

Capítulo 13

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

Mariana Pinheiro Silveira, Júlio Ferraz de Queiroz e

Rita Carla Boeira

13.1. Macroinvertebrados bentônicos

13.1.1. Habitat e vantagens de uso

Os macroinvertebrados bentônicos são animais cosmopolitas cujo habitat natural é o leito dos rios, e fundo dos lagos e lagoas. A comunidade de macroinvertebrados é boa indicadora de condições locais. Devido à sua natureza relativamente séssil e padrão limitado de migração, são bastante adequados para a avaliação de impactos locais específicos. Também são caracterizados por apresentar uma grande biodiversidade, respondendo a diversos tipos de poluentes e fatores estressantes ambientais. Uma grande vantagem da utilização desses organismos é o fato de que para sua coleta necessita-se de aparato técnico simples e barato, propiciando respostas rápidas e conclusivas sobre a qualidade da água avaliada.

13.1.2. Coleta e amostragem

A escolha do coletor utilizado na amostragem de macroinvertebrados bentônicos em programas de avaliação biológica de ambientes aquáticos depende principalmente dos objetivos do programa de amostragem. A partir do estabelecimento desses objetivos, deve-se decidir o número e a localização das estações de amostragem, a comunidade ou organismos que serão utilizados na avaliação e a periodicidade da amostragem, dentre outros fatores.

A amostra coletada em rios deve ser representativa do trecho que está sendo avaliado. Em geral, toma-se como base da área amostral um trecho de 100m, contando-se no campo visual do coletor 50m a montante e 50m a jusante. O coletor deve se posicionar na região central do leito do rio (no caso de riachos, ou rios de pouca profundidade). O tipo de amostra coletada em um rio varia de acordo com alguns parâmetros fisiográficos do mesmo, tais como: profundidade, velocidade da correnteza, largura (já descrito no capítulo 7), e natureza do substrato do fundo do leito. Portanto, dependendo das condições encontradas no ambiente de estudo, deve-se selecionar um coletor apropriado.

No caso de lagos, lagoas, represas, e grandes rios, a coleta poderá variar conforme a natureza do corpo hídrico. Nos lagos e lagoas, a coleta é feita na área litorânea (nas margens) e na área pelágica (central). Em grandes reservatórios, geralmente a coleta é feita em braços e na sua região central, em áreas próximas ao vertedouro, na região mais profunda, ou em pontos distribuídos ao longo do eixo principal e próximo à desembocadura do(s) rio(s) formador(es). Já em pequenos reservatórios, geralmente se amostra na região mais profunda, junto ao vertedouro ou nas áreas central e litorânea. Em lagoas costeiras, as áreas coletadas costumam ser aquelas proximais ou distais em relação ao encontro com o mar e a proximidade de afluentes.

No caso de lagos, lagoas, represas, e grandes rios, a coleta poderá variar conforme a natureza do corpo hídrico. Nos lagos e lagoas, a coleta é feita na área litorânea (nas margens) e na área pelágica (central). Em grandes reservatórios, geralmente a coleta é feita em braços e na sua região central, em áreas próximas ao vertedouro, na região mais profunda, ou em pontos distribuídos ao longo do eixo principal e próximo à desembocadura do(s) rio(s) formador(es). Já em pequenos reservatórios, geralmente se amostra na região mais profunda, junto ao vertedouro ou nas áreas central e litorânea. Em lagoas costeiras, as áreas coletadas costumam ser aquelas proximais ou distais em relação ao encontro com o mar e a proximidade de afluentes.

Para o uso do Surber, do Hess e do puçá, o coletor deve ser posicionado contra a correnteza, e o sedimento deve ser arrastado para dentro da rede coletora. O método de coleta do amostrador Hess é igual ao do Surber.

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

Já a rede de deriva deve ser posicionada contra a correnteza, e fixada nas margens; após um intervalo de tempo definido, todo o material que ficar retido na rede deverá ser retirado e guardado.

Para ambientes lênticos ou de águas paradas, como rios de grande porte, lagos e represas, em geral utiliza-se a Draga de Eckman-Birge, a Draga de Petersen e a Draga Petit-Ponar (Fig. 2). A amostra coletada é de natureza quantitativa. O sedimento coletado por estes equipamentos em geral é lodoso (Dragas Petersen e Eckman-Birge) ou arenoso (Draga Petit-Ponar), e às vezes bem compactado, exigindo uma “escavação” por parte do coletor. O processamento da amostra de invertebrados bentônicos encontrados em lagos ou rios com pouca correnteza determinará o tipo de coletor a ser usado em um local particular. Este, por sua vez, dependerá das condições locais e do objetivo do estudo. O equipamento usado será escolhido de acordo com o desenho experimental.

Em caso de rios ou lagos com grande profundidade e de difícil acesso, podem ser utilizados substratos artificiais. Estes consistem em cestos de material não-biodegradável, preenchidos de preferência com substrato natural originário do próprio local (na maioria das vezes composto por pequenas pedras ou folhas de macrófitas). Há três tipos principais de substrato artificial: saco de nylon com material natural (pedras ou folhas), múltiplas lâminas e cestos de espera (Fig. 3). Em ambos os casos, são utilizadas cordas presas às margens ou amarra-se o substrato artificial em cordas com pesos no fundo, para fixação do coletor. Então, este material é deixado durante algum tempo no ambiente, e retirado periodicamente, para verificação da fauna colonizadora.

A vantagem deste método é que ele permite acompanhar a evolução da colonização por parte da biota aquática em seus diferentes estágios de sucessão. As maiores desvantagens são que o substrato artificial não deixa de ser uma coleta seletiva, pois exclui alguns organismos que não conseguem colonizá-lo, e o coletor (no caso o substrato artificial) fica sujeito ao vandalismo, quando são rasgados ou retirados, prejudicando o experimento.

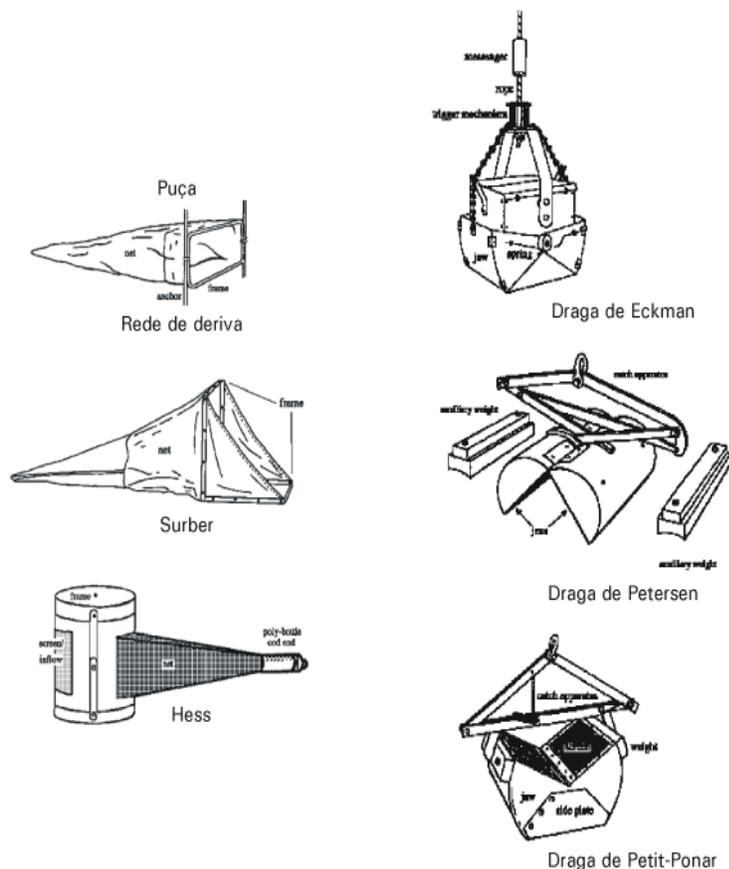


Fig. 1. Amostradores para ambiente lótico (com correnteza).

Fig. 2. Amostradores para ambiente lântico (águas paradas).

13.1.3. Processamento de amostras

Após a coleta, o substrato (tanto natural como artificial) deve ser acondicionado em sacos plásticos preferencialmente com as seguintes dimensões: 50 cm x 80 cm (largura x comprimento) e 0,12 cm de espessura. O material coletado pode ser conservado com água do próprio local, e no menor tempo possível, deve ser levado para o laboratório. Quando isto não é possível, a amostra pode ser fixada em etanol a 70% ou em solução de formaldeído a 4%.

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

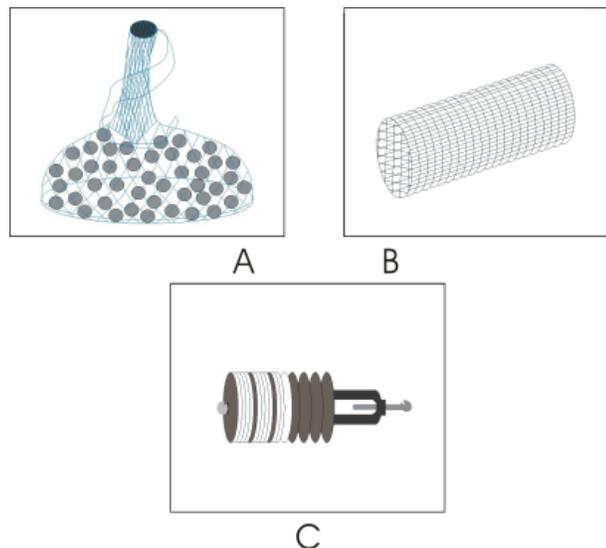


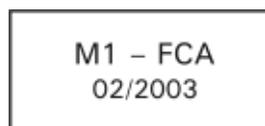
Fig. 3. Amostradores de substratos artificiais. A – Saco com pedras; B – Cesto de metal; C – Placas múltiplas.

As etiquetas de identificação das amostras de substratos deverão ser confeccionadas com papel-vegetal ou papel-manteiga (resistente à água, álcool e abrasão) e identificadas com lápis ou lapiseira, pois o trabalho com água impede o uso de canetas esferográficas, cuja tinta pode borrar ou manchar. O tamanho da etiqueta deverá ser aproximadamente de 2,5 cm x 5,0 cm.

A etiqueta deverá conter os seguintes dados: ponto de coleta; tipo de substrato amostrado com a identificação de sua pseudo-réplica (A, B ou C) e data. Para que a etiqueta seja facilmente encontrada dentro do saco plástico, sugere-se que sejam colocadas dentro de pequenos frascos plásticos transparentes com tampa (3,0 ml), e só então colocadas nos sacos.

Exemplo de etiqueta:

- Ponto de coleta – Rio Macaé 1 (M1)
- Tipo de Substrato: Folhço de Correnteza A (FCA)
- Data: Fevereiro de 2003 (02/2003)



13.2. Fungos aquáticos

13.2.1. Distribuição e importância

A micota aquática é composta principalmente por fungos zoospóricos, hifomicetos aquáticos (principalmente em substratos submersos), alguns representantes de basidiomicetos, ascomicetos, alguns fungos de origem terrestre e leveduras, os quais são abundantes em águas poluídas (SCHOELEIN-CRUSIUS et al., 2004).

Os fungos desempenham papéis importantes no ambiente aquático, atuando na decomposição de substratos orgânicos (proteínas, celulose, lignina, quitina, queratina, etc.); na quebra de moléculas orgânicas para consumo por organismos detritívoros e contribuindo para o acúmulo e liberação de nutrientes para o ambiente. Outros agem na absorção e degradação de poluentes orgânicos, inorgânicos e recalcitrantes, agindo como depuradores de água.

13.2.2. Coleta e amostragem

Para cada tipo de fungo aquático típico, ou seja, de levedura, fungo zoospórico e hifomiceto aquático, há técnicas distintas de coleta e isolamento. Cada grupo taxonômico possui limitações inerentes ao ambiente e ao substrato onde se desenvolvem. Pode-se considerar que a diversidade da micota aquática é resultante do esforço de coleta de diversos tipos de substratos, em diferentes ambientes, por determinado período de tempo, associados a métodos de isolamento diversificados. Para pesquisar a diversidade de hifomicetos aquáticos, geralmente são coletadas amostras de substratos vegetais, como folheto e ramos submersos (INGOLD, 1942).

Segundo Schoelein-Crusius e colaboradores (2004), de acordo com a literatura existente, a representatividade da amostragem para estudo dos fungos, depende muito mais dos métodos de observação, de isolamento e de iscagem a que unidades amostrais são submetidas, do que ao número de amostras, número de locais coletados ou periodicidade das coletas. A realização

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

de ensaios preliminares é de fundamental importância, pois auxilia na avaliação da eficiência do método de amostragem a ser utilizado, possibilitando as modificações necessárias para o desenvolvimento do experimento.

Fungos zoospóricos possuem unidades de dispersão (zoósporos) e são especialmente adaptados para a vida aquática, capazes de se locomoverem à procura de fontes de nutrientes e sítios de colonização. Em razão da mobilidade desses fungos e de seu ciclo de vida efêmero, coletam-se amostras de água, sedimento e substratos orgânicos, às quais são acrescentadas iscas celulósicas (celofane, palha de milho), quitinosas (esqueleto de camarão), queratinosas (pele de cobra), além de sementes (sorgo ou cânhamo) e grãos de pólen, promovendo-se assim, isolamento de maior número de táxons. Uma vez colonizadas as iscas, estas são separadas e colocadas em contato com novos substratos (SCHOELEIN-CRUSIUS et al., 2004).

Os cuidados com a amostragem devem ser redobrados em sistemas aquáticos poluídos (COOKE, 1976), onde a proliferação de geofungos e leveduras pode superar ou até suprimir a presença de outros tipos de fungos. Os geofungos são de origem terrestre e podem ser carreados para o ambiente aquático por meio de ventos, assoreamentos, substratos orgânicos alóctones, etc. Eles utilizam os sistemas aquáticos como local de fixação e dispersão.

13.2.3. Processamento de amostras

As amostras iscadas com diferentes tipos de substratos devem, após a coleta em campo, ser analisadas num período de aproximadamente três a cinco dias após o início da incubação, a fim de observar as características morfológicas necessárias à identificação dos táxons. A identificação de leveduras depende do isolamento de colônias em meio de cultura e do uso de diversos testes bioquímicos para reconhecimento dos táxons, sendo que esta última etapa é muito trabalhosa e exige conhecimentos específicos bastante complexos (HAGLER et al., 1995).

A técnica de isolamento a ser empregada é que delimitará a amostragem a ser efetuada. Em estudos que utilizam a incubação de folheto

ou fragmentos de folhas em água destilada esterilizada, diversas amostras são trazidas do campo, incubando-se, geralmente, de cinco a dez folhas por ponto de coleta.

Leveduras e geofungos podem ser quantificados pela contagem do número de esporos presentes em determinados volumes de amostra, adaptando-se métodos análogos ao estabelecimento do número mais provável de propágulos, que é amplamente utilizado no estudo de bactérias (MARTINS et al., 1989).

Os fungos presentes em determinados sedimentos aquáticos podem ser quantificados indiretamente, medindo-se certos metabólitos produzidos exclusivamente pela micota. Recentemente, tem sido dada grande atenção ao ergosterol, um esteróide produzido por fungos imperfeitos, ascomicetos e basidiomicetos, como parâmetro indicador da produção de biomassa fúngica (GESSNER & CHAUVET, 1993).

13.3. Macroalgas Bentônicas e Perifíton

13.3.1. Habitat e importância

Algas (macroalgas e perifíton) são limitadas pela luz, e podem estar esparsamente distribuídas em rios muito sombreados. E uma vez que as algas possuem curtos ciclos de vida (um a alguns dias), elas respondem rapidamente a mudanças ambientais. O perifíton é composto por algas bentônicas que crescem aderidas ao substrato de fundo tais como rochas ou plantas aquáticas. São produtores primários e indicadores sensíveis de mudanças ambientais nos ambientes lóticos. Devido ao fato de estar aderida ao substrato, a comunidade do perifíton integra distúrbios físicos e químicos nos rios. Mudanças na composição de algas entre os habitats são sempre evidentes como mudanças de cor e textura do perifíton. Quanto ao uso do perifíton como bioindicadores, sabe-se que a quantificação de nutrientes e pigmentos de diatomáceas são associados à eutrofização.

13.3.2. Coleta e amostragem

A técnica de amostragem de macroalgas bentônicas dependerá do objetivo do estudo. Porém, em geral se procura observar dados de abundância e distribuição da comunidade no ecossistema aquático. Para este objetivo, são utilizadas a estimativa visual da cobertura percentual das espécies sobre o substrato e sua frequência (número de unidades amostrais com presença de determinada espécie). A cobertura porcentual é um parâmetro semi-quantitativo que fornece estimativa aproximada da biomassa (HOLMES & WHITTON, 1981).

A escala de amostragem poderá variar de milímetros (micro-habitat de diatomáceas) a centímetros (macroalgas). A transecção em rio ou trecho da margem de um lago estaria no nível de uma mesoescala.

Já a escala temporal pode variar de dias a anos. A determinação dependerá basicamente do resultado de interações entre processos de acúmulo e perda de biomassa, o que dependerá do regime de distúrbios no ambiente (BIGGS, 1996). A periodicidade mais comum para macroalgas bentônicas é a mensal, com duração de um ano.

O uso do microscópio em campo é útil para a identificação preliminar (nível de gênero) ou no caso da ocorrência conjunta de duas espécies do mesmo gênero.

O material usado na amostragem é em geral simples e barato, empregando-se: cordas, estacas, régua ou trena, visores subaquáticos com fundo de vidro e molduras com a forma geométrica desejada (quadrado, retângulo, polígono, etc.). O tempo e a área amostrada dependerão do objetivo da pesquisa.

Algumas metodologias usualmente empregadas para estudos fitosociológicos de vegetação terrestre foram adaptadas para a amostragem de macroalgas bentônicas, tais como: transecção, interceptação de ponto, quadrado e mapeamento. A seguir detalharemos melhor a técnica de mapeamento, sendo que as demais podem ser consultadas em Necchi Jr. (2004). Este autor ressalta que é possível a combinação de técnicas, ideal para a otimização de tempo e recursos, além de fornecer informações gerais

sobre a estrutura da comunidade (riqueza de espécies e abundância global), e ao mesmo tempo traçar um perfil mais específico de parte da comunidade. A combinação pode ser: transecção e quadrado (NECCHI Jr. & MOREIRA, 1995); e interceptação de ponto e quadrado (NECCHI Jr. et al., 1991).

Segundo Necchi Jr. (2004), a técnica do mapeamento é a que fornece resultados mais precisos e confiáveis sobre a abundância da comunidade. Esta metodologia consiste na marcação detalhada (estaqueamento) do trecho a ser mapeado, de modo que se forme uma rede com as unidades a serem amostradas. O local adequado para a aplicação desta técnica seria os rios com menos de 20 m de largura, que apresentem boa visibilidade e que permitam andar com segurança sobre o leito. A principal desvantagem do mapeamento é o longo tempo que se leva para sua execução, tornando-o por vezes inviável.

A Agência Ambiental dos Estados Unidos (STEVENSON & BAHLS, 2005), estabeleceu dois protocolos para a coleta do perifíton, os quais são descritos a seguir.

Amostragem multihabitat

1. Definir que trecho do rio será amostrado;
2. As estimativas visuais ou avaliações baseadas em transectos quantitativos podem ser usadas para determinar a porcentagem de cobertura de cada tipo de substrato e a abundância relativa de macrófitas, algas filamentosas e diatomáceas;
3. Coletar algas em todos os substratos e habitats (áreas de correnteza, de remanso, margens) disponíveis. O objetivo é coletar uma única amostra composta que seja representativa da comunidade de perifíton no trecho escolhido. A coleta nos habitats deve ser proporcional à sua área de cobertura. Coletar todos os substratos e habitats (áreas de correnteza, poções, áreas próximas às margens) na real proporção de sua cobertura aérea no trecho estudado. Em um trecho do rio, a luz, profundidade, substrato e velocidade da correnteza podem afetar a composição de espécies das comunidades do perifíton. Mudanças na composição de espécies de algas entre

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

habitats são evidentes como mudanças na cor e textura do perífíton. Pequenas quantidades (aproximadamente 5,0 ml ou menos de água contendo o substrato colonizado pelo perífíton) de subamostra de cada habitat é o suficiente;

4. Coletar espécimes de macroalgas com a mão em proporção à sua abundância relativa no trecho amostrado. Combinar todas as amostras em uma única caixa;

5. Colocar as amostras em um recipiente inquebrável de boca larga. Uma amostra de 125 ml é suficiente (BAHLS, 1993). Adicionar a quantidade de solução de Lugol (IKI) recomendada, o fixador M3, formalina a 4% tamponada, glutaraldeído a 2% ou outro conservante (APHA, 1995);

6. Colocar uma etiqueta permanente externamente ao *container* com as seguintes informações: nome do corpo d'água, localização, ponto de coleta, data, nome do coletor e fixador usado; e

Transportar as amostras ao laboratório em isopor com gelo (mantê-los frios e escuros) e estocar as amostras fixadas no escuro até que sejam processadas. Estocar as amostras de modo que o transporte não as derrame. Quando preservadas, checar o nível do fixador a cada duas semanas até que a avaliação taxonômica esteja concluída.

Amostragem de habitat único

A variabilidade devida a diferenças do habitat entre rios pode ser reduzida através da coleta do perífíton proveniente de uma única combinação de substrato/habitat que caracterize o trecho em estudo (ROSEN, 1995). Para resultados de comparação, a mesma combinação de substrato/habitat deverá ser amostrada em todos os rios estudados. Este tipo de amostragem deverá ser usado quando se quer avaliar a biomassa do perífíton.

É preciso definir o trecho a ser amostrado. A área amostrada para um único tipo de habitat pode ser menor do que a área para a amostragem multihabitat. Podem ser amostradas apenas áreas de correnteza ou remanso.

1. A combinação recomendada de substrato/habitat são pequenas pedras obtidas em áreas de correnteza com velocidades de 10-50 cm/seg (o perífíton coloniza pedras, ficando aderidos e crescendo sobre elas). Amostras deste habitat são geralmente mais fáceis de analisar do que habitats de pouca

correnteza porque contém menos quantidade de silte. Tais habitats são comuns na maioria dos rios. Em rios de baixada onde as regiões de correnteza são escassas, algas em locais escondidos ou em regiões de remanso podem ser coletadas. Substratos arenosos não são recomendados como um substrato alvo porque a composição das espécies na areia é limitada devido ao pequeno tamanho e natureza instável do substrato. Em grandes rios ou rios de baixada, o fitoplâncton deveria ser considerado como uma alternativa ao perifíton;

2. Coletar várias subamostras da mesma combinação de substrato/habitat e componha-as em uma única caixa. Três ou mais subamostras deveriam ser coletadas de cada trecho ou rio amostrado;

3. A área amostrada deve sempre ser determinada se a biomassa por unidade de área (ex: clorofila) for medida;

4. Se o plano for avaliar amostras para estimar clorofila *a*, não preserve as amostras até que elas sejam sub-amostradas.

Os procedimentos de estocagem, transporte e processamento de amostras são semelhantes aos descritos para a coleta multihabitat.

13.4. Macrófitas

13.4.1. Distribuição e importância

Macrófitas são plantas aquáticas que crescem próximas ou dentro da água e podem estar emersas, submersas ou serem flutuantes. Elas são benéficas aos lagos porque fornecem abrigo para peixes e substrato para colonização por invertebrados. Também produzem oxigênio, o qual participa diretamente no funcionamento do lago, e fornecem alimento para alguns peixes e outros animais. Crowder & Painter (1991) ressaltam que a ausência de macrófitas em um sistema onde elas deveriam ocorrer pode indicar uma população de suporte reduzida de peixes e aves aquáticas. Além disso, a ausência de macrófitas pode indicar problemas de qualidade de água como resultado da turbidez elevada, herbicidas ou salinização. Por outro lado, uma superabundância de macrófitas pode resultar de elevadas cargas de nutrientes e interferir no fluxo de energia do ecossistema, além de prejudicar atividades como nado, navegação e pesca.

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

As macrófitas são excelentes indicadores de qualidade de água pelos seguintes motivos: respondem a nutrientes, luz, contaminantes tóxicos, metais, herbicidas, turbidez, variação do nível de água e salinização.

13.4.2. Coleta e amostragem

As macrófitas são em geral amostradas através de transectos ou fotografia aérea. O levantamento por meio de sensoriamento remoto é utilizado para classificar e mapear a vegetação aquática quando grandes áreas estão colonizadas; mas tem a desvantagem de não distinguir entre macrófitas emergentes ou flutuantes (ABDON et al., 1998) ou discriminar espécies de macrófitas pertencentes a um mesmo grupo ecológico (MALTHUS & GEORGE, 1997). Já sobrevôos em aviões ou helicópteros permitem a identificação de grupos ecológicos ou mesmo espécies, bem como a área colonizada (CARR & CHAMBERS, 1998).

As áreas mais rasas e com maiores aportes de nutrientes (como foz de tributários, por exemplo) devem ser priorizadas, pois concentram as populações de macrófitas. É importante que as áreas sejam georreferenciadas com o uso do GPS (Global Positioning System – Sistema de Posicionamento Global). Tais dados serão usados para se estimar as taxas de extinção e recolonização, para estudos da dinâmica das populações locais, por exemplo (THOMAZ et al., 2004).

Em caso de espécies que não formam dossel, como *Ottelia brasiliensis* e *Chara*, ferramentas como garras, ganchos ou rastelos são úteis para a coleta; já as plantas flutuantes, emergentes ou fixas com folhas flutuantes são mais facilmente coletadas.

A metodologia de amostragem dependerá do objetivo da pesquisa (determinação da biomassa, produtividade primária, decomposição). Aqui descreveremos a metodologia para determinação da biomassa segundo Thomaz et al. (2004), a qual utiliza as transecções, por ser utilizada mais freqüentemente.

Coleta para determinação da biomassa

Em geral, utiliza-se a quantidade de peso seco do material vegetal, através da secagem a 105 °C durante 24 horas (WETZEL & LIKENS, 1991).

Os compartimentos (ou estandes) amostrados devem ser previamente mapeados e numerados. Os pontos de coleta podem ser delimitados por meio de transectos flutuantes (madeira ou PVC) ou não (metálicos). A amostragem pode ser distribuída ao longo das transecções ou seguir o delineamento estratificado ao acaso. A área recomendada dos quadrados é de 0,06 m² a 0,5 m² (HARAMOTO & IKUSIMA, 1988; THOMAZ et al., 1998), sendo a área de 0,25 m² a recomendável para obtenção da biomassa (WETZEL & LIKENS, 1991).

Após a escolha dos estandes, caso estes sejam homogêneos, os quadrados devem ser lançados dentro de regiões representativas quanto à abundância e biomassa de macrófitas; em caso de estandes heterogêneos, poderá se fazer a amostragem estratificada. Outras medidas, tais como a profundidade e a distância da margem também deverão ser tomadas (FORTIN et al., 1989).

Para a coleta de macrófitas submersas, mergulhadores autônomos podem fazer a coleta do material (inviável em casos de elevada turbidez da água), ou utilizar caixas sem fundo colocadas sobre a vegetação (para locais rasos, com menos do que 2 m de profundidade). Um terceiro método é a utilização de dragas semelhantes às usadas para a fauna bentônica (Eckman, Petersen, Petit-Ponar). É importante ressaltar que o uso de dragas dependerá de fatores como a arquitetura da planta, por exemplo (THOMAZ et al., 2004). Ainda que menos utilizadas, as ecosondas também são aplicadas para estimar a biomassa de macrófitas submersas.

O número de repetições é difícil de ser estabelecido por causa da heterogeneidade encontrada nos ambientes aquáticos. Porém, Symbula & Day Jr. (1988) consideram adequado um *n* no qual o erro-padrão da média não ultrapasse 5% do valor da média, correspondendo a 10 repetições para coleta com *corers* com tubo de 7 cm de diâmetro. O número de repetições também dependerá do tamanho do quadrado, pois quadrados menores tenderão a possuir maior variabilidade da amostra.

Referências

ABDON, M. M.; POTT, V. J.; SILVA, J. S. V. Avaliação da cobertura por plantas aquáticas em lagoas da sub-região da Nhecolândia no Pantanal por meio de dados LANDSAT e SPOT. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 33, p. 1675-1681, 1998.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19. ed. Washington: American Public Health Association: American Water Works Association: Water Pollution Control Federation, 1995.

BAHLS, L. L. **Periphyton bioassessment methods for Montana streams**. Helena: Montana Water Quality Bureau, Department of Health and Environmental Science, 1993.

BIGGS, B. J. F. Patterns in benthic algae of streams. In: STEVENSON, R. J.; BOTHWELL, M. L.; LOWE, R. L. (Ed.). **Algal ecology: freshwater benthic ecosystems**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 31-55.

CARR, G. M.; CHAMBERS, P. A. Macrophyte growth and sediment phosphorus and nitrogen in a Canadian prairie river. **Freshwater Biology**, v. 39, p. 525-536, 1998.

COOKE, W. B. Fungi in sewage. In: GARETH JONES, E. B. (Ed.). **Recent advances in aquatic mycology**. London: Elek Science, 1976. p. 389-434.

CROWDER, L. B.; PAINTER, D. S. Submerged macrophytes in Lake Ontario: current knowledge, importance, threats to stability, and needed studies. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 48, p. 1539-1545, 1991.

FORTIN, M. J.; DRAPEAU, P.; LEGENDRE, P. Spatial autocorrelation and sampling design in plant ecology. **Vegetatio**, v. 83, p. 209-222, 1989.

GESSNER, M. O.; CHAUVET, E. Ergosterol to biomass conversion factors for aquatic Hyphomycetes. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, p. 502-507, 1993.

HAGLER, A. N.; MENDONÇA-HAGLER, L.C.; ROSA, C.A.; MORAIS, P.B. Yeasts as an example of microbial diversity in Brazilian ecosystems. **Oecologia Brasiliensis**, v. 1, p. 225-244, 1995.

HARAMOTO, T.; IKUSIMA, I. Life cycle of *Egeria densa* Planch., and an aquatic plant naturalized in Japan. **Aquatic Botany**, v. 30, p. 389-403, 1988.

HOLMES, N. T. H.; WHITTON, B. A. Phytobenthos of River Tees and its tributaries. **Freshwater Biology**, v. 11, p. 139-163, 1981.

INGOLD, C. T. Aquatic Hyphomycetes of decaying alder leaves. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 25, n. 4, p. 339-417, 1942.

MALTHUS, T. J.; GEORGE, D. G. Airborne remote sensing of macrophytes in Cefni reservoir, Anglesey, UK. **Aquatic Botany**, v. 58, p. 317-332, 1997.

MARTINS, M. T.; GAMBALE, W.; PAULA, C.R.; PELLIZARI, V.H. Utilização de bactérias e fungos como indicadores na avaliação de fatores fisiográficos que interferem nos processos de auto-depuração de um córrego sub-tropical. **Revista de Microbiologia**, v. 20, n. 3, p. 278-291, 1989.

NECCHI Jr., O. Amostragem de macroalgas bentônicas. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia**. São Carlos: Rima Editora, 2004. p. 167-177.

NECCHI Jr., O.; DIP, M. R.; GÓES, R. M. Macroalgae of a stream in southeastern Brazil: composition, seasonal variation and relation to physical and chemical variables. **Hydrobiologia**, v. 213, p. 241-250, 1991.

NECCHI, Jr., O.; MOREIRA, J. C. L. Longitudinal distribution of macroalgae in two tropical lotic ecosystems from southeastern Brazil. **Archiv für Hydrobiologie**, v. 135, p. 113-128, 1995.

ROSEN, B.H. Use of periphyton in the development of biocriteria. In: DAVIS, W.S.; SIMON, T.P. (Ed.). **Biological assessment and criteria: Tools for water resource planning and decision making**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1995. p. 209-215.

Amostragem de sedimentos para análises biológicas

SCHOELEIN-CRUSIUS, I. H.; AMORIM, C. L.; PIRES-ZOTTARELLI, J.; MILANEZ, A. I. Amostragem em limnologia: os fungos aquáticos. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia**. São Carlos: Rima Editora, 2004. p. 179-191.

STEVENSON, R. J.; BALHS, L. L. Peryphyton protocols. In: **Rapid bioassessment protocols for use in streams and wadeable rivers: Periphyton, benthic macroinvertebrates, and fish**. 2. ed. Disponível em: <<http://www.epa.gov/owow/monitoring/rbp/>>. Acesso em: 6 jun. 2005.

SYMBULA, M.; DAY Jr., F. D. Evaluation of two methods for estimating belowground production in freshwater swamp forest. **The American Midland Naturalist**, v. 120, n. 2, p. 405-415, 1988.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M.; SOUZA, D. C. Biomass and maximum colonization depth of *Egeria najas* Planchon (Hydrocharitaceae) at Itaipu Reservoir, Brazil. In: MONTEIRO, A.; VASCONCELOS, T.; CATARINO, L. (Ed.). **Management and ecology of aquatic plants**. EWRS SYMPOSIUM ON AQUATIC WEEDS, 10., 1998, Lisboa. *Proceedings...* Lisboa: EWRS/Associação Portuguesa dos Recursos Hídricos, 1998. p. 223-226.

THOMAZ, S. M.; BINI, L. M.; PAGIORO, T. A. Métodos em limnologia: macrófitas aquáticas. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia**. São Carlos: Rima Editora, 2004. p. 193-212.

VIS, M. L. Intersimple sequence repeats (ISSR) molecular markers to distinguish gametophytes of *Batrachospermum boryanun* (Batrachospermales, Rhodophyta). **Phycologia**, v. 38, p. 70-73, 1999.

WETZEL, R. G.; LIKENS, G. **Limnological analyses**. New York: Springer Verlag, 1991. 391p.