

**2 Produto 1**

**Viviane Tranker**

**Programa de Monitoramento do fitoplâncton na Reserva  
Biológica Marinha do Arvoredo**

**Procedimento Operacional Padrão de coleta de água e  
análise laboratorial do fitoplâncton**

**Itajaí, 2021**

Programa de Monitoramento do fitoplâncton na Reserva Biológica Marinha do  
Arvoredo

PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO DE COLETA DE ÁGUA E ANÁLISE  
LABORATORIAL DO FITOPLÂNCTON.

## 1.INTRODUÇÃO

Em águas costeiras, podem ser encontrados representantes de praticamente todos os grupos do fitoplâncton. A predominância de um ou outro grupo em determinado ecossistema é em função principalmente das características do ambiente, como por exemplo, diatomáceas e dinoflagelados como dominantes, e em menor proporção outros grupos.

As estações rasas apresentaram predominância de diatomáceas, como seria esperado para áreas com pouca estabilidade e maior influência do fundo, uma vez que esse grupo é característico de regiões onde há eutrofização natural devido à ressuspensão de nutrientes acumulados nas camadas mais profundas (TENENBAUM *et al.*, 2007).

A ocorrência de determinadas espécies e suas densidades dependem de alterações na estrutura física do ambiente, como estratificação na coluna d'água e sazonalidade, que por sua vez refletem na disponibilidade de nutrientes e na penetração da luz solar (CULLEN *et al.*, 2002).

O fitoplâncton também pode ser bioindicador da qualidade da água. Assim, quando a concentração de nutrientes (principalmente nitrogênio, fósforo e silicato) atinge níveis extremos nos ambientes aquáticos, ocorre a proliferação de algas (bloom de algas), em função da grande oferta de alimento.

Diatomáceas (*Thalassiosira* spp.) e dinoflagelados (“dinoflagelados atecados”) podem ser indicadores de massas d'água, como Água Central do Atlântico Sul (ACAS) e Água da Pluma do Prata (APP). A ACAS tem como característica altas concentrações de nitrato, baixa temperatura, alta salinidade e sua ocorrência se dá pela influência do vento nordeste principalmente na primavera e verão. A APP atinge a região no período de inverno devido à influência do vento sudoeste. A APP recebe

nutrientes costeiros oriundos da Lagoa do Patos–RS, principalmente silicato, e ao longo de seu trajeto fertiliza a camada superior da coluna d'água. Altas concentrações de silicato podem estar relacionadas com o aporte dos rios locais, como: Rio Tijucas, Rio Itajaí e pela influência costeira da Ilha de Santa Catarina.

### **1.1 Importância da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo**

De acordo com o ICMBIO, em 12 de março de 1990, através do Decreto Federal nº 99.142, a Reserva Biológica Marinha do Arvoredo é uma unidade de conservação federal, de proteção integral, que tem como objetivo proteger um pequeno espaço da costa brasileira que apresenta grande importância biológica. Localizada no litoral do Estado de Santa Catarina, entre os municípios de Florianópolis e Bombinhas, a REBIO Arvoredo possui 17.600 hectares de superfície. (FIGURA 1).

A alta diversidade de ambientes marinhos e terrestres existentes na Reserva abriga uma infinidade de espécies, sendo muitas delas raras e ameaçadas de extinção. As ilhas apresentam remanescentes de Mata Atlântica, locais de reprodução para aves marinhas e sítios arqueológicos com sambaquis e inscrições rupestres. Além disso, os ambientes marinhos da Reserva fornecem abrigo para reprodução e crescimento de diversas espécies de peixes, o que contribui para manutenção dos estoques pesqueiros no seu entorno.

## **2. OBJETIVOS DO PROGRAMA DE MONITORAMENTO:**

O principal objetivo do programa de monitoramento é conhecer, em detalhe, a dinâmica da comunidade fitoplânctonica no enterno da Rebio Arvoredo. O levantamento dos dados pode auxiliar na observação, como rastrear florações; Para aviso prévio de espécies potencialmente prejudiciais; Para documentar danos ou disfunções ecológicas; Para desenvolver capacidade preditiva; Para salvaguardar as operações de aquicultura. Um esforço amostral de longo prazo pode distinguir as mudanças antropogênicas daquelas ocasionadas pela variação natural do ambiente.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS:**

#### **3.1 Pontos monitorados**

As coletas serão realizadas em quatro pontos amostrais (espacial/ horizontal) em superfície e fundo (espacial vertical) (FIGURA 2), com uma frequência mensal de coleta, totalizando (n= 96 amostras/ ano), para que tais estratégias favoreçam modelos de comportamento de padrões sazonais, identificados pela ocorrência de períodos climáticos. A finalidade de uma maior amplitude amostral é de representar diferentes microhabitats do sistema. Em superfície, por exemplo, a dinâmica dos fatores abióticos difere daqueles do fundo, no que diz respeito à irradiância, a temperatura, salinidade, concentrações de nutrientes dissolvidos, a partir de influências de rios, massas d'água ou até de um fenômeno climático de maior escala.

É recomendável que em amostragens de rotina para programas de monitoramento a coleta seja realizada, se possível, no mesmo período do dia. Coletas mensais foram delimitadas a partir da análise prévia de 6 estações de coleta no entorno da reserva. Com finalidade de abranger áreas mais costeiras, que recebem influências terrestre, intermediárias e mais profundas, na qual sofre interferência de massas d'água com características físico-químicas mais definidas.

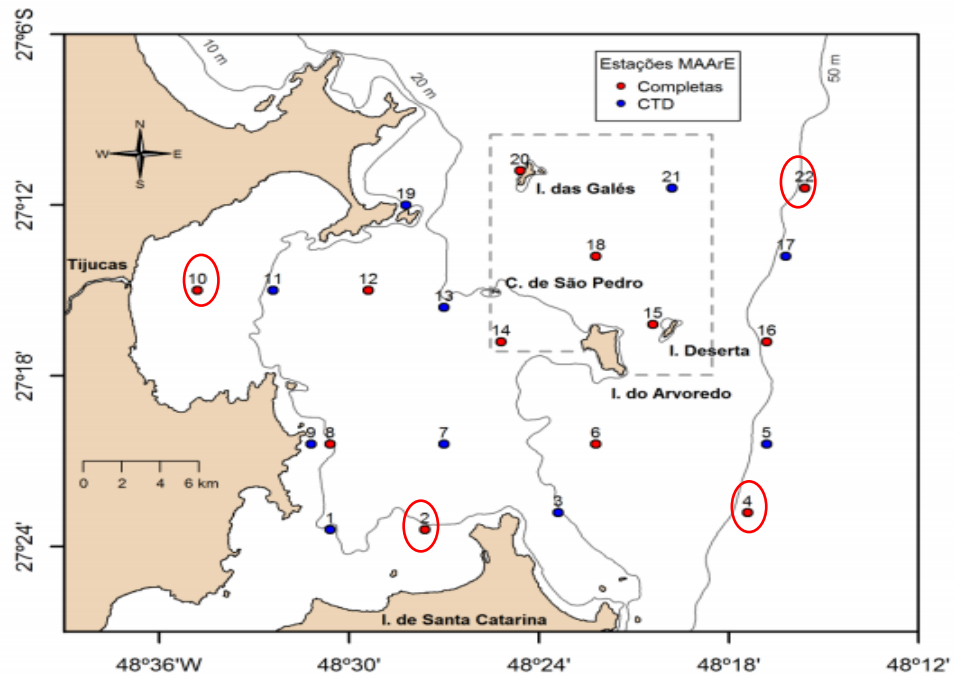


Figura 1. Reserva Biológica Marinha do Arvoredo e área adjacente com a localização dos pontos amostrais indicados pelo círculo vermelho. Fonte: Adaptado de Segal, *et al.*, (2017).

### 3.2 Materiais necessários para coleta de amostras

Toda coleta de material biológico necessita de equipamentos ou instrumentos adequados para amostragem. Nesse sentido, apresentaremos a seguir alguns destes equipamentos e utensílios auxiliares, os quais são adequados ao atendimento dos planos de amostragem.

#### 3.2.1 Coleta em superfície

Pode-se utilizar qualquer recipiente, como baldes de plástico ou aço que contenha abertura larga para facilitar a coleta em superfície ou até 25 cm de profundidade. Para auxiliar o envasamento, pode-se utilizar um funil. Antes da coleta, o recipiente coletor deve ser lavado com a água do próprio ambiente. (FIGURA 2).



Figura 2. Recipiente para coleta de água em superfície

### 3.3.2 Garrafa de coleta em profundidade - Van Dorn

Consiste em uma garrafa cilíndrica, com fechamento acionado por um mensageiro, permitindo que se façam amostragens em diferentes profundidades. No momento do uso, o sistema deve ser ativado abrindo-se as tampas e encaixando-as a um suporte, em seguida a garrafa é submergida até a profundidade desejada através de um cabo com marcadores a cada meio metro. Em seguida o mensageiro é disparado para fechar os compartimentos e a garrafa deve ser recolhida contendo amostra da profundidade desejada. O conteúdo da garrafa pode ser despejado em um recipiente e então envasado. (FIGURA 3).

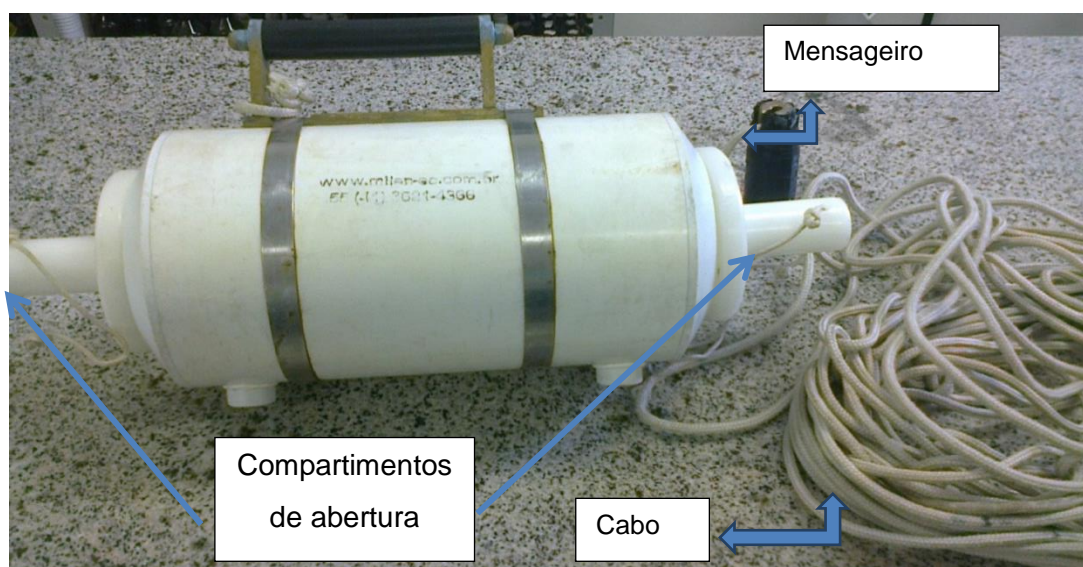


Figura 3. Garrafa Van Dorn para coleta quantitativa do microplâncton, em diferentes profundidades.

Fonte: Arquivo pessoal

NOTA:

- É importante que no momento da coleta o equipamento não promova a suspensão do sedimento; para isso, recomenda-se a coleta de água até 1m acima do fundo, exceto quando o estrato abaixo de 1m for de interesse;
- Distribuir seu volume proporcionalmente nos diversos frascos destinados aos ensaios, como forma de garantir a homogeneidade da amostra;
- Repetir o procedimento até que todos os frascos estejam com o volume de água necessário, tomando o cuidado de manter um espaço vazio para sua posterior homogeneização;
- Acondicionar a amostra em caixa adequada, para transporte.

A amostra deve ser armazenada em frasco tipo âmbar de polipropileno de 250 mL para evitar o contato com a luz e não degradar as células. O conteúdo do frasco, não pode ultrapassar 90% de sua capacidade, assim garante a homogeneização da amostra.



Frasco tipo âmbar devidamente etiquetado.

A adição do Iugol ao frasco poderá ser realizada em laboratório.

Adicionar 2,5mL de Iugol na garrafa de 250ml de água para alcançar a concentração final de 1%.

\*Ver preparo de solução em POP microscopia.

Figura 4. Frasco tipo âmbar de polipropileno

### 3.3.3 Outros materiais necessários:

- Caneta permanente para identificação
- Lápis
- Etiquetas
- Formulário Padrão
- Funil
- Lacs numerados
- Prancheta

### 3.3.4 Transporte e armazenamento de amostras

Amostras fixadas podem ser transportadas em qualquer caixa ou suporte, tomando cuidado com movimentos bruscos e evitar alta exposição à claridade.

### 3.4 Parâmetros monitorados pela Boia SIMCOSTA

O “Sistema de Monitoramento da Costa Brasileira (SiMCosta)” é uma rede integrada de plataformas flutuantes ou fixas, dotadas de instrumentos e sensores, com funcionamento autônomo e capacidade de coletar regularmente variáveis meteocenográficas do ambiente costeiro. Os dados são transmitidos para uma central de processamento na FURG e, imediatamente são disponibilizados para a comunidade científica e demais usuários.

A associação destas componentes fornecem ferramentas que podem ser empregadas no gerenciamento e monitoramento ambiental de recursos hídricos. Como a distribuição dos produtores primários depende de fatores físico-químicos da água, tais parâmetros podem explicar a ocorrência produtores primários. Os sensores coletam algumas variáveis ambientais a partir de sensores colocados acima da linha d’água, como:



- Temperatura do ar;
- Pressão atmosférica;
- Direção e intensidade de ventos;
- Radiação solar incidente e refletida.

Parâmetros monitorados abaixo da linha d'água

- Amônia;
- Nitrato
- Clorofila;
- Condutividade;
- Direção e intensidade da corrente
- Oxigênio dissolvido;
- pH;
- Temperatura em diferentes profundidades.

## Programa de Monitoramento do fitoplâncton na Reserva Biológica Marinha do Arvoredo

### **Procedimento Operacional Padrão – POP para contagem e identificação do fitoplâncton em laboratório.**

#### **1. Propósito**

O procedimento foi desenvolvido para verificar a presença e quantificar o número de células por litro de espécies de microalgas, e sua porcentagem de cada grupo em relação ao fitoplâncton total, a partir de amostras provenientes do Programa de Monitoramento da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo.

#### **2 Escopo**

Este Procedimento Operacional Padrão aplica-se aos profissionais ou a quem deseja aprender sobre identificação e quantificação do fitoplâncton.

#### **3 Descrição e definições**

O método está baseado na sedimentação aleatória de partículas em uma câmara de volume conhecido, a partir da fixação da água marinha. A identificação e quantificação são feitas utilizando microscópio óptico invertido, baseado no método de Utermöhl (1958).

##### **3.1 Materiais a serem utilizados**

- Câmaras de sedimentação, Utermöhl, com torres para sedimentar de diversos volumes (10, 20 e 50 mL);
- Lamínulas;
- Lápis;
- Caderno;

- Manuais de identificação.

### 3.2 Equipamentos a serem utilizados

- Microscópio óptico invertido, com ocular de aumento de 100X, 200X e 400X. Contraste de fase e epifluorescência são recomendados para auxiliar na análise;
- Computador instalado com software Concel - Contador de células;
- Computador com sistema de captura de imagem.

### 3.3 Soluções

#### Solução de lugol neutro

##### 3.3.1 Preparo de soluções

Solução de lugol neutro - Dissolver em um 900 mL de água destilada 100 g de iodeto de potássio (KI), adicionar 50 g de Iodo ( $I_2$ ) completar o volume para um litro. Filtrar a solução em papel filtro.

### 3.4 Procedimentos

O procedimento divide-se em: recebimento das amostras; e análise quali- quantitativo do fitoplâncton.

#### 3.4.1 Recebimento da amostra

Condições de recebimento: A amostra deve ser acondicionada em caixas, para evitar movimentos bruscos durante o transporte. Deste modo a integridade da amostra será mantida.

Os frascos devem estar identificados com os dados correspondentes (ponto de coleta, data e responsável pela coleta, e se necessário anotar se houver algum tipo de sinistro durante a coleta).

### 3.4.2 Análise quantitativa

#### 3.4.2.1 Sedimentação a vácuo

Homogeneizar a amostra 100 vezes para promover a distribuição uniforme das células, através de movimentos suaves para evitar a ruptura das colônias e não gerar possíveis bolhas.

A sedimentação deve ocorrer em uma superfície plana, lisa e nivelada para garantir a distribuição das células e evitar que se acumulem em apenas um lado ou nas bordas da câmara.

Sobre a câmara de Utermöhl (fig. 1) encaixe a coluna de sedimentação, com as bordas alinhadas precisamente uma sobre a outra. Segure firmemente a base da coluna, para evitar o escoamento lateral. Insira a amostra imediatamente após a homogeneização, até seu transbordamento, para que ao deslizar a lamínula não se tenha formação de bolhas de ar.

*Nota: Se houver a formação de bolhas deve-se repetir o procedimento. Secar o excedente com papel toalha.*

O tempo de sedimentação é de no mínimo três horas para cada centímetro de altura da coluna (Margalef, 1983).

O desmonte da coluna deve ser feito de forma a não movimentar o material sedimentado. Com cuidado, adicione uma gota de água destilada na borda para o deslize da coluna. Com uma lamínula arraste a coluna, descartando o sobrenadante. Permanecendo na câmara aproximadamente 2 mL de amostra.

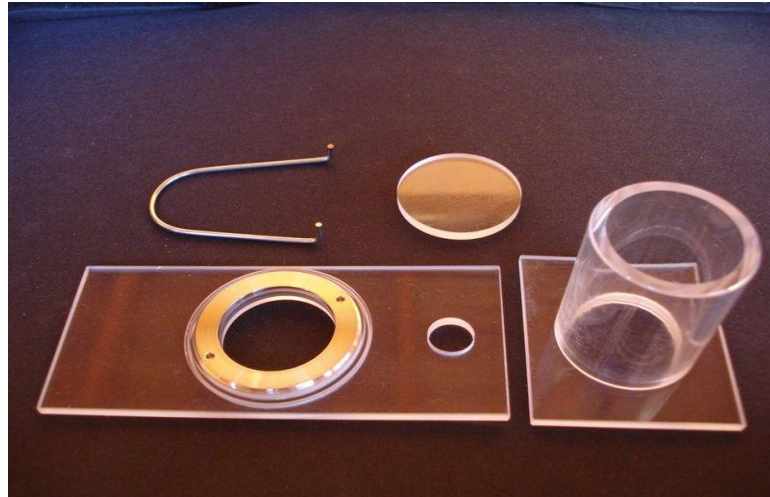


Figura 1. Câmara de sedimentação Utermöhl para procedimento de análise quantitativa do micropâncton.

#### 3.4.2.2 Contagem das células

- Antes de iniciar a contagem deve-se fazer uma varredura da câmara em baixo aumento (100X), para observação da densidade e distribuição das células. Esse procedimento permitirá determinar se as células estão uniformemente distribuídas.
- Em geral, se houver uma espécie de interesse, a contagem deverá ser realizada a partir da varredura total da câmara. Espécies menores e mais abundantes podem ser contadas em campos aleatórios ou até a metade da câmara, caso os organismos de interesse, ou os organismos mais abundantes contabilizarem 100 células.
- Identificar os organismos em menor nível taxonômico possível, gênero/espécie.
- O aumento utilizado para a contagem é de 200X. Caso houver dúvidas a respeito da espécie utilize o aumento de 400x.
- A varredura deve ser realizada em transectos, iniciando da esquerda para a direita. Ao final do primeiro transecto, deslocar para baixo, usando uma alga ou um sedimento como referência e retornar em sentido contrário, em movimento de zig-zag até completar a câmara toda (FIGURA 2).

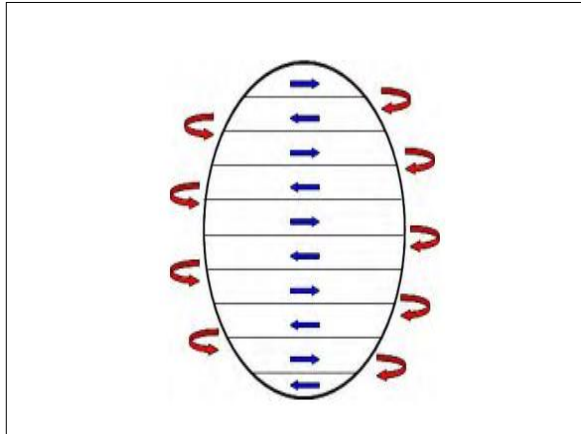


Figura 2. Exemplo de procedimento a adotar para a contagem do microplâncton em câmara.

### 3.4.2.3 Cálculos

A estimativa da densidade celular total (expressa em células por litro)

$$N = [(n \cdot A/a) \cdot V] / v$$

Onde:  $N$  = densidade celular (cél.L);

$A$  = área da câmara;

$a$  = área contada;

$V$  = volume da amostra;

$v$  = volume da alíquota.

Densidade relativa dos principais grupos (expressa em percentual), calculada através da fórmula:

$$A = N \times 100 / n$$

$N$  = é igual ao número de espécies na amostra e;

$n$  = representa o número total de espécies.

### 4.5 Interpretação do ensaio

Os resultados obtidos expressam uma estimativa da população do microplâncton para um determinado espaço/tempo em cél/L.

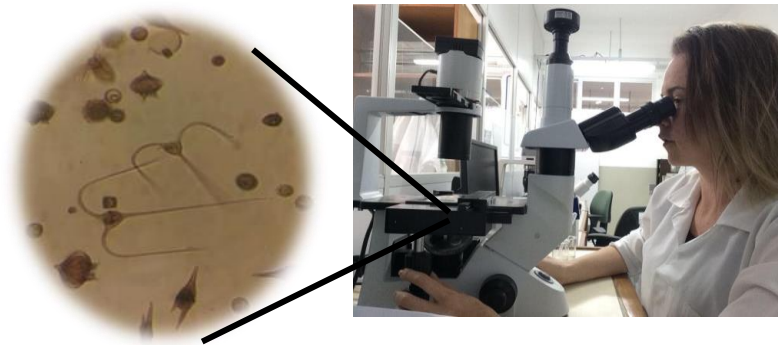
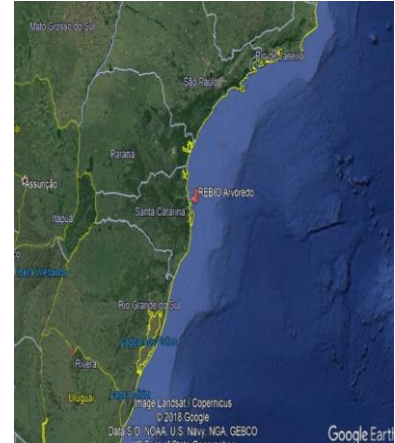
**3 PRODUTO 2**

**(DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA)**

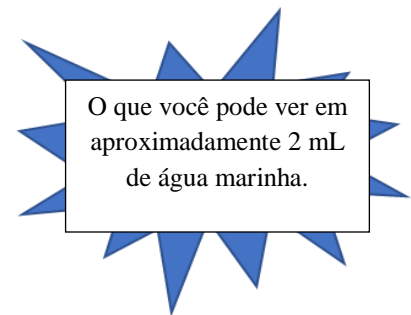
## O fitoplâncton no entorno da Reserva Biológica Marinha do Arvoredo

Autora: Viviane Tranker<sup>1</sup>

A Reserva Biológica Marinha do Arvoredo é uma unidade de conservação federal, de proteção integral, que tem como objetivo proteger um pequeno espaço da costa brasileira que apresenta grande importância biológica. Localizada no litoral do Estado de Santa Catarina, entre os municípios de Florianópolis e Bombinhas, a Reserva Biológica do Arvoredo possui 17.600 hectares de superfície. A alta diversidade de ambientes marinhos e terrestres existentes na Reserva abriga uma infinidade de espécies, sendo muitas delas raras e ameaçadas de extinção. Além disso, os ambientes marinhos da Reserva fornecem abrigo para reprodução e crescimento de diversas espécies de peixes, o que contribui para manutenção dos estoques pesqueiros no seu entorno. Neste ambiente podemos encontrar o fitoplâncton.



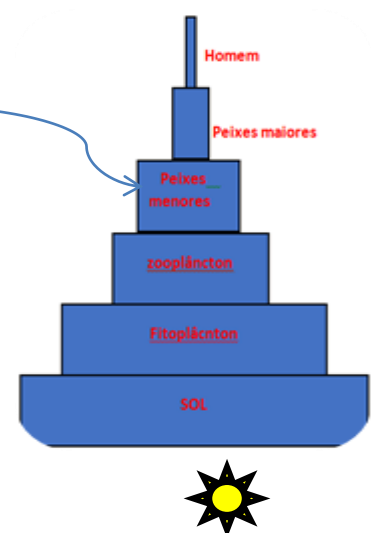
A estudante identificando e quantificando o fitoplâncton, utilizando o microscópio óptico.



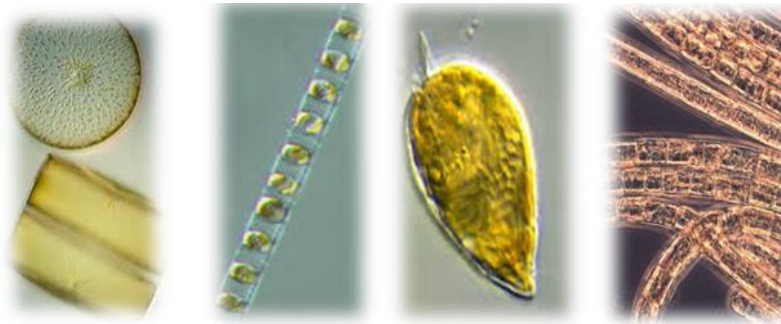
O fitoplâncton é um conjunto de organismos microscópicos que realizam fotossíntese, ou seja, utilizam a energia solar, os nutrientes e gás carbônico e os transforma em oxigênio seu papel é servir aos demais organismos através da transferência de energia para os demais organismos aquáticos. O fitoplâncton é formado por diversos grupos de microalgas, sendo os principais conhecidos por **diatomáceas**, **dinoflagelados**, **cianobactérias**, caracterizados por microplâncton, ou seja, suas dimensões variam de (20 a 200  $\mu\text{m}$ ). Muito frequente na região costeira o nanoplâncton (0 a 20  $\mu\text{m}$ ). As microalgas podem ser unicelulares, coloniais ou filamentosas.

200  $\mu\text{m}$  = 0,2 mm e 20  $\mu\text{m}$  = 0,02 mm

### Cadeia trófica marinha





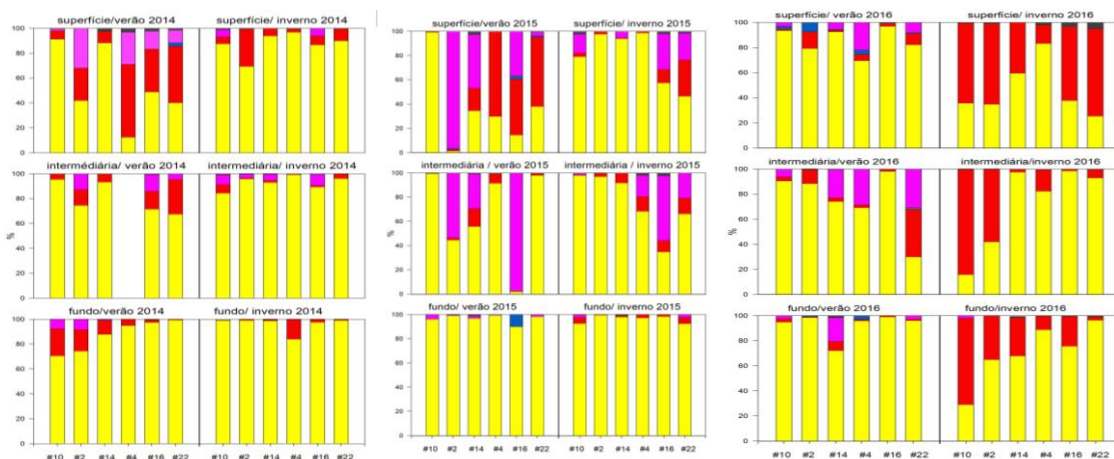


Microfotografias de microalgas comumente encontradas na região costeira (utilizando microscópio ótico com aumento de 200X). A: Diatomácea unicelular; B: diatomáceas colônias; C: dinoflagelado; D: cianobactérias.

A B C D

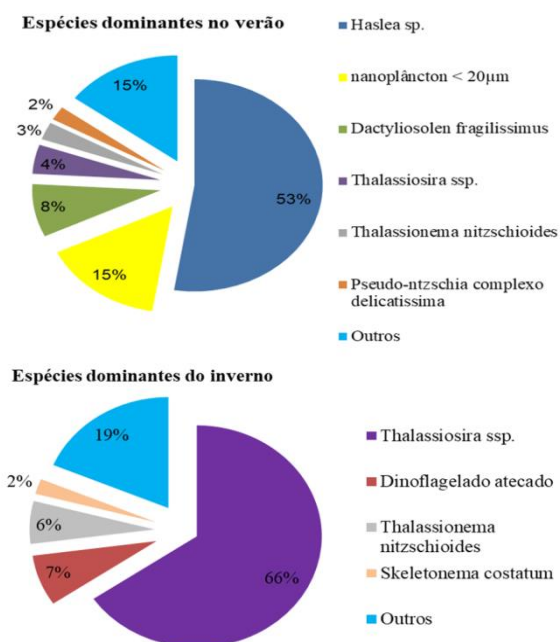
As zonas costeiras são consideradas as áreas muito produtivas devido à carga de nutrientes que recebe através do escoamento dos rios. No entorno da REBIO Arvoredo, as águas do Rio Tijucas chegam ao mar contendo grandes quantidades de fósforo, silicato, nitrito, nitrato e amônio. As águas superficiais do mar costumam ser mais quentes, e são mais pobres em nutrientes, devido à predominância da Água Tropical (AT). Na primavera e verão, devido a influência do vento nordeste e da rotação da terra, as águas superficiais são empurradas para longe da costa, favorecendo a subida de uma massa d'água chamada ACAS - Água Central de Atlântico Sul, fria e rica em nutrientes, principalmente fosfato, silicato e nitrato. No verão de 2014, 2015 e 2016 essa massa de água atingiu profundidade rasas no entorno da REBIO Arvoredo, notadamente nas estações amostrais mais afastadas da costa. No inverno, a influência do vento sul (que sopra desde o Rio Grande do Sul) promove a chegada da Água da Pluma do Prata -APP, que traz consigo nutrientes, principalmente fosfato e silicato e favorece altas abundâncias de fitoplâncton na zona costeira. A APP é uma água que se origina na desembocadura do Rio da Prata e se mistura com a água da Lagoa dos Patos. Esse fato explica a chegada da tainha e pinguins ao longo do litoral brasileiro.

Porcentagens dos principais grupos de microalgas encontrada em superfície, camada intermediária e fundo. No verão e inverno.

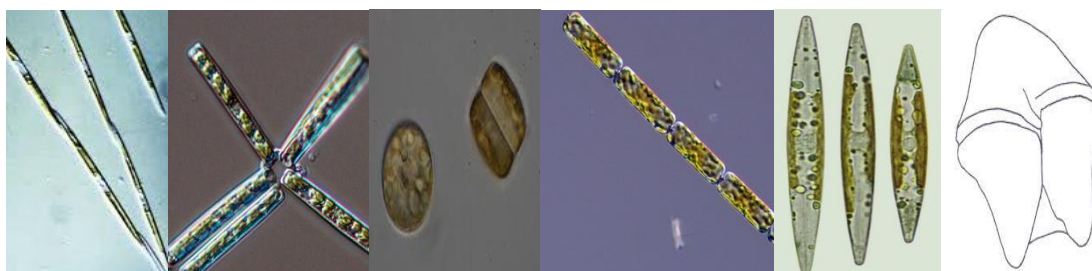


O gráfico de porcentagem mostra a composição do fitoplâncton no entorno da Rebio Arvoredo no verão e inverno dos anos de 2014, 2015 e 2016 em águas de superfície, camada intermediária e ao fundo. Diatomáceas foram dominantes na maioria das amostras, mas destaca-se a importância de dinoflagelados em toda coluna da água no inverno de 2016 e na superfície dos verões de 2014 e 2015. Já o nanoplâncton foi importante no verão de 2015. Nas estações oceanográficas mais costeiras (#10) houve dominância de uma espécie de diatomácea alongadas “penadas”, chamada de *Haslea* sp.; nanoplâncton (<20 µm) foi destaque na (#2 e #16) na campanha

do verão de 2015; as altas densidades desses organismos foram responsáveis pelas baixa diversidade ecológica. Outras espécies importantes foram *Dactyliosolen fragilissimus* (#10) principalmente no verão de 2016 e *Thalassiosira* spp. registrada em praticamente todas as campanhas, sendo muito frequente nas campanhas de inverno e ao fundo associada à ACAS no verão. Dinoflagelados atecados foram importantes no inverno de 2016 associados às águas enriquecidas da Pluma do Prata e dos rios locais.



Porcentagem das espécies dominantes no verão e inverno.



*Pseudonitzschia* sp. *T. nitzschioides* *Thalassiosira* sp. *Haslea* sp. *D fragilissimus* Dinoflagelado atecado

O Entorno da Rebio Arvoredo é uma área de extrema importância ecológica, devido ao efeito de transbordamento de peixes adultos ou de dispersão de larvas produzidas na Rebio, que contribui com a produção pesqueira regional. Diversos parâmetros influenciam na característica físico-química da água. Desta forma, influenciam na estrutura da comunidade e distribuição do fitoplâncton. Por ser a base da cadeia trófica marinha, compreender sua distribuição são importantes ferramentas para um programa contínuo de monitoramento ambiental e a manutenção da biodiversidade local.