20 μ m) não são retidos em sua maioria, provocando assim uma perda da biomassa algal que pode atingir de 40 a 90% do total de clorofila (Trondsen, 1976; Eppley & Weiler, 1979; Hallegraeff, 1981, apud Hallegraeff, 1983) ou ainda 60% da biomassa total (CETESB, 1984).

Em estudos mais amplos e específicos, com o objetivo de se conhecer as diversas populações, cadeia alimentar, hábitos alimentares de organismos de interesse científico-econômico etc., é de extrema importância que o levantamento das espécies nanoplânctônicas seja realizado, uma vez que estes organismos servem de alimento para o zooplâncton e são considerados especialmente importantes para a sobrevivência das larvas de invertebrados planctotróficos que habitam o fundo (Moestrup, 1979). Assim, a utilização de rede para coleta de amostras, neste caso, inviabiliza este tipo de estudo.

Transporte das Amostras

Uma vez preservada a amostra, esta não necessita de maiores cuidados. Deve apenas ser mantida à sombra, evitar-se altas temperaturas e o excesso de luminosidade, principalmente quando o reagente utilizado para preservação for solução de lugol.

As amostras não preservadas devem ser acondicionadas em frascos de vidro neutro ou de polietileno, devido à sensibilidade de algumas algas ao meio alcalino, morrendo em poucas horas quando colocadas em vidros normais (Branco, 1978).

Os frascos contendo amostras devem ser mantidos sob refrigeração em uma caixa de isopor fechada, com gelo, para que o metabolismo dos organismos seja diminuído, acarretando um menor consumo de oxigênio, na ausência de luz. A quantidade de ar dentro do frasco deve ser de 1/3 e a de amostra de 2/3, se não exceder 24 horas até o processamento da amostra ou devida preservação.

Em situações de atendimento especial (ocorrência de florações), é aconselhável que apenas 1/4 do frasco contenha amostra, a fim de aumentar a área contendo ar, uma vez que em situações com tais características são encontrados organismos em alta atividade metabólica, e alguns já em estado de decomposição.

Homogeneização

Devido ao pequeno tamanho dos organismos fitoplânctônicos, sua capacidade de locomoção e de flutuação, a homogeneização passa a ser uma fase muito importante no processamento e manuseio da amostra.

Partindo do princípio de que a amostra esteja fixada, portanto eliminada a locomoção dos organismos, ainda assim haverá problemas com outros organismos que aderiram às paredes do frasco, uma grande maioria que sedimentou, e algumas células que ainda permaneceram na superfície, seja pela tensão superficial seja pela presença de pseudovacúolos existentes naturalmente no organismo ou presentes devido à sua degradação.

Deve-se ter muito cuidado ao realizar a homogeneização, uma vez que se trata de organismos que possuem poucas micra de tamanho, podendo a agitação brusca provocar danos à sua estrutura, o que prejudica sensivelmente o estudo sistemático. A agitação brusca, além de desnecessária, pode provocar ainda, em alguns grupos de algas sensíveis - principalmente cianofíceas de forma colonial, como por exemplo *Microcystis* sp. -, o rompimento da parede gelatinosa responsável pela sustentação de

todas as centenas de células em seu interior, induzindo na maioria das vezes o taxonomista a erro a nível de família ou a uma classificação apenas a nível de ordem. O mesmo pode acontecer com organismos pertencentes ao grupo dos fitoflagelados coloniais, como por exemplo algas do gênero *Volvox*, que poderiam ser confundidas com fitoflagelados de vida livre individuais, uma vez alterada sua forma original.

Estas situações, até certo ponto frequentes, podem ocorrer tanto de forma natural no ambiente aquático quanto de forma induzida no laboratório, acarretando não apenas um possível erro sistemático como também uma contagem extremamente irreal, a ponto de uma única cianofícea colonial, como por exemplo *Coelosphaerium* sp., uma vez rompida sua membrana gelatinosa e suas células soltas, ser considerada, para efeito de contagem, como centenas ou milhares de Chroococcales, desvirtuando totalmente a proporção numérica entre grupos de interesse em seu significado sanitário, a caracterização do ambiente, sem mencionar o erro grotesco do levantamento de número de organismos por área e volume.

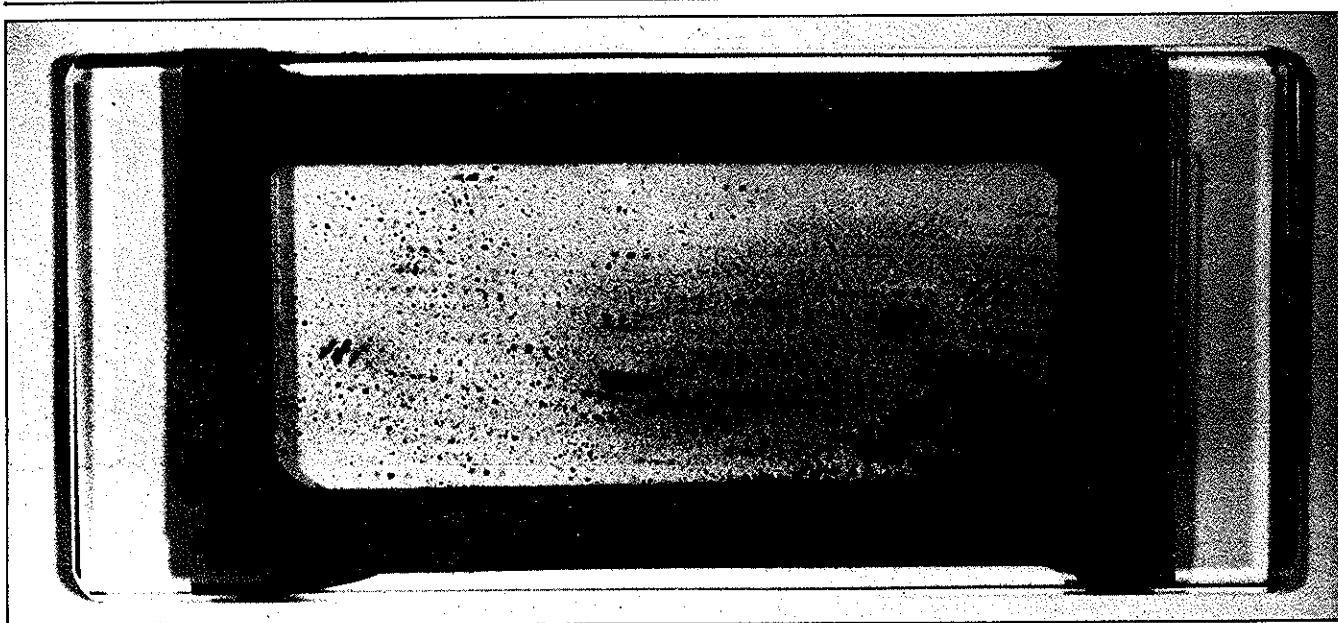
A homogeneização da amostra é importante, também, quando da sua colocação em câmaras de contagem, considerando-se que, na maioria das vezes, os organismos fitoplânctônicos são quantificados em câmaras de decantação, como a de Sedgwick-Rafter ou a de Utermöhl, de volume variado. Uma vez que a amostra é inserida nas câmaras de decantação com o auxílio de pipetas, o líquido forma uma corrente dentro das câmaras que propicia a decantação do material sólido de forma seletiva, devido às diferenças na dimensão das partículas, conforme se verifica nas Fotos 1 e 2. Muitas vezes, amostras provenientes de ambientes eutrofizados se apresentam com elevado número de células a serem contadas e, nesses casos, a câmara não é analisada em sua totalidade, utilizando-se a contagem pelo método de transectos ou campos. Assim, é extremamente importante a distribuição homogênea do material, que pode ser obtida através da agitação da câmara com movimentos desordenados, após ter sido encerrada a amostra em seu interior, antes de ser levada à câmara úmida, para decantação.

Estocagem

O material analisado deve, após sua devida preservação, ser guardado em lugar escuro com a mínima penetração de luz e temperatura ambiente estável, uma vez que nessas condições as cores naturais e originais das algas permanecerão por mais tempo, facilitando a identificação. Desta forma, haverá material em razoáveis condições para futuras comparações, referências ou para fins didáticos. Existe uma série de problemas quanto a este tipo de estocagem, como evaporação, preservação inadequada para alguns organismos existentes na amostra, diversidade de espécie e outros, que levam à conclusão de que o melhor e mais seguro método de estocagem é o que compreende a microtécnica, com separação do organismo de interesse e confecção de lâminas permanentes. Infelizmente, todas as técnicas existentes para este último processo apresentam um certo grau de dificuldade, pela complexidade das inúmeras operações a serem realizadas e habilidade pessoal que somente é adquirida após várias repetições (Branco, 1978). O resultado, em geral, é de excelente qualidade: até mesmo algas do grupo das cianofíceas, que possuem estruturas delicadíssimas, resistem por mais de 80 anos, como visto em lâminas preparadas por H. Potel com material planctônico proveniente das águas do rio Tietê, datadas de 1904, permanecendo até hoje em perfeitas condições de coloração e estrutura.

Tempo para Realização da Análise

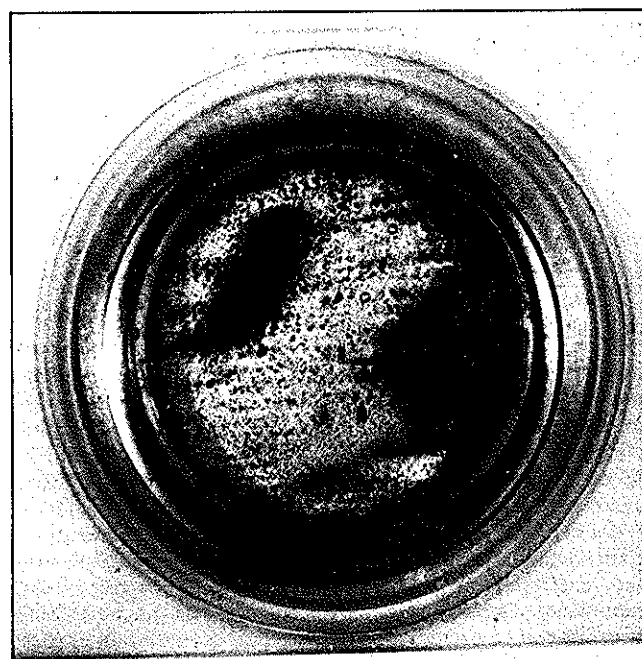
Apesar de trabalhoso e muito dispendioso, o melhor método seria a leitura imediata da amostra através da fixação dos organismos fitoplânctônicos com vapores de ácido ôsmico, devido às vantagens que apresenta obviamente levando-se em consideração a viabilidade de emprego e interesse de execução desse trabalhoso método para o estudo em desenvolvimento, uma vez que este reagente viabiliza o emprego de microscopia eletrônica.



Fotos 1 e 2 - Câmaras de decantação Sedgwick Rafter (acima) e Utermöhl (abaixo) contendo material particulado sólido de diferentes granulometrias, mostrando sua sedimentação sem a devida agitação.

Como o método acima se apresenta praticamente inviável do ponto de vista prático e econômico para a maioria dos laboratórios que atuam nesta área, o tempo ideal para a realização do processamento da amostra normalmente é considerado como sendo o mais breve possível, levando-se em conta a disponibilidade de pessoal técnico especializado para realização da classificação e contagem, volume de trabalho do laboratório, condições de estocagem etc.

Tendo em vista a grande frequência de amostras provenientes de locais eutrofizados recebidas em alguns laboratórios, com concentrações elevadas de algas principalmente pertencentes ao grupo das cianofíceas, verificam-se, por várias vezes, espécies dos gêneros *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Anabaena* e outras, aderidas às paredes dos frascos junto à superfície da amostra de uma forma muito mais significativa em frascos descartáveis de polietileno, devido provavelmente à sua maior aspereza, quando comparados aos frascos de vidro. Esta situação é extremamente indesejável e prejudicial ao estudo quantitativo, uma vez que estes organismos não se desprendem das paredes em sua totalidade com a agitação manual e também não apresentam resultados satisfatórios com a ação de agitadores automáticos mesmo após 96 horas de agitação, permanecendo ainda organismos aderidos à parede que podem ser vistos a olho nu (Fotos 3 e 4). Desse modo, seria interessante a utilização de frascos de vidro de boa qualidade, e, no caso de se notar uma certa aderência, remover cuidadosamente o material ainda aderido às suas paredes, antes da homogeneização, a fim de minimizar o erro de contagem.



Diferentes Formas de Preservação

Atualmente existe uma grande quantidade de reagentes e misturas utilizadas para fixação e preservação de organismos fitoplanctônicos. Alguns destes apenas recentemente começaram a ser empregados, e outros já são utilizados há algum tempo, como o formol e a solução de lugol.

Para se determinar o tipo de preservação ideal, há necessidade de serem realizados testes com diferentes concentrações e diferentes grupos de organismos fitoplanctônicos, verificando quais as alterações sofridas pelos mesmos, tentando assim chegar a um consenso final sobre a abrangência e a qualidade de cada reagente, como o trabalho realizado por Gherardi et alii (1979).

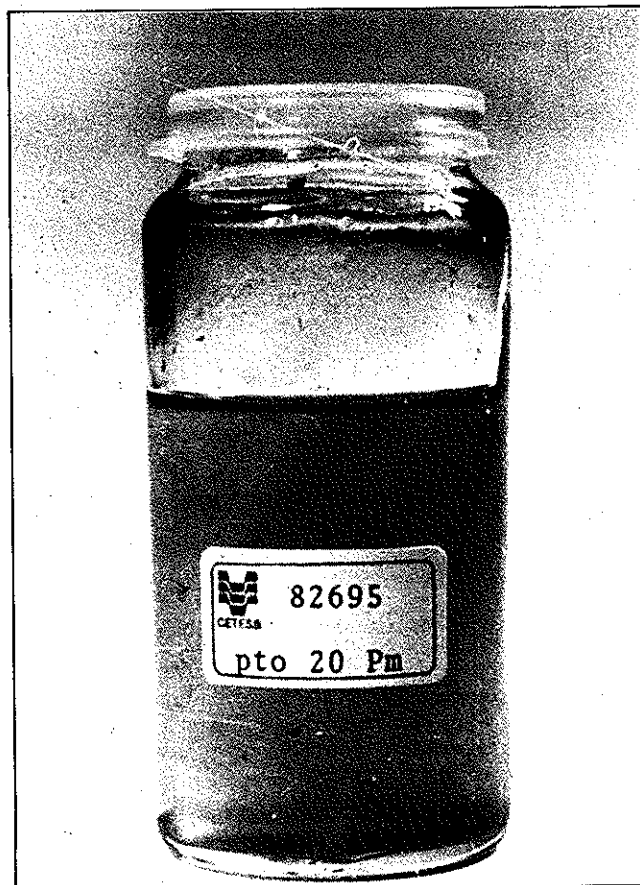
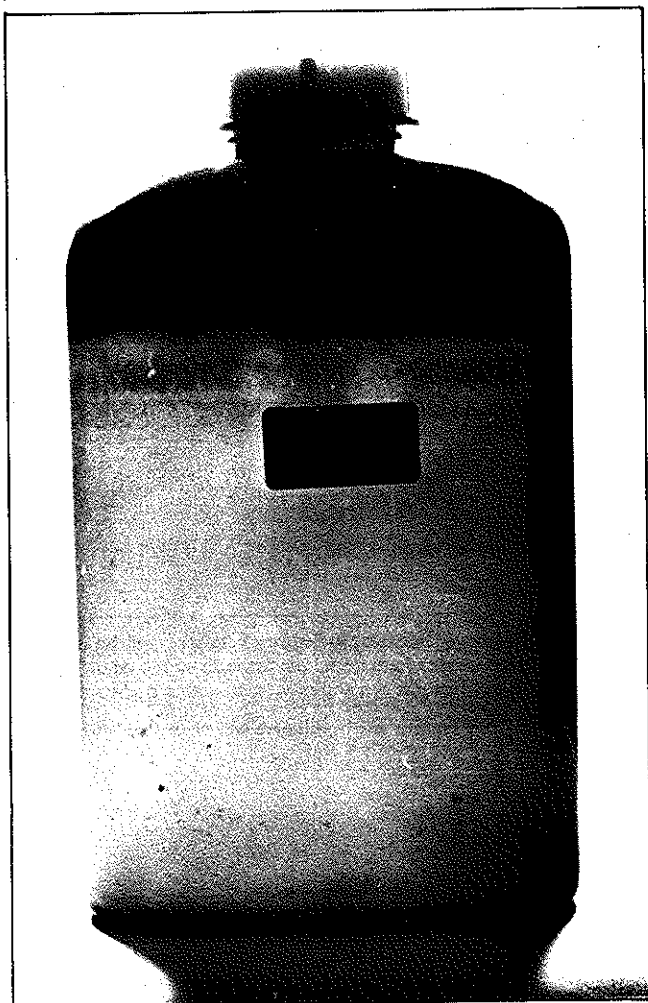
Para preservação a longo prazo, sem dúvida o formol se apresenta como o mais indicado, na concentração de 2 a 4%, apesar de que esse reagente pode alterar ou destruir células de organismos flagelados mais delicados (Lund et alii, 1959), fato também observado pelos autores.

Lâminas permanentes preparadas em 1908 contendo clorofíceas filamentosas e formas unicelulares fixadas em cromo-acético a uma concentração de 0,3% apresentaram um ótimo resulta-

do, permanecendo em excelentes condições de conservação, com aparência de recém-coletadas. Infelizmente, não se dispõe de dados sobre a eficiência do cromo-acético para outros grupos como diatomáceas, fitoflagelados e cianofíceas.

O maior problema da preservação está ligado ao grupo dos fitoflagelados, pois muitos desses organismos apresentam alta sensibilidade e fragilidade à fixação, propiciando a perda de flagelos, tornando, assim, as células, quando observadas ao microscópio, sem flagelos. Dependendo da forma como estes permanecem depositados no fundo da lâmina, podem prejudicar extremamente o trabalho sistemático, impedindo a visualização de estruturas características do organismo que facilitam sua identificação. Esta perda de flagelos pode ocorrer com todos os fixadores, sendo que se obtêm melhores resultados quando se utiliza concentrações mínimas dos mesmos.

Resultados satisfatórios foram obtidos com a utilização de formol a 2% para preservação de organismos flagelados, uma vez que com o auxílio de microscopia de contraste de fase visualiza-se, na maioria das amostras, fitoflagelados em perfeitas condições de preservação, sem apresentarem perda dos flagelos, conforme se verifica nas Fotos 4 e 5.



Fotos 3 e 4 - Frasco descartável de polietileno (esquerda) e de vidro neutro (direita), com amostra proveniente de ambiente eutrofizado, observando-se colônias de *Microcystis* sp. aderidas ao corpo do frasco descartável.

Os dois reagentes mais utilizados ainda são o formol e a solução de lugol. Aparentemente, os dois "interferem" ou "prejudicam" de igual maneira os organismos e a adoção de um ou outro pode estar mais relacionada ao hábito do técnico que manuseia a amostra, uma vez que o lugol altera um pouco a coloração de certos organismos, requerendo de certa forma um hábito para melhor visualização. É aconselhável que antes e ao longo dos estudos, em algumas coletas, amostras sem preservação sejam analisadas com a finalidade de se observar os organismos mais sensíveis, principalmente os pertencentes aos grupos das cianofíceas e fitoflagelados, para certificar-se de que os reagentes utilizados na preservação não estejam causando alterações morfológicas externas ou internas ou até mesmo destruindo algumas células.

Após um encontro entre técnicos que atuam no campo da taxonomia de organismos fitoplânctônicos, realizado no Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, durante o curso de aperfeiçoamento sobre "Estudo do Nanoplâncton Marinho: Métodos e Técnicas, Taxonomia e Ecologia", em julho de 1984, ficou estipulada uma padronização na utilização de formol, a uma concentração não inferior a 2% e máxima de 4%, principalmente para ambientes marinhos. Para ambientes de água doce, verificou-se que a solução de lugol ainda atende com igual eficiência à fixação de organismos fitoplânctônicos.

A escolha e a utilização correta dos fixadores são de fundamental importância, uma vez que estes reagentes podem interferir na contagem e classificação de organismos, propiciando erros até certo ponto grosseiros devido a alterações provocadas ao meio. No caso do emprego do formol para fixação dos organismos, o volume utilizado do reagente interfere no resultado final da contagem, uma vez que a formalina comercial contém geralmente de 37 a 42% de formol (Branco, 1978), e para se atingir uma concentração de 2% há necessidade de se adicionar 5% do volume da amostra em reagente, ou seja, diluir-se o volume total em 5%, como pode ser visto a seguir:

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

onde:

- V_1 : volume da amostra a ser preservada
- C_1 : concentração desejada
- V_2 : volume necessário de formol (x)
- C_2 : concentração do formol

portanto, para 250 ml de amostra, adicionando-se 12,5 ml de reagente obtém-se a concentração de 2%:

$$250 \cdot \frac{2}{100} = x \cdot \frac{40}{100}$$

$$250 \cdot 0,02 = x \cdot 0,4$$

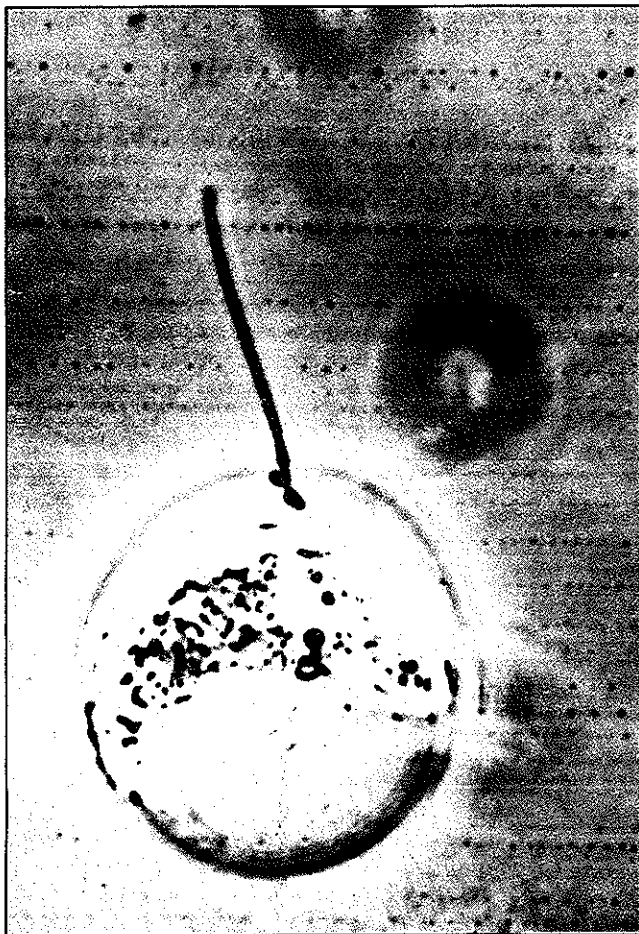
$$5 = x \cdot 0,4$$

$$x = 12,5$$

Dependendo do objetivo do estudo e do grau de precisão que o levantamento da população exige, principalmente no que se refere à biomassa, pode haver necessidade de se realizar uma correção da contagem em função da diluição sofrida pela amostra.

Este problema já não ocorre com a utilização de solução de lugol como reagente fixador, uma vez que 1 ml/l fornece uma concentração suficiente para uma preservação por aproximadamente seis meses para amostras de locais oligotróficos, e 2 ml/l para ambientes eutróficos, quando estocadas em local escuro, devido à degradação sofrida pela solução de lugol através da ação da luz (CETESB, 1978).

Outra interferência que a preservação pode provocar em organismos planctônicos é quanto à destruição de organismos ou deformações neles provocadas. A destruição pode ocorrer basi-



Fotos 5 e 6 - Organismo flagelado, fotografado por processo de contraste de fase. Amostra preservada com formol a 2%.

camente de duas maneiras: a primeira, pela destruição celular, onde organismos sensíveis e frágeis que possuam seu conteúdo celular retido por uma camada fina de envoltório corpuscular têm essa camada destruída, impossibilitando sua visualização e consequente contagem; a segunda, pela destruição do envoltório gelatinoso de organismos coloniais, onde cada célula que se desprende da colônia passaria, com grande probabilidade, a ser contada como um organismo individual, acarretando os erros já comentados no item referente à homogeneização.

Algumas algas, principalmente as pertencentes ao grupo das cianofíceas, são caracteristicamente de superfície, devido, na maioria das vezes, à presença de pseudovacúolos no interior das células, ou à própria característica morfológica que propicia sua permanência com maior facilidade na superfície da água (Branco, 1978), ou ainda, até mesmo pela tensão superficial. Estes organismos, mesmo após fixados tanto por formol quanto por solução de lugol, ainda permanecem na superfície, como se verificava frequentemente em laboratório; após a preparação da amostra para decantação, tanto em câmaras de Sedgwick-Rafter para leitura em microscópio comum, quanto em câmaras de Utermöhl para leitura em microscópio invertido, estes organismos ainda permanecerão na superfície da camada de água, não acompanhando o processo de decantação, como se vê na Foto 6. A resolução do problema da contagem em câmaras de Sedgwick-Rafter se torna relativamente simples, uma vez que apenas a mudança de foco e a realização de uma segunda leitura no plano superior da lâmina, considerando os organismos que porventura não sedimentaram, complementaria a contagem. Quando utilizada a câmara de Utermöhl, em microscópio invertido, a solução de alteração de foco não pode ser aplicada, uma vez que a distância entre a superfície do líquido e a objetiva impede a aproximação suficiente para visualização dos organismos não sedimentados. Em função dessa dificuldade, verifica-se que a adição de 0,125 ml ou quatro pequenas gotas com a pipeta de 1 ml de detergente, para uma alíquota de 50 ml de amostra, proporciona, após 30 minutos da homogeneização, a decantação



desses organismos (Gherardi et alii, 1979). Por outro lado, a presença de detergente, tanto em contato com a solução de lugol quanto com o formol, produz alterações a nível de conteúdo celular, proporcionando aspectos diferentes do original. O técnico deve, então, se julgar oportuno e necessário, preparar duas câmaras de decantação, uma contendo amostra apenas preservada e outra contendo amostra preservada acrescentando detergente, com a finalidade de realizar duas contagens, uma vez que venha a sentir dificuldades na classificação de organismos quando na presença de detergente.

O detergente, por sua vez, apresenta ótimos resultados apenas em ambientes de água doce, sendo inviável sua utilização em ambientes marinhos ou mesmo onde a salinidade ultrapasse algumas partes por mil, apresentando uma reação de saponificação em que a amostra torna-se turva e leitosa, impedindo a leitura ao microscópio.

Em ambientes marinhos, o que se tem utilizado junto ao formol, quando se verifica a presença de cianofíceas na superfície da amostra, é a adição de 1 ml de solução de mertiolato para cada 100 ml de amostra, com resultados satisfatórios.

É importante salientar que foram frequentes as situações em que as cianofíceas permaneceram na superfície da amostra após a devida preservação, em condições bastante diversificadas, sendo detectadas em ambientes marinho, salobro, em lagos, rios, lagoas de estabilização, situações de floração e até mesmo em ambientes oligotróficos.

Quanto à porcentagem de algas que permanecem na superfície da amostra, não se encontrou nenhuma relação numérica constante, uma vez que a porcentagem variou entre 3 e 96% de organismos não sedimentados, num experimento efetuado com amostras de lagoa de estabilização, em que havia predominância absoluta de cianofíceas (ver Tabela 1). É importante também constatar que não se verificou obrigatoriedade na ocorrência desta não sedimentação, tendo sido analisadas amostras provenientes de florações, onde se encontram algas em todos os estágios de desenvolvimento, verificando-se que todos os organismos de-

TABELA 1 - Teste de contagem de Cianofíceas (*Oscillatoria* sp) com amostras da Lagoa Facultativa de Valinhos, SP, coletadas em maio de 1985

Níveis de Focalização	Organismos decantados (1º nível)	Organismos não decantados (2º nível junto à lamínula)	Total dos organismos	Porcentagem de erro
Reagentes	(nº org/ml)	nº org/ml	nº org/ml	%
Lugol (1 ml/l)	5508	133914	139422	96,04
Formol + lugol (2%) (1 ml/l)	5616	141846	147462	96,19
Lugol + mertiolato (1ml/l)(1 ml/250 ml)	4968	126915	131883	96,23
Formol (2%)	5114	132514	137628	96,28
Lugol + detergente	153511	5832	159343	3,66

Obs.: Contagens efetuadas em câmaras de Sedgwick-Rafter

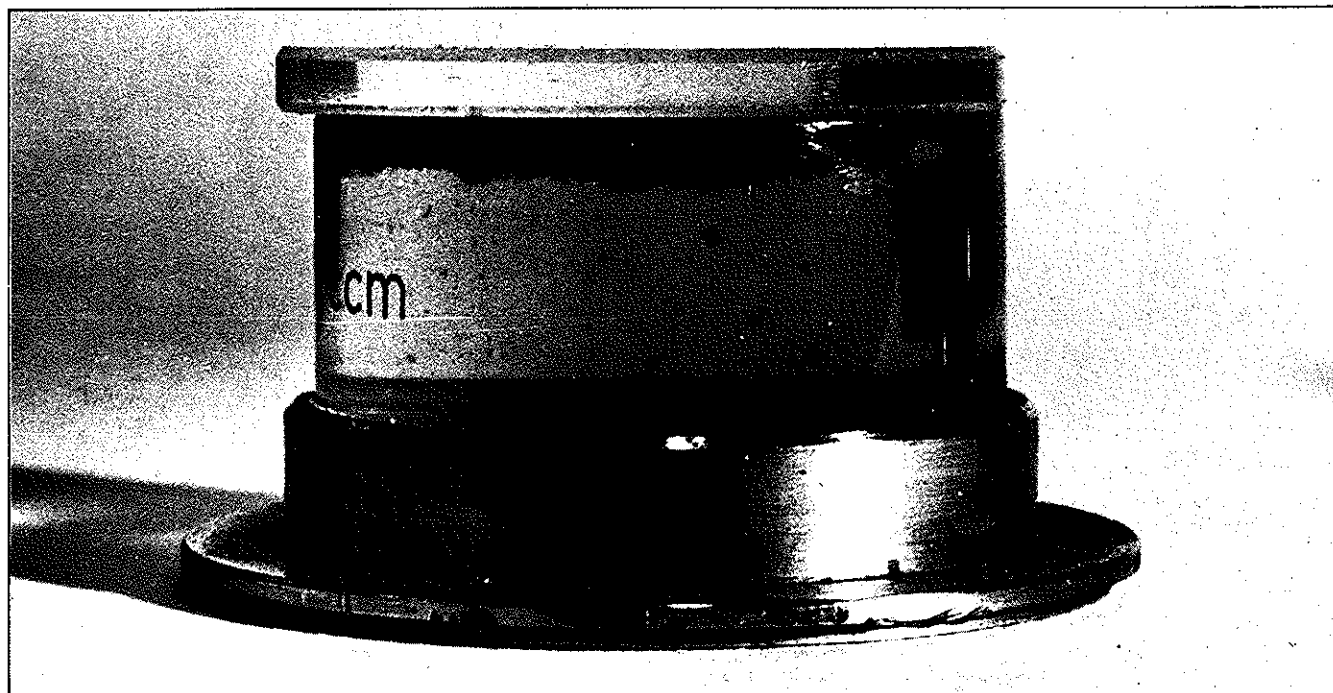


Foto 7 - Câmara de decantação Utermöhl com capacidade de 10 ml, com amostra proveniente de ambiente eutrofizado, mostrando colônias de *Microcystis* sp. não decantadas.

cantaram. Em outras ocasiões isso não ocorreu, tornando-se assim necessária uma melhor verificação da causa e condições que propiciam a decantação ou não dos organismos.

Um outro tipo de dificuldade encontrada na realização da contagem de algas refere-se a organismos que possuem formação em cadeia, como no caso de *Asterionella japonica*, especialmente em situação de floração. Estes organismos podem, muitas vezes, decantar de maneira que dificulte ou impossibilite a realização da leitura; como as diatomáceas são consideradas, na contagem, por número de células, a utilização de um aparelho de ultra-som em baixa frequência durante cinco minutos possibilita a ruptura da cadeia sem causar danos às células, propiciando a decantação de todas as células em um único nível, facilitando bastante a realização da contagem.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O cuidado na observação dos diferentes aspectos apresentados é de extrema importância, acarretando minimização dos erros e, conseqüentemente, estimativas mais precisas da comunidade presente nos ambientes onde se coletou amostras, uma vez que erros da ordem de até 96% foram observados, podendo levar a interpretações errôneas com relação às características do ambiente considerado, no que se refere ao fitoplâncton.

As observações efetuadas reforçam a necessidade, já demonstrada, de uma padronização de metodologia, desde a coleta até o processamento final das amostras, a fim de que os resultados possam ser confiáveis, possibilitando comparação entre si.

REFERÊNCIAS

- BRANCO, S.M. *Hidrobiologia aplicada à Engenharia Sanitária*. São Paulo, CETESB, 2a. edição, 620 p., 1978.
- CETESB. *Determinação de fitoplâncton de água doce - Métodos qualitativo e quantitativo*. São Paulo, CETESB, Norma Técnica 15.303, 15 p., 1978.
- CETESB. *Guia para orientação de coleta e preservação de amostras*. São Paulo, CETESB (Relatório não publicado), 141 p., 1984.
- GOLDSTEIN, E. G., CHEN, Y. P. & NAVAS PEREIRA, D. Utilização de detergente para concentração de amostras de fitoplâncton de água doce por centrifugação. *Revista Engenharia Sanitária* 18 (4) : 438-441, 1979.
- HALLEGRAEFF, G. M. Scale-bearing and loricate nanoplankton from the East Australian Current. *Botanica Marina* XXVI: 493-515, 1983.
- LUND, J.W.G., KIPLING, C. & LECREN, E.D. The inverted microscope method of estimating algal numbers and the statistical basis of estimations by counting. *Hydrobiologia* 11: 143-162, 1959.
- MOESTRUP, O. Identification by electron microscopy of marine nanoplankton from New Zealand, including the description of four new species. *New Zealand J. Botany* 17 : 61-95, 1979.
- MOREIRA, G.S. Sobre a migração vertical diária do plâncton ao largo de Santos, Estado de São Paulo, Brasil. *Bolm Inst. oceanogr. S. Paulo* 25 : 55-76, 1976.