



Boletim SBL

Maio de 2006

n° 35 (1)



Lagoa Comprida (Macaé-RJ)

Foto: L. P. Nielsen

Boletim SBL

Editor

Alex Enrich-Prast
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Editores Executivos

Luiz Fernando Jardim Bento
Breno Alves Guimarães-Souza

Rafael Dettogni Guariento
Luciana Silva Carneiro

boletim@sblimno.org.br

SBL 2005 - 2007

Presidente

Ricardo Motta Pinto Coelho
rmpc@icb.ufmg.br

Primeira Secretária

Renata Panosso
rpanosso@cb.ufrn.br

Primeiro Tesoureiro

Marcos Callisto
callisto@icb.ufmg.br

Vice Presidente

Antônio Fernando M. Camargo
afmc@rc.unesp.br

Segunda Secretária

Andrea Figueiredo
andrea@mme.gov.br

Segundo Tesoureiro

Luís Maurício Bini
bini@icb.ufg.br

<i>Mensagem do presidente</i>	1	<i>Opinião</i>	2
<i>Mensagem do Editor do Boletim</i>	2	<i>Métodos e Equipamentos</i>	4
<i>Mensagem do Editor da</i>		<i>LIMNOtópicos</i>	11
<i>ACTA LIMNOLOGICA BRASILIENSIA</i>	2	<i>Eventos Científicos</i>	28



Mensagem do Presidente

Caros limnólogos

Durante os últimos três meses, muita água rolou na SBL. Inicialmente, queremos compartilhar com todos os nossos sócios algumas boas novidades. A primeira delas refere-se à inauguração de um servidor Windows NT exclusivo para a SBL. Isso não significa somente que o portal da SBL não necessita mais de ficar hospedado em um servidor comercial o que estava obrigando a SBL a pagar taxas para hospedagem de nossas páginas web ou depender de serviços de acesso que muitas vezes não correspondem às expectativas. O mais importante, porém, é que o servidor exclusivo da SBL abre uma série de perspectivas muito interessantes para a sociedade tais como a ampliação do acesso dos sócios a uma vasta gama de serviços web, dentre eles, a disponibilização de todo o acervo da *Acta Limnologica Brasiliensia*, a inserção *on line* de teses e dissertações de diferentes programas de pós-graduação ou de vídeo-conferências sobre temas de interesse geral. Esse servidor também permite um maior uso de serviços remotos via web facilitando uma maior interatividade entre os nossos sócios. A montagem desse novo servidor demandou não somente a organização de uma equipe de trabalho chefiada pelo doutorando em ciências da computação da UFMG, Alex Borges e pelos doutorandos PG ECMVS, Marcelo Moretti e José Fernandes Bezerra Neto, mas também a adequação de espaço físico. Resta frisar que essa nova máquina foi doada para a SBL pelo convênio FUNDEP/UFMG 3443 - Curso à distância em Ecologia e Gestão Ambiental que coordeno há vários anos na UFMG.

Outra boa notícia, refere-se ao andamento dos preparativos para o XI Congresso Brasileiro de Limnologia que deverá acontecer na cidade

de Macaé, Rio de Janeiro entre os dias 05 e 12 de agosto de 2007 (data ainda a ser confirmada pela comissão local). O XI congresso da SBL será realizado no centro de convenções da cidade e deverá contar com o apoio do recém inaugurado centro de pesquisas em ecologia e desenvolvimento sustentável, o NUPEM/UFRJ. Estivemos (eu e o Prof. Marcos Callisto) na inauguração desse novo centro, a convite do seu diretor, Prof. Francisco Esteves. Na ocasião pudemos constatar “*in loco*” as condições favoráveis para a realização do evento. Temos a convicção de que comissão local não poupará esforços para realizar um excelente congresso. A presidência da SBL ainda esteve representando a sociedade em um dos eventos paralelos a COP 08 em Curitiba, em março do corrente ano, evento que tratou da questão da biodiversidade em ecossistemas tropicais, organizado pelo Prof. Leandro Sales da UFRJ. Todas essas participações foram viabilizadas sem qualquer ônus para os cofres da SBL.

Antes de terminar essas palavras, não posso deixar de mencionar uma questão de grande seriedade e que tem exigido muita dedicação por parte da atual diretoria da SBL. Refiro-me a uma pendência entre a antiga diretoria da SBL e a comissão organizadora do X CBL, que foi realizado em julho de 2005 na cidade de Ilhéus, Bahia.

Infelizmente, as partes envolvidas não foram capazes de solucionar amigavelmente as divergências originadas em relação à assinatura, por parte da comissão local, de um contrato de prestação de serviços com a AMV eventos, de Salvador que daria suporte à comissão local em questões logísticas na organização do X CBL. Essas divergências acabaram por gerar uma ação

judicial interposta pela AMV eventos na comarca de Salvador que resultou no bloqueio de uma significativa parte dos recursos captados na gestão anterior de forma tão competente.

A atual diretoria está tomando todas as medidas legais cabíveis para defender os interesses da sociedade e, em breve, deverá enviar uma circular a todos os sócios fornecendo maiores detalhes sobre o andamento desse processo. Estamos, no entanto, absolutamente confiantes de que iremos superar esse grande desafio e iremos usar todo o nosso vigor para defender o nome e os interesses da SBL.

Ricardo Motta Pinto Coelho
rmpc@icb.ufmg.br

Universidade Federal de Minas Gerais

Mensagem do Editor do Boletim

Este é o primeiro boletim de 2006 e a novidade é a seção Limnotópicos. O objetivo desta seção é reunir informações de vários especialistas sobre algum tema específico ligado a Limnologia, que na presente edição foi “Macrófitas Aquáticas”. Agradecemos aos pesquisadores que, apesar de todas suas atribuições, encontraram tempo para contribuir para nosso Boletim. Quero esclarecer que esta nova seção não tem influência sobre a publicação de outros artigos sobre os mais diversos temas, como vem sendo feito até o momento. O próximo tema desta seção será “Macroinvertebrados Bentônicos”. Todos estão convidados para sugerir temas e submeter artigos. Contamos com a participação de todos.

Alex Enrich Prast
aeprast@biologia.ufrj.br

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Mensagem do Editor da Acta Limnologica Brasiliensis

O Editor solicita o envio de mais trabalhos e que se o volume está um pouco em atraso, é

devido à falta de trabalhos!

Raoul Henry
rhenry@ibb.unesp.br

UNESP- Botucatu

Opinião

Carta de Campo Grande

Os coordenadores dos programas de pós-graduação em Ecologia do Brasil, reunidos no seu 11º Fórum Anual em Campo Grande, MS, nos dias de 4 a 6 de novembro de 2005, tomam a iniciativa de propor a criação de uma Associação nacional representativa da comunidade científica ativa no campo da Ecologia, tendo constatado a necessidade, oportunidade e premência para o estabelecimento de uma Associação desta natureza.

A área de Ecologia, nos quase 30 anos decorridos desde a fundação dos primeiros programas de pós-graduação brasileiros, cresceu extraordinariamente, contando hoje com mais de 3.000 profissionais pós-graduados no Brasil e no exterior, com diversos cursos de graduação e mais de 20 programas de pós-graduação em atividade. A produção científica da área é contínua e significativa, tendo aumentado progressivamente seu reconhecimento no cenário científico internacional. Por outro lado, tem também aumentado enormemente a expectativa e responsabilidade dos ecólogos em contribuir para o equacionamento e solução dos múltiplos problemas ambientais que vêm igualmente crescendo em extensão e gravidade.

Perante o cenário atual, reconhecemos a necessidade de uma associação - designada como **Associação Brasileira de Ecologia e Conservação** - que cumpra os seguintes

objetivos:

- Representar a comunidade de pesquisadores em ecologia brasileiros perante órgãos governamentais, agências financiadoras públicas e privadas, e outras entidades, no Brasil e no exterior;
- Divulgar os resultados da pesquisa ecológica realizada no Brasil, nas esferas acadêmica, governamental e pública, consolidando a imagem profissional dos pesquisadores e o uso do conhecimento existente para a solução de problemas e o aperfeiçoamento de políticas públicas ambientais;
- Estimular o desenvolvimento de estratégias de consolidação e crescimento desta área de conhecimento no Brasil;
- Estabelecer vínculos com outras entidades congêneres no exterior, e com sociedades científicas de outras áreas;
- Promover a publicação científica da pesquisa ecológica realizada no Brasil, estabelecendo um periódico próprio de elevado nível, que conquiste reconhecimento e impacto no âmbito científico nacional e internacional.

Como requisitos de uma associação científica com estes objetivos, destacamos:

1. sua representatividade e objetividade, reconhecidas e referendadas pela comunidade científica ecológica;
2. uma diretoria descentralizada, comprometida com a gestão eficiente para:
 - a. manter a dinâmica regular de comunicação com os associados
 - b. assegurar ferramentas para a auto-sustentação financeira e cumprimento das obrigações legais da associação
 - c. difundir o conhecimento e informações gerados pelos associados, através de diferentes meios – congressos, eventos, publicações
3. atuar como facilitador ou mediador da captação de recursos ou de programas de fomento relacionados com a pesquisa em

ecologia e conservação e suas aplicações;

4. estabelecer-se como um representante reconhecido da comunidade de ecólogos junto às instâncias governamentais e não-governamentais pertinentes, no Brasil e no exterior.

Os Coordenadores de Cursos de PG em Ecologia, na condição de representantes de uma parte expressiva de instituições e grupos acadêmicos em que hoje se realiza pesquisa e se capacita profissionais em ciência ecológica, assumem com a presente Carta a iniciativa de divulgar este projeto e articular as etapas necessárias à criação desta Associação. Entretanto, o FCPPGE não se constitui nem se constituirá como diretoria da futura Associação, uma vez que são entidades de natureza e finalidade completamente distintas e que deverão ser inteiramente autônomas entre si.

Os coordenadores de curso, signatários desta carta, propõem como primeiro cronograma:

Dezembro de 2005 – estabelecimento de um grupo de trabalho para criação da associação, com a incumbência de traçar as bases formais (estatutos, etc.), com consulta a outras associações congêneres, nacionais e internacionais; estabelecimento de um ponto focal de informação (web-page) e canal de comunicação;

1º semestre de 2006 – divulgação e discussão da proposta a partir dos cursos de PG nas suas instituições, em outros institutos de pesquisa, governo, ONGs, associações científicas do exterior. Pré-listas de adesão e compilação de declarações de apoio à nova associação.

Novembro de 2006 – fundação da associação. Evento de lançamento (Fórum 2006). Eventos curtos, participação em congressos.

2007/8 – primeiro congresso da Associação. Planejamento de periódicos de (a) publicação científica; (b) divulgação (organização de conselhos editoriais, estrutura administrativa e de fluxo editorial, captação de

financiamento inicial e patrocínios).

2008 – lançamento dos periódicos da Associação.

Campo Grande, 6 de novembro de 2005

1. Dra. Márcia Marques – UFPR
2. Dra. Angela Varella – INPA/BADPI
3. Dra. Marina Suzuki – UENF
4. Dr. Thomas Lewinsohn – UNICAMP
5. Dra. Gislene Ganade – UNISINOS
6. Dr. Marcos Silveira – UFAC
7. Dr. John Du Vall Hay – UNB
8. Dra. Sandra Maria Hartz – UFRGS
9. Dra. Lília P. de S. Santos – UFPE
10. Dra. Albertina Lima – INPA
11. Dra. Blandina F. Viana – UFBA
12. Dr. Marco Antônio Batalha – UFSCAR
13. Dra. Astrid de M. P. Kleinert – USP
14. Dra. Gecely R. A. Rocha – UESC
15. Dra. Andréa C. Araujo – UFMS
16. Dra. Norma Segatti Hahn – UEM
17. Dra. Érica P. Caramaschi – UFRJ
18. Dr. Fábio Roland – UFJF
19. Dr. Kleber Del Claro – UFU
20. Dra. Teofânia H. D. A. Vidigal – UFMG

Métodos e Equipamentos

Métodos moleculares para análise de comunidades microbianas em ambientes aquáticos: I. Extração de DNA.

A ecologia microbiana abrange o estudo das interações entre os microrganismos e destes com plantas e animais que convivem em um habitat comum. É uma área de extrema importância para o entendimento de mecanismos que levam à manutenção e ao equilíbrio entre espécies e sua conservação, bem como para a preservação do ambiente. Durante as últimas décadas, os cientistas vêm percebendo a grande importância de se entender a estrutura e função das comunidades microbianas e como elas afetam o ecossistema desde a esfera local até a global.

Atualmente, as técnicas de biologia

molecular disponíveis têm revelado níveis e mecanismos de organização e interação extremamente complexos. O uso dos métodos moleculares oferece respostas a perguntas sobre diversidade microbiana anteriormente quase impossíveis de serem respondidas e permite, por exemplo, acompanhar o destino de microrganismos introduzidos no ambiente.

Com o desenvolvimento das técnicas de biologia molecular, associadas ao conhecimento de bioinformática, tornou-se possível a caracterização de comunidades microbianas mistas em determinados ecossistemas, revelando os grupos atuantes, muitos destes até então desconhecidos. Essa revolução do conhecimento possibilitou a criação de um novo campo na Microbiologia Ambiental denominado Ecologia Microbiana Molecular.

Em função do grande avanço tecnológico foi possível verificar que o conhecimento a cerca da biodiversidade existente no planeta é praticamente insignificante. O estudo de caracterização e conhecimento da dinâmica de determinados ecossistemas ainda é pequeno, apesar de todo esforço que vem sendo realizado. Tal falta de conhecimento se deve em grande parte ao fato de que os microrganismos precisam ser cultivados para serem caracterizados. Sabe-se hoje em dia, que apenas uma pequena fração dos microrganismos presente no ambiente (0,1 a 10%) pode ser cultivada por técnicas-padrão. Essas técnicas clássicas, baseadas no cultivo dos microrganismos, além de possuírem um custo elevado, demandam um tempo relativamente grande para análise, havendo possibilidade também de após várias gerações, os microrganismos apresentarem alterações fisiológicas e até genéticas significativas, como também a de só crescerem em meios específicos.

É importante ressaltar que apesar da grande contribuição das novas ferramentas moleculares para estudos em biodiversidade, as técnicas tradicionais de enriquecimento e cultivo são também importantes para o conhecimento da capacidade metabólica e das características fenotípicas dos

microrganismos. O mais recomendado é que se faça sempre uma abordagem através de vários enfoques (polifásica) para se chegar o mais próximo possível do quadro real de um ambiente

A primeira técnica a ser aplicada em um estudo baseado em análises moleculares é a extração dos ácidos nucléicos referentes ao material a ser avaliado. Em relação às amostras ambientais, se faz necessário a extração dos ácidos nucléicos de todos os microrganismos contidos na amostra. As limitações relacionadas às amostras ambientais envolvem dois aspectos, o primeiro é que no ambiente são encontradas freqüentemente, substâncias que interferem na qualidade do produto obtido, como enzimas degradadoras de ácidos nucléicos e substâncias inibidoras de ação enzimática. O outro é a existência de populações minoritárias que podem ser perdidas de acordo com a técnica de extração utilizada. Tais limitações impulsionam o desenvolvimento contínuo de novas metodologias.

Para aumentar a eficiência e rapidez na extração de ácidos nucléicos de amostras ambientais e recomenda a utilização de kits comerciais que oferecem um maior rendimento e qualidade do produto final. Não existe um kit específico para amostra ambiental de água, entretanto uma opção bastante eficiente é a adaptação do kit de extração de DNA de solo (FastDNA® SPIN Kit for Soil da BIO101® Systems), que será descrita nesse artigo.

As amostras de água devem ser coletadas em frascos estéreis, acondicionadas no gelo com temperatura entre 0 e 4°C (de preferência não mais de 5 horas até o processamento), de maneira a manter suas características, permanecendo assim, inalterados os seus constituintes e suas propriedades.

Deve-se então, filtrá-las através de um sistema de filtração a vácuo composto por: copo de filtração graduado, funil com base de vidro, garra metálica, rolha de silicone, kitassato, mangueira, e bomba de vácuo (Figura 1A). O volume a ser

filtrado dependerá da amostra de água que será avaliada. Por exemplo, se o material de estudo for uma amostra de água oceânica (onde há uma baixa concentração de microrganismos), a alíquota filtrada deve ser grande para que se consiga reter na membrana de filtração um número suficiente de microrganismos. Já em uma amostra de água de bromélia (onde há pouca água, muita matéria em suspensão e uma grande concentração de microrganismos), a alíquota utilizada poderá ser menor.

Antes de se realizar a filtração, as amostras devem ser homogeneizadas. No caso específico de bromélias é necessário fazer uma pré-filtração (clarificação) com uma gaze estéril após a homogeneização. O filtro de membrana de celulose deve ser colocado de forma asséptica no funil de filtração através de uma pinça estéril. As amostras deverão ser pré-filtradas em filtros de membrana de celulose de 47mm de diâmetro e poro de 3µm, e em seguida filtradas em filtros de membrana de celulose de 47mm de diâmetro e poro de 0,22µm. Após a filtração, os filtros deverão ser retirados com uma pinça estéril, dobrados e guardados em tubos estéreis de 1,5mL, estocando-os a -20°C para posterior extração de DNA.

Para a extração de DNA, deve-se usar metade da membrana utilizada durante a filtragem da amostra (a outra metade deve ser armazenada à -20°C (freezer comum), para futura extração, caso necessário). Os componentes citados a seguir até o final da metodologia pertencem ao kit, exceto o material instrumental. A membrana deve ser então cortada em partes menores com o auxílio de pinça e tesoura estéreis e colocadas dentro do tubo com pérolas de vidro do kit (Lysing Matrix E Tube) (Figura 1B). A partir desta etapa, o procedimento é o mesmo independentemente do tipo da amostra. Neste tubo, deve-se adicionar 978µL de tampão fosfato de sódio e 122µL de tampão MT. Na próxima etapa, é necessário a utilização de um aparelho próprio para lise mecânica das células, FastPrep® Instrument, no qual aplica-se uma velocidade de 5,5m/s por 30seg. É importante verificar se os tubos estão com o mesmo peso e equilibrá-los (como em uma centrífuga) para não danificar o aparelho.

Após a lise, os tubos devem ser

submetidos à centrifugação (14.000xg por 30seg), transferindo em seguida o sobrenadante para um tubo de 1,5mL novo e estéril, com 250µL de solução PPS para precipitação de proteína (Figura 1C). O tubo deve então ser agitado suavemente com as mãos 10 vezes. Após essa etapa, uma nova centrifugação deve ser efetuada (14.000xg por 5min), e o sobrenadante transferido para um tubo de 15mL novo e estéril. Adiciona-se então 1mL de Binding Matrix Suspension, lembrando que essa solução deve ser ressuspensa antes de ser adicionada a cada tubo. Para a ligação das fitas de DNA à resina, é necessário mexer os tubos, invertendo-os, por dois minutos (Figura 1D).

A resina aderida ao DNA é sedimentada após cerca de 5min. Deve-se então descartar 800µL da fase aquosa com cuidado para que a resina não seja descartada. Após essa etapa, deve-se ressuspender a resina com o líquido restante, transferindo em seguida a suspensão para os filtros (SPIN™Filter) encaixados nos tubos de 2mL (catch tubes) do kit, e centrifugando o material (14.000xg por 1min). Deve-se então esvaziar o tubo contendo o líquido filtrado. É importante que a numeração dos tubos seja escrita em seu corpo, pois durante a centrifugação, as tampas podem ser arrancadas. Caso sobre resina no tubo de 15mL, deve-se repetir esta etapa.

Com os tubos vazios, deve-se adicionar 500µL de SEWS-M para lavar o DNA retido no filtro contendo a resina (Figura 1E), os quais devem ser, posteriormente centrifugados (14.000xg por 1min). Em seguida descarta-se o filtrado, recolocando os tubos e centrifugando-os por mais 2min. Os filtros devem ser transferidos para *catch tubes* novos e deixados por 10min à temperatura ambiente para secagem (Figura 1F).

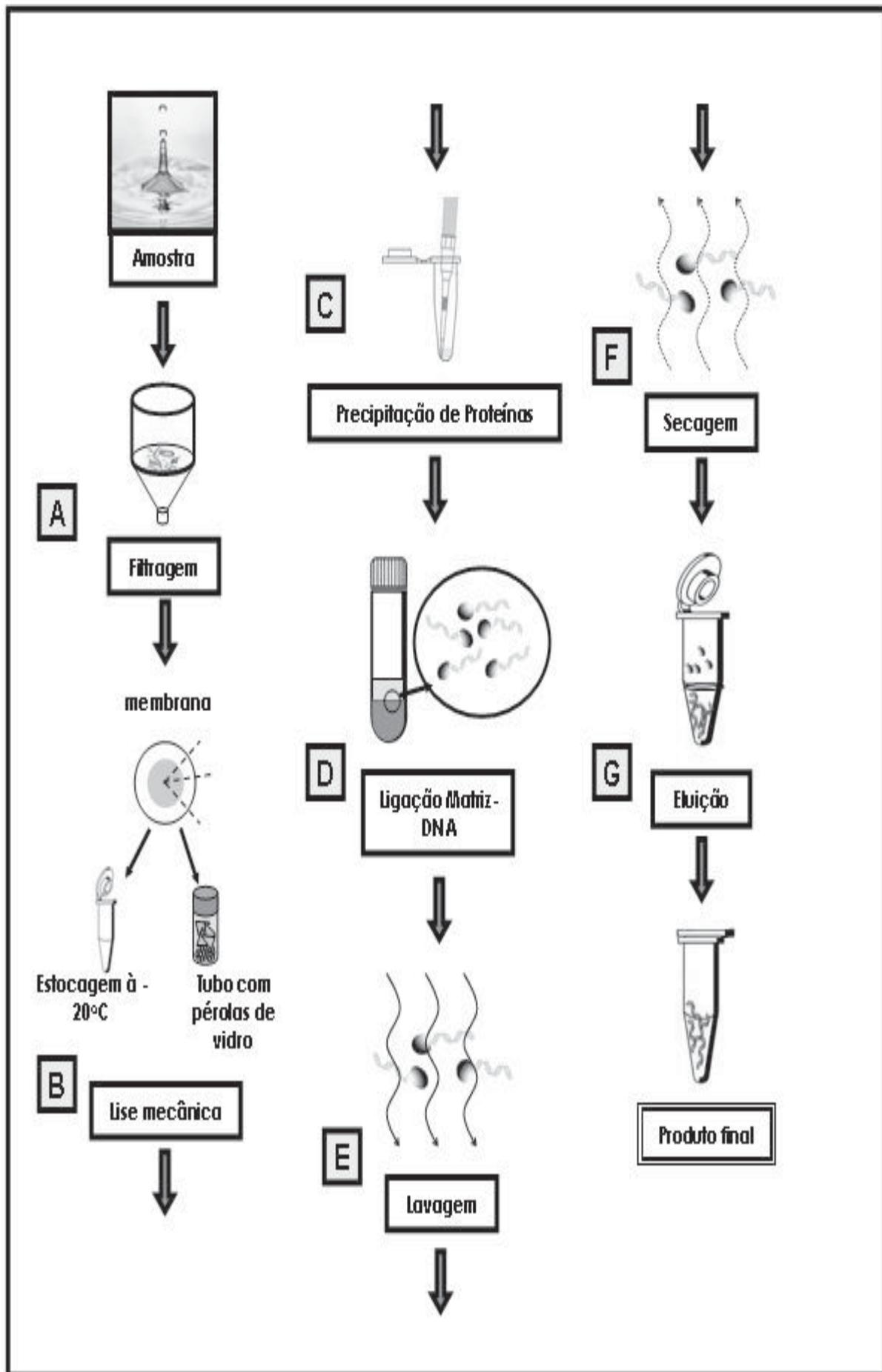
Para a obtenção do produto final, adicionar-se delicadamente 100µL de DES sobre a resina, uma vez que essa solução desligará o DNA da resina e fará com que ele passe do filtro para o tubo (Figura 1G). Com a ponteira, deve-se mexer cuidadosamente a resina com o DES, ressuspensando-a, e centrifugando-a (14.000xg por 1min). O DNA estará então em suspensão em DES e deverá ser

estocado à -20°C. Para analisar a qualidade do produto, pode-se fazer uma eletroforese em gel de agarose 0,8%, 85V por 2h.

Com o material obtido, muitas análises podem ser realizadas. Em estudos de comunidades microbianas, praticamente todas as metodologias necessitam de uma etapa intermediária que é a amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Técnicas moleculares subsequentes permitem análises do perfil de comunidade microbiana, quantificação, detecção e identificação de microrganismos ou de características fenotípicas. Diversas técnicas moleculares permitem a geração de verdadeiros perfis de uma determinada comunidade microbiana em uma amostra ambiental. Por exemplo, algumas técnicas, originalmente desenvolvidas na pesquisa médica para análise de mutações pontuais do DNA, têm sido recentemente aplicadas no estudo de microrganismos em amostras ambientais. As mais usadas atualmente são baseadas na eletroforese em géis com gradientes de agentes desnaturantes químicos (DGGE-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) ou físicos (TGGE-Temperature Gradient Gel Electrophoresis).

Estudos baseados em análises moleculares poderão complementar o conhecimento taxonômico e ecológico existente, permitindo o conhecimento das relações entre os diferentes grupos funcionais de organismos aquáticos e outras variáveis de relevância ambiental, como composição química e estrutura física desse ambiente aquático.

Figura 1: Este esquema ilustra as principais etapas do processamento do DNA (próxima página).



Natália Oliveira Franco
franconat@gmail.com

Flávia Lima do Carmo
flavialc@hotmail.com

Raquel Silva Peixoto
r.s.peixoto@globo.com

Alexandre Soares Rosado
asrosado@micro.ufrj.br

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Uso do método dos Tubos Múltiplos para quantificação de coliformes totais e termotolerantes?

O termo qualidade de água é utilizado para descrever as propriedades físicas, químicas, biológicas e estéticas da água de acordo com critérios estabelecidos que determinem suas condições quanto aos diversos usos e quanto à proteção da sustentabilidade dos ecossistemas aquáticos.

No Brasil, a legislação federal (Resolução Conama 20/86) estabelece a classificação para os diferentes tipos de águas, segundo seu uso preponderante, baseado em suas características e define os limites permitidos para os parâmetros físicos, químicos e microbiológicos de acordo com cada uso.

Um monitoramento, com análises de amostras de água, permite acompanhar as alterações/perturbações de um determinado ambiente aquático. As análises podem abordar todos os parâmetros citados ou, ainda, uma combinação destes e outros que possam tornar o estudo mais específico, indicam as condições do local e possíveis procedimentos, para melhoria do uso da água e apontam para as ações necessárias para eliminar ou minimizar a fonte causadora do dano.

A contaminação da água com excretas humanas ou de animais possibilita a transmissão de agentes de doenças infecciosas e parasitárias. Portanto, para avaliação da qualidade água, do ponto de vista bacteriológico, é imprescindível a utilização de organismos indicadores de contaminação fecal.

Os organismos indicadores ou indicador microbiológico se refere a um tipo de microrganismo cuja presença na água evidência a poluição desta com matéria fecal de origem humana ou de animais homeotérmicos e indica a possível presença de qualquer microrganismo patogênico que venha ocorrer no trato intestinal desses animais.

As bactérias do grupo coliformes são as principais indicadoras de contaminação fecal, sendo empregadas como parâmetro bacteriológico básico na definição de padrões para o monitoramento da qualidade de água. Os coliformes totais são definidos como bacilos gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos, que fermentam lactose a 35-37°C, com produção de ácido, gás e aldeído em 24-48 horas. Já os coliformes termotolerantes ou fecais, subgrupo dos coliformes totais, diferem por se desenvolver a 44,5°C em 24 horas. Para a determinação de coliformes totais tradicionalmente, emprega-se o caldo lactosado ou o caldo lauril sulfato e para os coliformes termotolerantes o caldo chamado EC.

A seleção da metodologia a ser adotada depende dos objetivos da pesquisa e da disponibilidade de tempo, mão-de-obra e recursos financeiros. Às vezes, não é necessário chegar-se à identificação completa dos microrganismos envolvidos. A simples determinação de grupo de significado sanitário torna-se suficiente e sua quantificação, quando necessária, possibilita a determinação do teor de contaminação e dos riscos de deterioração do ambiente estudado, permitindo a comparação destes resultados com padrões previamente fixados. Além disso, permite a avaliação da eficiência dos processos naturais ou artificiais de tratamento da água.

Dentre as metodologias mais comumente utilizadas (Tabela 1), este trabalho discute o método dos Tubos Múltiplos que estima a densidade de bactérias através das combinações dos resultados positivos e negativos dos tubos e é expresso como número mais provável (NMP/100 mL).

Este número é obtido através de tabelas estatísticas específicas, denominadas de tabelas do Número Mais Provável (NMP).

A coleta deve ser representativa do ambiente escolhido, a amostra deve ser obtida em recipiente estéril (autoclavado a 120°C e 1 Atm, durante 15 minutos), devendo-se ter a precaução de não ocorrer contaminação durante e após a coleta. As amostras deverão ser transportadas e mantidas a uma temperatura entre 4 e 10°C até o início da semeadura. A semeadura deverá ocorrer, idealmente até 5 horas após a coleta, no entanto, o tempo limite para a análise não deve ultrapassar 24 horas.

No laboratório deve haver, preferencialmente, uma área isolada para manipulação das amostras. Todo o material a ser usado deverá estar esterilizado, seco e devidamente identificado. Inicialmente deve-se homogeneizar a amostra, inclinando-se o frasco à 45°, no mínimo, 25 vezes. Retiram-se, então, alíquotas de volumes diversos que são transferidas (inoculação) para os tubos contendo o meio

de cultura Normalmente as séries de tubos usadas são de 10 mL de amostra, (diluição 10), na primeira fileira de tubos, depois para a segunda fileira utiliza-se uma alíquota de 1 mL (diluição 1) e na terceira fileira de tubos são inoculados 0,1 mL retirados diretamente da amostra, (diluição -1). A partir daí deve-se diluir a amostra usando-se tubos de diluição (Figura 1).

Existem diversas formulações para o preparo da solução de diluição, podem ser usados desde soluções de fosfato monopotássio até uma simples solução salina (NaCl 85%, amplamente usada). A escolha deve ser baseada no tipo de amostra a ser analisada.

Quando o ambiente estudado encontra-se muito contaminado deve-se diluir mais vezes a amostra. A série de diluição adequada para cada ambiente deve ser escolhida de modo que se obtenham alguns tubos negativos, para que ao consultar a tabela de NMP os valores obtidos estejam no limite de detecção.

Assim que forem abertos os frascos de coleta deverão ser flambados na chama do bico de Bunsen, antes da retirada da alíquota de água. O mesmo deverá ocorrer com cada um dos tubos de meio de cultura ou diluição, ao serem abertos,

Tabela 1. Comparação entre os métodos mais utilizados em microbiologia para o monitoramento da qualidade da água

Métodos	Vantagens	Desvantagens	Considerações
Tubos Múltiplos (cultivo em tubos com caldo de cultura)	- Independência de importação de materiais e meios de cultura; - Baixo custo; - Meios de cultura simples de preparar; - Baixos índices de falsos negativos.	- Grande quantidade de material, equipamentos e disponibilidade de espaço; - Necessidade de maior número de pessoal; - Conclusão: 48 a 120h.	- Ensaio Presuntivo (coliformes totais) - Ensaio Confirmativo e Completo (coliformes totais e fecais)
Membrana Filtrante (cultivo em meio sólido)	- Concentração da amostra; - Maior precisão que tubos múltiplos; - Tempo de conclusão menor que tubos múltiplos	- materiais em suspensão impossibilitam a contagem; - algas impossibilitam a filtração.	Placas positivas devem passar pelo ensaio confirmativo.
Substrato Enzimático (substrato definido para enzima específica)	- Detecta coliformes totais e <i>E. coli</i> em até 24h; - Dispensa enriquecimento e confirmação; - Processo simplificado; - Reduz chances de erros laboratoriais.	- Maior disponibilidade de recursos financeiros	Há formulações disponíveis comercialmente para utilização em tubos múltiplos, em cartelas com multi-cavidades ou flaconetes.
Semeadura em profundidade (cultura para bactérias heterotróficas)	- Estimativa da biomassa de bactérias heterotróficas; - Crescimento em superfície e profundidade no meio de cultura.	- Grande quantidade de material e dispor de espaço - Necessidade de maior número de pessoal; - Diluições inadequadas dificultam a contagem	Casos confirmativos deverão passar por ensaios presuntivos e confirmativos.

após a inoculação e, antes de serem fechados, também deverão ser flambados. Todos os procedimentos deverão ocorrer atrás da chama. Todos esses cuidados visam a minimizar a contaminação das amostras e do material utilizado.

Após a inoculação os tubos deverão ser agitados, para homogeneização e acondicionados em estufa (incubação) a $36 \pm 1,0^\circ\text{C}$ por 48 a 72 horas. Após 48 horas realiza-se a leitura das amostras, os tubos são considerados positivos para a presença de coliformes totais quando o meio está turvo e apresenta bolhas de gás no tubo de Durham. Havendo tubos com turvação do meio, porém sem bolhas, estes deverão permanecer por mais 24 horas incubados para posterior leitura, pois, apenas a turvação não confere positividade para o tubo. Para ensaio confirmativo um inóculo deve ser transferido para um tubo de caldo verde brilhante, por 48 h a 35°C em estufa e após a leitura, será considerado positivo, para coliformes totais, se houver turvação do meio e presença de bolha de gás no tubo de Durham.

Dos tubos positivos será retirado apenas um inóculo com alça de níquel cromo, ou de platina para o tubo com EC, lembrando que a alça deverá ser flambada no bico de Bunsen antes de entrar em contato com a amostra, assim como todos os tubos, deverão

ser flambados antes e após receberem o inóculo. A alça deverá ser esfriada na parte superior do tubo, sendo pressionada contra a parede do mesmo. Os tubos de EC deverão ser incubados em banho-maria a $44 \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24h. Do mesmo modo que para os coliformes totais, efetua-se então a leitura dos tubos para coliformes termotolerantes.

Obtida a combinação de tubos positivos e negativos, tanto de coliformes totais quanto de coliformes termotolerantes, comparam-se os valores com a Tabela do Número mais Provável, de modo a transformar este resultado em NMP/100mL, quantificando-se assim as bactérias do grupo dos coliformes de cada amostra para o diagnóstico da qualidade da água estudada.

Se for necessário confirmação da presença de *Escherichia coli* nos tubos EC positivos (teste confirmativo), alíquotas retiradas destes tubos podem ser inoculadas em placas com meio denominado agar eosina azul de metileno (EMB), incubadas a $35^\circ \pm 0,5^\circ\text{C}$ por 24h em estufa. As colônias que apresentarem brilho metálico confirmam a presença da bactéria.

O método dos tubos múltiplos, descrito no “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater” (Apha, 2005), tem sido o mais tradicionalmente empregado pela

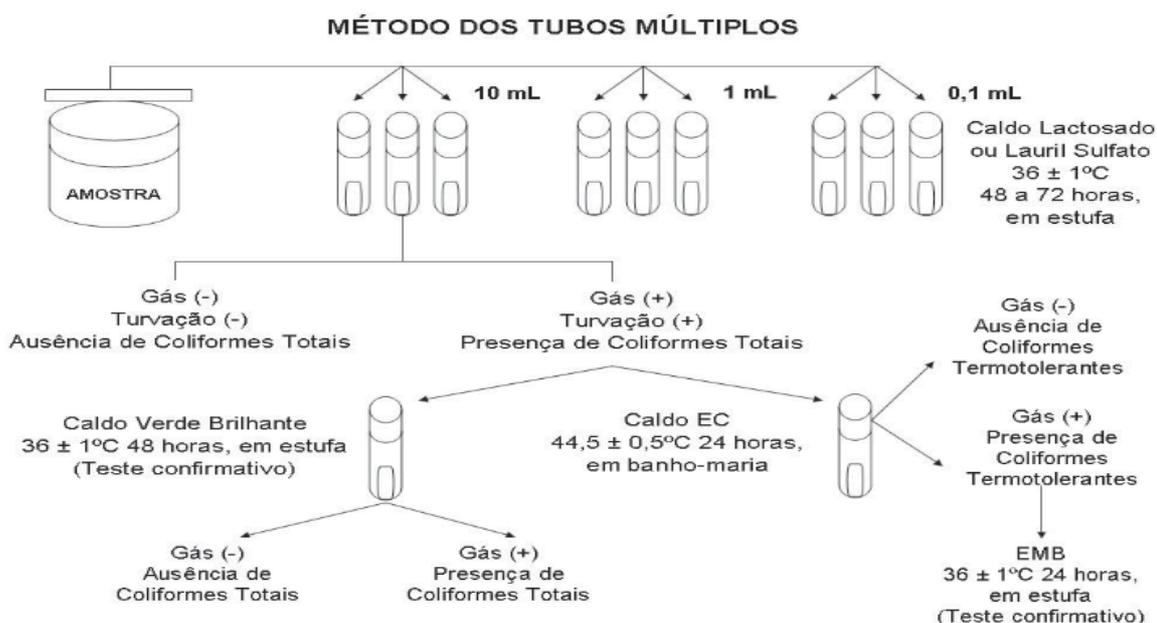


Figura 1. Esquema dos procedimentos adotados para a contagem de coliformes totais e termotolerantes usando o método dos tubos múltiplos, com fileiras de 3 tubos para cada diluição

confiabilidade dos dados gerados. Diversas empresas desenvolveram outros meios de cultura em substituição ao caldo lactosado, ao lauril sulfato e ao EC, eliminando o tempo que seria gasto para o preparo destes e com redução de mão de obra. Entretanto, para obtenção do avanço tecnológico, não apenas os kits com frascos e cartelas devem ser adquiridos, mas, também, os equipamentos que efetivam a funcionalidade destes, gerando maiores custos para o laboratório.

Apesar da praticidade destes kits, o princípio utilizado é o mesmo empregado no método dos Tubos Múltiplos. As formulações disponíveis no mercado apresentam os tubos múltiplos com uma “roupagem moderna”, em versões com menor quantidade de tubos (série de 5 ou 10 tubos), cartelas com multicavidades (com tamanhos diferenciados numa mesma cartela). Independente do kit utilizado, todos precisam receber o reagente, por exemplo, substrato enzimático, e ser incubados pelo tempo especificado. A leitura dos tubos ou poços positivos é realizado como no método dos Tubos Múltiplos, comparando-se a combinação dos resultados com a tabela de NMP.

Seja na versão “antiga” com inúmeros tubos e meios de cultura tendo de ser preparados previa e continuamente, seja na versão “moderna” com menos tubos e algumas cartelas, mas com equipamentos específicos para cada kit, e em qualquer versão utilizando-se a tabela do NMP, cabe ao pesquisador analisar qual a sua realidade financeira e a urgência para determinação da qualidade da água.

Eliane Silva

elianecristinas@yahoo.com.br

Margaretha van Weerelt

mweerelt@biologia.ufrj.br

Universidade Federal do Rio de Janeiro

LIMNOtópicos

ECOLOGIA DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS EM ECOSISTEMAS LÓTICOS

Características dos ecossistemas lóticos

Os ambientes lóticos são influenciados pelos ecossistemas terrestres adjacentes e pelas características de suas bacias hidrográficas, tais como, tipos de solos, geologia, vegetação e ocupação humana. Nestes ambientes a correnteza promove a homogeneização da coluna d'água, define os processos de erosão e sedimentação, influenciando na ocorrência e distribuição dos organismos aquáticos.

Os ambientes lóticos podem ser compreendidos através de sua dimensão longitudinal. No sentido da nascente até a foz ocorrem diferenças na profundidade e na largura do canal, alterações no sombreamento pela mata ciliar, mudanças da velocidade de corrente, aumento da ordem do canal, dentre outros fatores. A dimensão lateral também é importante, especialmente em regiões tropicais, sendo que o pulso de inundação é um componente relevante na compreensão da dinâmica fluvial e no entendimento das interações ecológicas.

A variação periódica do nível de água em decorrência das marés é outro fator a ser considerado em estudos realizados em ecossistemas lóticos costeiros. Nestes ambientes o fluxo de água pode ser alterado, ou seja, em períodos de maré alta a água do mar consegue estagnar ou mesmo alterar o fluxo de água doce para montante da região estuarina. Na bacia do rio Itanhaém, no litoral sul do estado de São Paulo, a diminuição da correnteza em decorrência da maré se faz sentir em todos os rios da planície costeira. Desta forma, os ambientes lóticos estão sujeitos a grandes variabilidades ambiental, espacial (local, regional e global) e temporal. Esta variabilidade tende a condicionar a distribuição e a dinâmica da comunidade de macrófitas aquáticas.

Macrófitas aquáticas em ecossistemas lóticos

Embora existam diferenças entre os ecossistemas lênticos e lóticos, os padrões de distribuição de macrófitas aquáticas nestes ambientes podem ser semelhantes. Em ambientes lênticos a distribuição de macrófitas aquáticas pode relacionar-se com o estado trófico do ecossistema. Em ecossistemas eutróficos há a tendência de predomínio de macrófitas flutuantes, enquanto que nos oligotróficos tende a predominar espécies submersas. Há também uma tendência de haver maior diversidade biológica de macrófitas aquáticas em ambientes mesotróficos e oligotróficos.

Em ambientes lóticos da bacia hidrográfica do rio Itanhaém o padrão de distribuição e abundância de macrófitas aquática é semelhante ao observado em ambientes lênticos. Nestes ambientes, as macrófitas flutuantes *Eichhornia crassipes* e *Pistia stratiotes* ocorrem em maior abundância em locais ricos em nutrientes, enquanto que as espécies submersas *Cabomba furcata* e *Egeria densa* predominam em locais com menores concentrações de nutrientes e com maior transparência da água. Outras variáveis importantes que condicionam a ocorrência e a distribuição das macrófitas aquáticas em rios são: (i) a morfologia do canal; (ii) a declividade das margens; (iii) o sombreamento pela mata ciliar; (iv) e as interações ecológicas.

A bacia hidrográfica do rio Itanhaém, em seu trecho de planície costeira, está submetida aos pulsos diários de inundação, decorrentes da variação de maré e das precipitações intensas que ocorrem no período chuvoso (dezembro a março). Entretanto, apesar da bacia estar submetida a condições climáticas semelhantes, não existe uma homogeneidade física, química e biológica de seus ecossistemas lóticos, visto que as principais sub-bacias apresentam características geológicas e geomorfológicas distintas. Na bacia hidrográfica existem ainda gradientes ambientais (físicos e químicos) no sentido longitudinal, que condicionam a distribuição das macrófitas aquáticas.

Nos ambientes lóticos da bacia hidrográfica do rio Itanhaém foram identificadas 41 espécies de macrófitas aquáticas, sendo 28 emersas (68,0%); seis flutuantes (14,6%); quatro submersas (7,7%); duas enraizadas com folhas flutuantes (4,9%) e uma submersa de vida livre (2,4%) (Tabela 1).

Na parte alta da bacia, em que predominam rios de primeira a terceira ordens, o principal fator limitante a ocorrência das macrófitas aquáticas é a declividade do terreno e a conseqüente elevada velocidade de corrente. A velocidade de corrente intensa dificulta a fixação das espécies enraizadas e tende a transportar espécies flutuantes e de vida livre para regiões a jusante. Além da correnteza, as concentrações reduzidas de nutrientes, o sombreamento da coluna d'água pela mata ciliar e o substrato com predomínio de areia e cascalhos também comprometem a colonização por estes vegetais (Figura 1). Apenas em rios de ordens maiores (Mambu e Branco), já próximos na planície costeira, as macrófitas submersas *Egeria densa* e *Cabomba furcata* são encontradas com considerável abundância. Estas espécies habitam margens, onde a correnteza é mais reduzida e o substrato é adequado à sua fixação (Figura 2).

No médio curso da bacia ocorre uma maior diversidade de macrófitas aquáticas de diferentes tipos ecológicos, predominando espécies emersas e flutuantes. Nestes rios também são encontradas macrófitas aquáticas submersas (*Egeria densa* e *Cabomba furcata*), além de espécies que ocorrem próximas ao estuário em maior abundância, tais como *Scirpus californicus* e *Spartina alterniflora*. Na região de médio curso da bacia, os rios percorrem a planície costeira do litoral paulista, apresentando correnteza reduzida e valores intermediários de nutrientes, material em suspensão e condutividade elétrica. Além disso, a influência da mata ciliar já não é tão intensa como na região de alto curso, o que permite um aumento da incidência da radiação fotossinteticamente ativa. Destaca-se nestes ambientes lóticos a ocorrência de *Utricularia foliosa* associada a *Eichhornia azurea*.

Tabela 1

Espécie	Tipo Ecológico	Região de Predomínio
<i>Acroceras zizanioides</i>	emersa	Médio Curso
<i>Acrostichum aureum</i>	emersa	Médio Curso
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	emersa	Médio Curso
<i>Azolla filiculoides</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Cabomba furcata</i>	submersa enraizada	Alto Curso
<i>Commelina</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Crinum procerum</i>	emersa	Baixo Curso
<i>Cyperus giganteus</i>	emersa	Médio Curso
<i>Dioidia</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Echinochloa crusgalli</i>	emersa	Médio Curso
<i>Echinochloa polystachia</i>	emersa	Médio Curso
<i>Egeria densa</i>	submersa enraizada	Alto Curso
<i>Eichhornia azurea</i>	emersa	Médio Curso
<i>Eichhornia crassipes</i>	submersa enraizada	Médio Curso
<i>Eleocharis</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Hedychium coronarium</i>	emersa	Médio Curso
<i>Hibiscus pernambucensis</i>	emersa	Baixo Curso
<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	emersa	Médio Curso
<i>Hymenachne amplexicaulis</i>	emersa	Médio Curso
<i>Hymenachne donacifolia</i>	emersa	Médio Curso
<i>Lemna minor</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Limnobium laevigatum</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Ludwigia</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Mayaca</i> sp	submersa enraizada	Médio Curso
<i>Myriophyllum brasiliensis</i>	emersa	Médio Curso
<i>Nymphaea rudgeana</i>	enraizada com folha flutuante	Médio Curso
<i>Nymphoides indica</i>	enraizada com folha flutuante	Médio Curso
<i>Oxycaryum cubense</i>	emersa/epífita	Médio Curso
<i>Panicum repens</i>	emersa	Médio Curso
<i>Paspalum</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Pistia stratiotes</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Polygonum acuminatum</i>	emersa	Médio Curso
<i>Polygonum ferrugineum</i>	emersa	Médio Curso
<i>Rhynchospora</i> sp	emersa	Médio Curso
<i>Ricciocarpus natans</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Salvinia molesta</i>	flutuante livre	Médio Curso
<i>Scirpus californicus</i>	emersa	Baixo Curso
<i>Spartina alterniflora</i>	emersa	Baixo Curso
<i>Typha domingensis</i>	emersa	Médio Curso
<i>Urochloa pantagine</i>	emersa	Médio Curso
<i>Utricularia foliosa</i>	submersa livre	Médio Curso

Esta associação ou ocorrência conjunta, provavelmente se deve ao fato de *U. foliosa* ser uma espécie flutuante livre que em ambientes lóticos, necessita de um anteparo físico (âncora) para não ser carregada para a região de estuário da bacia, onde os valores elevados de salinidade seriam prejudiciais ao seu desenvolvimento. Nos ambientes de água corrente as espécies flutuantes, tais como, *Pistia stratiotes*, *Salvinia molesta*, *Eichhornia crassipes*, *Lemna minor*, *Azolla filiculoides* e *Ricciocarpus natans* também necessitam de âncoras para não serem carregadas rio abaixo. Frequentemente estas espécies ocorrem associadas a *E. azurea*.



Figura 1. Riacho de segunda ordem localizado nas escarpas da Serra do Mar (bacia hidrográfica do rio Itanhaém).



Figura 2. Banco de *Egeria densa* no alto curso da bacia hidrográfica do rio Itanhaém (rio Mambu).



Figura 3. Banco misto de macrófitas aquáticas (*Spartina alterniflora*, *Scirpus californicus*, *Crinum procerum*) no baixo curso da bacia hidrográfica do rio Itanhaém (rio Itanhaém).

Já a parte baixa da bacia, próxima ao estuário, é colonizada por organismos adaptados a salinidade elevada. Assim como no alto curso, esta região possui uma diversidade baixa de macrófitas aquáticas, sendo colonizada pelas espécies emersas *Spartina alterniflora*, *Crinum procerum*, *Scirpus californicus* e *Hibiscus pernambucensis*, todas elas com certa tolerância a salinidade (Figura 3).

Em ambientes lóticos são vários os fatores que podem influenciar na ocorrência e na abundância das macrófitas aquáticas de diferentes grupos ecológicos, sendo que na bacia hidrográfica do rio Itanhaém as teorias ecológicas do contínuo fluvial e do pulso de inundação podem explicar conjuntamente a distribuição das macrófitas aquáticas.

Antonio Fernando Monteiro Camargo
afmc@rc.unesp.br

UNESP-Rio Claro

Gustavo Gonzaga Henry-Silva
ghgs@rc.unesp.br

UNESP – PRODOC-CAPES

A DECOMPOSIÇÃO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS

Nos ambientes aquáticos tropicais, os crescimentos das macrófitas aquáticas são favorecidos devido às temperaturas altas e às elevadas intensidades de radiação solar (Camargo & Esteves, 1995. In: *Limnology in Brazil*. p.137-149). Nestas condições, tais crescimentos podem subsidiar efetivamente a manutenção das cadeias tróficas e os fluxos de energia dos ambientes aquáticos (Wetzel, 1990. *Mem. Ist. Ital. Idrobiol* 47. p. 233-249). As transferências de energia, a partir das plantas aquáticas, ocorrem pela herbivoria e pela decomposição. Assim, o conhecimento dos eventos ligados à decomposição das macrófitas aquáticas e dos seus efeitos são importantes para o entendimento do papel destes organismos no funcionamento dos ciclos biogeoquímicos dos ecossistemas que os abrigam. Nesse contexto, estudos têm demonstrado que na decomposição, os detritos são alterados sob os efeitos de fatores reguladores (bióticos e abióticos) e a partir de três eventos: a dissolução (lixiviação), a fragmentação e o catabolismo (Swift et al. 1979. *Studies in ecology. Decomposition in terrestrial ecosystems*. P.371; Wetzel, 1990).

Os tecidos das macrófitas aquáticas constituem-se de fibras e de compostos solúveis (Little, 1979. *Handbook of utilization of aquatic plants*. P.176). Na decomposição, estas frações são processadas com velocidades diferentes e em geral, os resíduos que se acumulam nos sedimentos constituem-se de celulose e lignina. Os detritos das macrófitas aquáticas são, portanto, recursos com natureza química heterogênea. São constituídos por frações solúveis, lábeis e refratárias. Devido à variabilidade estrutural dos detritos, para a representação da cinética de perda de massa tem-se adotado, usualmente, um conjunto de várias funções exponenciais (Jenkinson, 1977. *J. Soil Science* 19. p. 25-39). Tais modelos admitem que as perdas de massa ocorram por várias rotas. De acordo com esta hipótese, é possível supor que as mineralizações evoluam segundo três caminhos (Bianchini Jr., 1997. In: *Hydropower Plants and Greenhouse*

Gas Emissions. Energy Planning Program. p. 6-27)

No primeiro, a matéria orgânica particulada lábil (MOPL) seria rapidamente oxidada, em paralelo à ocorrência da lixiviação (solubilização). O segundo caminho compreenderia os processos consecutivos de lixiviação e consumo (catabolismo) das frações dissolvidas de matéria orgânica (MOD). A terceira rota seria constituída pela oxidação dos detritos particulados refratários (MOPR). Este modelo cinético utiliza os seguintes parâmetros: i) k_T = coeficiente global de decaimento da matéria orgânica particulada lábil/solúvel (MOPLS) devido as oxidações das frações lábeis e solubilizações; ii) k_3 = coeficiente de oxidação da MOD e iii) k_4 = coeficiente de oxidação da MOPR.

Nas Tabelas 1 e 2 apresentam-se as variações de: k_T ; MOPLS; k_4 ; MOPR e k_3 , obtidas de uma compilação que considerou 82 experimentos, abrangendo 29 gêneros de macrófitas aquáticas (Bianchini Jr., 2003. In: *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. p. 85-126). Os resultados (Tab. 1) corroboram a hipótese de que os detritos possuam natureza química heterogênea; pois, dependendo do tipo de macrófita aquática, os valores médios de MOPLS oscilaram entre 30,6 e 50,4%; conseqüentemente, os teores médios de MOPR variaram entre 69,3 e 49,6%, respectivamente. Com base nos estudos considerados verificou-se que: i) Os processos envolvidos com a decomposição das macrófitas aquáticas são muito sensíveis à qualidade do detrito (composição química) e as alterações (temporais e espaciais) de variáveis químicas, físicas e biológicas dos sistemas aquáticos; ii) As alterações das características físicas e químicas da água, decorrentes da decomposição das macrófitas aquáticas são principalmente devidas aos processos de lixiviação e oxidação das frações lábeis ($t_{1/2}$ médio » 1 dia), que envolvem cerca de 35% da massa dos detritos; iii) Os processos de perda de massa da MOPLS ($t_{1/2}$ médio: de 1 a 6,7 dias) são principalmente afetados pela qualidade do detrito (quantidade e qualidade das frações citoplasmáticas). Estas frações subsidiam a formação dos compostos

húmicos dissolvidos, o crescimento dos microrganismos e de espécies fitoplanctônicas (Bianchini Jr., 1985. Tese (Doutorado). UFSC.); iv) Os coeficientes de decaimento da MOD (k_3) foram, em média, 11,6 vezes mais elevados que os de mineralização da MOPR (k_4) e 6,6 vezes menores que os de lixiviação (k_T). O valor médio de k_3 definiu para MOD um tempo de meia-vida de 6,7 dias. Dentre os compostos considerados, os carboidratos e os polifenóis foram os que apresentaram os maiores tempos de meia vida; supõe-se que este fato relacionou-se com a conversão destes compostos em substâncias húmicas (Tab. 2); v) Os processos de degradação das frações refratárias ($\gg 65\%$ dos detritos) são responsáveis pela perda de massa lenta ($t_{1/2}$ médio $\gg 78$ dias) dos detritos e, portanto, mais afetados pelas variações dos fatores ambientais; mantêm os organismos e processos relacionados com a humificação e com a colmatagem dos sedimentos (Cunha & Bianchini Jr., 1998. *Acta Limnol. Bras.* v.10(1). p. 81-91.).

Dependendo da disponibilidade de oxigênio, os produtos finais da decomposição são distintos. Em geral, a decomposição aeróbia das plantas aquáticas tem-se mostrado mais rápida (Bianchini Jr., 1985; Bianchini Jr. & Toledo, 1998. *Anais do VIII Seminário Regional de Ecologia*. São Carlos: PPGERN - UFSCar, vol. III, p. 1315-1329.). Experimentos de mineralização aeróbia (ver revisão em Bianchini Jr, 2003. In: *Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá: Eduem, cap. 4, p. 85-126) têm indicado que os coeficientes cinéticos podem ser afetados pelas características qualitativas dos detritos; sugerem, ainda, a ocorrência de variações nas relações estequiométricas que envolvem os consumos de oxigênio e de carbono. Com base nestes experimentos, considerando todos os grupos (emersas/flutuantes, folhas flutuantes e submersas) foi possível estimar que o valor médio de consumo foi 229,0 mg de oxigênio/g (PS) de detrito e o coeficiente médio de desoxigenação foi $0,18 \text{ dia}^{-1}$, ($t_{1/2}$ médio: 3,8 dias). Este valor indica que nos estádios iniciais da degradação das plantas aquáticas ocorrem intensos consumos de oxigênio que tendem, posteriormente, à atenuação. Estes resultados

sugerem que nos ambientes sujeitos as intensas mortalidades de macrófitas, as concentrações de oxigênio dissolvido (OD) podem decrescer acentuadamente. Assim, dependendo da forma pela qual ocorre a adução destes detritos (ou ainda, dependendo do método de controle adotado), as degradações das MOPLS podem gerar consumos elevados de OD, induzir a eutrofização e o aparecimento de compostos coloridos. Por outro lado, a mineralização lenta da MOPR é responsável pela demanda bentônica de oxigênio (contínua e de longo prazo).

Considerando as dificuldades impostas pelo crescimento excessivo das macrófitas aquáticas, em determinadas situações (*e.g.* operação dos reservatórios) a implantação de programas de controle destes organismos tem sido proposta. A análise dos programas permite classificar o controle em duas categorias. Na primeira o manejo resulta de ações que atenuam o crescimento (*e.g.* contenções dos aportes de nutrientes) e na segunda, o controle ocorre em função da intervenção direta sobre as plantas (métodos químicos, físicos e biológicos). Tendo em vista evitar os efeitos indesejáveis da decomposição das macrófitas aquáticas, na implementação de um programa de manejo deve-se considerar: i) o controle da entrada de elementos nutrientes, por adoção de uma política preventiva de preservação dos recursos hídricos; ii) a retirada mecânica dos detritos (método físico), evitando que a eutrofização e a anaerobiose atenuem ou neutralizem os objetivos pretendidos; iii) o método químico como sendo um procedimento de risco, pois gera, no curto prazo, quantidades excessivas de detritos, que por sua vez, induzem a autofertilização do sistema aquático (liberação do fósforo imobilizado nos sedimentos, devido à redução do potencial de oxi-redução, decorrente do estabelecimento da anaerobiose), intensificando a eutrofização; iv) o controle biológico pode gerar, dependendo dos procedimentos adotados, aduções lentas de detritos, que se constitui num evento favorável, por não induzir pressões acentuadas no estoque de oxigênio do sistema.

TABELA 1 - Médias dos teores das frações lábeis/solúveis (MOPLS) e refratárias (MOPR) dos detritos e coeficientes de decomposição (k_T e k_d); estimados da degradação de 29 gêneros de macrófitas aquáticas

	MOPLS (%)		k_T (dia ⁻¹)		MOPR (%)		k_d (dia ⁻¹)		<i>n</i>
	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	Média	D.P.	
Submersas	35,77	21,38	0,73	0,51	64,23	21,38	0,0044	0,0043	4
Folhas-flutuantes	50,42	10,24	0,71	0,92	49,58	10,24	0,0229	0,0201	6
Emersas/flutuantes	30,65	13,66	0,66	0,70	69,33	13,66	0,0073	0,0063	19
Gêneros	34,44	16,11	0,68	0,67	65,56	16,11	0,0089	0,0103	29

Obs: *n* = número de gêneros.

TABELA 2- Coeficientes de decaimento (k_3) de recursos orgânicos dissolvidos, originados da decomposição de macrófitas aquáticas e seus respectivos tempos de meia vida ($t_{1/2}$).

Recurso	k_3 (dia ⁻¹)	Erro	$t_{1/2}$ (dia)	<i>n</i>
Carboidratos	0,0571	0,0710	12,1	13
MOD	0,1868	0,3700	3,7	8
NOD	0,1005	0,0219	6,9	2
Polifenóis	0,0690	0,0170	10	2
Média	0,1030	0,1526	6,73	25

Obs: *n* = número de amostras.

Irineu Bianchini Jr.
irineu@power.ufscar.br

Marcela Bianchessi da Cunha Santino
pmbc@iris.ufscar.br

Universidade Federal de São Carlos

MACRÓFITAS AQUÁTICAS EM ÁREAS ÚMIDAS INTERMITENTES

Uma das principais características dos ecossistemas aquáticos intermitentes (e.g. rios, lagoas e formações palustres) são os seus extremos hidrológicos: inundação e seca. Esses dois extremos são considerados perturbações ambientais e a influência na comunidade biológica varia de acordo com seus atributos (intensidade, frequência, duração, período de ocorrência e previsibilidade). A dinâmica da comunidade de macrófitas nesses ecossistemas varia entre ciclos anuais e está associada às estratégias de resistência e resiliência das espécies presentes no sistema.

As alterações na composição de macrófitas aquáticas ao longo do tempo ocorrem pela substituição e variações na biomassa e abundância relativa das espécies. Em áreas úmidas intermitentes da Planície Costeira do Rio de Janeiro, observou-se que a mudança fitofisionômica da comunidade de macrófitas aquática foi determinada pelo desaparecimento de hidrófitas anuais durante o período de estiagem, alterações no tamanho populacional e aumento da dominância de algumas espécies.

As macrófitas respondem aos extremos hidrológicos de diferentes formas. Van der Valk (2005. *Hydrobiologia* 539:171-188) sugeriu que o grau de mudança na comunidade de macrófitas depende da intensidade e frequência da flutuação hidrológica. A sobrevivência e a taxa de crescimento dos indivíduos estão associadas às características particulares de cada espécie. Dessa forma, enquanto que algumas espécies podem desaparecer temporariamente durante a inundação, outras espécies desaparecem durante a seca. A composição de macrófitas aquáticas em áreas úmidas intermitentes está constituída principalmente por espécies das famílias Cyperaceae e Poaceae, entretanto espécies consideradas hidrófitas também foram registradas durante o período de inundação (Bove, C.P. et al. 2003. *Acta Botânica Brasílica* 17:119-135).

A persistência de determinadas espécies de macrófitas em ecossistemas aquáticos intermitentes resulta de estratégias relacionadas

à reprodução e sobrevivência das populações. As macrófitas aquáticas podem resistir a curtos períodos de estiagem devido à presença de adaptações morfológicas e fisiológicas, entretanto, após longos períodos de seca, o restabelecimento das plantas pode depender do banco de sementes ou de propágulos presentes no sedimento.

As adaptações relacionadas à tolerância das macrófitas a períodos de inundação têm recebido considerável atenção, contudo pouco se conhece a respeito dos mecanismos que propiciam a sobrevivência dessas plantas nos períodos de ausência de água. A resistência ao déficit hídrico está fortemente relacionada à plasticidade morfológica e fisiológica de algumas espécies que acompanham as oscilações nas condições ambientais. Pagter, M. *et al.* (2005. *Aquatic Botany* 81:285-299) constataram que a redução da biomassa e da área foliar em *Phragmites australis* foram as principais alterações ocasionadas pela variação na disponibilidade de água. Modificações na forma de reprodução e na produção de flores e sementes, em decorrência de períodos de inundação e seca, também têm sido relatadas.

Com base no estudo experimental, Brock, M.A. & Casanova, M.T. (1997. In: *Frontiers in Ecology: Building Links* pp.182-192) propuseram uma classificação da vegetação de áreas úmidas intermitentes em grupos funcionais que relacionam a variação no nível da água com as respostas ecológicas de plantas. Essa classificação separou as espécies anfíbias em duas categorias de acordo com suas respostas frente às variações hidrológicas: as que não apresentam grandes alterações morfológicas em relação às oscilações hidrológicas (*fluctuation tolerators*) e as que modificam sua morfologia ou padrão de crescimento em resposta a presença ou a ausência de água (*fluctuation responders*). Essa classificação em grupos funcionais, que considera a variação no nível da água, complementa a classificação usualmente empregada para plantas aquáticas baseada na sua forma de crescimento (anfíbias, emergentes, flutuantes

e submersas).

Espécies com ciclos de vida curtos e alta capacidade de produzir propágulos sexuais e vegetativos são favorecidas em áreas com grande variabilidade ambiental, como são as áreas úmidas intermitentes.

Durante o período em que a água está presente, a reprodução vegetativa garante uma rápida colonização. Ao passo que, durante o período de seca, as sementes e fragmentos vegetais que permanecem no sedimento constituem uma forma de resistência ao período de estiagem. Maltchik, L. & Pedro, F. (2001. *Biotropica* 33:566-572) observaram que a resiliência de *Najas marina* em um riacho intermitente do Semi-Árido Brasileiro era mais lenta quando dependia do banco de sementes.

Em áreas úmidas intermitentes encontra-se um número elevado de sementes no sedimento e essas sementes permanecem viáveis durante muitos anos. A composição do banco de sementes representa o potencial de colonização à medida que o restabelecimento do nível da água iniciar. A germinação do banco de semente e a posterior composição de macrófitas aquáticas nas áreas úmidas intermitentes são determinadas pela frequência e duração do período de inundação e profundidade da lâmina de água .

No Brasil estudos nessa linha têm sido realizados nas planícies de inundações do rio Amazonas e Paraná, rios intermitentes do Semi-árido Brasileiro, Pantanal e áreas úmidas do Rio de Janeiro, São Paulo e Rio Grande do Sul.

Leonardo Maltchik
maltchik@unisin.br

Ana Silvia Rolon
asrolon@cirrus.unisin.br

UNISINOS

MÉTODOS QUANTITATIVOS NO ESTUDO DE MACRÓFITAS AQUÁTICAS

O interesse dos limnólogos em estudar a comunidade de macrófitas aquáticas ocorreu após o reconhecimento de que a maioria dos ecossistemas aquáticos continentais do planeta são rasos, apresentando extensas áreas litorâneas . Além disso, constatou-se também que as áreas alagáveis (predominantemente colonizadas por macrófitas aquáticas) desempenham diferentes funções ecológicas (atualmente diversos centros de pesquisa em limnologia no Brasil abordam a questão do papel de áreas alagáveis no seqüestro de carbono), e grande parte da biodiversidade destes ecossistemas pode ser explicada pela presença de macrófitas aquáticas . Desta forma, houve também um crescente aperfeiçoamento das técnicas metodológicas para o estudo desta comunidade contemplando diferentes abordagens como, por exemplo, levantamento de espécies, produtividade primária, dinâmica de populações, ecologia de comunidade, bioindicação entre outras. O objetivo deste texto é fazer uma breve descrição de alguns métodos quantitativos no estudo de macrófitas aquáticas tendo como exemplos diversos ecossistemas em que elas ocorrem (lagoas costeiras, planícies de inundação e lagoas naturais), e para os leitores que tiverem um maior interesse no assunto, existe atualmente uma vasta literatura sobre métodos quantitativos em estudos ecológicos que podem facilmente ser empregados e/ou adaptados às macrófitas.

Coleta de biomassa

Grande parte dos trabalhos com macrófitas aquáticas (produtividade primária, biologia populacional, etc) requer a coleta de biomassa. Aqui, quatro questões básicas surgem: qual a área amostral, quantas réplicas fazer, qual a frequência amostral e o que coletar? Na maioria das vezes estas decisões dependem do tipo de trabalho, acuracidade

desejada e na relação custo vs. benefício, uma vez que uma maior precisão da estimativa da biomassa implica em mais horas de trabalho em campo, mais horas de trabalho em laboratório e maior custo operacional (gastos com combustível, barqueiro, alimentação, diárias, etc). Em geral, para coletas destrutivas (remoção de biomassa), uma área de 50 x 50 cm é adequada para a maioria das macrófitas aquáticas quando elas formam um estande monoespecífico (homogêneo). Quando a espécie estudada estiver localizada em estandes mistos, com mais de uma espécie (heterogêneos) (Fig. 1a), é desejável executar uma coleta piloto, com amostradores de áreas diferentes e um maior número de réplicas (entre 5 e 10). Após essa etapa, plotar o número de amostras contra o coeficiente de variação da biomassa até a estabilização deste (Fig. 1b). Este mesmo procedimento é indicado para determinar o número de réplicas em um estande homogêneo.

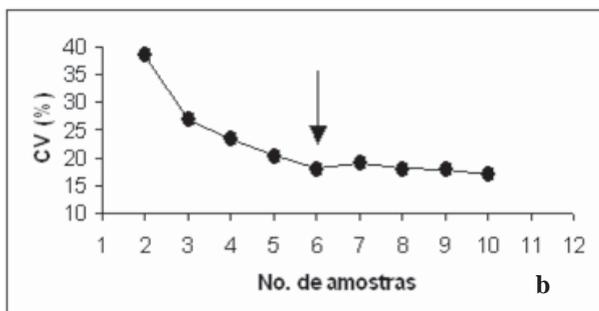


Figura 1: (a) Foto ilustrando um estande heterogêneo. (b) Exemplo do procedimento para a determinação do número de réplicas para amostras destrutivas (harvested) de biomassa de macrófitas aquáticas. Neste caso, o coeficiente de variação (CV) estabiliza a partir da 6ª réplica.

Em relação à frequência amostral, as coletas de biomassa em campo são realizadas, em geral, com uma frequência mensal. Aqui, deve-se observar o ciclo de vida das espécies estudadas. Macrófitas que apresentam um ciclo de vida relativamente mais longo (p.ex. *Typha*) podem ser amostradas em intervalos maiores, sem muito prejuízo para tratar os dados posteriormente. Plantas que apresentam ciclo de vida mais curto e/ou uma elevada taxa de decomposição (geralmente são macrófitas submersas ou enraizadas c/ folhas flutuantes), um intervalo grande entre as amostragens pode introduzir um erro experimental (p.ex. medidas de produtividade primária líquida subestimadas, pois as perdas de biomassa - por mortalidade, decomposição e herbivoria em menor grau - entre uma coleta e outra serão maiores).

Por último, colete o maior número de informações possíveis sobre sua(s) planta(s) quando estiver em campo, mas nada de inventar trabalho, tipo: "...aproveitando que sobrou tempo, vamos coletar mais isso, aquilo e aquilo outro...". Um desenho experimental é fundamental para qualquer pesquisa científica, e os orientadores têm a obrigação de fazê-lo e praticá-lo com seus estudantes, evitando perguntas muito comuns como: "...e agora, o que eu faço com os meus dados?". Em laboratório, separe todos os módulos botânicos amostrados, faça as medidas necessárias (comprimento, área foliar, percentagem de dano por herbivoria, etc) e pese-os separadamente após a completa secagem em estufa. É muito mais fácil *juntar depois que separar depois!*

Amostragem semi-quantitativa (escala ordinal).

Os estudos de ecologia de comunidades, em particular os de ecologia aquática, são caracterizados pela obtenção simultânea de diferentes variáveis (bióticas e abióticas) objetivando comparar várias unidades amostrais distribuídas ao longo do espaço geográfico, tempo ou simultaneamente (espaço-

-temporal). A zanação de macrófitas aquáticas é uma das abordagens mais antigas para esta comunidade e geralmente, o pesquisador está interessado em verificar como os fatores ambientais, ao longo de um gradiente (p. ex. profundidade, inclinação da região litorânea, granulometria, nutrientes no sedimento, entre outros), podem estruturar a comunidade. A maneira mais utilizada para acessar essas informações é distribuir suas unidades amostrais (quadrats, tempo de observação) ao longo de um gradiente ambiental previamente discutido com seus colegas e orientador em laboratório, sob a luz de uma teoria ecológica em que o estudo está balizado.

O protocolo mais utilizado é distribuir seus quadrats ao longo de um transecto no sentido margem-região limnética. Estima-se a cobertura vegetal de cada espécie de acordo com a escala de cobertura (Braun-Blanquet, Van der Maarel são bastante conhecidas). Uma outra escala de cobertura muito usada é a de Domin-Krajina (1= <20; 2= 21-40; 3= 41-60; 4= 61-80; 5= 81-100% de cobertura), exemplificada na figura abaixo:



Figura 2: Exemplo de obtenção de dados semi-quantitativos em um estande heterogêneo de Macrófitas aquáticas. Nesta figura observam-se 3 espécies: *Salvinia grande e clara*, *Salvinia pequena e escura* e uma Cyperacea (Evitou-se colocar os nomes específicos pois estas famílias ainda apresentam sérios problemas de identificação segundo Irgan e Gastal-Junior, 2003). Os escores ficariam da seguinte forma: *Salvinia grande e clara* = 4; *Salvinia pequena e escura* = 2 e Cyperacea = 1.

Como comentado anteriormente, este texto não tem a pretensão de ser uma referência em métodos quantitativos no estudo de macrófitas aquáticas, apenas traz alguns exemplos da minha incipiente experiência no assunto. Maiores detalhes sobre métodos quantitativos em estudos ecológicos e limnológicos estão acessíveis em língua portuguesa nos excelentes trabalhos de Bini (2000. Monografia- PEA-UEM. pp-53) e Valentin (2000. *Ecologia numerica: uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos*. pp-117).

Análises univariadas

Santos e Esteves (2002. *Aquatic Botany* 74(3): 189-199) estudaram a influência da variação do nível da água de uma lagoa costeira na produtividade primária líquida (PPL) do junco (*Eleocharis interstincta*), i.e., será que a PPL do junco aumenta conforme o aumento do nível da água? Após um acompanhamento quinzenal durante um ano, encontramos uma correlação positiva entre o nível da água e a biomassa desta macrófita (Fig. 3a), sendo que o nível da água explicou 65% da variância total da biomassa (Santos e Esteves, 2004. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47(2): 281-290). Após os cálculos da PPL por um método demográfico, o nível da água explicou 30% da variância da PPL desta espécie (Fig. 3b).

Agora os leitores vão indagar “...e daí?!” Bom, as lagoas costeiras estão sob constante pressão da população local para a abertura da barra de areia que as separam do mar no intuito de melhorar a balneabilidade e aumentar da produção pesqueira. Com a barra aberta, a água escoava para o oceano reduzindo o nível na lagoa. Diminuindo o nível da água os juncos vão morrer, a PPL vai estagnar, o sistema deixará de ser autotrófico passando a heterotrófico (decomposição) e com isso, deixará de efetuar uma importante função que é a fixação de carbono inorgânico (seqüestro de Carbono). Cabe ressaltar que nem sempre o procedimento de abertura de barra trás os benefícios desejados (ver Santos *et al.* 2006. *Hydrobiologia* 556: 61-68).

As quantificações desses fluxos podem ser feitas (com uma margem de erro conhecida) apenas medindo o nível da água no estande, procedimento rápido e virtualmente sem custos. Tentei, aqui, exemplificar com um simples modelo linear, uma área ainda pouco explorada no Brasil que é a ecologia preditiva.

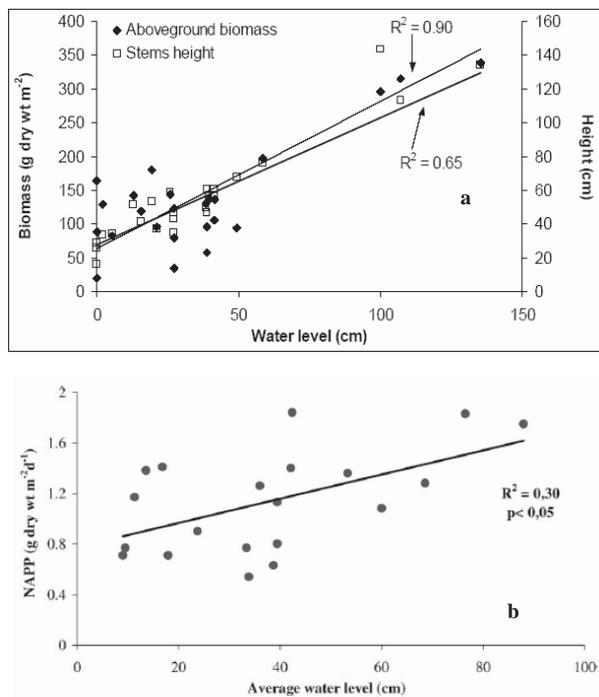


Figura 3: (a) Correlação positiva entre biomassa e comprimento dos ramos do junco *E. interstincta* com o nível da água e; (b) Correlação positiva entre a PPL da mesma espécie com o nível da água. Modificado de Santos e Esteves (2004) e Santos e Esteves (2002) respectivamente.

Analises multivariadas

Os escores da amostragem semi-quantitativa podem ser usados em métodos multivariados, respeitando os devidos pressupostos e particularidades para cada um. Uma análise de correspondência destendenciada (DCA) foi usada para ordenar a assembléia de macrófitas aquáticas na planície de inundação do Alto rio Paraná. A análise mostrou que a composição florística das lagoas com conexão permanente com o rio principal diferia das lagoas sem conexão permanente, e que o transporte de materiais e propágulos, a partir do rio principal, é o principal fator estruturador.

Analisando o padrão sucessional (coletas trimestrais de maio de 2000 a março de 2002) desta mesma comunidade pela análise de correspondência (between-class), dois padrões

distintos foram observados: uma flutuação populacional nas lagoas sem conexão (mudança cíclica) e uma tendência sucessional (mudança na composição de espécies) nas lagoas com conexão, ambas orientadas pela variação no nível da água.

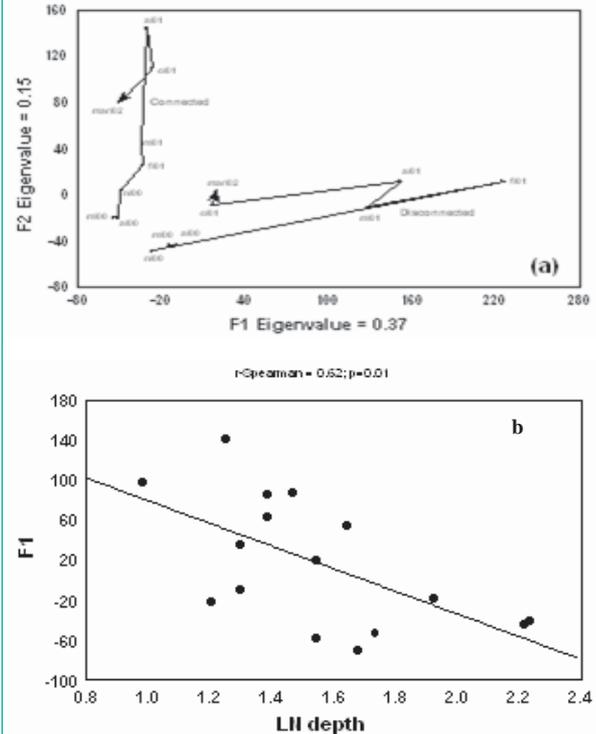


Figura 4: Plano fatorial da análise de correspondência mostrando (a) trajetória da composição florística das lagoas sem conexão (trajetória em “V”) indicando flutuação populacional e das lagoas com conexão (trajetória em “linha reta”), indicando mudança na composição florística (sucessão). (b) Correlação negativa entre o logaritmo natural do nível da água e os escores do eixo 1 da análise de correspondência.

Diversidade

Uma das questões de suma importância para a conservação da biodiversidade é: Qual o número de espécies em um determinado ambiente? Dependendo da escala e tipo de organismo, é praticamente impossível responder a essa questão. Para macrófitas aquáticas que ocorrem em pequenas lagoas, podemos fazer uma revista intensa em todo o ambiente e assim determinar o número real de espécies. Porém, em lagoas maiores e reservatórios, por exemplo, é praticamente impossível tal protocolo. Uma alternativa é a utilização de estimadores não-paramétricos de diversidade. Para tanto, bastam apenas dados de presença e ausência em unidades amostrais (quadrats), softwares

gratuitos estão disponíveis na rede para efetuar os cálculos necessários (EstimateS-<http://viceroy.eeb.uconn.edu/EstimateS>). Souza *et al.* (2002. *Amazoniana* 17(1-2), 213-25) realizaram um estudo sobre os estimadores não-paramétricos de diversidade que apresentaram melhor performance em estimar a diversidade de macrófitas aquáticas. Em um levantamento sistemático (método dos transectos – pouco eficaz para estudos de diversidade) para os lagos naturais do Parque Estadual do Rio Doce (MG), Santos e colaboradores (dados não publicados) encontraram uma diversidade de macrófitas aquáticas muito superior àquela encontrada por levantamentos prévios não sistemáticos, com exceção dos lagos Carioca e Dom Helvécio. Vale ressaltar que as curvas de rarefação indicaram a insuficiência amostral para a maioria dos lagos.

Tabela 1: Riqueza de espécies de macrófitas aquáticas em cada lagoa amostrada (S_{obs}) e estimada pelos estimadores não paramétricos ICE (S_{ICE}), Chao 2 (S_{Chao2}), Jackknife 2 (S_{Jack2}), bootstrap (S_{Boot}), e Michaelis-Mentem (S_{MM}). Para efeito de comparação, estão listados dados do PELD SITE 4 e do Ministério do Meio Ambiente (MMA)

lagoas	S_{obs}	S_{ICE}	S_{Chao2}	S_{Jack2}	S_{Boot}	S_{MM}	PELD	MMA
Águas Claras	14	20.1	21.2	24.4	16.4	19.1	20	12
Amarela	19	46.0	82.7	41.8	23.5	31.7	19	8
Carioca	15	17.9	15.6	14.8	17.0	21.2	28	11
Dom Helvécio	13	14.0	13.5	15.9	14.0	14.8	34	19
Gambazinho	7	11.8	9.8	12.4	8.1	7.7	11	
Jacaré	17	43.9	47.3	35.5	21.2	29.3	29	13
Malba	19	27.9	29.1	31.5	22.6	32.3		
Palmeirinha	13	19.6	17.2	19.8	15.2	16.1		

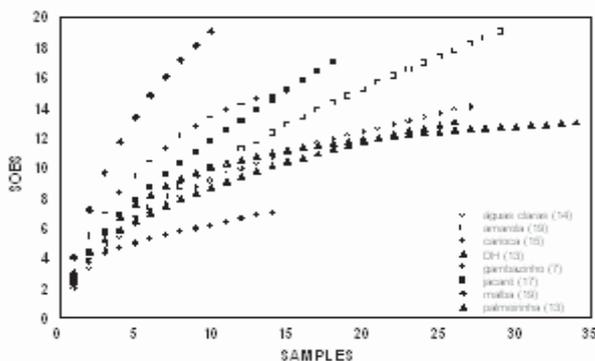


Figura 5: Curva de rarefação (sample based) do número cumulativo de espécies de macrófitas aquáticas nos lagos do Parque Estadual do Rio Doce (MG). Em parênteses, o número observado de espécies.

De acordo com Thomaz e Bini (2003. *In: Ecologia e manejo de macrófitas aquáticas*. Maringá-EDUEM . pp-341) em recente revisão a respeito dos estudos ecológicos com macrófitas aquáticas, os mesmos ainda são relativamente escassos no Brasil. Motivos que justifiquem o aumento dos estudos não faltam: ocorrem em diversos ecossistemas; desempenham diferentes funções ecológicas; são um excelente objeto de estudo para testar teorias ecológicas; e podem ocasionar efeitos indesejáveis em ambientes alterados pelo homem. E o principal de tudo, segundo meus mentores: “...para trabalhar com macrófitas, você precisa apenas de um quadrado, uma régua e uma boa idéia”.

Anderson Medeiros dos Santos

anderson.santos@unimontes.br

Universidade Estadual de Montes Claros

Ecologia de macrófitas aquáticas: reflexões e desafios

Introdução

Estudos históricos acerca da limnologia demonstram que as macrófitas foram negligenciadas durante muito tempo e que o interesse por essa comunidade aumentou somente nas últimas três décadas (Esteves, 1998). São várias as razões para a escassez de estudos sobre macrófitas, mas o viés histórico relacionado com a formação de limnólogos em prestigiosos centros internacionais que priorizavam comunidades planctônicas deve ser enfatizado. Esse viés é plenamente compreensível, em face do predomínio do ambiente planctônico (i.e., de regiões pelágicas) em lagos temperados.

O aumento do número de pesquisadores dedicados à ecologia de macrófitas nas últimas duas décadas pode ter sido impulsionado pelo reconhecimento de sua importância ecológica na estruturação e dinâmica de ambientes aquáticos continentais, especialmente os mais rasos, e da predominância desses últimos na paisagem (Wetzel, 1990). Aspectos aplicados, como o

manejo e controle dessa vegetação, também impulsionaram tais avanços.

A tarefa de enumerar os desafios a serem enfrentados por pesquisadores que se dedicam à comunidade de macrófitas aquáticas é difícil e qualquer tentativa nesse sentido esbarra em limitações, experiências e visões pessoais. Tentarei enumerar abaixo alguns desafios que considero mais prementes. Embora reconheça vários outros desafios que talvez sejam tão ou mais importantes, também acredito que aqueles por mim apresentados não seriam excluídos da lista de outros pesquisadores que trabalham com macrófitas.

Alguns desafios importantes

Atualmente, a importância ecológica das macrófitas é assumida como fato, sendo alvo de vários parágrafos em dissertações, teses e trabalhos científicos que se dedicam ao estudo dessa comunidade, em particular, e de ambientes aquáticos, em geral. Essa afirmação é associada às interferências na ciclagem de nutrientes, retenção de poluentes, produção de matéria orgânica, alterações das características físicas e químicas da água e sedimento e conservação das margens, dentre outras funções. De fato, diversos estudos produzidos no Brasil e no exterior têm demonstrado que, em diferentes graus, essas são importantes funções desempenhadas pelas macrófitas. Porém, o principal papel ecológico dessas plantas, assumido na maioria dos trabalhos científicos, é o de aumentar a complexidade dos habitats aquáticos (ou da “paisagem subaquática”), favorecendo a diversidade de micro-organismos, invertebrados, peixes e aves. Neste ponto surge uma questão crucial e ainda não resolvida: embora assumido pela maioria dos pesquisadores como importante, o suposto aumento da estrutura e seus efeitos sobre a diversidade de outros organismos não têm sido testados de forma apropriada. Ou seja, são raros os estudos que medem a heterogeneidade produzida pelas macrófitas e a manipulam para testar essa hipótese, já assumida pela maioria como teoria.

Exemplos da literatura mostram que as tentativas de medir a complexidade espacial produzida pelas macrófitas são díspares, variando desde medidas semi-quantitativas (por exemplo, Taniguchi et al., 2003) até outras baseadas na teoria dos fractais (por exemplo, Jeffries, 1993). Essas medidas não são padronizadas e não permitem comparações. A superação desse desafio, que não se restringe à limnologia brasileira, certamente contribuirá sobremaneira para avaliarmos o verdadeiro papel ecológico das macrófitas na estruturação dos ambientes aquáticos.

Outro desafio não menos importante, porém mais relacionado com os limnólogos brasileiros (e sul-americanos, de uma forma geral), é o de avaliar a diversidade de espécies de macrófitas. Aparentemente, dentre todos os grupos de macro-organismos aquáticos, a comunidade de macrófitas é a que se encontra menos conhecida ou com informações pouco sistematizadas (ver por exemplo, Agostinho et al., 2005). Cabe ressaltar que existem várias publicações competentes detalhando a diversidade de macrófitas de ecossistemas aquáticos específicos (ver por exemplo, Pott & Pott, 2000, para o Pantanal Matogrossense, e Irgang & Gastal Jr., 1996, para a planície costeira do Estado do Rio Grande do Sul). Porém, essas informações ainda precisam ser sistematizadas para o território nacional. Em uma tentativa recente de estimar a riqueza de espécies de macrófitas da América do Sul, ficou evidente que a curva de acumulação de espécies está longe de atingir uma assíntota (Figura 1), demonstrando que a diversidade de espécies de macrófitas desse continente não pode sequer ser inferida. Essa lacuna dificulta responder a simples questão sobre se a diversidade de macrófitas é maior nos trópicos ou em regiões temperadas, para a qual apenas resultados limitados e parciais têm sido produzidos (ver por exemplo, Crow, 1993 e Jacobsen & Terneus, 2001). Assim, a formação de taxonomistas e sistematas, além de um aumento dos esforços para sistematizar o conhecimento acumulado (por exemplo, através da informatização de dados de museus), são primordiais.

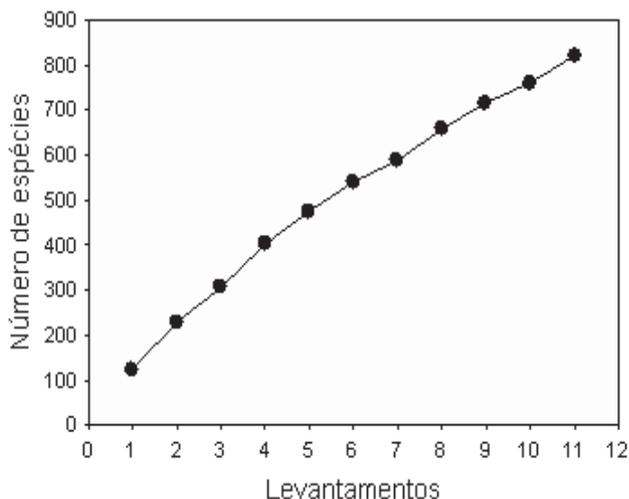


Figura 1: Curva cumulativa de espécies obtida pela compilação de trabalhos publicados contendo levantamentos de macrófitas aquáticas para 11 ecossistemas da América do Sul, distribuídos no Brasil, Peru, Equador e Argentina. S. M. Thomaz, dados inéditos.

O conhecimento sobre biologia e ecologia das principais espécies de macrófitas também é deficiente, sendo um outro desafio a ser vencido. Esse tipo de conhecimento em geral é menosprezado pela maioria dos órgãos financiadores de projetos (ver, por exemplo os editais do CT-Hidro) e mesmo por parte da comunidade científica, que só conseguem atribuir valor àquilo que pode ser utilizado de imediato (a antiga disputa entre ciência básica e aplicada). No entanto, estudos básicos estão muito além da simples, mas importante tarefa de melhor compreender os organismos que nos cercam. Certamente vários problemas decorrentes do crescimento excessivo de macrófitas em ecossistemas aquáticos poderiam ser evitados, aliviados ou melhor manejados com base nesses conhecimentos. A escassez de conhecimentos básicos pode ser exemplificada pelos resultados de uma busca no banco de dados da base Thomson ISI (pesquisa realizada em 10/05/2006) utilizando-se como palavra chave “*Egeria densa*”, considerada a principal espécie submersa que tem provocado prejuízos aos usos múltiplos de vários ecossistemas aquáticos no Brasil. Dentre os 122 trabalhos encontrados, apenas 6 foram produzidos no Brasil que, juntamente com Uruguai e Argentina, engloba a região de origem

dessa espécie. Esse resultado deve ser encarado como alerta, pois o mesmo indica que os esforços para controle dessa espécie no Brasil foram feitos, em grande parte, com base em informações geradas fora do país, utilizando exemplares já aclimatados a condições distintas daquelas encontradas em nossos ecossistemas.

A despeito dessa constatação, torna-se evidente o enorme avanço sobre o conhecimento de diferentes aspectos das macrófitas aquáticas como abordado de forma competente pelos pesquisadores que trabalham com macrófitas em ambientes brasileiros e que escreveram sobre suas especialidades no presente volume deste Boletim. Esse avanço também é constatado pelo aumento do número de publicações em revistas internacionais indexadas na base Thomson ISI (pesquisa realizada em 10/05/2006) nos últimos vinte anos (Figura 2). Esse aumento segue tendência semelhante à constatada para a limnologia brasileira (Melo et al., no prelo). Na verdade, essa verificação é apenas um reflexo da fase que a ecologia brasileira experimenta no momento: reproduzimos com competência o que se faz em outros países. Porém, conceitos que estão sendo profundamente discutidos na literatura internacional nos últimos dez anos (por exemplo, estados estáveis alternativos – Scheffer, 1990; debate diversidade-estabilidade – Loreau et al., 2002) ainda recebem pouca atenção no Brasil, onde começaram a ser investigados recentemente (ver por exemplo, Loverde, 2005 para o primeiro caso e Maltchik & Pedro, 2000 para o segundo). Considero que a utilização das macrófitas para testar teorias modernas ou mesmo gerar novas teorias em ecologia é um outro desafio. Esse aspecto será aprofundado no próximo tópico.

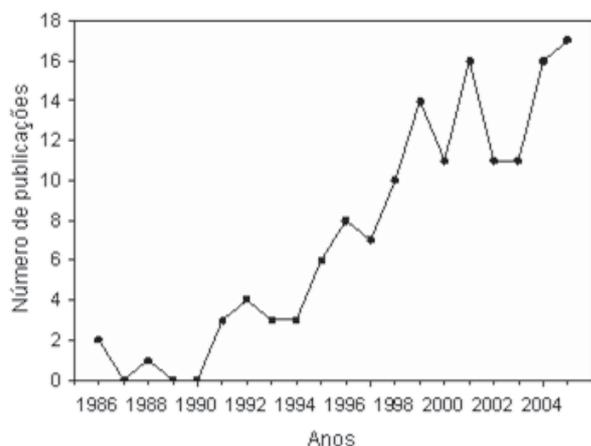


Figura 2: Número de trabalhos (total = 151) encontrados na base Thomson ISI utilizando-se “macrophyte*” no campo “topic” e “Brasil or Brazil” no campo “address”, entre os anos de 1986 e 2005.

O grande desafio: a produção de teoria ecológica

Em função do estágio de desenvolvimento da ecologia brasileira, o momento é oportuno para que os estudos de macrófitas alcancem outro patamar. Há 30 ou 40 anos os estudos realizados no Brasil eram raros, não só na ecologia, mas também em outras áreas do conhecimento. Houve um avanço quando começamos a reproduzir, de forma competente, o que era produzido em outros países que lideram o cenário científico internacional. Considero que um avanço adicional foi alcançado quando novas teorias começaram a ser testadas no Brasil, com defasagens temporais cada vez menores (por exemplo, os trabalhos citados acima abordando estados estáveis alternativos e o debate diversidade-estabilidade). Talvez o passo mais importante no momento, natural no processo de desenvolvimento científico de qualquer nação, é a produção de conhecimento novo (ou teoria científica). Esse talvez seja o grande desafio que não se remete apenas à ecologia de macrófitas ou à limnologia, mas sim à ecologia como um todo (Martins et al., 2006). Não se trata de produzir teorias sobre ecologia tropical, já que essa visão pode ser questionável (ver por exemplo, Robinson, 1978), mas sim teorias mais amplas que possam ser aplicadas a diferentes grupos de organismos e ecossistemas.

Para que esses avanços sejam alcançados, além do aumento do conhecimento sobre aspectos básicos acerca da biologia e ecologia de macrófitas aquáticas, comentados anteriormente, são necessárias criatividade e ousadia. Certamente existem inúmeros jovens ecólogos que vêm sendo formados em nossos programas de pós-graduação e que reúnem essas características. O afã desses jovens cientistas e a experiência de seus mestres constituem a combinação perfeita para que esse salto qualitativo seja alcançado. Torna-se também necessária uma mudança radical de abordagem. Por exemplo, o próprio termo “ecologia de macrófitas” deve ser revisto. Não se trata de uma mudança de nomes, mas de abordagem e estratégia de pesquisa. Nesse sentido, acredito que os limnólogos deveriam abordar seus grupos de organismos como “ferramentas” úteis para responder questões ecológicas e testar hipóteses mais abrangentes. Ou seja, torna-se irrelevante separar as áreas em “ecologia de macrófitas”, “ecologia de fitoplâncton” ou “ecologia de peixes”, pois todas trabalham com a teoria ecológica que, supostamente, é mais ampla. A ecologia terrestre tem seguido esse procedimento, o que pode explicar em parte seu sucesso nos avanços teóricos na área de ecologia. Para subsidiar essa afirmação, basta comparar os fatores de impacto de revistas especializadas em ecologia aquática com os de revistas de ecologia geral, cujos trabalhos são fortemente voltados para ecologia terrestre (Figura 3).

Acredito que alguns exemplos pertinentes sejam úteis para melhor elucidar minha colocação. Os padrões de zonação de macrófitas ao longo de gradientes de profundidade foram largamente estudados desde os primórdios da limnologia. Kalff (2002), por exemplo, cita os trabalhos pioneiros de Warming no ano de 1895 utilizando esse enfoque. Keddy (2002), baseado em alguns trabalhos realizados na década de 90, vislumbrou uma possibilidade sem precedentes de utilizar tais resultados para testar a hipótese acerca da natureza das comunidades (o eterno debate “Clements vs Gleason”, ainda pertinente). De maneira surpreendente, Keddy concluiu que na maioria dos casos, a hipótese de que a zonação

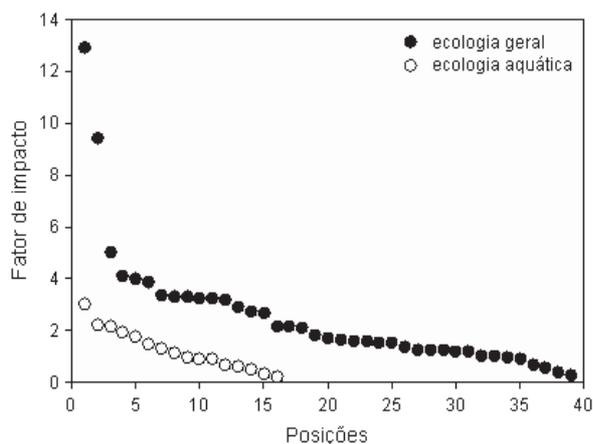


Figura 3: Fatores de impacto de revistas voltadas para a ecologia de ambientes aquáticos e ecologia geral obtidos no JCR de 2004. As revistas selecionadas da área de ecologia aquática continham nos títulos “Aquatic”, “Limnol” ou “Freshwater” e as de ecologia geral, continham nos títulos “Ecolog”.

das espécies de macrófitas ocorria de forma gradual e contínua não resistia a testes estatísticos empregando-se modelos nulos. Em outras palavras, aparentemente a vegetação de regiões litorâneas de ecossistemas lacustres não se encontra organizada de acordo com a idéia de continuum, proposta por Gleason. Assim, resultados obtidos há décadas foram analisados à luz de teorias ecológicas mais abrangentes, contribuindo sobremaneira para o debate sobre essas teorias.

Igualmente, a hipótese de estados estáveis alternativos (Scheffer, 1990) foi empregada com grande sucesso à comunidade de macrófitas submersas e fitoplâncton. Essa teoria, de grande impacto na ecologia aquática, descreve um fenômeno comum a várias outras comunidades não se restringindo aos ecossistemas aquáticos (Allen, 1998). Nesse caso fica patente que o grande avanço foi ter trabalhado com um conceito que extrapola o grupo das macrófitas e até mesmo dos ecossistemas aquáticos, abordando-se um fenômeno que parece ser comum a várias outras comunidades.

Moran (2001) coloca de forma oportuna que grandes avanços da teoria ecológica foram alcançados com estudos que enfocaram organismos tais como mamíferos e pássaros, móveis e de difícil manipulação em

experimentos, e árvores, cujo ciclo de vida é bem mais longo do que a vida ativa de qualquer ecólogo. Assim, torna-se mesmo surpreendente que as macrófitas não sejam mais exploradas para testar e propor teorias ecológicas mais amplas, pois as mesmas são macroscópicas, sedentárias, possuem ciclos de vida curtos e são relativamente fáceis de coletar e manipular, comparativamente a outros grupos.

Diante do exposto, acredito piamente que temos enormes possibilidades de alcançar grandes avanços teóricos independentemente do uso de equipamentos modernos e caros, mas utilizando somente nossa capacidade intelectual. Talvez seja oportuno tomar emprestadas as idéias plantadas pelo cinema novo, cujo conceito “Uma câmera na mão e uma idéia na cabeça” inspira gerações desde a década de 60. Igualmente, talvez seja a hora de “Com um quadrado na mão e várias idéias na cabeça”, contribuirmos de forma mais decisiva para o avanço da teoria ecológica!

Agradecimentos

Agradeço aos Drs. Luis Mauricio Bini (UFG), Edson Fontes de Oliveira (FAP) e Rosemara Fugi (UEM) e aos meus orientados Wilson T. de Sousa, André A. Padiá, Priscilla de Carvalho e Solana M. Boschilia pela leitura crítica do manuscrito.

Sidinei Magela Thomaz
smthomaz@nupelia.uem.br

Universidade Estadual de Maringá

Referências

- Agostinho, A. A., Thomaz, S. M. & Gomes, L. C. 2005. Conservation of the biodiversity of Brazil's inland waters. *Conservation Biology* 19(3): 646-652.
- Allen, T. F. H. 1998. Community ecology: The issue at the center. In: Dodson, S. I., Allen, T. F. H., Carpenter, J. F., Ives, A. R., Jeanne, R. L., Kitchell, J. F., Langston, N. E. & Turner, M. G. (eds). *Ecology*. Oxford University Press, New York. pp. 315-383.
- Crow, G. E. 1993. Species diversity in aquatic angiosperms: latitudinal patterns. *Aquatic Botany* 44: 29-58.

- Esteves, F. A. 1998. *Fundamentos de Limnologia*. Finep/Interciência, Rio de Janeiro. 602p.
- Irgang, B. E. & Gastal Jr., C. V. S. 1996. *Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS*. Porto Alegre. 290p.
- Jacobsen D. & Terneus, E. 2001. Aquatic macrophytes in cool aseasonal and seasonal streams: a comparison between Ecuadorian highland and Danish lowland streams. *Aquatic Botany* 71(4): 281-295.
- Jeffries M. 1993. Invertebrate colonization of artificial pondweeds of differing fractal dimension. *Oikos* 67: 142-148.
- Kalff, J. 2002. *Limnology: Inland water ecosystems*. Prentice Hall, New Jersey. 592p.
- Keddy, P. A. 2002. *Wetland ecology: Principles and conservation*. Cambridge University Press, Cambridge. 614p.
- Loreau, M., Naeem, S. & Inchausti, P. (eds). 2002. *Biodiversity and ecosystem functioning: Synthesis and perspectives*. Oxford University Press, Oxford. 294p.
- Loverde, S. M. 2005. *Influência do regime hidrológico sobre a dinâmica do fitoplâncton da lagoa do Coqueiro (Pantanal de Mato Grosso): fatores reguladores e estados estáveis alternativos*. Tese de Doutorado. Programa de Pós-graduação em Ecologia, UFRJ.
- Maltchik, L. & Pedro, F. 2000. Biodiversity influences community stability? Results of semi-arid shallow lakes. *Ciência & Cultura* 52(2): 127-130.
- Martins, R. P., Lewinsohn, T. M., Diniz-Filho, A. F., Scarano, F. R., Coutinho, F. A., Fonseca, G. A. B. & Drummond, M. A. 2006. *Rumos para a Ecologia no Brasil*. (Documento distribuído aos Programas de Pós-graduação em Ecologia). 17p.
- Melo, A. S., Bini, L. M. & Carvalho, P. Brazilian articles in international journals on Limnology. *Scientometrics*. (no prelo).
- Moran, P. J. 2001. *Community ecology*. Blackwell Science,
- Pott, V. J. & Pott, A. 2000. *Plantas aquáticas do Pantanal*. Embrapa, Brasília. 404p.
- Robinson, M. H. 1978. Is tropical biology real? *Tropical Ecology* 19(1): 30-50.
- Scheffer, M. 1990. Multiplicity of stable states in fresh-water systems. *Hydrobiologia* 200: 475-486.
- Taniguchi H, Nakano S, Tokeshi M. 2003. Influences of habitat complexity on the diversity and abundance of epiphytic invertebrates on plants. *Freshwater Biology* 48: 718-728.
- Wetzel, R. G. 1990. Land-water interfaces: metabolic and limnological regulators. *Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie* 24: 6-24.

Eventos Científicos

1ª Oficina Nacional de Biomonitoramento de Ambientes Aquáticos

Nos dias 20 e 21 de outubro de 2005 participei da “1ª Oficina Nacional de Biomonitoramento de Ambientes Aquáticos” promovida e realizada no CETEC (Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais) em Belo Horizonte, Minas Gerais. Fui indicado por nosso Presidente da Sociedade Brasileira de Limnologia, Dr. Ricardo Pinto-Coelho para falar sobre “Qualidade Ecológica dos Ecossistemas Aquáticos x Qualidade de Água”, assunto sobre o qual ministrei palestra no X Congresso Brasileiro de Limnologia em Ilhéus, BA. Sobre este tema traço um paralelo entre a legislação brasileira sobre recursos hídricos e a legislação da Comunidade Européia sobre a conservação dos ecossistemas aquáticos. O objetivo da oficina foi o de discutir as duas legislações que foram recentemente atualizadas para a adequação das leis estaduais de Minas Gerais à nova resolução CONAMA de âmbito federal. Também participaram como convidados o Dr. Alois Eduard Schäfer da Universidade de Caxias do Sul, o Dr. Günther Friedrich que proferiu palestra sobre a aplicação da nova legislação da Comunidade Européia na Alemanha. Além dos convidados, participaram técnicos do CETEC da FEEMA (RJ) e professores/pesquisadores de universidades de Minas Gerais e outros estados.

Como nós limnólogos sabemos a água dos ecossistemas aquáticos possuem características naturais muito diversificadas, com valores de oxigênio, pH, condutividade elétrica, concentrações de nutrientes e outras variáveis, altos ou baixos devido às características fisiográficas (geologia, geomorfologia, relevo, vegetação, etc) dos ambientes em que estão inseridos. Os diferentes tipos de água da Amazônia (pretas, brancas e claras) tão bem descritos na literatura limnológica é o exemplo mais real de que os ecossistemas aquáticos possuem características físicas químicas e biológicas as mais diversas possíveis. Destaco a frase de Branco & Rocha (1977): “O que chamamos de água é uma série infinitamente variável de soluções aquosas de diferentes substâncias e compostos químicos presentes na superfície do solo terrestre”. No entanto, a

legislação brasileira, recentemente alterada (Resolução 357 de 17/03/2005), não considera esta variabilidade natural dos ecossistemas aquáticos e define classes de qualidade da água. Para água doce são cinco classes, classe especial, 1, 2, 3 e 4 no sentido da mais pura para a mais impura. Água da classe especial é aquela que possui o mais alto grau de pureza, com menores concentrações de substâncias e elementos químicos dissolvidos e menores valores de material particulado e organismos (algas, microcrustáceos, bactérias, etc.). Os ecossistemas aquáticos que possuem água com alto grau de pureza são muito escassos. É claro que a qualidade de água (grau de pureza) de ambientes aquáticos fica reduzida ao receberem efluentes domésticos, industriais, agrícolas, etc, pois estes efluentes aumentam a concentração de substâncias e elementos químicos na água. Assim, quando classificamos a água segundo a Resolução CONAMA estamos considerando apenas a sua qualidade quanto ao uso e não quanto ao impacto provocado pelo ser humano. Ecossistemas aquáticos isentos de impactos antrópicos podem conter água com várias substâncias e organismos que lhe conferem baixo grau de pureza. Assim, podemos classificar a água de ambientes naturais bem preservados na mesma classe de ambientes altamente impactados por efluentes domésticos ou industriais.

A nova legislação da Comunidade Européia adota um conceito distinto de qualidade de água, adota o conceito de qualidade ecológica do ecossistema aquático. A União Européia estabeleceu em meados da década de 1990 uma legislação comunitária de proteção do meio aquático, no entanto, a poluição das águas costeiras e dos estuários continuava a aumentar e a qualidade das águas interiores não melhorava. Isto ocorria por que as normas de qualidade e os visando, ao contrário da legislação anterior, estabelecer uma estrutura para a proteção e utilização sustentável das águas de superfície e subterrâneas. A Diretiva (DQA) estabelece a avaliação da qualidade ecológica da água para a gestão sustentável dos ecossistemas aquáticos. A inovação introduzida pela DQA é que o estado da água passa a ser avaliado através de uma abordagem ecológica, ou seja, quanto à

conservação do estado natural do ambiente aquático e não quanto a qualidade da água para uso humano. Estas colocações foram externadas pelos palestrantes e, posteriormente discutidas em plenário.

Segundo o parágrafo 3º do artigo III da resolução CONAMA “**a qualidade dos ambientes aquáticos poderá ser avaliada por indicadores biológicos, quando apropriado, utilizando-se organismos e/ou comunidades aquáticas**”. Esta “janela” na legislação brasileira permite incluir a legislação da Comunidade Européia sobre qualidade ecológica na atual legislação brasileira. Este foi o tema de discussão da 1ª Oficina Nacional de Biomonitoramento de Ambientes Aquáticos cujo objetivo foi a inclusão de uma legislação estadual mais restritiva do que a Resolução CONAMA 357. As leis estaduais podem ser mais restritivas do que as leis federais e assim é possível incluir a legislação européia sobre qualidade ecológica nas leis estaduais.

É claro que a inclusão de parte da legislação da Comunidade Européia (DQA) nas legislações estaduais será um avanço, mas é importante que se tenha em mente de que a Resolução CONAMA ainda se baseia no conceito de qualidade de água e este será o foco e a ênfase de nossas leis. A Oficina de Biomonitoramento foi um evento marcante por ter propiciado a discussão das leis brasileiras e européias, por pessoas da área acadêmica e profissionais com responsabilidade pela elaboração da legislação do Estado de Minas Gerais. Outros eventos desta natureza deverão ocorrer em outros estados brasileiros para a adaptação das leis estaduais à resolução CONAMA 357 e a divulgação da idéia de qualidade ecológica deve ser ainda maior. Como limnólogos devemos dar nossa contribuição mostrando uma visão mais conservacionista e abrangente, ou seja, olhar para o ecossistema aquático e não apenas para a água nele contida.

Antonio Fernando Monteiro Camargo
afmc@rc.unesp.br

UNESP/Rio Claro