



Meio Ambiente

A intensificação dos estudos ambientais trouxe, em seu bojo, a necessidade de uma constante melhoria nos procedimentos e métodos de amostragem de solo, de água e de sedimento. Pela interação de diversos fatores, as amostras provenientes desses componentes da paisagem, para fins de avaliação de qualidade ambiental, requerem análises diferenciadas, fato que implica em procedimentos de coletas também diferenciados. Para cada situação há técnicas específicas, que incluem desde a distribuição espacial dos locais de amostragem, até os procedimentos de acondicionamento e de transporte das amostras.

O presente manual é destinado a todos aqueles que trabalham com o meio ambiente e tem o propósito de subsidiar as amostragens de campo, seja da matriz solo, água ou sedimentos, com a finalidade de enfatizar os cuidados e critérios de coleta a serem adotados, para que as amostras sejam as mais representativas possíveis do local a ser amostrado.

Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento

Embrapa

Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos

Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos

Editores técnicos

Heloisa Ferreira Filizola

Marco Antônio Ferreira Gomes

Manoel Dornelas de Souza



Embrapa

***Manual de Procedimentos de
Coleta de Amostras em Áreas
Agrícolas para Análise da
Qualidade Ambiental:
Solo, Água e Sedimentos***

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio Ambiente
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

***Manual de Procedimentos de
Coleta de Amostras em Áreas
Agrícolas para Análise da
Qualidade Ambiental:
Solo, Água e Sedimentos***

Editores técnicos

**Heloisa Ferreira Filizola
Marco Antônio Ferreira Gomes
Manoel Dornelas de Souza**

Embrapa Meio Ambiente
Jaguariúna, SP
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 13820-000 Jaguariúna, SP
Fone: 19-3867-8750 Fax: 19-3867-8740
sac@cnpma.embrapa.br www.cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicações:

Cláudio Cesar de Almeida Buschinelli, Heloisa Ferreira Filizola, Ladislau Araújo Skorupa (Presidente), Manoel Dornelas de Souza, Maria Amélia de Toledo Leme, Maria Conceição Peres Young Pessoa, Marta Camargo de Assis, Osvaldo Machado R. Cabral, Sandro Freitas Nunes.

Revisão de texto
Heloisa Ferreira Filizola

Editoração eletrônica
Silvana C. Teixeira Estevão

Normalização bibliográfica
Maria Amélia de Toledo Leme

Capa
Manoel Dornelas de Souza

Projeto gráfico
Silvana C. Teixeira Estevão

Fotos da capa
Arquivo Embrapa Meio Ambiente

1ª edição

1ª impressão (2006): 1000 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei n.º 9610).

É permitida a reprodução parcial do conteúdo deste livro desde que citada a fonte.

CIP. Brasil. Catalogação na publicação.

Filizola, Heloisa Ferreira

Manual de procedimentos de coleta de amostras em áreas agrícolas para análise da qualidade ambiental: solo, água e sedimentos / editado por Heloisa Ferreira Filizola, Marcos Antonio Ferreira Gomes e Manoel Dornelas de Souza. - Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2006. 169p. il.

ISBN 85-85771-43-7

1. Solo - Coleta - Amostra. 2. Água - Coleta - Amostra. 3. Sedimento - Coleta - Amostra. I. Gomes, Marco Antonio Ferreira. II. Souza, Manoel Dornelas de. III. Título.

CDD 631.417 202

Autores

Adriana Marlene Moreno Pires

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Agrônoma, D. Sc. em Solos e Nutrição de Plantas, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. adriana@cnpma.embrapa.br

Anibal Ramadan Oliveira

Biólogo, M.Sc em Zoologia, Departamento de Zoologia, IB-USP, Caixa Postal 11461, São Paulo, SP, CEP 05422-970. arolivei@carpa.ciagri.usp.br

Heloisa Ferreira Filizola

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Pedólogo, D.Sc. em Ciências da Terra, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. filizola@cnpma.embrapa.br

Júlio Ferraz de Queiroz

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Oceanólogo, D.Sc. em Ciências Agrárias, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. jqueiroz@cnpma.embrapa.br

Manoel Dornelas de Souza

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Agrônomo, Dr. em Solos e Nutrição de Plantas, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. dornelas@cnpma.embrapa.br

Marco Antônio Ferreira Gomes

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Geólogo, D.Sc em Solos e Nutrição de Plantas, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. gomes@cnpma.embrapa.br

Marcos Antônio Vieira Ligo

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Ecólogo, D.Sc. em Ciclagem de Nutrientes, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. ligo@cnpma.embrapa.br

Mariana Pinheiro Silveira

Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Ecóloga, M. Sc. em Ecologia, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. mariana@cnpma.embrapa.br

Raquel Ghini

Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em Fitopatologia, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. raquel@cnpma.embrapa.br

Rita Carla Boeira

Pesquisadora da Embrapa Meio Ambiente, Agrônoma, D. Sc. em Ciência do Solo, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. rcboeira@cnpma.embrapa.br

Sonia Cláudia Nascimento de Queiroz

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Química, D. Sc. em Química, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. sonia@cnpma.embrapa.br

Sueli dos Santos Freitas

Pesquisadora do IAC, Microbiologista, D. Sc. em Solos e Nutrição de Plantas, Av. Barão de Itapura, 1481, Caixa postal 28, Campinas, SP, CEP 13001-970. sfreitas@iac.sp.gov.br

Vera Lúcia Ferracini

Pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Química, D. Sc. em Química Orgânica, Rod. SP 340, km 127,5, Caixa Postal 69, Jaguariúna, SP, CEP 13820-000. veraf@cnpma.embrapa.br

Apresentação

A Embrapa Meio Ambiente desenvolveu ao longo da última década um conjunto de métodos de análise ambiental em diferentes condições naturais e situações agropecuárias. Dada a diversidade das regiões brasileiras em que atuou, tornou-se excelência em termos de oferta de métodos e indicadores visando a qualidade ambiental de áreas rurais.

Neste *“Manual de Procedimentos de Coleta de Amostras em Áreas Agrícolas para Análise da Qualidade Ambiental: Solo, Água e Sedimentos”* a equipe de pesquisa da Embrapa Meio Ambiente envolvida com o tema qualidade ambiental, especialmente de água e solo, com a colaboração de pesquisadores do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e do Instituto Biológico (IB) de São Paulo, apresenta procedimentos e métodos para a coleta de amostras de solo, água e sedimentos.

O Manual que tem como editores Heloisa F. Filizola, Marco Antônio F. Gomes e Manoel Dornelas de Souza, pesquisadores da Embrapa Meio Ambiente, tem o mérito de reunir em uma única publicação, um conjunto de métodos, instrumentos e boas práticas que vão desde o planejamento, escolha do tipo de amostragem, a coleta, o transporte e o armazenamento de amostras de solos, de água e de sedimentos abrangendo uma diversidade de situações e análises ambientais.

Na Parte I do Manual os editores destacam questões gerais como a importância da amostragem, a escolha do tipo de amostragem, o seu planejamento e execução, as fontes comuns de erros e os processos de contaminação de amostras.

Na Parte II do Manual, o foco é a amostragem de solos, destacando-se as técnicas, planejamento, os tipos de amostragem e suas aplicações. São dedicados capítulos especiais para as particularidades que cercam a amostragem

de solos para a análise de metais pesados, de nitratos, de agrotóxicos e de parâmetros biológicos.

Já na Parte III do Manual, os editores destacam a amostragem de águas superficiais, a preservação e o transporte de amostras, apresentando para tanto os procedimentos para fins de análise biológica envolvendo parâmetros como fitoplâncton, zooplâncton, bactérias; análise de nitratos e metais pesados e; de agrotóxicos, neste caso com recomendações de procedimentos também para a amostragem de águas subterrâneas.

Finalmente, a Parte IV do Manual, destaca as especificidades da amostragem de sedimentos para análise de metais pesados em corpos d'água como rios, riachos, córregos, lagos, lagoas e represas; para análise de agrotóxicos de sedimentos; para análises físico-químicas de sedimentos de lagos e represas/ tanques de aquicultura; e para análises biológicas de sedimentos utilizando-se, entre outros organismos, os macroinvertebrados bentônicos, as macrófitas, os fungos aquáticos e as macroalgas.

É, assim, um Manual básico de boas práticas de amostragem de solo, água e sedimentos, fundamental para pesquisadores, extensionistas rurais, técnicos de organizações não-governamentais, comunidades rurais e mesmo para o cidadãos comuns que atuam no dia-a-dia da educação ambiental e do monitoramento e gestão ambiental em quaisquer regiões brasileiras envolvendo uma diversidade de problemas ambientais originadas de atividades agropecuárias.

Paulo Choji Kitamura

Chefe Geral da Embrapa Meio Ambiente

Prefácio

A intensificação dos estudos ambientais trouxe, em seu bojo, a necessidade de uma constante melhoria nos procedimentos e métodos de amostragem de solo, de água e de sedimento. Pela interação de diversos fatores, as amostras provenientes desses componentes da paisagem, para fins de avaliação de qualidade ambiental, requerem análises diferenciadas, fato que implica em procedimentos de coletas também diferenciados. Para cada situação há técnicas específicas, que incluem desde a distribuição espacial dos locais de amostragem, até os procedimentos de acondicionamento e de transporte das amostras.

O presente manual é destinado a todos aqueles que trabalham com o meio ambiente e tem o propósito de subsidiar as amostragens de campo, seja da matriz solo, da matriz água, ou de sedimentos, com a finalidade de enfatizar os cuidados e critérios de coleta a serem adotados, para que as amostras sejam as mais representativas possíveis do local a ser amostrado.

A seguir serão detalhados procedimentos para as fases de levantamentos preliminares, localização dos pontos de coleta, frequência e formas de amostragem, acondicionamento, estocagem e transporte dos materiais coletados. Serão também descritos os materiais utilizados, de modo que se consiga, entre outras vantagens, retardar ou inibir a ação biológica, assim como a volatilização e a hidrólise de compostos, com o objetivo de assegurar as condições mais próximas possíveis daquelas da hora e do local de coleta.

Os editores

Sumário

Parte I - GENERALIDADES

Capítulo 1: A importância e as formas de amostragem em estudos ambientais

Heloisa F. Filizola, Marco Antônio F. Gomes e

<i>Manoel Dornelas de Souza</i>	17
1.1. Processos Contaminantes	17
1.2. A Amostragem	18
1.2.1. O Planejamento da Amostragem	19
1.2.1.1. Fontes de Erro	20
1.2.2. Frequência de Amostragem	21

Parte II - SOLOS

Capítulo 2: A amostragem de solos

Heloisa F. Filizola, Marco Antônio F. Gomes e

<i>Manoel Dornelas de Souza</i>	25
2.1. Técnicas de amostragem	25
2.1.1. Amostragem contínua com tubo	25
2.1.2. Amostragem por tradagens sucessivas	26
2.2. O planejamento da amostragem	27
2.2.1. Avaliação por microbacias	28
2.2.2. Amostragem ao longo de vertentes	29
2.3. Plano de amostragem	30
2.3.1. Amostragem por critérios ou determinista	30
2.3.2. Amostragem aleatória simples	30
2.3.3. Amostragem aleatória estratificada	31
2.4. Amostras simples ou pontuais	32
2.5. Amostras pontuais múltiplas	32
2.6. Amostras compostas	32
2.7. Amostragem da água ou da solução do solo	33

Capítulo 3: Amostragem de solos para análise de metais pesados	
<i>Heloisa F. Filizola, Manoel Dornelas de Souza e</i>	
<i>Marco Antônio F. Gomes</i>	37
3.1. Como amostrar	39
3.1.1. Uso contínuo de fertilizantes	40
3.1.2. O uso contínuo de lodo de esgoto	40
3.2. Locais de amostragem	42
3.3. Frequência da amostragem	43
Capítulo 4: Amostragem de solos para análise de nitratos	
<i>Manoel Dornelas de Souza e Adriana M. M. Pires</i>	49
4.1. Determinação do plano de amostragem	50
4.2. Coleta das amostras de solo	51
Capítulo 5: Amostragem de solos para análise de agrotóxicos	
<i>Marco Antônio F. Gomes, Heloisa F. Filizola, Manoel Dornelas de Souza,</i>	
<i>Vera L. Ferracini e Sonia C. N. Queiróz</i>	53
Capítulo 6: Amostragem de solo para análises biológicas	
<i>Raquel Ghini, Sueli dos Santos Freitas e</i>	
<i>Anibal Ramadan Oliveira</i>	57
6.1. Representatividade da amostra	58
6.2. Coleta das amostras de solo	64
6.3. Transporte e armazenamento	67
6.4. Amostragem para isolamento ou quantificação de microrganismos	
 rizosféricos	70
Parte 3 - ÁGUA	
Capítulo 7: Amostragem de água para análises biológicas	
<i>Mariana Pinheiro Silveira e Júlio Ferraz de Queiroz</i>	83
7.1. Amostragem das águas de superfície	83
7.1.1. Rios	83
7.1.1.1. Localização dos pontos de amostragem	83
7.1.1.2. Metodologia de amostragem	84
7.1.2. Lagos, lagoas e represas	88
7.1.2.1. Localização dos pontos de amostragem	89
7.2. Parâmetros biológicos	89
7.2.1. Fitoplâncton	89
7.2.2. Zooplâncton	94
7.2.2.1 O zooplâncton como bioindicador de	
qualidade de água	97
7.2.3 Bactérias	98

Capítulo 8: Amostragem de água para análise de nitrato e de metais pesados

Adriana M. M. Pires, Manoel Dornelas de Souza e

<i>Marcos Antonio Vieira Ligo</i>	103
8.1. Determinação do local e da frequência de amostragem	105
8.2. Coleta das amostras de água	105
8.3. Preservação das amostras	106

Capítulo 9: Amostragem de água para análise de agrotóxicos

Sonia C. N. Queiroz, Vera L. Ferracini e Marco A. F. Gomes

<i>.....</i>	109
9.1. Conservação da amostra	111
9.2. Amostragem	112
9.2.1 Água superficial	112
9.2.2. Água subterrânea	113
9.3. Extração em fase sólida de amostras <i>in situ</i>	113
9.4. Identificação e Registro	114

Parte 4 - SEDIMENTOS

Capítulo 10: Amostragem de sedimentos para análise de metais pesados

Marco Antonio Ferreira Gomes e Heloisa F. Filizola

<i>.....</i>	119
10.1. Planejamento da amostragem	119
10.1.1. Número de amostras e de locais de coleta	119
10.2. Amostradores	120
10.2.1. Amostrador manipulado por mergulhador	120
10.2.2 Amostradores a êmbolo ou pistão	121
10.2.3. Amostradores vibratórios	122
10.2.4. Dragas	122
10.3. Amostragem de sedimentos em rios, córregos e riachos	123
10.4. Amostragem de sedimentos em lagos, represas e açudes	124
10.5. Recuperação e acondicionamento das amostras	124

Capítulo 11: Amostragem de sedimento para análise de agrotóxicos

Vera L. Ferracini, Sonia C. N. Queiroz e Marco A. F. Gomes

<i>.....</i>	127
11.1. Amostragem	128
11.2. Equipamentos de Amostragem	131
11.2.1. Amostradores de Garra	132
11.2.2. Amostradores de Núcleo	132
11.3. Transporte das amostras	133
11.4. Considerações finais	133

Capítulo 12: Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análises físico-químicas

Julio Ferraz de Queiroz, Rita Carla Boeira e

<i>Mariana Pinheiro Silveira</i>	137
12.1. Tipos de coletores para sedimentos	139
12.2. Local de amostragem	142
12.3. Metodologias de amostragem	144
12.3.1. Procedimento de coleta com o coletor simplificado	147
12.3.1.1. Amostragem de sedimentos em séries sucessivas com a utilização do coletor simplificado	150

Capítulo 13: Amostragem de sedimentos para análises biológicas

Mariana Pinheiro Silveira, Julio Ferraz Queiroz e

<i>Rita Carla Boeira</i>	153
13.1. Macroinvertebrados bentônicos	153
13.1.1. Habitat e vantagens de uso	153
13.1.2. Coleta e amostragem	153
13.1.3. Processamento de amostras	156
13.2. Fungos aquáticos	158
13.2.1. Distribuição e importância	158
13.2.2. Coleta e amostragem	158
13.2.3. Processamento de amostras	159
13.3. Macroalgas Bentônicas e Perifiton	160
13.3.1. Habitat e importância	160
13.3.2. Coleta e amostragem	161
13.4. Macrófitas	164
13.4.1. Distribuição e importância	164
13.4.2. Coleta e amostragem	165

Parte I

GENERALIDADES

Capítulo 1

A importância e as formas de amostragem em estudos ambientais

Heloisa Ferreira Filizola, Marco Antônio F. Gomes e

Manoel Dornelas de Souza

1.1. Processos contaminantes

Nas áreas agrícolas, os solos e as plantas geralmente recebem uma grande carga de agrotóxicos, seja na forma de nutrientes ou de defensivos agrícolas, que podem permanecer no solo, ser absorvidos pelas plantas, ser carregados para as águas superficiais, ou, ainda, lixiviados, atingindo as águas subterrâneas. As águas provenientes de pastos, currais e pocilgas, além da contribuição da carga orgânica, tendem a aumentar o índice de coliformes fecais e nutrientes nos cursos de água, lagos ou represas. Como a contaminação nas áreas rurais pode provir de várias fontes, é designada como contaminação por fontes difusas. Os despejos industriais, que podem ser encontrados tanto em áreas rurais como urbanas, são classificados como fonte de contaminação pontual.

Os processos contaminantes podem ser separados em eventuais ou rotineiros. A contaminação eventual é aquela causada por um aporte muito grande, de maneira ocasional, de um produto perigoso à vida, no solo ou diretamente na água. Este tipo de contaminação é de difícil detecção por meio de programas de monitoramento.

A contaminação rotineira é aquela causada por lançamentos contínuos de produtos potencialmente contaminantes, como os agrotóxicos. O monitoramento da qualidade das águas e dos solos geralmente tem como objetivo detectar este tipo de poluição. Esse tipo de contaminação geralmente tende a ocorrer nas áreas de atividades agropecuárias.

1.2. A Amostragem

A amostragem é de importância fundamental na avaliação e no controle da contaminação das águas, dos solos, dos sedimentos e dos produtos agrícolas, não se constituindo unicamente na coleta das amostras a serem analisadas, mas envolvendo desde o planejamento da amostragem até a interpretação dos dados que, posteriormente permitirão a tomada de decisões relativas às exigências de tratamento da área, caso esteja contaminada, e o controle das fontes de contaminação.

A amostragem envolve um bom conhecimento do local e seu entorno, do problema em questão (contaminação por agrotóxicos, metais pesados, etc.), a escolha dos pontos mais representativos e dos equipamentos mais adequados e os métodos de preservação das amostras. O objetivo da amostragem é coletar um volume de água, de solo, de sedimento ou planta suficiente para as análises a serem realizadas.

As amostras deverão ser identificadas por um número ou sigla, local de coleta, data e hora. Para tanto, devem ser utilizados etiquetas e marcadores resistentes à água, ao manuseio e à estocagem. Registrar em um caderno informações sobre o local amostrado, em especial as coordenadas geográficas obtidas por meio de GPS, dados sobre o tipo da amostra, o amostrador utilizado, as condições do tempo, além dos dados inseridos nas etiquetas. O volume de 1 litro de água ou 100g de solo, é suficiente para a maioria das análises. Deve-se utilizar recipientes separados para análises microbiológicas, de agrotóxicos e de metais pesados.

Os frascos para a coleta de amostras de água deverão ser de vidro de borossilicato, de preferência escuros, ou de polietileno, e resistentes a álcalis. Tampas rosqueáveis de plástico inerte constituem a melhor forma de vedação, já que as tampas de borracha podem desintegrar-se ou liberar metais-traço quando na presença de solventes orgânicos e as tampas de vidro não são adequadas para soluções alcalinas.

Os frascos a serem usados deverão ser rigorosamente limpos com detergentes apropriados, enxaguados com água bidestilada e, a seguir, com acetona de alta pureza e serem mantidos sempre vedados.

A importância e as formas de amostragem em estudos ambientais

Dependendo do tipo de análises a serem realizadas, os solos poderão ser acondicionados em vidros, frascos plásticos ou de polietileno de boca larga ou ainda em sacos plásticos. Os primeiros encarecem o processo de amostragem, mas certos tipos de compostos podem reagir com o plástico, impedindo que as amostras coletadas neste tipo de material sejam adequadas.

Para a coleta de solos os frascos utilizados para o acondicionamento das amostras devem ser previamente tratados, para limpeza e descontaminação, com ácido nítrico 10% por 24hs e enxaguados cinco vezes com água deionizada (CASARINI et al., 2001).

Deve-se procurar sempre transportar as amostras do local de coleta para o laboratório em recipientes, como caixas de isopor ou caixas térmicas, que as protejam de luz e do aumento de temperatura. Se o tempo necessário para a coleta e o transporte superar algumas horas o uso de gelo pode ser uma alternativa. Se o tempo for mais prolongado, passando de 12 horas, deve-se usar gelo seco com vedação total da caixa térmica ou caixa de isopor.

1.2.1. O Planejamento da Amostragem

Em áreas agrícolas, a avaliação e o monitoramento em especial da água, são geralmente realizados em microbacias, que são consideradas como unidades elementares da paisagem. De acordo com a situação a ser avaliada, o monitoramento poderá ainda ser executado na escala da vertente, em parcelas e mesmo ao longo da rede de drenagem da área. A escolha da escala de trabalho dependerá do tipo de contaminação a ser avaliado.

A identificação das possíveis fontes de poluição é fator fundamental na localização dos pontos de monitoramento e na frequência da amostragem.

Para a elaboração deste planejamento é necessário o conhecimento das características da área tais como a hidrografia, os solos (tipos e textura), a geologia, a topografia, em especial a declividade, os parâmetros climáticos como a pluviosidade, o regime das chuvas e das temperaturas, os ventos, sinais de erosão e manejo atual e passado da área.

Neste último item deverão ser levantadas informações relativas ao uso do solo, tais como a localização das áreas de mata e de cultura, os tipos de cultura praticados, as práticas culturais adotadas, os produtos utilizados nas lavouras, tais como agrotóxicos, fertilizantes e corretivos, em que dosagem e qual a frequência e datas de aplicação dos mesmos.

É importante que a localização dos pontos de coleta sejam georreferenciados por GPS, conforme já mencionado anteriormente ou, no mínimo, com trena e bússola, para a avaliação da distribuição espacial do(s) elemento(s) contaminante(s). Dessa forma, a localização das áreas com solos contaminados permitirá formular inferências sobre a possibilidade de contaminação dos corpos de água superficiais por carreamento do solo, ou, ainda, de acordo com as características do(s) elemento(s) contaminante(s), a poluição dos lençóis freáticos por lixiviação.

No caso de solos e solução do solo, a escolha dos pontos e da profundidade da amostragem mais eficientes está sujeita ao que está se procurando (metais pesados, resíduos de agrotóxicos, nitrato). Por exemplo, se o agrotóxico procurado for pouco solúvel e tiver o coeficiente de partição do carbono orgânico (K_{oc}) alto, a amostragem do solo não precisará ser muito profunda, já que sua mobilidade é baixa. Mas se o solo tiver sido arado após a aplicação de um herbicida, a coleta deverá ser feita entre 25-30 cm de profundidade, já que este intervalo corresponde à profundidade média de aração.

As diferentes formas de planejamento da amostragem serão discutidas nos capítulos a seguir.

1.2.1.1. Fontes de erro

Três tipos de erro estão associados à amostragem: a) à amostragem em si, b) à escolha dos locais e c) aos erros analíticos. Como estes erros são cumulativos devem ser levados em consideração no planejamento da amostragem (DICK et al., 1996).

a) Erros de amostragem: ocorrem porque não é possível analisar a totalidade da área e as amostras coletadas representam apenas um pequeno subgrupo.

A importância e as formas de amostragem em estudos ambientais

b) Erros de seleção dos locais: derivam da retirada de amostras não representativas da área, como por exemplo, amostras de solo coletadas em carreadores.

c) Erros analíticos: podem resultar da manipulação, do recipiente de coleta, da estocagem, do preparo e da técnica analítica.

Aumentando-se o número de amostras, aumenta-se a precisão, diminuindo assim o impacto do erro de amostragem. Já o erro de seleção pode ser reduzido com um bom plano de amostragem.

1.2.2. Frequência de amostragem

Os períodos de coleta são tão importantes quanto a escolha dos locais e também não são fixos, pois estão condicionados ao que será monitorado. O processo produtivo nas áreas agrícolas pode ser subdividido em várias etapas: preparo do solo, que inclui, de maneira geral, aração, gradagem, aplicação de herbicidas pré-plantio, fertilização e calagem; plantio; aplicações de defensivos agrícolas pré e pós-emergentes ao longo do período da cultura e colheita. Assim, a frequência de amostragem vai estar subordinada aos contaminantes a serem monitorados e das etapas citadas acima. A frequência de amostragem para cada matriz e possíveis contaminantes será discutida nos capítulos a seguir.

Referências

CASARINI, D.C.P.; DIAS, C.L.; LEMOS, M.M.G. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB – Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 2001. 246p.

DICK, R.P.; THOMAS D.R.; HALVORSON, J.J. Standardized methods sampling and sample pretreatment. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. 410p. (SSSA Special Publication, 49).

Parte II

SOLOS

Capítulo 2

A amostragem de solos

*Heloisa Ferreira Filizola, Marco Antônio Ferreira Gomes
e Manoel Dornelas de Souza*

2.1. Técnicas de amostragem

A escolha das técnicas de amostragem está condicionada à localização dos resíduos no perfil do solo, do tipo de solo e das propriedades dos contaminantes que estão sendo monitorados. Há uma variedade muito grande de técnicas de coleta de solos na zona insaturada. Estas técnicas podem ser divididas em dois tipos: coleta de amostra contínua por meio de um tubo inserido no solo, manualmente ou por meio de um equipamento hidráulico; e coleta segmentada do solo por tradagens sucessivas.

2.1.1. Amostragem contínua com tubo

Na amostragem contínua de solo não perturbado são utilizados tubos de no mínimo 50 mm de diâmetro para garantir a quantidade necessária de solo para mais de uma análise, caso seja necessário repeti-la. Tubos deste diâmetro, geralmente podem ser inseridos manualmente até uma profundidade aproximada de 0,5 m. De 1 a 2 m de profundidade é necessária a utilização de sondas pequenas de impacto e em maiores profundidades deve ser utilizado equipamento de perfuração convencional. O tubo de amostragem deve ser cuidadosamente limpo antes da sua inserção no solo, conforme o item 1.2. Esta forma de coleta é usada para a coleta de um perfil completo de solo, o qual, após a coleta, é seccionado nas profundidades de interesse.

Existem dois problemas relacionados a esta técnica. O primeiro está relacionado à estrutura do solo do horizonte superior. Geralmente a

estrutura é solta ou em grânulos, o que favorece o deslocamento destes ao longo das laterais do tubo, quando este é pressionado para baixo, contaminando assim o solo em maior profundidade. Segundo Norris et al. (1991), uma forma de evitar este inconveniente é congelar o tubo com o solo coletado, abri-lo e manualmente retirar o material deslocado ao longo do tubo.

Ainda segundo os autores acima, outra forma de evitar o problema seria coletar o horizonte superior separadamente, alargar o furo de coleta, forrá-lo para impedir que o material de cima se desloque e inserir um novo tubo a partir desta profundidade.

O segundo problema é a possibilidade de compactação ou expansão do solo dentro do tubo, o que faz com que o comprimento da amostra no tubo não seja equivalente à profundidade coletada. Esta alteração normalmente está ligada a uma mudança da textura do solo, ou quando a rocha é encontrada.

2.1.2. Amostragem por tradagens sucessivas

É a mais utilizada, permitindo que a coleta ultrapasse os 10m de profundidade sem necessidade de equipamentos pesados ou sofisticados. O formato da extremidade do trado manual de aço inox a ser utilizado vai depender do tipo de solo a ser amostrado: normalmente utiliza-se rosca para materiais coesos (argilosos) e caneco para materiais granulares (arenosos). Esta forma de coleta não compacta o solo, permitindo que a profundidade amostrada seja realmente aquela que o trado atingiu. Outra vantagem é que dado o diâmetro do trado (entre 7 e 8,5cm) a quantidade de solo retirada, além de ser mais do que suficiente para as análises, será, dada a quantidade, mais representativa.

Um aspecto importante é o cuidado que o tradador deve ter ao introduzir o trado no solo para evitar que material de superfície e de profundidades menores sejam incorporados aos de maior profundidade.

Os demais equipamentos de coleta são: enxada para limpeza da superfície do solo, espátulas de aço inoxidável para retirada das amostras e bandejas de polietileno para homogeneização das amostras, no caso de amostras compostas.

A amostragem de solos

A cada ponto de amostragem, a vegetação, a cobertura vegetal morta e o material grosseiro da superfície do terreno devem ser removidos com a enxada, tomando-se o devido cuidado para não remover uma camada muito espessa da superfície do solo. A camada superficial (1 a 5 cm) deve ser coletada manualmente, com o auxílio de um anel também de aço inoxidável, com diâmetro de 5 cm e a altura de acordo com a profundidade a ser coletada.

Após cada trado, o solo deve ser retirado do trado com o auxílio de uma espátula e colocado na bandeja de homogeneização, no caso de amostras compostas. A porção superior da amostra deve ser descartada, quando esta não for a coleta dos 10 primeiros centímetros; a porção aderida ao trado também deverá ser desprezada, de modo a evitar a contaminação da amostra com metais originários da ferramenta, assim como as laterais da amostra, para eliminar ao máximo qualquer possibilidade de contaminação do solo acima. As amostras simples deverão ser colocadas diretamente no saco plástico ou no frasco de boca larga, etiquetadas e identificadas.

A quantidade de amostra não precisa ser muito grande, 100g são suficientes, pois normalmente são utilizados de 10 a 20g de Terra Fina Seca ao Ar (TFSA), para a quantificação de metais pesados ou de agrotóxicos existentes.

A cada nova amostragem, em maior profundidade, os equipamentos de campo devem ser tratados com ácido nítrico e enxaguados com água deionizada (CASARINI et al., 2001).

Após a coleta das subamostras, o solo coletado deverá ser homogeneizado manualmente, utilizando-se um par de luvas descartáveis específicas para cada bandeja, formando uma amostra composta para cada profundidade. Esta deverá então ser colocada no frasco ou saco plástico etiquetado e identificado e acondicionada para o transporte ao laboratório.

2.2. O Planejamento da Amostragem

Como já dito, em áreas agrícolas, a avaliação e o monitoramento são geralmente feitos a partir de microbacias, mas em função da situação a

ser avaliada, o monitoramento poderá ainda ser executado na escala da vertente, ou em parcelas.

2.2.1. Avaliação por microbacia

Uma microbacia pode comportar mais de um tipo de solo e de atividades agrícolas. A variação do solo, quando existir, tem como consequência um funcionamento hídrico diferenciado dentro da microbacia, assim em solos arenosos a infiltração vertical da água é mais intensa que em outros tipos de solos e, deste ponto de vista, seriam os solos que teriam maior capacidade de lixiviação de agrotóxicos para as águas subterrâneas, enquanto que, nos solos argilosos, a tendência maior seria o retardamento da infiltração da solução do solo com a retenção, pela argila e pelos óxidos de ferro, de alguns compostos orgânicos, ou ainda a mudança de direção do fluxo de água que pode passar de vertical a lateral.

As atividades agrícolas são o ponto de partida para a seleção das moléculas/compostos a serem monitorados, sejam elas orgânicas (agrotóxicos,) ou inorgânicas (nitrato, nitrito, amônio e metais pesados) já que mesmo que existam aqueles comuns a várias culturas, alguns deles são específicos para certos tipos de culturas. Assim, nas áreas cultivadas com soja, não há razão para monitoramento do N, enquanto potencial contaminante. Assim, o primeiro passo é delimitar as áreas com solo e culturas diferentes. Em seguida, deverá ser feito o levantamento dos agrotóxicos utilizados em cada cultura e as épocas de aplicação.

Os agrotóxicos levantados deverão ser então agrupados em classes segundo seu grau de toxicidade, sua meia vida, seu K_{oc} , seu potencial de lixiviação, que são os parâmetros utilizados para a seleção daqueles que devem ser monitorados e em que matriz – solo, solução do solo ou água subterrânea. No capítulo 5, estes parâmetros serão melhor definidos.

A partir da delimitação dos tipos de solos, da definição dos agrotóxicos que serão monitorados e da época de aplicação pode-se então definir os locais onde o solo deverá ser coletado, a profundidade e a periodicidade das coletas. A profundidade e os períodos de coleta deverão

A amostragem de solos

estar relacionados às datas de aplicação e de acordo com os parâmetros físico-químicos citados acima.

2.2.2. Amostragem ao longo de vertentes (Fig. 1)

Na amostragem ao longo de uma vertente é importante o conhecimento dos solos, dos fluxos hídricos internos ao longo da mesma e da profundidade e declividade do lençol no terço inferior da vertente. Este tipo de avaliação é muito utilizado quando a microbacia selecionada é homogênea, tanto em termos de solos, como em termos de cultura, pois a amostragem feita ao longo de uma vertente, seria representativa de toda a microbacia. Permite também, a partir dos resultados das análises, juntamente com os dados acima (tipo de solo, hídricos e cultura), a formulação de modelos de previsão de contaminação da água subterrânea.

Em qualquer um dos casos acima, a amostragem dos solos pode ser feita por amostras simples ou pontuais, por amostras múltiplas, em torno e próximas a um ponto, que será considerado o ponto de coleta ou por amostra composta, cuja coleta é feita em vários pontos da área ou das parcelas e que depois são misturadas. Na condição de amostras múltiplas ou de amostra composta, cada porção amostrada é denominada de subamostra.

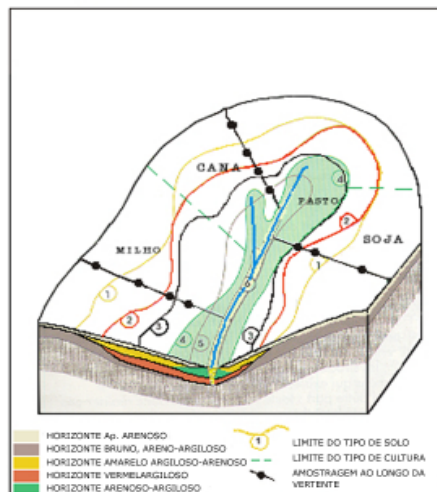


Fig. 1. Pontos de amostragem ao longo das vertentes de uma microbacia. Adaptado de Boulet (1990).

2.3. Plano de amostragem

O número e os locais de coleta devem ser definidos dentro do plano de amostragem específico de cada projeto. Este plano deverá ser preparado em função do objetivo do projeto. A primeira decisão a ser tomada para o planejamento da amostragem é se a área deverá ser seletivamente amostrada – amostragem por critérios; aleatoriamente amostrada ou dividida em subáreas para amostragem – amostragem aleatória estratificada (DICK et al., 1996).

2.3.1. Amostragem por critérios ou determinista

É apropriada para certas situações onde há claras evidências que é uma área representativa do problema, mas depende bastante da prática do investigador. Geralmente este tipo de amostragem não é recomendado por que não há maneira de avaliar a precisão/relação dos resultados já que estes são inteiramente dependentes do julgamento e bom senso do amostrador.

2.3.2. Amostragem aleatória simples

Este tipo de amostragem evita a subjetividade na amostragem. Uma das formas de executá-la é marcar uma rede ou grade de pontos (*grid*) sobre a área. A distância, horizontal e vertical, entre os pontos da rede, não é fixa pois é subordinada ao tamanho da área a ser amostrada, por exemplo, em parcelas experimentais pequenas (100 X 100m), geralmente a rede é de 10 X 10m.

Conforme a área a ser monitorada aumenta, o tamanho da grade também aumenta. É importante que esta grade seja desenhada e referenciada com as coordenadas de cada ponto de intersecção entre as linhas, com piquetes marcando, no campo, estes pontos. O ideal seria coletar o maior número de amostras possível, mas dado o custo das análises e o tempo a ser despendido,

A amostragem de solos

normalmente tratamentos estatísticos diversos são utilizados para a determinação do número mínimo de pontos a serem coletados e qual sua distribuição na rede (Fig. 2).

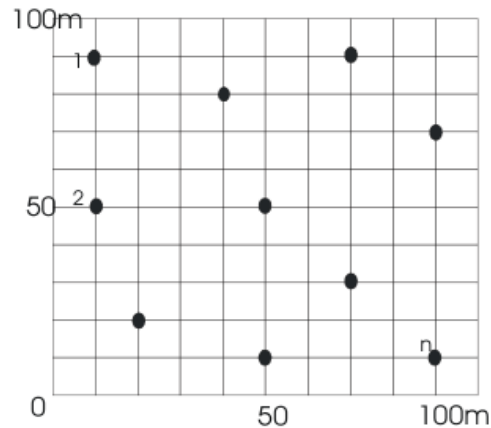


Fig. 2. Mapa de amostragem aleatória, com as dimensões, em escala, da área.

Um dos inconvenientes da amostragem aleatória é que a mesma fornece informações limitadas da distribuição espacial do que está sendo monitorado.

2.3.3. Amostragem aleatória estratificada

A amostragem aleatória estratificada é obtida coletando uma amostra aleatória dentro de cada subárea como explicado para a amostragem aleatória simples. As subáreas são definidas por suas características originais que podem ser identificadas. Estas podem ser: o tipo de solo, a topografia, ou as diferenças do uso do solo. A vantagem deste procedimento é que permite que o investigador caracterize cada subárea e melhore a precisão para estimar a área inteira da amostragem. As desvantagens são: trabalho maior para a amostragem e custos analíticos mais altos. Na Figura 1 pode ser encontrado um exemplo de delimitação das subáreas, tanto por tipo de solo, como por cultura .

2.4. Amostras simples ou pontuais

A amostragem pontual pode ser realizada de maneira determinista, aleatória ou em grade de pontos (*grid*). A amostra simples leva a resultados pontuais, já que a distribuição dos diferentes elementos no solo não é homogênea, podendo estar localmente concentrados ou mesmo não estarem presentes em outros locais.

Do conjunto dos resultados das amostras simples pode ser extraída a média da quantidade do(s) elemento(s) na área em avaliação e saber o máximo e o mínimo de cada um dos elementos presentes, mas como a amostra simples requer uma grande quantidade de pontos de coleta e de análises, para ser representativa, acaba tornando-se mais dispendiosa.

2.5. Amostras pontuais múltiplas (Fig. 3a)

As amostras múltiplas em torno e próximas a um ponto, que será considerado o ponto de coleta, tendem a diminuir o erro que a amostra simples pode induzir. Esta forma de amostragem pode também ser feita de forma determinista, aleatória ou em grade. Definido o ponto de coleta, são retiradas, em torno deste ponto, de 3 a 5 subamostras que serão misturadas e analisadas como se fossem a mesma amostra.

2.6. Amostra composta (Fig. 3b)

Para se obter uma amostra composta, a coleta é feita em vários pontos da área ou da parcela. O resultado analítico da amostragem composta é a média, não matemática, da quantidade do(s) elemento(s) procurado(s) na área ou parcela. Este procedimento de amostragem é baseado em uma série de operações para extrair quantidades de solo, que, combinadas e reduzidas a tamanho apropriado, serão representativas da área em questão.

Para se obter amostras representativas é necessário levar em consideração que existe uma grande variedade de condições sob as quais as amostras serão coletadas; deste modo torna-se difícil estabelecer um

A amostragem de solos

procedimento que seja aceito e ideal em todas as situações. Assim, a análise de cada situação é a melhor forma de planejar e executar a amostragem.

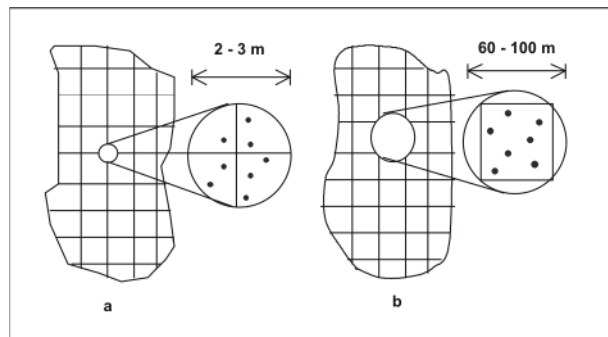


Fig. 3. a) Amostras pontuais múltiplas. b) Amostra composta.

2.7. Amostragem da água ou solução do solo

Para a coleta da solução do solo, normalmente utilizam-se extratores de solução. Estes extratores podem ser comprados no mercado (Fig. 4) ou mesmo construídos pelo usuário. Amostradores da água ou de solução do solo, também chamados lisímetros de sucção, são usados para coletar amostras da solução do solo. Os amostradores são instalados nas profundidades desejadas e ali deixados, quando não houver problemas de roubos ou depredação dos mesmos, para serem utilizados nas amostragens periódicas. Estes amostradores consistem basicamente em uma cápsula ou copo de cerâmica porosa e em um tubo ou garrafa de coleta. Uma bomba de vácuo é usada para criar vácuo no amostrador, que extrai a água da matriz do solo por meio de uma cápsula porosa.

No caso de extratores construídos pelo usuário, deve-se tomar cuidado para que o líquido coletado nas garrafas não fique exposto à luz e ao calor. Para tanto deve-se utilizar caixas de isopor com gelo, ou enterrar as garrafas no solo. Outra solução é "fazer o vácuo" no final do dia e a coleta das

garrafas de manhã bem cedo. Para se ter uma quantidade suficiente da solução o ideal é instalar vários extratores nos pontos e profundidades de coleta.

O procedimento consiste em se aplicar uma pressão de sucção (vácuo), com o uso de uma bomba de vácuo, para que a água suba, por capilaridade, pela mangueira tipo espaguete, até o frasco que encontra-se fixado na haste (PVC) principal do extrator. O frasco deve ser em vidro âmbar para proteção contra a fotodecomposição do produto amostrado. Em seguida à extração, a amostra deve ser colocada, imediatamente, em recipiente refrigerado de preferência em gelo e conduzido para o laboratório onde deverá ser guardado em câmara fria a 5°C, seguindo os mesmos procedimentos adotados para as amostras de solo.

Pode-se também coletar o solo em campo, 2 a 5kg (dependendo do estado de umidade do mesmo), e extrair a solução em laboratório via painéis de Richard. Essa não é a melhor maneira, pois requer muito material para que se consiga no mínimo 0,5L de solução.

A amostragem de solos

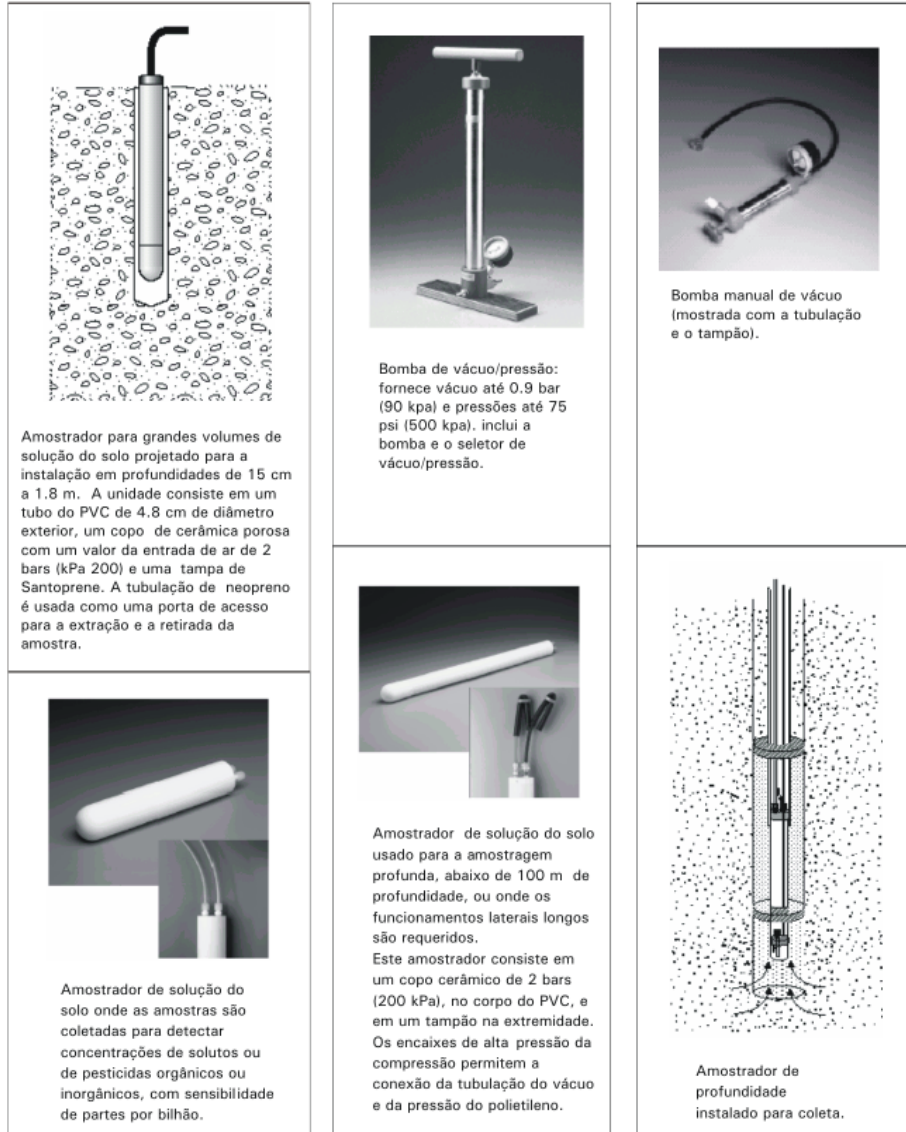


Fig. 4. Diversos tipos de amostradores de solução do solo. Cortesia da Soilmoisture Equipment Corp. <http://www.soilmoisture.com/catalog.html>

Referências

BOULET, R. Organization des couverture pédologiques des bassins versants ECEREX – Hypothèses sur leur dynamique. In: SARRAILH, J.M. (Coord.). **Mise en valeur de lécosystème forestier guyanais (Operation ECEREX)**. Paris: INRA & CTFT, 1990. p.15-45.

DICK, R.P.; THOMAS D.R.; HALVORSON, J.J. Standardized methods sampling and sample pretreatment. In: DORAN, J.W.; JONES, A.J. (Ed.). **Methods for assessing soil quality**. Madison: Soil Science Society of America, 1996. 410p. (SSSA Special Publication, 49).

NORRIS, F.A.; JONES, R.L.; KIRKLAND, S.D.; MARQUARDT, T.E. Techniques for collecting soil sample in field research studies. In: NASH, R.G.; LESLIE, A.R. (Ed.). **Groundwater residue sampling design**. Washington, D.C.: American Chemical Society, 1991. 396p.

Capítulo 3

Amostragem de solos para análise de metais pesados

*Heloisa Ferreira Filizola, Manoel Dornelas de Souza e
Marco Antônio Ferreira Gomes*

A presença de metais pesados, definidos como os elementos químicos com densidade maior que 5g cm^{-3} , em fertilizantes e corretivos tem sido objeto de muitos estudos devido ao fato destes elementos permanecerem no solo por um tempo indefinido e, dessa forma, causar perigo à saúde humana ou animal ao entrarem na cadeia alimentar, ou de serem carregados por enxurradas para as águas superficiais ou, ainda, lixiviados para a água subterrânea.

Embora a solubilidade dos metais pesados dependa da forma em que esses se encontrem no solo, o pH é uma das características do solo que mais afeta a solubilidade. A medida que o pH aumenta, a solubilidade do Cd, Cu, Hg, Ni, Pb, Zn e do Cr, no estado de oxidação III, diminui, enquanto que As, Mo e Se tornam-se solúveis (BERTON, 2000).

Em geral os metais pesados encontrados nos fertilizantes e corretivos são: Cádmio (Cd), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Níquel (Ni), Chumbo (Pb), Ferro (Fe), Cobalto (Co), Manganês (Mn), Molibdênio (Mo), Mercúrio (Hg), Estanho (Sn) e Zinco (Zn). Entre estes, deve-se ressaltar que alguns são essenciais às plantas (Cu, Fe, Mn, Mo, Ni e Zn), às bactérias fixadoras de nitrogênio (Co) e aos animais (Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo e Zn).

Apesar da possibilidade de mobilização dos metais no perfil dos solos, normalmente os maiores teores são encontrados nos horizontes superficiais, nos quais também ocorre maior acúmulo de matéria orgânica, o que possibilita a formação de quelatos, imobilizando-os.

Solos submetidos a cultivos intensivos, por longos períodos de tempo, tendem a apresentar níveis mais elevados de metais pesados,

especialmente em regiões de agricultura baseada em técnicas modernas e sem restrições econômicas, já que as formulações NPK e as diversas formas de fosfato são importantes fornecedores de metais pesados (Tabela 1).

Tabela 1. Teores de alguns metais pesados em corretivos e fertilizantes

Metal	Quantidade mínima ($\mu\text{g g}^{-1}$)	Quantidade máxima ($\mu\text{g g}^{-1}$)
Cádmio	2,4	51,9
Chumbo	17,9	2817
Níquel	8	3300

Adaptada de Amaral Sobrinho et al. (1992).

A quantidade de metais pesados no solo sem interferência antropogênica resulta do teor destes na rocha de origem e do grau de intemperização que esse material sofreu (Tabela 2).

Tabela 2. Teores de metais naturalmente presentes nos solos no Estado de São Paulo.

Solos avaliados: Latossolos Vermelhos, Latossolos Vermelho-Amarelos, Nitossolos Vermelhos, Argissolos Vermelhos, Argissolos Vermelho-Amarelos, Gleissolos, Neossolos Quartzarênicos, Neossolos Flúvicos, Neossolos Litólicos, Organossolos Háplicos, Cambissolos e Espodosolos

Metal	Concentração (mg kg^{-1} de solo)		Nº de amostras
	Mínimo	Máximo	
Antimônio	< 25	< 25	54
Arsênio	< 0,20	17,60	84
Bário	5	223	84
Cádmio	< 0,50	< 0,50	54
Chumbo	< 5	23,5	84
Cobalto	< 7,5	65	54
Cobre	3	393	84
Cromo	2,2	172,5	81
Ferro	500	198.500	84
Manganês	5	2.330	84
Mercúrio	< 0,02	0,08	84
Molibdênio	< 25	< 25	54
Níquel	1,55	73,5	84
Prata	< 0,5	15,4	53
Vanádio	< 85	818	54
Selênio	< 0,20	0,56	54
Zinco	1,5	200	84

Adaptada de: Casarini et al. (2001)

Amostragem de solos para análise de metais pesados

A CETESB em seu "Relatório de estabelecimento de valores orientadores para Solos e Águas Subterrâneas no Estado de São Paulo" (CASARINI et al., 2001) propõe valores de alerta (Tabela 3) com base em risco e no conceito de prevenção à contaminação, de modo a evitar que o solo transforme-se em área contaminada. Sua função é a de orientar a aplicação de insumos agrícolas, de lodo de estação de tratamento e avaliação de fonte de contaminação por deposição atmosférica de material particulado (ex.: chumbo secundário), entre outros.

O valor de alerta (Tabela 3) indica uma possível alteração da qualidade natural dos solos e águas subterrâneas e, quando excedido, há um potencial poluidor para esses meios, devendo ser exigido um monitoramento, efetuando-se um diagnóstico de qualidade, identificando-se e controlando-se as possíveis fontes de contaminação, de modo a cessar o aporte de poluentes. Elevadas concentrações de metais podem ser encontradas naturalmente em casos específicos, representando uma anomalia natural do solo (Tabela 2).

Tabela 3. Valores de alerta para metais pesados em solo

Metal	Valores de alerta (mg kg ⁻¹ de solo)	Metal	Valores de alerta (mg kg ⁻¹ de solo)
Antimônio	2,0	Cromo	75
Arsênio	15	Mercúrio	0,5
Bário	150	Molibdênio	30
Cádmio	3	Níquel	30
Chumbo	100	Prata	2
Cobalto	25	Selênio	5
Cobre	60	Zinco	300

Adaptada de: Casarini et al. (2001)

3.1. Como Amostrar

Para se obter amostras representativas é necessário levar em consideração que existe uma grande variedade de condições sob as quais as amostras serão coletadas; deste modo torna-se difícil estabelecer um procedimento que seja aceito e ideal em todas as situações. Assim, vamos analisar algumas situações e discutir a melhor forma de planejar e executar a amostragem.

3.1.1. Uso contínuo de fertilizantes

Se o uso de fertilizantes tipo NPK ou fosfatado, em solos argilosos, for superior a 20 anos, o ideal é que a coleta seja feita em duas profundidades, 0-10cm e 80-100cm, principalmente para a detecção do Cd que tem mobilidade alta. A escolha de 80 a 100cm como profundidade fixa da camada de subsuperfície tem como base os estudos preliminares, desenvolvidos no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em solos tipo latossolos (OLIVEIRA & PRADO, 1987). Assim é possível a quantificação dos metais pesados presentes no solo e avaliação da lixiviação dos mesmos. Se o uso é recente (< 10 anos), basta uma coleta de 0-10cm.

Em solos de textura média e arenosos, a coleta deverá ser feita nas duas profundidades citadas acima, já que estes solos favorecem a lixiviação.

A U. S. Environmental Protection Agency – EPA - (1996) define a espessura de dois centímetros de solos como aquela onde a contaminação ocorre predominantemente, mas por causa das perturbações induzidas pela aração e gradagem, há necessidade de coleta de amostras abaixo de dois centímetros de profundidade.

3.1.2. O uso contínuo de lodo de esgoto

Embora contenham quantidades consideráveis de nutrientes, os lodos de esgoto contêm também metais pesados que são potencialmente tóxicos às plantas, animais e ao homem (MORTVEDT, 1996). A periculosidade desses metais deve-se ao fato de substituírem outros metais constituintes das enzimas necessárias às atividades metabólicas dos seres vivos, prejudicando ou mesmo suprimindo sua função vital (LAGERWERFF, 1972). Adicionados ao solo junto com o lodo, esses metais podem acumular-se no solo e passar para a cadeia alimentar.

Além do risco de contaminação do solo, das plantas e dos animais, os metais pesados contidos no lodo podem sofrer movimentação no perfil dos solos mediante processos físico-químicos ou biológicos, oferecendo risco de contaminação das águas subterrâneas e superficiais (McBRIDE et al., 1997).

Amostragem de solos para análise de metais pesados

Indicação nesse sentido é dada por resultados citados por McBride et al. (1997), que mostram contaminação da água de poços com cádmio em áreas que receberam lodo de esgoto por longo tempo. Segundo Mortvedt (1996), taxas de aplicação anuais de lodo e cargas máximas permitidas nos solos devem integrar os conhecimentos das características do lodo e dos solos onde serão aplicados, bem como das culturas a serem plantadas nessas áreas. Nos países onde o uso agrônômico de lodo de esgoto já é comum, foram estabelecidos critérios de aplicação em áreas agrícolas. Segundo esses critérios a dose máxima de aplicação anual é ditada em geral pelo teor de N ou P do lodo, pela exigência nutricional da cultura para tais elementos e pelo metal pesado que estiver em teor total mais elevado, sendo que o período de aplicação, em anos, é ditado pelas quantidades de metais pesados neles contidos.

No Brasil, as pesquisas sobre o uso de lodo de esgoto na agricultura desenvolvidas até o momento estiveram voltadas para a avaliação da eficiência agrônômica desses produtos, tendo-se constatado, em geral, sua efetividade no aumento de produtividade das culturas e como fornecedor de nutrientes para as plantas (GUIMARÃES et al., 1982; GUSHI et al., 1982; BETTIOL et al., 1983; BOARETTO, 1986; SILVA, 1995). O efeito de sua aplicação em áreas agrícolas, em relação ao seu potencial de contaminação do solo, das águas e das plantas com metais pesados, ainda é pouco conhecido. Também as formas químicas que os metais pesados contidos nos lodos assumem, a partir do momento que aportam ao solo, são ainda pouco estudadas nas condições edafoclimáticas dos trópicos. Este é um aspecto importante do uso agrônômico do lodo de esgoto, pois o movimento dos metais pesados no sistema solo-água-planta, está ligado às relações de equilíbrio entre as formas químicas encontradas no solo após a adição desses materiais.

Independente de condições edafoclimáticas, os metais pesados encontram-se no solo sob diversas formas: adsorvidos eletrostaticamente e especificamente, participando de reações de precipitação-dissolução, formando complexos com a matéria orgânica, e na solução do solo (SPOSITO, 1989). Resultados de diversos trabalhos conduzidos em regiões de clima temperado indicam que as formas químicas de alguns metais pesados em solos tratados com lodo de esgoto modificam-se com o tempo, sugerindo concomitante alteração na sua

solubilidade e mobilidade no sistema solo-água-planta e na disponibilidade para as plantas (SILVEIRA & SUMMERS, 1977; KORCAK & FANNING, 1978; MCGRATH & CEGARRA, 1992; MCBRIDE, 1995). Chang et al. (1982), Sing & Narvall (1984), Chu & Wong (1987), McLean et al. (1987) e Rappaport et al. (1987) mostram aumentos nos teores de metais pesados no solo e nas plantas cultivadas em solos tratados com lodo de esgoto. Esses metais podem permanecer no solo por longo tempo e apresentar efeitos residuais nas plantas cultivadas. McBride et al. (1997), avaliando o comportamento de metais pesados em área de solo argilo-siltoso, tratado com 240 t/ha de lodo de esgoto há quinze anos, verificaram que Cd e Zn remanescentes na camada arável, após esse período encontravam-se ainda em formas disponíveis e provocaram fitotoxicidade em plantas de milho. Os autores observaram evidências de lixiviação de Cd, Zn, Cu e Hg da camada arável do solo. Brown et al. (1997) também verificaram movimento de metais pesados no perfil do solo, mas somente com doses elevadas de lodo, ou com lodos com altas concentrações de metais pesados. Segundo os autores, não há indicação de que os metais pesados se movimentem no perfil do solo em áreas que recebam doses adequadas de lodo.

Os lagos e reservatórios constituem ambientes de deposição para os metais pesados. A forma de transporte desses elementos é, principalmente, particulada, no caso de contaminação originada de áreas agrícolas (ESTEVES, 1983). A relação entre a concentração de metais pesados nos sedimentos e dissolvido na água pode chegar à ordem de 1900 vezes, como observaram Esteves & Tolentino (1986) em represas de São Paulo. Devido ao efeito de acumulação na cadeia trófica, mesmo pequenas concentrações de metais pesados na água podem originar efeitos tóxicos nas comunidades bióticas, e por conseguinte, atingir o homem caso este venha a utilizar estes recursos.

3.2. Locais de amostragem

Como nas áreas agrícolas, a presença de metais pesados está ligada ao uso de fertilizantes, pode-se escolher entre amostrar a área inteira, ou partes desta, se a mesma for homogênea. A escolha dos locais de amostragem pode ser por tipo de solo ou independente do tipo de solo.

Amostragem de solos para análise de metais pesados

Por tipo de solo: Delimitada a área abrangida por cada tipo de solo, a coleta das amostras poderá ser feita a partir de uma grade de pontos, ou por caminhar aleatório ou em ziguezague dentro da área. O número de pontos de coleta geralmente é fornecido pela estatística, pois estes estão condicionados ao tamanho da área a ser avaliada e do tipo de trabalho a ser executado. Assim, uma área muito grande necessitará de mais pontos que uma área pequena (Fig. 1).

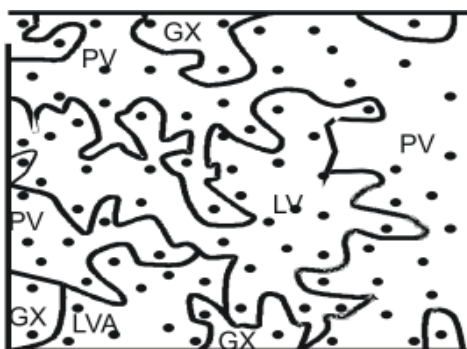


Fig. 1. Amostragem aleatória por tipo de solos.

Independente do tipo de solo: Neste caso a área a ser avaliada, é repartida em parcelas e subparcelas formando uma grade dentro das quais as amostras ou subamostras são coletadas.

3.3. Freqüência da amostragem

A freqüência da amostragem para a avaliação dos metais pesados no solo é dependente do tipo de trabalho que está sendo desenvolvido e dos níveis encontrados. Estes níveis variam de país para país e também conforme o uso do solo, estando subdivididos em nível de referência (R), nível de alerta (A) e nível de intervenção (I), conforme proposição da Casarini et al. (2001), fundamentada na metodologia desenvolvida pelo Ministério da Habitação, Planejamento e Meio Ambiente da Holanda (VROM, 1988 e 1994).

- nível de referência ou valor de referência de qualidade – R – indica o nível de qualidade para um solo considerado limpo.
- nível de alerta ou valor de alerta – A – indica uma possível alteração da qualidade natural dos solos, com caráter preventivo e quando excedido, requer monitoramento, identificação das fontes de poluição e seu controle.
- nível de intervenção ou valor de intervenção – I – indica o limite de contaminação acima do qual, existe risco potencial de efeito deletério sobre a saúde humana, havendo necessidade de uma ação imediata na área, a qual inclui uma investigação detalhada e a adoção de medidas emergenciais, visando a minimização das vias de exposição como a restrição do acesso de pessoas à área e suspensão do consumo de água subterrânea (CASARINI et al., 2001).

No caso de serem encontrados valores acima do nível de alerta (A), a fonte de contaminação deve ser identificada e interrompida. Após esta etapa, coletas periódicas de seis meses a um ano permitirão que seja observado o decréscimo ou a manutenção dos valores encontrados, já que os metais pesados têm comportamentos diferenciados devido às suas características (solubilidade em água, coeficiente de desorção (K_d), forma de complexação), e às medidas de descontaminação, caso estas sejam tomadas.

Quando os valores encontrados estão acima do nível de intervenção, o monitoramento da área deverá ser feito em função das medidas tomadas para a descontaminação da área. Neste caso, a frequência da amostragem é dependente das técnicas descontaminantes adotadas.

Referências

AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; COSTA, L.M.; OLIVEIRA, C. de; VELLOSO, A.C.X. Metais pesados em alguns fertilizantes e corretivos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.16, n.2, p.271-276, 1992.

BERTON, R.S. Riscos de contaminação do agrossistema com metais pesados. In: BETTIOL, W.; CAMARGO, A.O. (Ed.). **Impacto ambiental do uso agrícola do lodo de esgoto**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 312p.

Amostragem de solos para análise de metais pesados

BETTIOL, W.; CARVALHO, P.C.T.; FRANCO, B.J.D. Utilização do lodo de esgoto como fertilizante. **O Solo**, v.75, n.1, p.44-54, 1983.

BOARETTO, A.E. (Coord.). **Uso do lodo de esgoto como fertilizante**. Botucatu: FINEP, 1986. 185p.

BROWN, S.; CHANEY, R.; ANGLE, J.S. Subsurface liming and metal movement in soils amended with lime-stabilized biosolids. **Journal of Environmental Quality**, v.26, p.724-732, 1997.

CASARINI, D.C.P.; DIAS, C. L.; LEMOS, M.M.G. **Relatório de estabelecimento de valores orientadores para solos e águas subterrâneas no Estado de São Paulo**. São Paulo: CETESB, 2001. 246p.

CHANG, A. C.; PAGE, A.L.; WARNECK, J.E.; JOHANSON, J.B. Effects of sludge application on the Cd, Pb and Zn levels of selected vegetable plants. **Hilgardia**, v.50, p.7-14, 1982.

CHU, L.M.; WONG, M.H. Heavy metal contents of vegetable crops treated with refuse compost and sewage sludge. **Plant and Soil**, v.103, n.2, p.191-197, 1987.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (EPA). **Soil screening guidance: user's guide**. Washington, DC : EPA, Office of Solid Waste and Emergency Response, 1996. 39p. + Apêndices. (EPA/540/R-95/018).

ESTEVEZ, F.A. Levels of phosphate, calcium, magnesium and organic matter in the sediments of some Brazilian reservoir and implications for the metabolism of the ecosystem. **Archives of Hydrobiology**, v.96, p.129-138, 1983.

ESTEVEZ, F.A.; TOLENTINO, M. Identificação e caracterização de alguns grupos de represas do Estado de São Paulo, com base na composição química dos seus sedimentos. **Ciência e Cultura**, v.38, p.540-545, 1986.

GUIMARÃES, C.R.B.; BOARETTO, A.E.; NAKAGAWA, J. Utilização do lodo de esgoto em comparação com fertilizantes químicos feijão irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2., 1982, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1982. p.216-218.

GUSHI, R.S.; BOARETTO, A.E.; NAKAGAWA, J. Utilização do lodo de esgoto em comparação com fertilizantes químicos – feijão não irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA EM CIÊNCIAS AGRÁRIAS, 2., 1982, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: ESALQ, 1982. p.214-216.

KORCAK, R.F.; FANNING, D.S. Extractability of Cd, Cu, Ni and Zn by double acid versus DTPA and plant content at excessive soil levels. **Journal of Environmental Quality**, v.7, n.4, p.506-512, 1978.

LAGERWERFF, J.V. Lead, mercury and cadmium as environmental contaminants. In: MORTVEDT, J.J.; GIORDANO, P.M.; LINDSAY, W.L. (Ed.). **Micronutrients in agriculture**. Madison: Soil Science Society of America, 1972. p.593-628.

McBRIDE, M.B. Toxic metal accumulation from agricultural use of sludge: Are USEPA regulations protective? **Journal of Environmental Quality**, v.24, p.5-18, 1995.

McBRIDE, M.B.; RICHARDS, B.K.; STEENHUIS, T.; RUSSO, J.J.; SAUVÉ, S. Mobility and solubility of toxic metals and nutrients in soil fifteen years after sludge application. **Soil Science**, v.162, n.7, p.487-500, 1997.

McGRATH, S.P.; CEGARRA, J. Chemical extractability of heavy metals during and after long-term applications of sewage sludge to soil. **Journal of Soil Science**, v.43, n.2, p.313-321, 1992.

McLEAN, K.S.; ROBINSON, A.R.; MACCONELL, H.M. The effect of sewage-sludge on the heavy metal content of soils and plant tissue. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v.18, n.11, p.1303-1316, 1987.

MORTVEDT, J.J. Heavy metal contaminants in inorganic and organic fertilizers. **Fertilizer Research**, v.43, p.55-61, 1996.

OLIVEIRA, J.B. de; PRADO, H. do. **Levantamento pedológico semidetalhado do Estado de São Paulo**: quadrícula de Ribeirão Preto; II. Memorial Descritivo. Campinas: Instituto Agrônomo, 1987. 133p. (Boletim, 7).

Amostragem de solos para análise de metais pesados

RAPPAPORT, B.D.; MARTENS, D.C.; RENEAU, R.B.; SIMPSON, T.W. Metal accumulation in corn and barley grown on a sludge-amended Typic Ochraqualf. **Journal of Environmental Quality**, v. 16, n.1, p.29-33, 1987.

SILVA, F.C. **Uso agronômico de lodo de esgoto**: efeitos em fertilidade do solo e qualidade da cana-de-açúcar. 1995. 154p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

SILVEIRA, D.J.; SOMMERS, L.E. Extractability of copper, zinc, cadmium, and lead in soils incubated with sewage sludge. **Journal of Environmental Quality**, v.6, n.1, p.47-52, 1977.

SINGH, B.R.; NARWALL, R.P. Plant availability of heavy metals in a sludge-treated soil: II. Metal extractability compared with plant metal uptake. **Journal of Environmental Quality**, v. 13, n.3, p.344-349, 1984.

SPOSITO, G. **The chemistry of soils**. New York: Oxford University Press, 1989. 234p.

VROM. Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment. **Premises for risk management**: annex to the Dutch Environmental Policy Plan. The Hague : Lower House, 1988. (session 1988-1989).

VROM. Ministry of Housing, Spatial Planning and Environment. **Intervention values and target values**: soil quality standads. The Hague: VROM, 1994, 19p. (DBO/07494013).

Capítulo 4

Amostragem de solos para análise de nitratos

Manoel Dornelas de Souza e Adriana Marlene Moreno Pires

O nitrato, uma das formas de nitrogênio aproveitadas pelas plantas, resulta da mineralização do nitrogênio orgânico contido no solo, seja ele nativo ou adicionado por meio de resíduos orgânicos. Devido ao fato de não ser retido pelas partículas do solo, que em geral apresentam carga elétrica predominantemente negativa, esse ânion permanece livre em solução. Em função disso, a quantidade presente no solo que exceda a capacidade de absorção das raízes das plantas fica sujeita à lixiviação, podendo, ao longo do tempo, atingir o lençol freático e os corpos de água por ele alimentados.

O primeiro passo ao se decidir avaliar a contaminação de uma área por nitratos é formular claramente o tipo de informação que se almeja e como os dados analíticos serão utilizados. Os objetivos podem variar desde uma simples caracterização de uma área sem histórico de contaminação até um levantamento preciso para determinar o grau e a fonte da contaminação. A fase de amostragem é importante, apresenta uma especificidade muito grande, devendo ser planejada caso a caso por meio da elaboração de um plano de amostragem antes de ir a campo.

Desta maneira, a localização dos pontos de amostragem, a frequência da amostragem e o tamanho das amostras são todos dependentes do programa de análises proposto. As amostras devem ser as mais representativas o possível da área a ser amostrada. Portanto, em um programa cujo objetivo é avaliar níveis de qualquer poluente no ambiente, é essencial garantir a representatividade e a conservação das amostras até que estas sejam analisadas (GOULDEN, 1978).

4.1. Determinação do plano de amostragem

O plano de amostragem varia conforme o objetivo da avaliação, as características da área em questão, bem como as características da fonte de poluição do nitrogênio. Por exemplo, se o objetivo da amostragem é de averiguar se ocorreu contaminação recente em uma área, pode-se optar por realizar uma avaliação na camada superficial, identificando a presença e concentração das formas em que o nitrogênio se apresenta. Por outro lado, caso esta fonte seja solúvel e o solo tenha sido submetido a intensa precipitação pluviométrica, pode ser mais interessante o estudo em diferentes profundidades do perfil do solo. No caso de monitoramentos de áreas contaminadas sempre se recomenda o estudo em diferentes profundidades, para que se possa identificar a profundidade em que se encontra o pulso de nitrato. A maioria de nossos solos apresenta predominância de cargas negativas e como o nitrato também é uma molécula de carga negativa, ela é repelida das superfícies das argilas e fica livre na solução do solo e pronta para lixiviação por ação da gravidade quando solo recebe muita chuva ou irrigação. Para manter o equilíbrio elétrico do sistema a molécula de nitrato é sempre acompanhada por um cátion monovalente como potássio, sódio etc.

Como regra geral em uma área contaminada recomenda-se fazer uma malha quadrada de 5m de lado (25m²) e executar uma tradagem para cada quadrado. Em caso de contaminação linear o ideal é uma tradagem a cada 5m de distância (IAP, 2004).

Em avaliações cujo objetivo é determinar o grau de contaminação de uma área, deve-se inserir no plano de amostragem a coleta de amostras testemunhas, de um solo com as mesmas características que o contaminado e que esteja localizado próximo a este e nas mesmas profundidades. Em muitos casos, recomenda-se a coleta de solo não cultivado, em áreas onde a ação antropogênica é mínima.

Amostragem de solos para análise de nitratos

4.2. Coleta das amostras de solo

Deve-se remover a vegetação e outros detritos da superfície do solo a ser amostrado e a seguir coletar amostras compostas, para determinar a concentração média da molécula de interesse. O solo deve ser retirado do trado com auxílio de uma espátula de aço inox descartando-se a porção externa da amostra para evitar contaminação das paredes do furo feito pelo trado. Uma amostra composta é formada por pelo menos 3 amostras simples. A homogeneização para obter a amostra composta pode ser feita em sacos plásticos ou em bandejas. Na certeza de contaminação recente a amostragem pode ser feita próxima à superfície (0-20cm e 20-40cm).

A amostra composta deve ser pelo menos de 500g para ser enviada ao laboratório (ALLOWAY, 1995).

Em solos com pedregosidade aparente ou pouco profundos, sugere-se que a coleta restrinja-se à camada de 0 – 20cm.

A ferramenta de amostragem deve ser o trado com módulos de alongamento, pois é comum se fazer tradagens até 8m de profundidade.

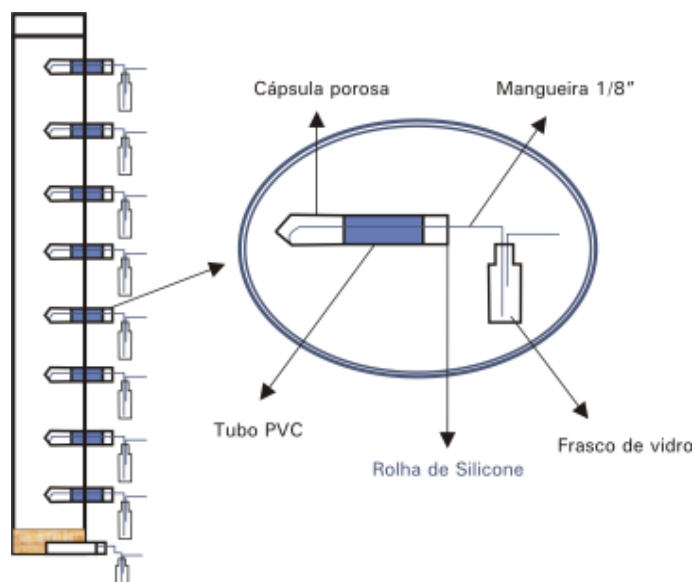


Fig. 1. Extrator de solução do solo.

Outro procedimento é estudar a concentração do nitrato na solução do solo. Neste caso instalam-se extratores de solução do solo nas profundidades determinadas e extrai-se a solução do solo com auxílio de extratores de solução do solo (Fig. 1) e bomba de vácuo. Normalmente estes extratores são colocados na profundidade de 1 m, pois se considera que a solução do solo que passou desta profundidade não está mais disponível para as raízes das plantas, portanto seu potencial para contaminar o lençol freático é maior.

Referências

ALLOWAY, B.J. **Heavy metals in soils**. 2.ed. Glasgow: Blackie A&P, 1995. 368p.

GOULDEN, P.D. **Environmental pollution analysis**. London: Heyden & Son, 1978. 209p.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ (IAP). **Manual para coleta e preservação de amostras de água, solo, efluentes e animais**. Curitiba, 2004. 34p. (Manual Técnico).

Capítulo 5

Amostragem de solos para análise de agrotóxicos

*Marco Antônio Ferreira Gomes, Heloisa Ferreira Filizola,
Manoel Dornelas de Souza, Vera Lúcia Ferracini e
Sonia Cláudia Nascimento de Queiroz*

Em relação aos agrotóxicos, a amostragem de solo deve levar em consideração o conhecimento das características físico-químicas básicas de cada molécula, principalmente para se estabelecer em quais profundidades existe maior probabilidade de sua ocorrência.

Assim, recomenda-se que, antes da amostragem, seja realizado o levantamento e a caracterização dos agrotóxicos usados na área, priorizando sempre aqueles de maior interesse para o estudo, já que os custos de análise são freqüentemente muito elevados.

A caracterização dos agrotóxicos normalmente fundamenta-se na avaliação do potencial de lixiviação, que pode ser estimado pelos índices de GUS, (GUSTAFSON, 1989), GOSS (GOSS, 1992) e LIX (SPADOTTO, 2002), utilizando-se de dados da literatura, pois quase sempre não se dispõe no Brasil de parâmetros desses compostos no solo em que está sendo amostrado. Entre esses parâmetros estão a meia-vida ($t_{1/2}$) e K_{oc} do agrotóxico. É importante ressaltar que existem no mercado mais de trezentos ingredientes ativos (i.a.) de agrotóxicos, o que torna oneroso ou até inviável a avaliação dos dois parâmetros acima para cada um deles nos principais solos agrícolas brasileiros.

Assim, por exemplo, se um agrotóxico a ser monitorado tem um K_{oc} alto ou muito alto, a coleta não deverá ser muito profunda; já um agrotóxico com baixo K_{oc} deverá ser coletado em profundidades maiores pois seu potencial de lixiviação é maior. A periodicidade deverá ser definida em função da meia vida dos agrotóxicos selecionados.

Existem simuladores, como o *Chemical Movement in Layered Soils* (CMLS) entre outros, que auxiliam na escolha das profundidades e da periodicidade das coletas.

Com a definição do potencial de lixiviação, pode-se então estabelecer as profundidades a serem amostradas, com um certo grau de confiança e com uma possibilidade maior de estar amostrando na profundidade correta. Nos diversos trabalhos existentes (LUCHINI et al., 2002; OLIVEIRA Jr. et al., 2001; QUEIROZ & MONTEIRO, 2000; TORNISIELO et al., 1997) a amostragem de solo geralmente é feita em duas profundidades 0-10cm e de 10-20cm. Nos casos em que o agrotóxico com alto potencial de lixiviação aparecer na profundidade de 10-20cm, determina-se outra faixa de profundidade (20-40cm) para verificar seu possível deslocamento até essa faixa.

Nos casos em que o agrotóxico apresenta um baixo potencial de lixiviação, cujo valor pelo índice de GUS encontra-se entre 1,8 e 2,8 recomenda-se a profundidade de coleta de 0-10cm, podendo-se estabelecer intervalos de 1 cm ou de 2cm.

Já nos casos em que o produto não apresenta qualquer potencial para lixiviar, com valores de GUS $< 1,8$ por exemplo, recomenda-se um procedimento de amostragem em superfície, com identificação dos prováveis caminhos via escoamento superficial (ver também Capítulo sobre SEDIMENTOS).

A quantidade de amostra de solo requerida para análise de agrotóxico é bem superior àquela para análise de metais, principalmente porque devido à sua baixa concentração no solo, normalmente em $\mu\text{g/L}$, há necessidade de se submeter o solo a diversas extrações para se ter uma concentração mínima detectável por cromatografia, considerando ainda o limite de detecção de cada equipamento. Na prática, recomenda-se a coleta de, pelo menos, 1 kg de solo argiloso e 2 kg de solo arenoso. A quantidade maior de solo arenoso, fundamenta-se na possibilidade do mesmo reter menor quantidade de agrotóxico, o que exigiria número maior de extrações para se ter um extrato mais concentrado.

Amostragem de solos para análise de agrotóxicos

A amostra deve ser acondicionada em sacos plásticos em ambiente refrigerado, preferencialmente em gelo seco ou comum; o gelo comum normalmente é usado para armazenamento com tempo inferior a 24 horas, uma vez que após esse período quase sempre ocorre o degelo, aumentando o grau de dificuldade de transporte das amostras. Em seguida a esse procedimento, encaminhar a amostra o mais rápido possível para ser armazenada em câmara fria a 5°C. A análise deverá ser feita, preferencialmente, dentro de 7 dias. Se a previsão de análise for superior a esse período, deve-se congelar a amostra.

Referências

GOOS, D. W. Screening procedure for soils and pesticides for potential water quality impacts. **Weed Technology**, v.6, p.701-708, 1992.

GUSTAFSON, D.I. Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v.8, n.4, p. 339-357, 1989.

LUCHINI, L.C.; PERES, T.B.; PAPINI, S.; MARCHETTI, M. Mobilidade, adsorção e dessorção de acifluorfen em três tipos de solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 23., 2002, Gramado. **Resumos...** Londrina: SBCPD, 2002. p. 11-12.

OLIVEIRA Jr., R.S.; KOSKINEN, W.C.; FERREIRA, F.A. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. **Weed Research**, v.41, n.2, p.97-111, 2001.

QUEIROZ, B.P.V de.; MONTEIRO, R.T.R. Degradação de ¹⁴C-atrazina em solo sob condições semicontroladas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.4, p.849-856, 2000.

SPADOTTO, C.A. Screening method for assessing pesticide leaching potential. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.12, p.69-78, 2002.

TORNISIELO, V.L.; NASCIMENTO FILHO, V.F.; FURLAN, G.R.; SIMABUCO, S.M.; REGITANO, J.B.; NAVARRO, A.A.; COSTA, M.A. Uso de cromatografia de camada delgada em solos e fluorescência de raios-X para avaliação de mobilidade do produto "Leng 3". **Pesticidas**: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v.7, p.17-24, 1997.

Capítulo 6

Amostragem de solo para análises biológicas

Raquel Ghini, Sueli dos Santos Freitas e

Anibal Ramadan Oliveira

Atividades agrícolas provocam significativos impactos na biota do solo. Por esse motivo, os organismos habitantes do solo constituem importantes indicadores de alterações ambientais. Existe um grande número de variáveis biológicas que podem ser quantificadas em amostras de solo para estudos de qualidade ambiental em áreas agrícolas. Entre as mais utilizadas estão a densidade, a frequência, a atividade e a biomassa de organismos. Essas variáveis representam importantes aspectos ecológicos, como a distribuição de populações e a diversidade de espécies, informando sobre processos biológicos e interação de organismos nas áreas investigadas. Neste capítulo, pelas características peculiares de seu estudo, os organismos do solo serão didaticamente divididos em microrganismos, compreendendo algas, bactérias e fungos do solo, e macrorganismos, ou componentes da fauna do solo, compreendendo protozoários, nematóides, enquitreídeos, minhocas, ácaros e colêmbolos do solo.

Análises biológicas podem ser baseadas tanto em pequenas quantidades de solo mantidas em laboratório com algum fim específico quanto em áreas estabelecidas no campo. Embora no primeiro caso todo o solo possa ser analisado em experimentos laboratoriais, a coleta e a contagem de todos os indivíduos de uma população ou comunidade presentes em uma determinada área no campo é praticamente impossível. Assim, apenas uma pequena parte dos indivíduos, ou uma amostra, pode ser avaliada quanto às variáveis de interesse, permitindo inferências sobre os resultados para a população ou comunidade como um todo. Mesmo no caso de experimentos laboratoriais, o

solo levado ao laboratório provavelmente deve representar uma área no campo, em cuja amostragem geralmente ocorrem falhas. Embora os problemas relacionados às etapas de coleta, transporte e armazenamento de amostras sejam freqüentemente ignorados, tais atividades influenciam diretamente os resultados. Conseqüentemente, o planejamento da amostragem deve ser cuidadoso, uma vez que a precisão das estimativas obtidas depende do grau de erro dos procedimentos analíticos e do quão representativas são as amostras.

Quando a distribuição espacial dos organismos visados na área é ao acaso, os erros de amostragem podem ser mantidos dentro de limites razoáveis. Porém, quando a distribuição não é ao acaso, uma acurada amostragem torna-se mais difícil e os resultados podem ser inválidos. A distribuição de organismos no solo é influenciada por muitos fatores, como alimento, água, profundidade, raízes e interação com outros organismos, e assim raramente apresenta-se ao acaso. Inúmeras vezes recorre-se à análise química de variáveis ligadas direta ou indiretamente à presença ou à atividade de organismos, como, por exemplo, o carbono e o nitrogênio da biomassa microbiana, a atividade respiratória do solo e a disponibilização de alguns nutrientes. Nesses casos, os cuidados com a tomada de amostras tornam-se bastante semelhantes aos recomendados para as análises de fertilidade do solo. Entretanto, tais procedimentos não são adequados em outros tipos de análises e alguém que se propusesse a definir métodos específicos para a amostragem de todos os organismos em cada uma das situações possíveis teria diante de si uma tarefa extremamente difícil. No entanto, em muitos dos casos, as amostragens de solo para análises biológicas em áreas agrícolas apresentam aspectos comuns, os quais serão abordados neste capítulo juntamente com os problemas referentes a cada procedimento adotado.

6.1. Representatividade da amostra

O primeiro ponto que se pode questionar é a representatividade da amostra em relação à área. Quanto a esse aspecto, do ponto de vista prático, a amostragem para fins de análises biológicas guarda semelhanças com a que é feita para análise da fertilidade do solo, como por exemplo, de nitrogênio, assunto abordado em outro capítulo deste livro.

Amostragem de solo para análises biológicas

Deve-se lembrar que quanto mais homogênea for a área que se deseja representar com uma amostra, mais representativa será essa amostra. Assim, uma primeira recomendação será dividir a área total de interesse em subáreas semelhantes quanto ao maior número possível de características definíveis. Para tanto, a obtenção de informações detalhadas a respeito da área de coleta é indispensável. Os seguintes fatores bióticos e abióticos, segundo Paul & Clark (1989), são de grande importância para a divisão da área em estudos com microrganismos, podendo também contribuir para a interpretação dos resultados: topografia, tamanho e tipo de partículas, tipo e material de origem do solo, conteúdo de nutrientes, histórico de manejo, histórico da vegetação, cobertura vegetal e produtividade, presença de raízes, adição de matéria orgânica, presença de animais, teor de CO₂ e O₂, teor de umidade, variação de temperatura, quantidade e distribuição de chuvas.

Microrganismos possuem algumas peculiaridades que tornam a amostragem um pouco diferente e exigem alguns procedimentos diferenciados das análises de fertilidade. Pela extrema sensibilidade microbiana às variações ambientais, como a temperatura, a umidade, a concentração de oxigênio e o valor de pH, a presença de certos grupos de microrganismos pode variar bastante no espaço de alguns centímetros de solo. Por exemplo: Blackwood & Paul (2003) observaram que diferentes frações do solo – classificadas de acordo com sua densidade – abrigavam diferentes comunidades bacterianas, provavelmente devido à maior ou menor disponibilidade de carbono orgânico para a atividade microbiana. Num caso extremo, Ellingsoe & Johnsen (2002) citam o trabalho de Parkin (1987), que observou que, dentro de uma amostra de 98 g de solo, toda a desnitrificação microbiana ocorria numa subamostra de apenas 0,08 g.

Também os macrorganismos apresentam grande sensibilidade a fatores bióticos e abióticos de variação local, como a disponibilidade de alimento, umidade, temperatura, porosidade do solo, sombreamento e sistema radicular, entre outros. Como a distribuição desses fatores raramente é homogênea, a maioria dos macrorganismos freqüentemente apresenta distribuição espacial vertical ou horizontal agregada, com grande variação na composição específica e no número de indivíduos no espaço de apenas alguns centímetros de solo

(WALLWORK, 1976; BACHELIER, 1978; EDWARDS, 1991). A irregularidade na distribuição vertical de protozoários e nematóides, por exemplo, determinada mais pela presença de alimento do que de água, é um fator de grande importância a ser considerado na amostragem, sendo a maioria de indivíduos geralmente encontrada em camadas de solo com maior quantidade de raízes e matéria orgânica (AESCHT & FOISSNER, 1996). Tanto a distribuição vertical quanto a horizontal agregadas caracterizam as populações de artrópodes no solo, tendo, além da presença de alimento, também a disponibilidade de água como uma de suas principais causas (USHER et al., 1982, citando o trabalho de Usher, 1976). Segundo Winter & Voroney (1993), os fatores mais importantes que determinam a abundância de microartrópodos no solo, representados principalmente por ácaros e colêmbolos, são: 1) o tipo e a quantidade de resíduos orgânicos em decomposição e seus efeitos na microbiota, 2) a estabilidade estrutural do solo e resultante porosidade e 3) a umidade. Como esses fatores variam localmente, grande quantidade de indivíduos pode estar presente em certas regiões do solo, associada a fragmentos vegetais em decomposição, por exemplo, enquanto pequenas quantidades ocorrem a apenas alguns centímetros de distância. Padrões de distribuição espacial de diversos componentes da fauna do solo e os fatores que os afetam podem ser encontrados nos trabalhos de Phillipson (1971), Berthet & Gerard (1965) e Usher (1975).

A irregularidade na distribuição de organismos ressalta a importância da homogeneidade tanto da área quanto da amostra de solo na análise de micro e macrorganismos. Nesse sentido, medidas que visem atenuar o efeito da heterogeneidade de microambientes produzida por fatores locais também devem ser consideradas. Conforme a espécie vegetal cultivada, tanto a distribuição do sistema radicular como o grau de sombreamento do solo, entre outros fatores, podem variar com a posição da amostra em relação à base das plantas. Para padronização, a posição da amostra em relação às plantas nas linhas e entrelinhas pode ser um fator importante a considerar na determinação dos pontos de amostragem, como foi adotado por Oliveira et al. (2000). Tomadas as medidas de padronização, a decisão quanto ao número de subamostras cabe inteiramente ao pesquisador, que levará em conta o

Amostragem de solo para análises biológicas

máximo de informações que tiver sobre a área e sobre o método que utilizará para determinação daquela variável. O importante é que a amostra em que se fará a análise seja homogênea.

Muitos autores utilizam amostras compostas na coleta de microrganismos (KLEIN & PASCHKE, 2000), isto é, resultantes da mistura de algumas subamostras, com a finalidade de aumentar a homogeneidade e reduzir custos, pela análise de um menor número de amostras, porém mais representativas. O número de subamostras varia muito, indo de duas (SALINAS-GARCÍA et al., 2002), ou cinco (GONZÁLEZ et al., 2003) até dez (PANKHURST et al., 2002). Entretanto, essa abordagem é válida sob determinadas condições: as amostras devem ser compostas por igual número e quantidade de subamostras e não deve haver interação entre as subamostras individuais que possa afetar os resultados (WOLLUM II, 1994).

Amostras compostas também podem ser utilizadas para alguns grupos de macrorganismos, como protozoários e nematóides (McSORLEY & WALTER, 1991; AESCHT & FOISSNER, 1996). Embora ferramentas estatísticas que permitam determinar o número de subamostras necessárias sejam escassas, a maioria dos pesquisadores utiliza entre 10 e 20 subamostras (AESCHT & FOISSNER, 1996). Amostras compostas, entretanto, geralmente não são indicadas para a maioria dos outros grupos faunísticos do solo. O procedimento altera a estrutura do solo e prejudica a remoção posterior dos indivíduos, principalmente por métodos dinâmicos tradicionais de extração como funis de Berlese-Tullgren, Macfadyen e Kempson (EDWARDS & FLETCHER, 1971; ADIS, 1987, 2002; EDWARDS, 1991; OLIVEIRA et al., 2000), além de poder destruir organismos delicados pelo efeito abrasivo das partículas do solo ao se misturarem as subamostras individuais.

Variações sazonais, juntamente com o desenvolvimento da própria cultura vegetal, também exercem grande influência na biomassa e atividade microbiana, assim como na fauna do solo. Isso é resultante da combinação de fatores como temperatura, umidade e vegetação, além da modificação dos efeitos de práticas agrícolas ao longo do tempo, como a reestruturação do solo, sombreamento e adição de matéria orgânica ao solo, entre outros. Uma forma de se obter uma mais completa caracterização da biota do solo é a

realização de repetidas amostragens durante o ano, procedimento de grande importância para o reconhecimento de variações sazonais. Embora a exigência quanto à frequência de coleta varie conforme os organismos de interesse, no caso da fauna – considerando-se que há limitações em relação ao número de amostras possível de ser processado por coleta ou ao longo do estudo – é recomendável que as amostragens representem o maior número possível de fases da área investigada. Para uma única avaliação, a coleta de amostras não deve ser imediatamente após um evento climático extremo, como um longo período de seca, por exemplo.

Todavia, como medida de padronização, Oliveira et al. (2000) realizaram coletas dois dias após o término de precipitações pluviais superiores a 20 mm em diferentes períodos, permitindo que a umidade nas amostras de solo estivesse sempre em torno de 25% nas diferentes épocas de amostragem. Outros fatores, como a adição de fertilizantes minerais ou compostos orgânicos, também podem alterar a atividade microbiana, assim como a fauna do solo.

O pesquisador deparar-se-á, inevitavelmente, com a necessidade da decisão sobre o número de amostras do solo a serem coletadas, assim como de repetições. A obtenção de amostras representativas, com análises cujos resultados possam ser tratados estatisticamente, é extremamente importante. Na definição quanto ao número de pontos a serem amostrados, o pesquisador deverá valer-se do conhecimento da área e do processo que deseja medir, considerando a distribuição espacial específica dos organismos de interesse na análise. Geralmente, uma avaliação preliminar auxilia a definição dos procedimentos de amostragem e evita problemas futuros (VEERESH & RAJAGOPAL, 1988). Nesse sentido, técnicas de geoestatística podem complementar a estatística clássica para auxiliar a coleta de dados de campo, nos casos em que as observações não são espacialmente independentes.

Baath & Anderson (2003), por exemplo, utilizaram cinco amostras para representar uma área de 2500 m², na avaliação da taxa respiratória de fungos e de bactérias, separadamente. Já Chapman et al. (2003) – com outro objetivo, embora tenham também avaliado a respiração, entre outras variáveis – dividiram a área com três linhas paralelas de 180 m de comprimento e distantes 50 m entre si. Cada linha foi dividida em dez partes, com onze

Amostragem de solo para análises biológicas

pontos sobre cada uma. Tomaram amostras em todos os pontos de interseção dessa malha. Nesse último trabalho, os autores compararam uma série de variáveis químicas e microbiológicas como indicadores de mudanças no manejo do solo. Os números de amostras em um e outro trabalho estão ligados diretamente aos objetivos dos autores. Segundo Wollum II (1994), o número depende de quão precisa se deseja a determinação. Não se pode esquecer que um número excessivo de amostras demanda mais tempo e mais trabalho, fatores que devem ser ponderados na definição da quantidade de amostras tomadas. Ainda de acordo com Wollum II (1994), “coletar informações demais gasta tempo e recursos; informações de menos tornam o estudo inútil ou levam a conclusões erradas.”

No caso da fauna, a decisão quanto ao número de amostras talvez seja a etapa mais crítica no planejamento da amostragem. Devido ao alto grau de agregação apresentado pela maioria dos macrorganismos, freqüentemente do tipo binomial negativa, o número de pontos de coleta geralmente exigido para uma amostragem representativa é bastante alto. Obviamente, a definição sobre o número de amostras necessário, assim como sobre outros aspectos a serem considerados na amostragem, deve ser rigorosamente baseada em um estudo prévio da área, além de informações disponíveis da literatura sobre os grupos faunísticos de interesse. Nesse sentido, Phillipson (1971), Eijsackers & Bund (1980) e Schinner et al. (1996) oferecem informação sobre características das agregações de diferentes grupos faunísticos, freqüência de coleta e número de pontos de amostragem geralmente adotado para cada grupo por período de coleta (10 amostras no mínimo para protozoários, nematóides e enquitreídeos). O número adotado para microartrópodos, principalmente ácaros e colêmbolos, é muito variável. Entretanto, independentemente do número de pontos amostrados, a maioria dos estudos geralmente enfrenta dificuldade na obtenção de amostras representativas. No caso de ácaros oribatídeos, por exemplo, uma vez que o número de indivíduos coletados em cada ponto apresenta normalmente grande variação, um número muito grande de amostras é geralmente necessário para estimativa da média de indivíduos em uma determinada área, apesar de gerar dificuldades no processamento das amostras. Como recomendação geral para análises

faunísticas em solos cultivados, onde a abundância de indivíduos é geralmente baixa, devem ser tomadas amostras do maior número possível de pontos do solo, levando também em conta aspectos práticos como custos, mão de obra, capacidade de processamento de amostras e características do método de extração a ser utilizado.

6.2. Coleta das amostras de solo

Antes de proceder à amostragem, alguns autores mencionam especificamente a necessidade da retirada da camada de serapilheira, composta por material orgânico ainda não decomposto e, portanto, possível indutora de grandes variações na atividade microbiana (BAATH & ANDERSON, 2003; CHAPMAN et al., 2003; VOR et al., 2002). Apesar da enorme diversidade e abundância de microartrópodos e outros macrorganismos que podem habitar a serapilheira, apenas a coleta de amostras de solo será abordada no presente capítulo com relação ao estudo da fauna.

Tanto a quantidade do solo a ser amostrado quanto a profundidade de amostragem são muito variáveis, dependendo dos organismos de interesse e da finalidade da análise. A profundidade de coleta em áreas agrícolas limita-se geralmente à camada agricultável do solo (0 a 20 ou 25 cm) ou ao horizonte que concentra maior quantidade de raízes (0-10 cm) (PHILLIPSON, 1971; FORSTER, 1995; SCHINNER et al., 1996).

Na amostragem de solo para utilização em análises químicas da presença e da atividade de microrganismos, poucos pesquisadores mencionam problemas de contaminação, uma vez que esse não seria um fator crítico. É de se supor que, desde que o instrumento não esteja “sujo” com a amostra anterior, pequenas partículas eventualmente presentes não representariam fonte relevante de contaminação de uma substância química a ser analisada em uma amostra com 50 ou 100 gramas de solo. Mas Blume et al. (2002) tomaram cuidados para evitar a contaminação do solo da subsuperfície com o da superfície, uma vez que estavam comparando a biomassa microbiana, a estrutura da comunidade e a atividade metabólica nas camadas de 0-20, 70-90 e 150-170 cm de profundidade, em amostras não perturbadas.

Amostragem de solo para análises biológicas

O instrumento utilizado para a amostragem do solo foi primeiramente lavado com água e depois com etanol, como forma de evitar a contaminação. Com o mesmo objetivo, descartaram 1 cm do solo em toda a volta dos núcleos das amostras utilizando uma espátula esterilizada. Assim, como recomendação geral, os implementos e recipientes devem estar desinfestados e cuidados devem ser tomados para evitar a contaminação entre as amostras.

Há uma grande variação entre a quantidade de solo a ser amostrada para as diferentes finalidades em análises microbiológicas. Alguns trabalhos utilizam pequenos agregados de solo para estudos de supressividade a fitopatógenos (GHINI & NAKAMURA, 2001), outros necessitam de amostras com 5 a 10 g, como por exemplo, para determinação de atividade microbiana por hidrólise de diacetato de fluoresceína (FDA, BOEHM & HOITINK, 1992). Há também os que necessitam amostras maiores, perturbadas ou não, coletadas com trados grandes. Preferencialmente, entretanto, amostras similares quanto ao tamanho devem ser obtidas para permitir uma acurada avaliação entre as amostras.

Para análises microbiológicas, os autores são praticamente unânimes em relatar que o solo deve ser submetido a peneiramento, com a finalidade de eliminar pedras, raízes e material orgânico não decomposto. Na grande maioria dos experimentos o solo é passado por peneira com malha de 2 mm (MENDHAM et al., 2003; MENYAILO et al., 2003; BAILEY et al., 2002; PANKHURST et al., 2002; BARROTI & NAHAS, 2000; JOERGENSEN, 2000; KLEIN & PASCHKE, 2000; BARAJAS-ACEVES et al., 1999; CHABOT et al., 1996). Mas há autores que optam por peneiras de malhas diferentes, como as de 4 mm (BALOTA et al., 2003; GHANI et al., 2003; LU et al., 2002), 5 mm (CHAPMAN et al., 2003; KOURTEV et al., 2002; NGUYEN & HENRY, 2002) e até mesmo 0,149 mm (CRITTER et al., 2001). Nesse caso da malha mais estreita tratava-se de um trabalho em que o solo fora submetido a estudos de microcalorimetria na avaliação da atividade microbiana; pelo pequeno volume de cada amostra empregada o tamanho das partículas de solo era fundamental.

O peneiramento é realizado para obterem-se resultados mais reproduzíveis, reduzindo os efeitos da heterogeneidade natural dos solos. Esse

procedimento é justificável para trabalhos que não estão avaliando a distribuição natural de microrganismos no solo. Também deve ser considerado que o peneiramento, de certa forma, seleciona microrganismos que não estão associados a partículas maiores ou agregados que serão excluídos. Essa operação também pode alterar a composição original da microbiota, já que a fragmentação da matéria orgânica torna-a mais disponível ao ataque dos microrganismos e, assim, estimula a atividade microbiana. Um período de pré-incubação, com a finalidade de neutralizar os efeitos do peneiramento, é recomendado.

Existem várias fontes de informação detalhada disponíveis sobre metodologia de coleta de amostras de solo para análises faunísticas. As amostras normalmente são coletadas com o auxílio de ferramentas de amostragem específicas, denominadas sondas. Embora as sondas sejam geralmente cilíndricas, feitas de aço ou alumínio, são muitos os modelos e materiais que podem ser utilizados. Simples anéis metálicos com uma das extremidades cortante podem ser empregados na coleta de amostras de até 5 cm de profundidade. Para profundidades maiores do que 5 cm, são normalmente utilizados tubos metálicos divididos longitudinalmente em duas partes iguais, que permitem abertura da sonda para remoção do solo. As sondas, ao serem inseridas no solo, permitem a coleta de amostras com dimensões definidas. O diâmetro das amostras e a profundidade de coleta dependem das características das espécies de interesse no estudo, como tamanho dos indivíduos, abundância e grau de agregação, de modo que o tamanho das porções de solo amostradas pode variar de 2,5 cm a 1 m de diâmetro e de 5 a 50 cm de altura. Para protozoários e nematóides usualmente são utilizadas sondas de cerca de 2,5 cm de diâmetro, variando entre 3 e 5 cm. A profundidade de coleta em áreas agrícolas geralmente varia entre 5 e 15 cm da superfície do solo. Para enquitreídeos, ácaros e colêmbolos, sondas de cerca de 5 cm geralmente são suficientes, podendo variar entre 5 e 8 cm (PHILLIPSON, 1971; EDWARDS, 1991; SCHINNER et al., 1996). A mais alta concentração de indivíduos normalmente é encontrada próxima à superfície do solo e, portanto, normalmente é suficiente uma amostragem a uma profundidade de 15 cm. Nesse caso, a amostra deve ser separada em camadas de no máximo

Amostragem de solo para análises biológicas

5 cm antes da extração dos indivíduos, principalmente se forem adotados métodos dinâmicos tradicionais de extração como funis de Berlese-Tullgren, Macfadyen e Kempson.

Para minhocas e artrópodos grandes, devem ser utilizadas sondas entre 10 e 30 cm, coletando-se a uma profundidade entre 10 a 20 cm da superfície do solo (ADIS, 1987, 2002; EDWARDS, 1991; SCHINNER et al., 1996). Como recomendação geral para a coleta de amostras de solo para avaliação de microartrópodos, é de extrema importância que o solo não seja compactado durante a coleta, procurando-se manter as características naturais de porosidade das amostras da maneira mais integral possível.

6.3. Transporte e armazenamento

Uma vez retiradas, as amostras para análise de microrganismos devem ser acondicionadas em sacos plásticos, que têm a vantagem de serem permeáveis a gases como O_2 e CO_2 mas não permitirem a desidratação das amostras neles contidas (WOLLUM II, 1994). A desidratação do solo pode reduzir o número e alterar a composição da comunidade microbiana. O transporte das amostras deve ser imediato, logo após a coleta do solo. No caso de amostras não perturbadas, deve-se evitar vibração ou agitação do material.

Para análise dos macrorganismos, também é importante que as amostras sejam acondicionadas em temperatura e recipientes adequados antes do transporte ao laboratório. O acondicionamento deve ser feito de maneira a se promover o menor distúrbio possível nas características estruturais naturais do solo, evitando-se compactação. Amostras mais superficiais, isto é, retiradas de até 5 cm de profundidade, coletadas com sondas anelares, não necessitam ser removidas do interior dos anéis coletores, sendo cada unidade amostral transportada ao laboratório dentro de uma sonda. Apesar da necessidade de um grande número de anéis, uma vantagem desse tipo de sonda é que, como a manipulação da porção de solo amostrada não é necessária, afeta-se em menor grau a porosidade natural, aspecto importante na extração dos macrorganismos por métodos dinâmicos como funis de Berlese-Tullgren, Macfadyen e Kempson.

No caso dessas sondas, com amostras parcialmente protegidas pelas paredes dos anéis, pode-se simplesmente acondicionar cada conjunto sonda-amostra em um saco plástico ou embalá-lo com filme de PVC. No caso de coletas em maiores profundidades, as amostras devem ser removidas do interior da sonda – tubo metálico dividido longitudinalmente – e repartidas em camadas de no máximo 5 cm de altura, principalmente no caso da utilização subsequente de métodos dinâmicos de extração. Deve-se tomar muito cuidado no momento de manipular o solo para divisão das camadas, de modo a não pressionar ou compactar as amostras. Nesse caso, o acondicionamento de cada camada em pequenas caixas plásticas com tampas é mais indicado do que o uso de sacos plásticos, para evitar compactação. Uma vez embaladas, as amostras devem ser acomodadas em caixas de poliestireno para proteção contra o calor e a insolação. Deve-se evitar qualquer tipo de sobreposição de amostras no interior das caixas que possa causar pressão sobre o solo. As amostras devem ser levadas ao laboratório o mais breve possível, protegidas contra vibração durante o transporte.

Com relação ao armazenamento de amostras para análises faunísticas, o ideal é que o processamento das amostras para extração dos macrorganismos se inicie assim que cheguem ao laboratório ou, no máximo, 24 horas após a coleta (EDWARDS & FLETCHER, 1971; MEYER, 1996), principalmente se forem adotados métodos dinâmicos, os mais comumente utilizados para a extração dos indivíduos (EDWARDS, 1991). Se necessário, durante o tempo anterior ao processamento, as amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente, ou a 25°C. Alguns autores sugerem o armazenamento de amostras sob refrigeração (EDWARDS, 1991; WINTER & VORONEY, 1993), mas como seu efeito na extração dos indivíduos, principalmente dos artrópodos, por métodos dinâmicos ainda não está bem esclarecido (EDWARDS & FLETCHER, 1971; LAKLY & CROSSLEY, 2000), é melhor que o resfriamento seja evitado.

Quanto aos microrganismos, a questão do armazenamento também é um ponto importante a ser considerado. Como raramente se pode processar todas as amostras ao mesmo tempo, em que condições devem ser mantidas em laboratório até que as análises sejam feitas? A recomendação

Amostragem de solo para análises biológicas

geral é que as amostras sejam mantidas nas mesmas condições físicas, químicas e biológicas que elas se encontravam *in situ*, a partir do momento da coleta até a realização da análise, o que é impossível. Do ponto de vista prático, é quase unânime o armazenamento sob refrigeração. A maioria dos autores recomenda que as amostras sejam coletadas e colocadas em caixas contendo gelo e, após o transporte até o laboratório, sejam mantidas em geladeira (4 °C). Outros acreditam que é preferível manter em temperatura ambiente, com a finalidade de reduzir os efeitos das alterações de temperatura nas amostras. Outra possibilidade interessante é preservar as amostras em recipientes térmicos ou similares. Willians & Gray (1973) sugerem que blocos maiores de solo podem ser obtidos em campo, levados ao laboratório e subamostras retiradas imediatamente antes da análise. A viabilidade desse procedimento depende principalmente das características físicas do solo e da disponibilidade de coleta, transporte e armazenamento de todo esse material. O ideal, em todos os casos, é que as amostras sejam utilizadas logo após a coleta.

Quando há armazenamento em geladeira, o período em que podem ser mantidas a essa temperatura sem que os resultados sejam comprometidos ainda não está bem definido. Na literatura encontram-se procedimentos bastante diversificados: Blume et al. (2002) iniciaram suas análises após a coleta das amostras, que ficaram no máximo 48 horas no refrigerador, enquanto que Raubuch & Beese (1999) mantiveram as amostras a 4 °C por até quatro meses e Baath & Anderson (2003), por cinco meses.

Nem sempre, todavia, o laboratório tem condições de processar todas as amostras ao mesmo tempo, ou num tempo suficientemente curto para que as eventuais mudanças determinadas pelo armazenamento não cheguem a se manifestar nos resultados. Como somente podiam processar poucas amostras por dia, Kourtev et al. (2002) contornaram esse problema sorteando as que iriam avaliar diariamente. Embora não seja um procedimento tão comum, é uma forma de poder desenvolver alguns estudos. Nesse caso, a colaboração de um especialista em estatística será de grande importância.

À parte o questionamento sobre *quanto* o armazenamento altera a microbiota do solo, é certo que deve alterá-la, em maior ou menor extensão. Além disso, quando se considera a variabilidade das comunidades microbianas

no espaço e no tempo, dependendo dos variados microhabitats existentes no solo (BLACKWOOD & PAUL, 2003; ELLINGSOE & JOHNSEN, 2002), o armazenamento pode produzir, inclusive, resultados diferentes em amostras do mesmo solo. Por esse motivo, é freqüente a pré-incubação do solo antes de se iniciarem as análises. A pré-incubação consiste na manutenção das amostras, depois de retiradas da refrigeração, em um ambiente com condições adequadas de umidade e temperatura para que os microrganismos voltem a crescer e tenham seu desenvolvimento estabilizado, após um determinado período. As temperaturas e o tempo pelo qual as amostras são incubadas variam: Chapman et al. (2003) pré-incubaram as amostras a 21 °C por uma semana, enquanto que Bailey et al. (2002) deixaram-nas a 25 °C por duas semanas, Vischetti et al. (2002), a 20 °C por três dias e Turner et al. (2001), a 10-15 °C por uma semana. Como se vê, o importante é permitir que a microbiota possa crescer por algum tempo, até atingir o equilíbrio permitido pelas condições fornecidas. As diferentes análises determinarão os melhores procedimentos a seguir a partir desse momento.

6.4. Amostragem para isolamento ou quantificação de microrganismos rizosféricos

De acordo com Hiltner (1904), rizosfera é o solo sob influência das raízes. É nessa região que ocorre a maior parte da atividade microbiana do solo, pela grande disponibilidade de nutrientes oriundos da exsudação das raízes. É também aí que se registram as interações de plantas e microrganismos, sejam elas benéficas ou deletérias. Portanto, a rizosfera constitui-se em boa fonte de isolados microbianos para quem deseja trabalhar com interações benéficas.

Wollum II (1994) recomenda que se cave o solo em torno do sistema radicular, de modo a permitir que o maior número possível de raízes seja retirado. O sistema radicular é agitado levemente, até soltar o material mais frouxamente preso a ele. O solo aderido às raízes é o que será chamado rizosférico. O conjunto raízes + solo deve ser colocado em sacos plásticos e mantido em caixa com gelo até o transporte para o laboratório. Quando o

Amostragem de solo para análises biológicas

principal objetivo do pesquisador é a obtenção de um isolado potencialmente benéfico, as amostras assim obtidas já poderão ser utilizadas, uma vez que, a rigor, não será quantificada nenhuma atividade. O solo ou os pedaços de raízes devem ser transferidos para um frasco com água ou com uma solução isotônica e os procedimentos de isolamento transcorreriam a partir daí.

Nos casos em que o objetivo é fazer alguma análise comparativa entre solo rizosférico e não rizosférico, pode-se juntar solo e raízes numa única amostra e submeter o conjunto todo a peneiramento. Considerar-se-á solo não rizosférico o que passar por uma peneira. A utilização da peneira é indicada para amostras de solo retiradas no campo, principalmente em presença de gramíneas, com sistema radicular fasciculado. Uma peneira com malha de 2 mm, por exemplo, deverá separar as raízes do volume de solo coletado juntamente. As raízes que ficarem terão solo a elas aderido, que será considerado rizosférico; serão então lavadas e a suspensão, centrifugada. Dessa maneira, separam-se o solo rizosférico e o não rizosférico (JOERGENSEN, 2000).

Todavia, se a intenção for a enumeração de indivíduos de uma espécie ou de um grupo de espécies, ou, ainda, a avaliação de algumas variáveis em um solo caracteristicamente rizosférico também há alguns procedimentos a seguir. O próprio conceito de rizosfera pode ser ponderado: em vasos onde a planta passa semanas ou meses crescendo na mesma porção de solo, as raízes emaranham-se, enovelam-se, de modo a tornar rizosférico praticamente todo o solo. Mesmo trabalhando em condições de campo, Kourtev et al. (2002) definiram como rizosférico o solo nos primeiros 5 cm de profundidade, região com maior concentração de raízes de uma floresta de clima temperado. Para isso, basearam-se na observação de que a grande maioria das raízes estava, no máximo, a 2 mm umas das outras. O solo abaixo do emaranhado de raízes foi considerado não rizosférico. No entanto, em condições de campo, aceita-se normalmente que a rizosfera compreende apenas alguns milímetros em torno das raízes (CARDOSO & FREITAS, 1992). De maneira geral, considera-se solo rizosférico aquele que está aderido às raízes (JOERGENSEN, 2000; REID et al., 1984; WOLLUM II, 1994).

Wollum II (1994) recomenda ainda que não se armazene solo aderido às raízes, mesmo em refrigeração, possivelmente considerando o fato

de que, pela presença de alguma exsudação radicular, ainda que diminuída, possa alterar-se radicalmente a composição da microbiota rizosférica. A recomendação tem razão de ser: Shishido & Chanway (1998) pesquisaram justamente o efeito do armazenamento sobre as comunidades microbianas do solo e sobre a eficácia de rizobactérias promotoras do crescimento de plantas (RPCPs). Os tratamentos considerados, em três solos diferentes, foram o solo fresco, como testemunha, e solo armazenado por 32 semanas a 4 ou a -10 °C, todos peneirados com malha de 2 mm. O interessante é que mesmo as amostras do tratamento testemunha foram mantidas a 4°C por duas semanas, período entre a amostragem e o início das análises. Observaram que o armazenamento alterou as características das comunidades das amostras, que eram bem semelhantes para os três solos estudados. Essas alterações influenciaram a eficácia das RPCPs estudadas.

Dependendo do objetivo do trabalho e até mesmo dos métodos empregados, deve-se estar atento inclusive ao tamanho da amostra. Com o advento dos métodos independentes de cultivo, os pesquisadores puderam conhecer não apenas os microrganismos que crescem em meios de cultura mas passaram a determinar um número muito grande de genomas diferentes em pequenas amostras de solo, confirmando o fato de que apenas uma pequena porcentagem dos microrganismos é detectada pelos métodos clássicos. Ranjard et al. (2001), citados por Kent & Triplett (2002), utilizando métodos independentes de cultivo, observaram que as espécies microbianas variaram com o tamanho das partículas de solo. À conclusão semelhante chegaram Ellingsoe & Johnsen (2002), num trabalho em que compararam o efeito do volume de amostras de solo sobre a estrutura da comunidade bacteriana aí presente. Avaliaram tanto a estrutura heterotrófica – medida por métodos clássicos de cultivo – quanto a estrutura genética, medida por eletroforese em gradiente de gel denaturante (DGGE). Observaram que a diversidade entre amostras foi maior nas amostras de 0,01 e 0,1 g e quase negligível nas de 1 e 10g, pelos dois métodos de avaliação. Aventaram a hipótese de que, pelo pequeno tamanho, as amostras menores têm um número limitado de habitats, o que não aconteceria com as amostras maiores. Os autores concluíram que amostras maiores devem ser utilizadas quando se deseja medir, por exemplo,

Amostragem de solo para análises biológicas

o efeito de atividades antrópicas sobre a microbiota do solo; no entanto, amostras menores são mais úteis quando se deseja obter isolados novos. No primeiro caso, a ocorrência de maior número de habitats favorece a detecção de alterações oriundas da atividade antrópicas, enquanto que, para isolamento de microrganismos, não necessariamente a variabilidade de habitats seja importante.

Referências

ADIS, J. Extraction of arthropods from neotropical soils with a modified Kempson apparatus. **Journal of Tropical Ecology**, n.3, p.131-138, 1987.

ADIS, J. Recommended sampling techniques. In: ADIS, J. (Ed.). **Amazonian Arachnida and Myriapoda**. Sofia: Pensoft, 2002. 590p.

AESCHT, E.; FOISSNER, W. Microfauna. In: SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. (Ed.). **Methods in soil biology**. Berlin: Springer-Verlag, 1996. 426p.

BAATH, E.; ANDERSON, T. H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.955-963, 2003.

BACHELIER, G. **La faune des sols: son écologie et son action**. Paris: O.R.S.T.O.M., 1978. 391p.

BAILEY, V. L.; SMITH, J. L.; BOLTON Jr., H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 997-1007, 2002.

BALOTA, E. L.; COLOZZI FILHO, A.; ANDRADE, D. S. & DICK, R. P. Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p.15-20, 2003.

BARAJAS-ACEVES, M.; GRACE, C.; ANSORENA, J.; DENDOOVEN, L.; BROOKES, P. C. Soil microbial biomass and organic C in a gradient of zinc concentrations in soils around a mine spoil tip. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 31, p.867-876, 1999.

BARROTI, G.; NAHAS, E. População microbiana total e solubilizadora de fosfato em solo submetido a diferentes sistemas de cultivo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.10, p.2043-2050, 2000.

BERTHET, P.; GERARD, G. A statistical study of microdistribution of Oribatei (Acari). Part I. The distribution pattern. **Oikos**, v.16, p.214-227, 1965.

BLACKWOOD, C. B.; PAUL, E. A. Eubacterial community structure and population size within the soil light fraction, rhizosphere, and heavy fraction of several agricultural systems. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.1245-1255, 2003.

BLUME, E.; BISCHOFF, M; REICHERT, J. M.; MOORMAN, T.; KONOPKA, A.; TURCO, R. F. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. **Applied Soil Ecology**, v.20, p.171-181, 2002.

BOEHM, M. J.; HOITINK, H. A. J. Sustenance of microbial activity in potting mixes and its impact on severity of Pythium root rot of Poinsettia. **Phytopathology**, v.82, n.3, p.259-264, 1992.

CARDOSO, E. J. B. N.; FREITAS, S. S. A rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. (Ed.). **Microbiologia do solo**. 1. ed. Campinas: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992. p.41-57.

CHABOT, R.; ANTOUN, H.; CESCAS, M. P. Growth promotion of maize and lettuce by phosphate-solubilizing Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli. **Plant and Soil**, v.184, p.311-321, 1996.

CHAPMAN, S. J.; CAMPBELL, C. D.; PURI, G. Native woodland expansion: soil chemical and microbiological indicators of change. **Soil Biology & Biochemistry**, v.35, p.753-764, 2003.

CRITTER, S. A. M.; FREITAS, S. S.; AIROLDI, C. Calorimetry versus respirometry for the monitoring of microbial activity in a tropical soil. **Applied Soil Ecology**, v.18, p.217-227, 2001.

EDWARDS, C.A. The assessment of populations of soil-inhabiting invertebrates. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.34, n.1-4, p.145-176, 1991.

Amostragem de solo para análises biológicas

EDWARDS, C.A.; FLETCHER, K.E. A comparison of extraction methods for terrestrial arthropods. In: PHILLIPSON, J. (Ed.) **Methods of study in quantitative soil ecology**: population, production and energy flow. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1971. 297p. (IBP Handbook No. 18).

EIJSACKERS, H.; van DE BUND, C.F. Effects on soil fauna. In: HANCE, R.J. (Ed.). **Interactions between herbicides and the soil**. London: Academic Press, 1980. 349p.

ELLINGSOE, P.; JOHNSEN, K. Influence of soil sample sizes on the assessment of bacterial community structure. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 34, p. 1701-1707, 2002.

FORSTER, J.C. Soil sampling, handling, storage and analysis. In: ALEF, K.; NANNIPIERRI, P. (Ed.). **Methods in applied soil microbiology and biochemistry**. 2. ed. London: Academic Press, 1995. p.49-121.

FREITAS, S. S.; MELO, A. M. T.; DONIZELI, V. P. Promoção do crescimento de alface por rizobactérias. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v. 27, p. 61-70, 2003.

GHANI, A.; DEXTER, M.; PERROTT, K. W. Hot-water extractable carbon in soils: a sensitive measurement for determining impacts of fertilization, grazing and cultivation. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 35, p. 1231-1243, 2003.

GHINI, R.; NAKAMURA, D. Seleção de antagonistas e nutrientes que induzem supressividade a *Fusarium oxysporum* f. sp. phaseoli em microcosmo e in vitro. **Summa Phytopathologica**, v.27, n.3, p.318-322, 2001.

GONZÁLEZ, M. G.; CONTI, M. E.; PALMA, R. M.; ARRIGO, N. M. Dynamics of humic fractions and microbial activity under no-tillage or reduced tillage, as compared with native pasture (Pampa Argentina). **Biology and Fertility of Soils**, v.39, p.135-138, 2003.

HILTNER, L. Über neuere Erfahrungen und Probleme auf dem Gebiet der Bodenbakteriologie unter besonderer Berücksichtigung der Gründüngung und Brache. **Arb. Deut. Landwirtsch.**, Berlin, v.98, p.59-78, 1904.

JOERGENSEN, R. G. Ergosterol and microbial biomass in the rhizosphere of grassland soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.32, p.647-652, 2000.

KENT, A. D.; TRIPLETT, E. W. Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. **Annual Review of Microbiology**, v.56, p.211-236, 2002.

KLEIN, D. A.; PASCHKE, M. W. A soil microbial community structural-functional index: the microscopy-based total/active/active fungal/bacterial (TA/AFB) biovolumes ratio. **Applied Soil Ecology**, v. 14, p.257-268, 2000.

KOURTEV, P. S.; EHRENFELD, J. G.; HÄGGBLÖM, M. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. **Ecology**, v.83, n.11, p. 3152-3166, 2002.

LAKLY, M.B.; CROSSLEY, D.A. Tullgren extraction of soil mites (Acarina): effect of refrigeration time on extraction efficiency. **Experimental and Applied Acarology**, v.24, p.135-140, 2000.

LU, Y.; WATANABE, A.; KIMURA, M. Contribution of plant-derived carbon to soil microbial biomass dynamics in a paddy rice microcosm. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.136-142, 2002.

McSORLEY, R.; WALTER, D.E. Comparison of soil extraction methods for nematodes and microarthropods. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.34, n.1-4, p.201-207, 1991.

MENDHAM, D. S.; O'CONNELL, A. M.; GROVE, T. S.; RANCE, S. J. Residue management effects on soil carbon and nutrient contents and growth of second rotation eucalypts. **Forest Ecology and Management**, v.181, p.357-372, 2003.

MENYAILO, O. V.; LEHMANN, J.; CRAVO, M. S.; ZECH, W. Soil microbial activities in tree-based cropping systems and natural forests of the Central Amazon, Brazil. **Biology and Fertility of Soils**, v.38, p.1-9, 2003.

MEYER, E. Introduction. In: SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. (Ed.). **Methods in soil biology**. Berlin: Springer-Verlag, 1996. 426p.

Amostragem de solo para análises biológicas

NGUYEN, C.; HENRY, F. A carbon-14-glucose assay to compare microbial activity between rhizosphere samples. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.270-276, 2002.

OLIVEIRA, A.R.; MORAES, G.J. de; DEMÉTRIO, C.G.B.; DE NARDO, E.A.B. **Efeito do vírus de poliedrose nuclear de *Anticarsia gemmatilis* sobre Oribatida edáficos (Arachnida: Acari) em um campo de soja**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 32p. (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa, 13).

PANKHURST, C. E.; KIRKBY, C. A.; HAWKE, B. G.; HARCH, B. D. Impact of a change in tillage and crop residue management practice on soil chemical and microbiological properties in a cereal-producing red duplex soil in NSW, Australia. **Biology and Fertility of Soils**, v.35, p.189-196, 2002.

PAUL, E.A.; CLARK, F.E. **Soil microbiology and biochemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. 275p.

PHILLIPSON, J. (Ed.). **Methods of study in quantitative soil ecology: population, production and energy flow**. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1971. 297p. (IBP Handbook No. 18).

RAUBUCH, M.; BEESE, F. Comparison of microbial properties measured by O₂ consumption and microcalorimetry as bioindicators in forest soils. **Soil Biology & Biochemistry**, v.31, p.949-956, 1999.

REID, R. K.; REID, C. P. P.; POWELL, P. E.; SZANISZLO, P. J. Comparison of siderophore concentrations in aqueous extracts of rhizosphere and adjacent bulk soils. **Pedobiologia**, v.26, p.263-266, 1984.

SALINAS-GARCÍA, J. R.; VELÁZQUES-GARCÍA, J. J.; GALLARDO-VALDEZ, M.; DÍAZ-MEDEROS, P.; CABALLERO-HERNÁNDEZ, F.; TAPIA-VARGAS, L. M.; ROSALES-ROBLES, E. Tillage effects on microbial biomass and nutrient distribution in soils under rain-fed corn production in central-western Mexico. **Soil & Tillage Research**, v.66, p.143-152, 2002.

SCHINNER, F.; ÖHLINGER, R.; KANDELER, E.; MARGESIN, R. (Ed.). **Methods in soil biology**. Berlin: Springer-Verlag, 1996. 426p.

SHISHIDO, M.; CHANWAY, C. P. Storage effects on indigenous soil microbial communities and PGPR efficacy. **Soil Biology & Biochemistry**, v.30, p.939-947, 1998.

TURNER, B. L.; BRISTOW, A. W.; HAYGARTH, P. M. Rapid estimation of microbial biomass in grassland soils by ultra-violet absorbance. **Soil Biology & Biochemistry**, v.33, p.913-919, 2001.

USHER, M.B. Some properties of the aggregations of soil arthropods: Cryptostigmata. **Pedobiologia**, v.15, p.355-363, 1975.

USHER, M.B.; BOOTH, R.G.; SPARKES, K.E. A review of progress in understanding the organization of communities of soil arthropods. **Pedobiologia**, v.23, p.126-144, 1982.

VEERESH, G.K.; RAJAGOPAL, D. **Applied soil biology and ecology**. 2. ed. New Delhi: Oxford & IBH, 1988. 375p.

VISCHETTI, C.; CASUCCI, C.; PERUCCI, P. Relationship between changes of soil microbial biomass content and imazamox and benfluralin degradation. **Biology and Fertility of Soils**, v. 35, p. 13-17, 2002.

VOR, T.; DYCKMANS, J.; FLESSA, H.; BEESE, F. Use of microcalorimetry to study microbial activity during the transition from oxic to anoxic conditions. **Biology and Fertility of Soils**, v.36, p.66-71, 2002.

WALLWORK, J.A. **The distribution and diversity of soil fauna**. London: Academic Press, 1976. 355p.

WILLIAMS, S.T.; GRAY, T.R.G. General principles and problems of soil sampling. In: BOARD, R.G.; LOVELOCK, D.W. (Ed.). **Sampling - microbiological monitoring of environments**. London: Academic Press, 1973. pp.111-121.

WINTER, J.P.; VORONEY, R.P. Microarthropods in soil and litter. In: CARTER, M.R. (Ed.). **Soil sampling and methods of analysis**. Boca Raton: Lewis Publishers: Canadian Society of Soil Science, 1993. 823p.

WOLLUM II, A. G. Soil sampling for microbiological analysis. In: WEAVER, R. W.; ANGLE, S.; BOTTOMLEY, P.; BEZDICEK, D.; SMITH, S.; TABATABAI,

Amostragem de solo para análises biológicas

A.; WOLLUM, A. (Ed.). **Methods of soil analysis**. Part 2. Microbiological and Biochemical Properties. Madison: Soil Science Society of America, 1994. p. 1-14.

Parte III

ÁGUA

Capítulo 7

Amostragem de água para análises biológicas

Mariana Pinheiro Silveira e Júlio Ferraz de Queiroz

7.1. Amostragem das águas de superfície

7.1.1. Rios

Os rios, ou ambientes lóticos, são caracterizados pela constante movimentação das águas. Essa turbulência freqüentemente gera uma distribuição heterogênea de parâmetros físicos, químicos e biológicos neste ambiente. Outra característica marcante dos rios é que o seu volume varia temporalmente. Assim, ao se planejar uma amostragem, é preciso contemplar dois fatores: a amostragem em diferentes seções transversais e longitudinais do canal estudado, e a amostragem em diferentes épocas do ano, a fim de se observar as variações temporais de vazão do rio em estudo. Assim como a turbulência, a vazão do rio também terá influência sobre os parâmetros físico-químicos e biológicos da água.

7.1.1.1. Localização dos pontos de amostragem

O número de pontos de amostragem e a sua localização dependerão do objetivo da pesquisa. Devem ser levados em conta pelo pesquisador fatores como o tamanho da amostra e número de unidades amostrais.

Estudos limnológicos de pesquisa básica geralmente envolvem a mensuração de medidas físicas e químicas da água, a determinação da biomassa e da densidade de populações aquáticas e a variação destes parâmetros (físico-químicos e biológicos) no tempo e no espaço.

De maneira geral, quando se quer avaliar o impacto de algum poluente agrícola, por exemplo, a amostragem deve abranger três seções do rio estudado: a região à montante do impacto sofrido, para se avaliar as condições naturais sem o impacto; a região afetada diretamente pelo impacto, ou seja, a região de origem da fonte poluidora; e a região a jusante do impacto, para que se avalie o grau de autodepuração ou de recuperação do rio após o impacto sofrido. Entretanto, é preciso ressaltar que esta metodologia é válida apenas para casos de poluição pontual, onde a localização e a identificação dos efluentes é conhecida. Já em casos de poluição difusa, seria mais adequada a amostragem ao longo de todo o rio (desde a nascente até a foz). A poluição difusa ou não pontual é mais freqüentemente encontrada, pois em rios urbanos ou próximos a cidades são várias as fontes poluidoras: esgoto doméstico, poluição industrial e agrícola, entre outras. Muitas vezes os efluentes são liberados nos rios *in natura* (sem tratamento) e em cargas superiores à capacidade de depuração do rio. Esta mistura de diferentes fontes poluidoras ainda pode causar efeitos sinérgicos, piorando a situação de poluição e dificultando a aplicação de medidas mitigadoras.

7.1.1.2. Metodologia de amostragem

Além das amostras de água, é necessário medir alguns parâmetros fisiográficos importantes e influentes tanto nas características físico-químicas como nos parâmetros biológicos (fito e zooplâncton) que caracterizarão com mais propriedade as amostras de água. Como exemplo, deve ser considerada a largura e a profundidade média do canal, a velocidade média da correnteza e a vazão.

a) Largura e profundidade

Em rios de pequeno porte, a medição destes parâmetros básicos requer apenas uma estaca de madeira de 1 metro a 1 metro e meio, milimetrada com caneta para retroprojeter (à prova d'água). A medição é feita colocando-se a estaca horizontalmente na superfície da água, de uma margem à outra. Assim, obtém-se a largura. Ao mesmo tempo em que se marca a largura do

A amostragem de água para análises biológicas

canal, a cada metro percorrido coloca-se a estaca na posição vertical, até que ela toque no leito do canal, obtendo-se a profundidade. Assim, ao final será obtido um perfil transversal e longitudinal do rio estudado, com suas respectivas largura e profundidades (Fig. 1).

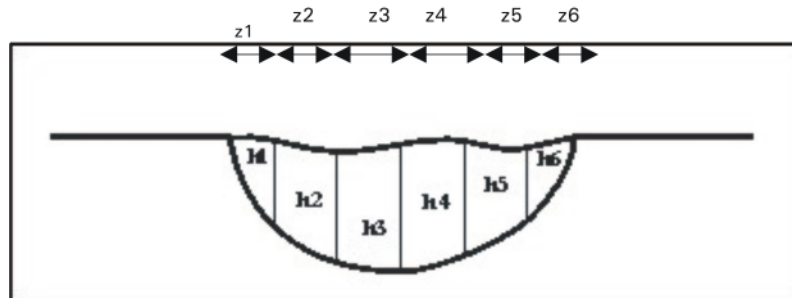


Fig. 1. Esquema da seção transversal de um rio dividida em diferentes subseções. z – larguras das subseções; h – altura de cada subseção transversal.

Já em caso de rios profundos ou grandes rios, a medição pode ser feita com um ecobatímetro. O princípio deste equipamento consiste em que um feixe de ondas sonoras (freqüência menor que 18KHz) ou ultra-sonoras (freqüência maior que 18KHz) seja transmitido verticalmente por emissor instalado na embarcação, atravessando o meio líquido até atingir o fundo submerso, e aí se reflete, retornando à superfície, onde é detectado por um receptor. O tempo decorrido entre a emissão do sinal e a recepção do eco refletido do fundo submerso é convertido em profundidade, visto que a velocidade do som na água é conhecida ou determinada. O registrador então representa visualmente ou graficamente o perfil transversal da profundidade.

b) Velocidade da correnteza

O molinete é um instrumento que mede a velocidade da correnteza com base no número de voltas por unidade de tempo, na medida em que passa o fluxo de água.

O método do flutuador também pode ser utilizado para calcular a velocidade da correnteza em rios de pequeno porte, embora seja um método

mais grosseiro. Neste método, uma seção reta do canal é selecionada, e é definida uma distância. O flutuador pode consistir em uma laranja ou bola de tênis. Então, o tempo em que o flutuador percorrerá a distância definida é medido várias vezes. Este método é menos preciso do que o molinete porque a velocidade da água não é homogênea ao longo de qualquer seção transversal ao canal e nem ao longo da profundidade. Deste modo, o método do flutuador é mais adequado para riachos e rios de pouca profundidade.

c) Vazão

A vazão de um rio é uma medida de grande importância na avaliação da qualidade da água, pois o volume de água numa determinada seção influir na capacidade de autodepuração do corpo d'água. A vazão pode ser definida como o volume de água que passa por determinada seção na unidade de tempo. A sua medida se dá pelo produto da área da seção transversal amostrada e a velocidade da corrente naquela seção. O fluxo de água é dado pelo volume na unidade de área e de tempo.

$$Q = A \cdot v \quad (1)$$

em que:

Q = vazão ou descarga de água;

A = seção transversal;

v = velocidade da corrente.

Em geral, o medidor de velocidade da correnteza se posiciona no meio da calha do rio, obtendo o valor médio da velocidade naquele ponto. Porém, em casos de rios profundos e grandes, pode-se dividir a calha do rio em várias seções transversais e, de dentro de um barco, medir a velocidade da água com auxílio de um molinete, em cada uma das seções estabelecidas. Assim, é possível obter várias "vazões", uma para cada seção transversal (Fig. 1). Ao final, faz-se o somatório das vazões para se obter a vazão total.

$$Q = \sum Q_n = z_1 h_1 V_1 + \dots + z_n h_n V_n \quad (2)$$

A amostragem de água para análises biológicas

Onde:

z = largura da seção transversal;

h = profundidade da seção transversal;

V = velocidade da água na seção transversal.

d) Coleta de água

O principal coletor de amostras de elementos dissolvidos da água (fase líquida) é a garrafa de Van Dorn, cujo funcionamento e estrutura são semelhantes à garrafa de Ruttner (Fig. 2). Esta garrafa possui um dispositivo, chamado mensageiro, que consiste em um peso metálico que corre ao longo da corda que sustenta o aparelho para desarmar o mecanismo de trava das tampas. Podem ser feitas de metal ou material sintético. As sintéticas são preferíveis por serem mais leves e práticas de operar e por não apresentarem risco de contaminação do zooplâncton em caso de estudos ecotoxicológicos. Sensores de alguns parâmetros físico-químicos, tais como: temperatura da água, condutividade elétrica, pH e oxigênio dissolvido podem ser acoplados na garrafa de Van Dorn, para medição no campo. Em lagos eutróficos (com grande quantidade de nutrientes) pode-se usar garrafa de pequeno volume (1 a 2 litros), mas em lagos oligotróficos (com pouca quantidade de nutrientes) são preferidas as garrafas de maior volume (5 litros) (COELHO, 2004).

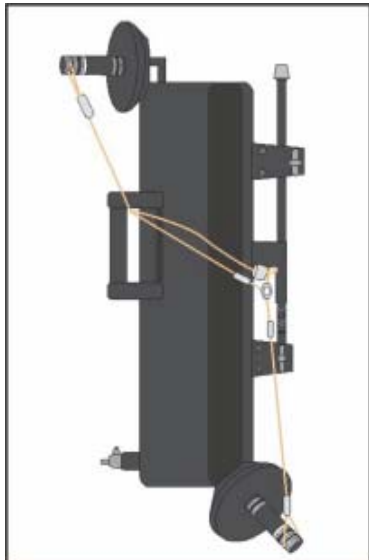


Fig. 2. Amostrador de fitoplâncton: Garrafa de Ruttner.

Diferentemente do material dissolvido, o material particulado não se distribui homogeneamente na coluna d'água. Por isso, existe a necessidade de um amostrador que colete amostras em diferentes profundidades. Estes coletores devem percorrer toda a coluna d'água com velocidades constantes de subida e de descida. Os coletores de material particulado geralmente consistem de garrafas com sacos plásticos dentro que, após a coleta, são removidos.

e) Armazenagem e preservação das amostras

As amostras de água devem ser acondicionadas em frascos apropriados, pois o material do qual o recipiente é feito pode acarretar em contaminações da amostra. Para a análise de parâmetros comuns como nitrogênio, amônia, ortofosfato, dureza, condutividade, as garrafas plásticas são adequadas. Os frascos de borosilicato ou de polietileno (de preferência escuros e resistentes a álcalis) são indicados para as análises de resíduos.

Quando não houver como fazer as análises em campo, a amostra deverá ser preservada para que não haja alterações em sua composição físico-química até o momento da análise em laboratório. Em geral, a maioria dos métodos de preservação inclui a adição de ácidos, de modo que a amostra preservada atinja um pH de 1-2. Para metais, utiliza-se ácido nítrico, que deve ser destilado antes do uso; o cloreto de mercúrio é usado na preservação de compostos orgânicos. Já os gases (gás carbônico, oxigênio dissolvido) exigem medidas especiais de amostragem e preservação. Por fim, a preservação de sedimentos em suspensão demanda apenas resfriamento.

7.1.2. Lagos, lagoas e represas

Uma das características de sistemas ecológicos é sua variação não aleatória, resultando na existência de padrões no espaço e no tempo. Nos lagos, lagoas e represas (ambientes lênticos) são comuns as estratificações vertical e horizontal. Nessas condições, medidas comparativas entre unidades amostrais, como similaridade, dissimilaridade e diferenças em diversidade de espécies, serão dependentes do tamanho das unidades amostrais.

A amostragem de água para análises biológicas

Em represas, particularmente, a variação do nível da água é mais evidente do que em lagos e lagoas, uma vez que há entrada contínua de água através de seus tributários; e há também saída constante de água, por meio de vazão vertida e turbinada. Essas variações implicam em mudanças espaço-temporais na concentração de nutrientes e sedimento na água do reservatório.

7.1.2.1. Localização dos pontos de amostragem

Geralmente, em amostragens no ambiente lântico (de águas paradas) a coleta é feita na área litorânea (das 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 à conexão com o mar e a proximidade de afluentes.

Em pequenos lagos de inundação, a região coletada é a mais profunda, a região litorânea junto a macrófitas e a área de conexão ou de maior profundidade com o rio. As épocas de coleta são no mínimo quatro: período de estiagem, de enchente, de cheia e de vazante, representando as variações estacionais.

7.2. Parâmetros biológicos

7.2.1. Fitoplâncton

Em águas interiores, podem ser encontrados representantes de praticamente todos os grupos de algas. A predominância de um ou outro grupo em determinado ecossistema é função, principalmente, das características

do meio. Como exemplo, nos lagos distróficos (ricos em compostos húmicos), ocorrem predominantemente as algas Chlorophyta, representada pela família Desmidiaceae. Dentre os grupos principais presentes na água doce, temos: Cyanophyta, Chlorophyta, Euglenophyta, Chrysophyta, Pyrrophyta (ESTEVES, 1998).

A comunidade do fitoplâncton constitui a base da cadeia alimentar nos ecossistemas aquáticos, e é a principal responsável pela produção de oxigênio dissolvido na água.

O fitoplâncton também pode ser bioindicador da qualidade da água. Assim, quando a concentração de nutrientes (principalmente nitrogênio e fósforo) atinge níveis extremos nos ambientes aquáticos, ocorre a proliferação de algas (*bloom* de algas), em função da grande oferta de alimento. O resultado final é o decréscimo do oxigênio dissolvido na água, cujo consumo, é indicado pela Demanda Bioquímica de Oxigênio – DBO, que aumenta muito. A proliferação demasiada de algas pode levar a morte de peixes e organismos aquáticos através da falta de oxigênio. Assim, o crescimento descontrolado do fitoplâncton é um indicativo de poluição orgânica nos ecossistemas aquáticos.

Algumas algas cianofíceas (*Anabaenopsis raciborskii*) e diatomáceas (*Asterionella* spp) são indicadoras de eutrofização. Os gêneros *Anabaena* e *Mycrocystis* liberam toxinas (geosmina e microcistina, respectivamente) comprometendo a potabilidade das águas para abastecimento. Por isso, a Portaria 1469/01 do Ministério da Saúde recomenda o monitoramento constante nos mananciais de abastecimento. E ainda, a proporção da biomassa de Clorophyta/Cyanophyta pode indicar proporção de N e P nos ecossistemas aquáticos.

a) Amostragem

Em geral, as pesquisas com fitoplâncton estudam os padrões de distribuição espacial e temporal e a sua correlação com os fatores ambientais que regulam essas distribuições.

A amostragem de água para análises biológicas

Alguns exemplos de amostradores para a comunidade do fitoplâncton são: van Dorn ou Ruttner (Fig. 2). As amostras são então processadas pelos métodos de sedimentação e concentração que permitem o aumento do número de indivíduos a serem enumerados, geralmente em microscópio óptico convencional, entre lâmina e lamínula. A análise quantitativa do fitoplâncton é a única que permite determinar tanto a biomassa ou densidade quanto a estrutura taxonômica das populações.

O método de quantificação das populações fitoplanctônicas mais utilizado é o de Utermöhl (1958). Ele se baseia no uso de uma câmara, no qual uma subamostra de 5-50 ml é colocada e deixada para sedimentar em câmaras de volume definido e contagem em microscópio invertido. Com este método, de enumeração dos organismos em campos aleatórios, as estimativas numéricas são mais próximas da população estatística. É recomendável, sempre que possível, a enumeração de 400 indivíduos da espécie mais freqüente para um intervalo de confiança de 95% (LUND et al., 1958), e um coeficiente de variação de 20% a 30% entre as amostras. Entretanto, isto só é possível quando ocorrem altas densidades populacionais, como em períodos de florações.

b) Distribuição espacial e temporal

As populações do fitoplâncton são influenciadas por variações nas massas d'água, as quais sofrem constantes alterações por processos físicos de circulação da água (advecção, convecção, turbulência, ondas internas, etc), e por processos biológicos (taxas de crescimento, herbivoria, mecanismos de flutuação das algas, etc).

Para a detecção de padrões espaciais, segundo Huszar & Giani (2004), é interessante aumentar o número de unidades amostrais, reduzindo a freqüência de coleta; e para detectar padrões temporais é desejável aumentar a freqüência das amostragens em menor número de compartimentos do lago.

b. 1) Distribuição vertical

A heterogeneidade vertical da coluna d'água é comum em ambientes termicamente estratificados. Nesses casos, as maiores densidades populacionais se localizam nas camadas mais superficiais. O número de unidades

amostrais dependerá, então, do grau dessa estruturação vertical. No Brasil, a estruturação vertical tem sido avaliada a partir de unidades amostrais coletadas arbitrariamente na superfície dos lagos, na metade da coluna d'água e junto ao fundo ou, então, a profundidades que correspondem a diferentes intensidades luminosas (100%, 75%, 50%, 10% e 1% da luz na subsuperfície). Ambientes rasos (cerca de 2m) são, muitas vezes, amostrados na superfície e no fundo ou apenas na superfície, supondo ausência de estruturação vertical (HUSZAR & GIANI, 2004).

O crescimento repentino e descontrolado de algas, fenômeno freqüente em ambientes eutrofizados, pode ter relação com a migração do fitoplâncton na coluna d'água. A proliferação sem controle de espécies de algas dinoflageladas, ocasionado pela disponibilidade de nutrientes em excesso, foi correlacionado com a migração vertical da espécie (*Gymnodinium splendens*), em um lago no Estado de Washington, nos Estados Unidos (ALBERSTON et al., 1995).

b.1.1) Amostragem ideal:

A fim de se obter uma amostra mais completa, Huszar e Giani (2004) sugerem amostragens integradas nos estratos homogêneo e estratificado, em estudos de reconhecimento de padrões, ou em zonas eufótica e afótica, para trabalhos sobre produção primária. A vantagem seria a maior abrangência da variabilidade no campo, com mesmo esforço de quantificação das populações fitoplanctônicas em laboratório. Segundo estas autoras, em um mesmo estrato, poderiam ser coletadas amostras a diferentes profundidades e depois misturadas, ou ser utilizados amostradores que integrem as porções desejadas da coluna d'água.

A amostragem estratificada ao acaso vem sendo considerada eficiente por assegurar cobertura mais completa da variabilidade, sem perder as propriedades da aleatoriedade (IRISH & CLARKE, 1984). Para eficiência máxima, os estratos deveriam ser internamente homogêneos, com variabilidade máxima entre estratos.

A amostragem de água para análises biológicas

b.2) Dimensão horizontal

Em sistemas lênticos, a heterogeneidade horizontal forma mosaicos, cujo tamanho e duração estão relacionados aos processos físicos e intrínsecos à comunidade. Tais mosaicos são formados de acordo com padrões de fluxo (advectivo e convectivo), os quais são mantidos pelo tempo em que a dinâmica das populações, por meio de seus processos de crescimento e perda, exceda as taxas de erosão em seus bordos. Em regiões onde haja algas de rápido crescimento, assim como regiões de maior variabilidade ambiental, espera-se maior heterogeneidade (HUSZAR & GIANI, 2004).

Na dimensão horizontal, o intervalo temporal de coleta é crucial, pois, dependendo da extensão horizontal, da velocidade de escoamento da massa d'água e do tempo de geração das populações, a variabilidade detectada também pode estar relacionada às mudanças intrínsecas à comunidade, e não somente, aos fatores externos que regulam suas distribuições. Segundo Huszar & Giani (2004), para a detecção de padrões horizontais, é desejável aumentar o número de unidades amostradas, reduzindo a frequência de coleta e utilizando amostras superficiais ou integradas.

b. 3) Dimensão temporal

As variações cíclicas de luz e temperatura resultam em variações na biomassa e na composição do fitoplâncton. Assim, algumas coletas abrangem um calendário anual ou interanual. As variações diárias são abordadas pelas coletas que acompanhem o comportamento nictemeral dos organismos. Em um estudo italiano, no lago Di Tovel, Baldi (1941) estudou a migração vertical do fitoplâncton causada por fototaxia. No verão, este lago apresentava uma cor avermelhada durante o dia e esverdeada durante a noite. A cor avermelhada começava a surgir por volta das 9 horas alcançando seu máximo às 14 horas. Isto é provocado pela migração da alga dianofíceia *Glenodinium sanguineum*, que acumula gotículas de lipídeos com carotenóides durante esse período do dia, sendo atraída pela luz para a superfície (fototaxia positiva). A produtividade também é afetada pelo horário. No lago Castanho, na Amazônia, Schmidt (1973) observou que a produtividade das 14:00 às 18:00 foi significativamente inferior àquela observada no restante do dia.

As coletas devem estar em acordo com o tempo de geração das algas planctônicas, que normalmente é de 1 a 10 dias. Portanto, amostragens semanais e quinzenais têm sido recomendadas (PADISÁK et al., 1993). Coletas mensais podem ser adequadas em pesquisas de longo prazo, em que as falhas na variação anual são compensadas pelas longas séries temporais (WILLÉN & WILLÉN, 1978). Entretanto, quando o objetivo é conhecer, em detalhe, a dinâmica sucessional da comunidade, devem ser adotadas escalas semanais, de preferência, ou quinzenais. Por outro lado, para estudo de processos que ocorrem em escalas de tempo menores, como a migração vertical do fitoplâncton na coluna d'água, são recomendadas coletas que acompanhem o deslocamento das populações nictemerais. Já para estudos de descrição geral da composição e da biomassa do fitoplâncton, a frequência de coleta pode ser em intervalos de tempo maiores.

7.2.2. Zooplâncton

Coleta

A comunidade do zooplâncton é composta por consumidores primários (herbívoros) e predadores de diferentes níveis tróficos. Sua importância se deve ao fato de estarem posicionados na base da cadeia alimentar e, graças ao seu metabolismo, são capazes de influenciar processos ecológicos fundamentais, como ciclagem de nutrientes e magnitude da produção biológica. Estes organismos vivem em lagos, reservatórios, assim como em grandes rios, e estão dispersos na coluna d'água. Por isso, sua coleta quase sempre envolve concentração prévia por meio de algum tipo de filtragem.

As redes para coleta foram desenvolvidas já no século XIX (DE BERNARDI, 1984). Consistem em redes acopladas a um cone que concentra a amostra, ao fazer a filtragem. Segundo Coelho (2004), as redes mais eficientes devem ser dotadas de cone redutor e a área de filtragem deve ser, aproximadamente, três vezes maior do que a área da boca da rede (Fig. 3).

A amostragem de água para análises biológicas

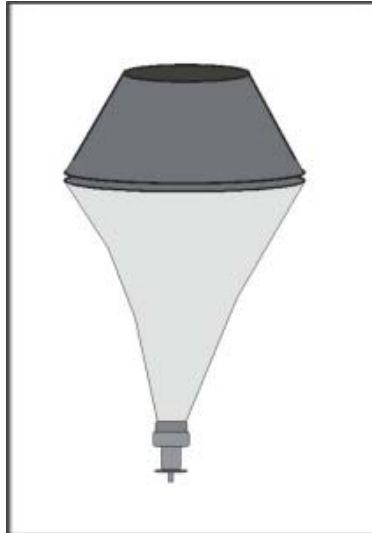


Fig. 3. Rede coletora de zooplâncton.

O volume filtrado é calculado pela seguinte fórmula:

$$V_f = \Pi.r^2.d \quad (3)$$

em que:

V_f = volume filtrado;

r = raio da boca da rede;

d = distância percorrida.

Normalmente, os programas de amostragem de zooplâncton regulares devem considerar dois tamanhos distintos de poros para o coletor. Para o microzooplâncton (organismos menores do que 200 μm), sugere-se a adoção de redes com malha de 50-65 μm e, para organismos mesozooplanctônicos (> 200 μm), sugere-se o uso de redes com malha na faixa de 120-160 μm . Além disso, normalmente as redes obtêm maiores eficiências quando são desenhadas especificamente para o ambiente onde são operadas. Assim, um lago eutrófico, dominado por pequenos organismos, poderá ser amostrado utilizando rede pequena, com diâmetro entre 20 e 40 cm e abertura de malha por volta de 70 micrômetros, desde que os arrastos sejam relativamente pequenos para que a rede não fique colmatada. Já num lago oligotrófico, dominado por grandes cladóceros e calanóides, a malha

recomendada é de 200 µm com diâmetro de 60 a 80 cm de abertura (COELHO, 2004).

Como o zooplâncton apresenta distribuição irregular na coluna d'água, e migração vertical diurna, foram desenvolvidas redes especiais dotadas de mecanismos que permitem abertura e fechamento do cone coletor em determinadas profundidades. Na maioria dos casos, esse mecanismo é acionado por mensageiros (descritos anteriormente na coleta de fitoplâncton).

As armadilhas de plâncton também são bastante utilizadas, pois apresentam precisão do volume filtrado, e possuem um modo de fechamento especial. Um exemplo é a armadilha de Clarke-Juday. A armadilha de Schindler (Fig. 4) é feita de acrílico e tem a vantagem de diminuir o efeito do mecanismo de fechamento oblíquo, além de ser mais simples e leve. Esta última armadilha é útil para a captura de copépodes e organismos de grande porte.

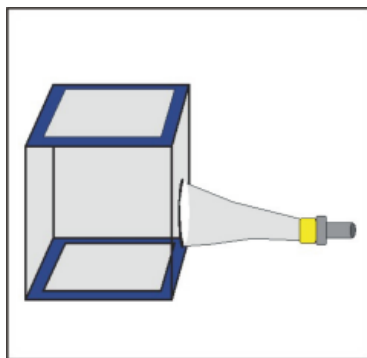


Fig. 4. Armadilha de Schindler para coleta do zooplâncton.

Preservação

A preservação dos organismos pode ser feita com agentes químicos (formalina com corante) ou por meio de diferentes processos físicos (congelamento com posterior liofilização), dependendo do tipo de estudo (COELHO, 2004).

a) Preservação com formalina: a concentração final deve ser entre 3% e 4%, adicionando-se uma parte de formol para nove partes de água. O tamponamento utiliza bórax para obter pH neutro. A adição de sacarose

A amostragem de água para análises biológicas

(1:4) na solução de formalina também é comum, fornecendo maior resistência à quitina dos organismos, e preservando-os por mais tempo. O corante utilizado na fixação é o Rosa de Bengala. A adição de corante é necessária para facilitar a contagem e o processo de identificação dos organismos.

b) Os estudos ligados à ecofisiologia e à bioquímica requerem fixação do zooplâncton sem usar calor ou preservativos químicos. O congelamento rápido seguido da liofilização é usado para pesquisas que requerem determinações precisas da biomassa e estudos sobre composição elementar (C, N e P), bioquímica (carboidratos, lipídeos, enzimas, ácidos nucléicos) ou de natureza toxicológica (metais, traços radioativos, biocidas). Os organismos podem ser congelados a -18°C , utilizando gelo seco (-44°C) ou nitrogênio líquido (ponto de ebulição a $-195,8^{\circ}\text{C}$). Após o congelamento, o zooplâncton é liofilizado (secagem a ultravácuo em que a água é sublimada – passando diretamente do estado sólido para o vapor).

Contagem

As lâminas de contagem podem ser: Neubauer ($h = 0,100\text{ mm}$, $A = 0,0625\text{ mm}^2$), Fuchs-Rosenthal ($h = 0,200\text{ mm}$, $A = 0,0625\text{ mm}^2$) ou Sedwick-Rafter ($\text{vol} = 1\text{ ml}$). As duas primeiras são mais adequadas para o nanoplâncton (organismos maiores do que 2 micrômetros). Já para o micro e mezoplâncton, a contagem é feita com a cubeta de Sedwick-Rafter. Em geral, a contagem do zooplâncton envolve a escolha entre trabalhar com pequenas subamostras e contá-las em microscópio com grande resolução óptica ou trabalhar com grandes subamostras, ou mesmo toda a unidade amostral, e utilizar estereoscópio com menor resolução óptica (COELHO, 2004).

7.2.2.1. O zooplâncton como bioindicador de qualidade de água

Estudando o Reservatório Ibitinga (SP), Güntzel et al. (2002) verificaram que o gênero *Pompholix* e as espécies *Brachionus calyciflorus*, *Euchlanis dilatata* e *Notodiatomus iheringi*, ocorriam concomitantemente na porção superior do reservatório, afirmando o seu papel como indicadores de condições eutróficas. Por outro lado, espécies do gênero *Synchaeta* e os

cladóceros *Bosminopsis deitersi* e *Moina minuta* foram dominantes nos tributários dos rios Jacaré-Pepira e Jacaré-Guaçu. Estas mesmas espécies foram encontradas em reservatórios oligotróficos do Estado de São Paulo (HEREDIA-SEIXAS, 1981, ROCHA & GÜNTZEL, 1999).

Quanto à sensibilidade a pesticidas, também há registro de respostas do zooplâncton. Quando os pesticidas temefos, chlorpyrifos e dursban foram aplicados em áreas alagadas de Minnesota (EUA) em concentrações típicas observadas no campo, houve a morte de copépodos e cladóceros (HELGEN et al., 1988). Os herbicidas também podem aumentar a dominância de espécies adaptadas a ambientes abertos (ex: cladóceros), uma vez que a sua base alimentar (algas) aumenta muito após a redução do sombreamento originário da vegetação aquática.

7.2.3. Bactérias

O papel da comunidade microbiana nos ecossistemas aquáticos é crucial para o seu funcionamento. Os fluxos de carbono e energia estão fortemente acoplados dentro da comunidade microbiana, e o comportamento dinâmico do elo microbiano é, basicamente, resultado de três processos: comensalismo (produção de matéria orgânica dissolvida pelo fitoplâncton e sua utilização por bactérias), competição (por nutrientes entre bactérias e fitoplâncton, sendo influenciada pela disponibilidade de substratos) e predação (por flagelados, ciliados e microzooplâncton, que promovem o *feedback* de nutrientes e parte da matéria orgânica dissolvida) (STOCKNER & PORTER, 1988).

As amostras para análise de bactérias devem ser coletadas *in natura*, utilizando amostrador ZoBell ou frascos de vidro de boca larga esterilizados (ATLAS & BARTHA, 1993). O uso de garrafas amostradoras (Ruttner, Van Dorn, etc.) é adequado, sendo importante retirar primeiro a unidade amostral destinada à análise das bactérias, a fim de evitar a contaminação ou alteração da referida unidade.

A amostragem de água para análises biológicas

Vários fixadores (formaldeído, glutaraldeído, paraformaldeído) em diferentes concentrações (1%-5%), tamponados ou não, têm sido utilizados para fixação de bactérias (KEMP et al., 1993). Para ecossistemas de água doce, formaldeído 2%-3% (concentração final) pode ser recomendado. As unidades amostrais devem ser acondicionadas em frascos escuros, protegidas da luz e transportadas a baixas temperaturas (4-10°C), mas nunca congeladas. O tempo de armazenagem das amostras ainda não está definido. No entanto, para unidades amostrais fixadas com aldeídos e mantidas a 5°C (como para bactérias), podem ser armazenadas por uma ou duas semanas.

O volume de unidade amostral a ser coletado, geralmente, está relacionado ao grau de trofia do ambiente (quantidade de nutrientes disponíveis). Segundo Kirchmann et al. (1982), de 100ml a 1L são adequados para o estudo de bactérias.

O uso de meios de cultura é importante nos processos de contagem de bactérias. Com o método de espalhamento em placa (contagem de unidades formadoras de colônias – UFC) ou pela determinação do número mais provável (NMP), obtém-se o número de células cultiváveis, que é cerca de duas a quatro ordens de magnitude menor que o número total (GOMES et al., 1998).

O número de bactérias do grupo Coliforme é bastante comum para se caracterizar a balneabilidade das águas, sendo um parâmetro de grande importância na definição das classes de águas estabelecidas pela Resolução CONAMA 357/05. Há dois tipos: coliformes totais e fecais, estando presentes em amostras de água poluídas e não poluídas. Vale ressaltar que não existe relação quantificável entre coliformes totais e microorganismos patogênicos. A desvantagem do uso de coliformes como indicadores de qualidade de água é a sua curta persistência no ambiente, sendo sensíveis à luz e ao cloro, podendo assim permanecer nas amostras por apenas 48 horas. Uma alternativa é complementar as pesquisas com bactérias heterotróficas, pois são patógenos e não são exclusivamente de origem fecal (ex: *Pseudomonas aeruginosa*), sendo ideais para águas doces com baixas taxas de indicadores fecais.

A relação entre coliformes fecais e estreptococos fecais (CF/EF) é um bom indicador sobre a origem da contaminação. Quanto maior o valor da relação CF/EF, considera-se que seja maior a contribuição relativa de origem humana (VON SPERLING, 1996).

Referências

ALBERTSON, S.; NEWTON, J.; EISNER, L.; JANZEN, C.; BELL, S. **Sinclair and Dyes inlet seasonal monitoring report**. Washington: Department of Ecology. 1995. 91p. 1992 Disponível em: <<http://www.ecy.wa.gov/biblio/95345.html>>. Acesso em: 21 maio 2004.

ATLAS, R. M.; BARTHA, R. **Microbial ecology: fundamentals and applications**. 2. ed. Menlo Park: the Benjamin/Cummings Publishing Company, 1993. 573p.

BALDI, E. Ricerche idrobiologiche sul Lago di Torcl. **Mem. Mus. Stor. Nat. Venezia Tridentina**, v.6, 1941.

BRASIL. Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005. **Diário Oficial da União**, 18 de março de 2005.

COELHO, R. M. P. Métodos de coleta, preservação, contagem e determinação de biomassa em zooplâncton de águas epicontinentais. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia**. São Carlos: Editora Rima, 2004. p. 149-166.

DE BERNARDI, R. Methods for the estimation of zooplankton abundance. In: DOWNING, J.; RIGLER, F. H. (Ed.). **A manual on methods for the assessment of secondary productivity in fresh waters**. London: Blackwell Scientific Publication, 1984. p. 59-86. (IBP Handbook, n. 17).

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de limnologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

GOMES, E. A. T.; ARCIFA, M.S.; MESCHIATTI, A.J. Aquatic bacteria in a tropical coastal lagoon. **Verhandlungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v. 26, n. 3, p. 1468-1472, 1998.

A amostragem de água para análises biológicas

GÜNTZEL, A. M.; ROCHA, O.; MATSAMURA-TUNDISI, T. **Zooplankton assemblages as indicators of spatial heterogeneity and temporal variability in Ibitinga Reservoir, middle Tietê River, SP, Brazil.** Disponível em: <<http://www.hbu.cas.cz/ResLim2002/PRINT/110-113.pdf>>. Acesso em: 31 mar. 2004.

HELGEN, J.C.; LARSON, N.J.; ANDERSON, R.L. Responses of zooplankton and Chaoborus to temephos in a natural pond and in the laboratory. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 17, p. 459-471, 1988.

HEREDIA-SEIXAS, M. **Aspectos ecológicos das populações de Cladocera (Crustacea) no Reservatório do Lobo ("Broa"), São Carlos, São Paulo, Brasil.** 1981. 156p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

HUSZAR, V. L. M.; GIANI, A. Amostragem da comunidade fitoplanctônica em águas continentais: reconhecimento de padrões espaciais e temporais. In: BICUDO, C. E. M.; BICUDO, D. C. (Ed.). **Amostragem em limnologia.** São Carlos: Editora Rima, 2004. p. 133-147.

IRISH, A. E.; CLARKE, R. T. Sampling designs for the estimation of phytoplankton abundance in limnetic environments. **British Phycological Journal**, v. 19, p. 57-66, 1984.

KEMP, P. F.; SHERR, B.F.; SHERR, E.B.; COLE, J.J. (Ed.). **Handbook of methods in aquatic microbial ecology.** Boca Ratón: Lewis Publishers, 1993. 777p.

KIRCHMANN, D. L.; KNEES, E.; HODSON, R.E. Statistical analysis of the direct count method for enumerating bacteria. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 44, p. 376-382, 1982.

LUND, J. W. G.; KIPLING, C.; LE-CREN, D. The inverted microscope method of estimating algal numbers and statistical basis of estimation by counting. **Hydrobiologia**, v. 11, p. 43-170, 1958.

PADISÁK, J.; REYNOLDS, C. S.; SOMMER, U. **The intermediate disturbance hypothesis in phytoplankton ecology.** Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1993. 199p.

ROCHA, O.; GÜNTZEL, A. Crustacea Branchiopoda. In: ISMAEL, D.; VALENTE, W.C.; MATSUMURA, T.; TUNDISI, J.; ROCHA, O. (Ed.). **Invertebrados de água doce**. São Paulo: FAPESP, 1999. v.1, p. 109–120.

SCHMIDT, G. W. Primary production of phytoplankton in the three types of Amazonian waters. III Primary productivity in a tropical floodplain lake of Central Amazonia, lago do Castanho. Amazonas. Brasil. **Amazoniana**, v. 4, p.379-404, 1973.

STOCKNER, J. G.; PORTER, K. G. Microbial food webs in freshwater planktonic ecosystems. In: CARPENTER, S. R. (Ed.). **Complex interactions in lake communities**. New York: Springer-Verlag, 1988. p. 69-83.

UTERMÖHL, H. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. **Mitteilungen Internationale Vereinigung für Theoretische und Angewandte Limnologie**, v.9, p. 1-38, 1958.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade das águas e ao tratamento de esgoto**. 2.ed. Belo Horizonte: UFMG, 1996. 243p.

WILLÉN, E., WILLÉN, T. About freshwater phytoplankton. In: SOURINA, A. (Ed.). **Phytoplankton manual**. Paris: Unesco, 1978. p. 297-300.

Capítulo 8

Amostragem de água para análise de nitrato e metais pesados

Adriana M. Moreno Pires, Manoel Dornelas de Souza e

Marco Antonio Vieira Ligo

8.1. Determinação do local e da frequência de amostragem

O primeiro passo para amostrar corpos de água para análise de nitrato e metais pesados é elaborar o planejamento de amostragem, identificando o local e a frequência em que esta deverá ser feita. É importante destacar que o conjunto de pontos amostrados deve representar uma zona de influência bem definida e que a frequência de amostragem deverá ser determinada baseada nas variações temporais da adição do contaminante, caso a fonte seja conhecida. Se a fonte é desconhecida recomenda-se realizar um plano de monitoramento com o objetivo de identificar estas variações temporais.

Em alguns casos, os locais de amostragem podem ser indicados genericamente, como para a avaliação da qualidade de água de uma região. Em outros casos, os pontos de amostragem precisam ser definidos precisamente, como, por exemplo, quando são avaliados pontos de captação em um rio ou o grau de contaminação provocado por uma determinada fonte de contaminantes (GUAZELLI & OTTA, 1979). Quando a localização da fonte é conhecida, recomenda-se realizar a amostragem no ponto de entrada (área do corpo hídrico que recebe diretamente a fonte de contaminação); no ponto de montante (acima da posição onde a fonte é adicionada ao corpo hídrico) para determinar os teores antes da fonte e no ponto de jusante (após o ponto de entrada dos contaminantes) para determinar os teores após a diluição do contaminante no corpo hídrico (IAP, 2004).

Mesmo com um local de amostragem definido, podem existir variações espaciais da concentração de nitrato e metais pesados. As causas de distribuição heterogênea de parâmetros de qualidade de água podem ser divididas em (GUAZZELLI & OTTA, 1979):

- Sistemas compostos por duas ou mais águas que não estão misturadas ou encontram-se em fase de mistura. Enquadram-se nesta categoria o fenômeno de estratificação térmica das lagoas e reservatórios e o da ocorrência de mistura num rio, logo a jusante do recebimento do efluente.
- Sistemas com distribuição não homogênea dos contaminantes em um sistema hídrico homogêneo. Por exemplo, quando combinados com alguns ligantes orgânicos, os metais pesados podem formar compostos orgânicos de densidades diferentes da densidade da água. Outro caso, bastante aplicável ao nitrato, é o da ocorrência de reações químicas e/ou biológicas distintas conforme a parte do sistema considerada.

Outro importante fator é a variação temporal das concentrações de nitrato e metais pesados na água. Quando a fonte é conhecida, é possível pré-determinar esta variação ou, pelo menos, identificar os possíveis períodos em que ocorrerão as maiores variações.

Quando as variações espaciais e temporais não são conhecidas, recomenda-se que seja realizada uma investigação preliminar para avaliação do grau de homogeneidade. Em alguns casos, basta uma inspeção visual para determinar o ponto de coleta em uma área homogênea. Em caso de dúvida, recomenda-se realizar coleta de dados em diversas verticais e profundidades, repetindo-se periodicamente este procedimento e utilizando-se modelos estatísticos para determinar tanto a variabilidade espacial como temporal (GUAZZELLI & OTTA, 1979).

Para o caso específico de avaliação de fontes poluidoras como, por exemplo, efluentes industriais, deve-se considerar que podem ocorrer variações significativas e bem caracterizadas quanto ao volume, concentração e tipo de poluente em função do tempo. Estas variações podem ser classificadas como: contínuas e uniformes (hora após hora); contínuas e não uniformes (minuto a minuto); descontínuas; descontínuas e em batelada (ex: final da jornada de trabalho de uma indústria) e descontínuas

Amostragem de água para análise de nitrato e metais pesados

e intermitentes (não existe periodicidade certa em seus lançamentos) (FEEMA, 1983).

8.2. Coleta das amostras de água

A coleta de amostras tem papel fundamental na obtenção de resultados confiáveis e representativos. Portanto, o indivíduo designado para efetuar a amostragem deve estar devidamente treinado sobre técnicas de amostragem e preservação, medidas de segurança, manuseio dos equipamentos a serem utilizados em campo, além de saber a localização exata dos pontos de amostragem e estar apto para observar e registrar condições atípicas nos referidos locais (ABNT-NBR-9898).

As amostras de água podem ser simples ou compostas. A amostra simples consiste em selecionar um ponto representativo de um corpo de água e retirar uma porção diretamente deste. A amostra composta consiste na mistura proporcional de várias amostras simples, que podem ser retiradas em locais diferentes ou no mesmo ponto em tempos diferentes. É interessante lembrar que o mesmo volume de cada amostra simples deve ser utilizado para formar a composta. Recomenda-se, um volume mínimo de 200 ml de amostra para a análise de nitrato (ABNT-NBR-9898) e 500 ml para a análise de metais pesados (IAP, 2004).

Os frascos de armazenamento das amostras não devem ser preenchidos até a boca, pois isto dificulta a homogeneização, e a tampa só deve ser retirada no momento da coleta. Para análise de nitrato, recomenda-se que as amostras sejam armazenadas em frascos de polietileno ou vidro borossilicato (inerte) (ABNT-NBR-9898). O armazenamento de amostras para análise de metais pesados deve ser preferencialmente em frascos de polipropileno ou vidro inerte (IAP, 2004). Recomenda-se a utilização de frascos e tampas feitos do mesmo material, pois a probabilidade de vazamento é maior quando os materiais são diferentes.

As coletas podem ser realizadas em superfície ou em profundidade, de acordo com o objetivo da análise. As coletas em superfície devem ser feitas a aproximadamente 20 cm de profundidade, colocando-se o

frasco em contato direto com a água, com a boca virada contra a corrente (FEEMA, 1983). Nos casos em que são adicionados preservativos aos frascos, como para metais pesados, recomenda-se a coleta da amostra utilizando-se um frasco de transposição (por exemplo, um balde descartável), previamente lavado. Antes de realizar a coleta, o frasco deve ser acondicionado, enxaguando-o duas vezes com água do corpo hídrico. Outra opção é o uso das garrafas de profundidade. Caso a amostragem seja realizada a partir das margens, em locais de difícil acesso, utilizar um frasco de transposição provido de peso, arremessando-o até um local bem distante da margem e mantendo a extremidade livre da corda em um ponto fixo (ABNT-NBR-9898).

Para as coletas em profundidade, necessariamente deverão ser utilizados equipamentos específicos, como garrafas e/ou amostradores de profundidade (amostrador de Zobell J-Z, de Niskin, de Kemmerer, de Van Dorn, garrafa de Meyer), moto-bomba e coletores com válvula. No caso do uso da moto-bomba, após acoplar as mangueiras e as válvulas de sucção, deve-se mergulhar a mangueira até a profundidade desejada e então realizar a coleta (IAP, 2004). Antes da coleta com garrafas de profundidade, deve-se acondicioná-las, enxaguando-as duas vezes com água do local de amostragem. Ao realizar o acondicionamento, tomar cuidado para que o local da próxima coleta não seja contaminado. Caso a amostra a ser coletada seja proveniente das camadas mais profundas do corpo hídrico, evitar que a garrafa coletora toque o fundo, para não suspender o sedimento e, conseqüentemente, contaminar a amostra (ABNT-NBR-9898). Lembrar que a profundidade de coleta sempre deve ser medida (medidores eletrônicos, lastros, entre outros) e anotada (FEEMA, 1983).

8.3. Preservação das amostras

Para evitar que ocorram alterações na concentração de nitrato e metais pesados nas amostras após a coleta, medidas de prevenção devem ser tomadas. No caso de nitrato, recomenda-se que imediatamente após a coleta, os frascos sejam acondicionados em caixas térmicas com gelo e que a análise seja realizada em até 48 horas. Para metais pesados, deve-se adicionar 5 ml

Amostragem de água para análise de nitrato e metais pesados

de HNO_3 concentrado para cada 1000 ml de amostra coletada. Não é necessário nenhum acondicionamento especial para o transporte dos frascos, entretanto as análises devem ser realizadas em até 180 dias, com exceção do mercúrio, que deve ser analisado em até 13 dias (IAP, 2004).

Ao preparar a amostra para o transporte, alguns cuidados devem ser tomados: (i) colocar os frascos em uma caixa de tal modo que fiquem firmes durante o transporte; (ii) nos casos em que se usar gelo para preservação, cuidar para que os frascos, ao final do transporte, não fiquem imersos na água formada pela sua fusão, o que aumentaria muito o risco de contaminação; (iii) cobrir a caixa de modo que sua tampa exerça leve pressão sobre a tampa dos frascos, impedindo que se destaquem durante o transporte e (iv) evitar a colocação de frascos de uma mesma amostra em caixas diferentes (ABNT-NBR-9898).



Fig. 1. Coletor de água para poços.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). Fórum Nacional de Normatização NBR-9898 - **Preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**. Rio de Janeiro, 1987. 34p.

FUNDAÇÃO ESTADUAL DE ENGENHARIA DO MEIO AMBIENTE (FEEMA). GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. **Manual de amostragem de qualidade de água**. Rio de Janeiro, 1983. 32p. (Cadernos FEEMA –Série Técnica 019/83).

GUAZZELLI, M. R.; OTTA, H. **Rede de amostragem e indicadores de qualidade de água: critérios e conceituações**. São Paulo: CETESB, 1979. 19p.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ (IAP). **Manual para coleta e preservação de amostras de água, solo, efluentes e animais**. Curitiba, 2004. 34p. (Manual Técnico).

Capítulo 9

Amostragem de água para análise de agrotóxicos

*Sonia Cláudia Nascimento de Queiroz, Vera Lúcia Ferracini e
Marco Antônio Ferreira Gomes*

A ocorrência de agrotóxicos e seus produtos de transformação em sistemas aquáticos é uma das maiores preocupações em todo o mundo. Portanto, o monitoramento da água superficial e subterrânea, a fim de verificar se níveis admissíveis de agrotóxicos estão presentes, é de extrema importância.

A seleção de um procedimento de amostragem é a base dos estudos ambientais. A amostragem deve ser representativa e a quantidade de água coletada deve ser suficiente para que represente a variabilidade da amostra. Em alguns casos, o monitoramento mensal é eficiente ao passo que em outros deve ser feito diariamente ou semanalmente. Outro ponto é a variância para cada pesticida que deve ser calculada das sub-amostras. A exatidão da amostragem é o elemento chave, sendo que em muitos casos é obtida de alguma forma aleatória.

Normalmente, o que se faz é obter a amostra composta, por combinação de amostras simples, que é então analisada. Embora a informação da amostra individual possa ser perdida há um ganho de informação global de um ponto de amostragem particular, ou seja, pela combinação de amostras de água os agrotóxicos são enriquecidos, uma vez que mais volume de água é analisado e concentrações muito menores podem ser detectadas (BARCELÓ & HENNION, 1997).

O elemento inicial e talvez o mais crítico de um programa de monitoramento de resíduos de agrotóxicos em água é o plano de amostragem. Em geral um plano de amostragem deve definir clara e sistematicamente todos os passos requeridos para que a coleta seja a mais representativa possível.

Quanto mais específico for o plano de amostragem menor será a chance de se introduzir erros. Em resumo, o plano de amostragem quando completo deve responder as seguintes questões (BARCELÓ & HENNION, 1997):

- O que queremos saber?
- Por que necessitamos desta informação?
- O que será feito com os resultados?
- Que ação deverá ser tomada?

Normalmente se considera que a parte analítica, com sua sofisticada instrumentação e alto custo, seja considerada como o elemento dominante do programa de monitoramento. Entretanto, de nada adianta ter equipamentos caros e sofisticados em um laboratório, se os resultados obtidos são provenientes de um plano de amostragem equivocado.

Um dos pontos que freqüentemente serve como guia em um plano de amostragem é a informação sobre a persistência e as propriedades físico-químicas do composto que se quer analisar, tais como, solubilidade em água, K_{oc} (coeficiente de partição da matéria orgânica), K_{ow} (coeficiente de partição octanol e água) e pressão de vapor.

O histórico das culturas e dos produtos utilizados são também de extrema importância. Esta informação é básica para se conhecer quais agrotóxicos e metabólitos podem ser determinados a fim de estabelecer o protocolo analítico adequado. Este protocolo deve ser feito especificamente para resolver problemas particulares associados ao local de estudo.

Muitos dos problemas que ocorrem são relacionados à adsorção nos tubos de amostragem, frascos, filtros, materiais suspensos e carbono orgânico coloidal. No caso de frascos, os de cor âmbar são utilizados para evitar a fotodegradação e materiais como o vidro, aço-inoxidável e teflon são recomendados. Para traços de agrotóxicos e de outros tipos de poluentes orgânicos deve-se evitar materiais plásticos que usualmente contém ftalatos. Vidro de borossilicato são amplamente utilizados. A limpeza dos frascos, antes da amostragem, normalmente é feita usando ácido concentrado ou detergente não iônico seguido de água pura e armazenada em um local livre de poeira e vapores. Antes da amostragem, uma lavagem prévia no mesmo local, com a

Amostragem de água para análise de agrotóxicos

água a ser amostrada várias vezes, é requerida, exceto quando é utilizado preservante.

A amostragem de água para análise de agrotóxicos, seja em água superficial ou subterrânea, deve ser filtrada em papel de filtro para evitar que os resíduos orgânicos e demais organismos possam favorecer atividade biológica que venha promover a degradação do produto amostrado. Após a coleta, as amostras devem ser acondicionadas em caixas de isopor ou térmicas para o transporte até o laboratório. Se o tempo de percurso entre o local da coleta e o laboratório for maior que algumas horas, o uso de gelo pode ser uma boa opção.

É conhecido que mesmo se levando em conta todas as precauções necessárias, os frascos utilizados para amostrar e estocar agrotóxicos podem causar perdas por adsorção nas paredes para compostos que tenham valores de $K_{oc} > 10^4$ e 10^5 . Outros aspectos são relacionados aos fatores que afetam a estratégia de amostragem, como por exemplo a variabilidade temporal e espacial.

A coleta de água, seja superficial ou subterrânea, deve preferencialmente ser feita por meio de um coletor apropriado, normalmente do tipo tubular de aço inoxidável, com uma abertura na base para a entrada da água. Com o enchimento do coletor, a abertura se fecha automaticamente devido à própria pressão da água coletada.

9.1. Conservação da amostra

As amostras devem ser preservadas a fim de evitar alterações químicas e biológicas desde a sua coleta até o momento da análise.

Quando nas amostras coletadas tiver apenas uma única classe de agrotóxico, tanto o preservativo quanto o tempo de armazenamento devem ser observados para salvaguardar a integridade das mesmas. Para amostras contendo mais de uma classe de agrotóxicos, devem ser refrigeradas a 4 °C, no escuro, com adição de gotas de solução 0,008% de tiosulfato de sódio (para redução de resíduos de cloreto) e pH ajustado para a faixa de 6-9 com NaOH. As amostras podem ser armazenadas por até 7 dias antes da extração

e 40 dias após a extração. Quando as amostras forem extraídas no período de até 72 h após a coleta o ajuste de pH não é necessário (EPA, 2003).

9.2. Amostragem

9.2.1 Água superficial

A composição química de um líquido em fluxo, como um rio, pode variar de acordo com os parâmetros temperatura, vazão, distância da fonte, dentre outros, sendo que nenhum deles pode ser controlado durante a amostragem.

A amostragem de água superficial para fins de análise de agrotóxicos, deve considerar locais cuja força hidráulica seja mínima ou com movimento bastante lento da água. Aliado a esse aspecto, deve-se também identificar os locais, via escoamento superficial, por onde o produto está chegando no corpo d'água. A amostra deve ser coletada com a boca do frasco de coleta contra a corrente, de modo a minimizar o risco de contaminação da amostra.

De qualquer forma, não se recomenda um monitoramento por períodos prolongados nessas condições, uma vez que o "alto dinamismo" desse ambiente provoca alterações significativas na composição da água em espaços de tempo curtos. Devido a essas condições, costuma-se escolher os lagos, açudes e represas para amostragem. Esses locais também apresentam inconvenientes, principalmente para as moléculas de rápida degradação, principalmente pela ação da luz solar.

A importância desse tipo de amostragem seria então somente nos casos em que houver um evento (derramamento acidental, rompimento de terraços com aporte considerável de enxurradas para o corpo d'água) com grandes possibilidades de alteração e/ou contaminação da água num dado momento, colocando em risco a saúde de pessoas e animais e, em particular, organismos aquáticos.

9.2.2. Água subterrânea

Os agrotóxicos, dependendo das propriedades físico-químicas, podem percolar através do solo, podendo alcançar o lençol freático. Este processo é lento, mesmo em solos arenosos, requerendo várias coletas ao longo do tempo e dentro do período chuvoso.

Quando houver poços, sejam eles rasos (cisternas e cacimbas) ou tubulares profundos (artesianos e semi-artesianos), a coleta pode ser feita diretamente na boca do poço, com o acondicionamento das amostras obedecendo aos mesmos princípios adotados para a água superficial.

Na ausência de poços, deve-se proceder à instalação de tubos coletores de água, tipo piezômetros, em locais que sejam favoráveis ao fluxo subsuperficial da água proveniente da área cultivada. Normalmente, recomenda-se a instalação de vários coletores alinhados e posicionados na direção de maior declividade da área.

9.3. Extração em Fase Sólida de amostras *in situ*

A extração em fase sólida, EFS, tem se mostrado uma técnica efetiva para o preparo de amostras de contaminantes orgânicos em água. Uma das vantagens é prevenir que os analitos sorvidos na coluna se decomponham, e deste modo possam ser armazenados por um período de tempo maior, sem alteração na concentração e na identidade (LISKA & BÍLIKOVÁ. 1998). A EFS é uma das ferramentas mais empregadas para extração e/ou pré-concentração de analitos presentes em matrizes complexas, permitindo que concentrações a níveis muito baixos (traços) sejam detectadas pelos instrumentos. Esta técnica emprega sorventes recheados em cartuchos, nas formas de barril ou seringa, e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna.

Esta técnica possui avanços quando comparada à técnica tradicional da extração líquido-líquido, principalmente com relação à redução da quantidade de solventes e amostras envolvidas em cada extração. Em geral, os procedimentos da EFS envolvem cinco etapas: i) ativação do sorvente para

deixar os sítios ativos disponíveis; ii) condicionamento do sorvente com o solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; iii) introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes; iv) limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito; v) eluição e coleta do analito. A figura 1 mostra a seqüência de um procedimento de extração em fase sólida direcionado para a pré-concentração de analitos e limpeza da amostra (QUEIROZ, 2001).

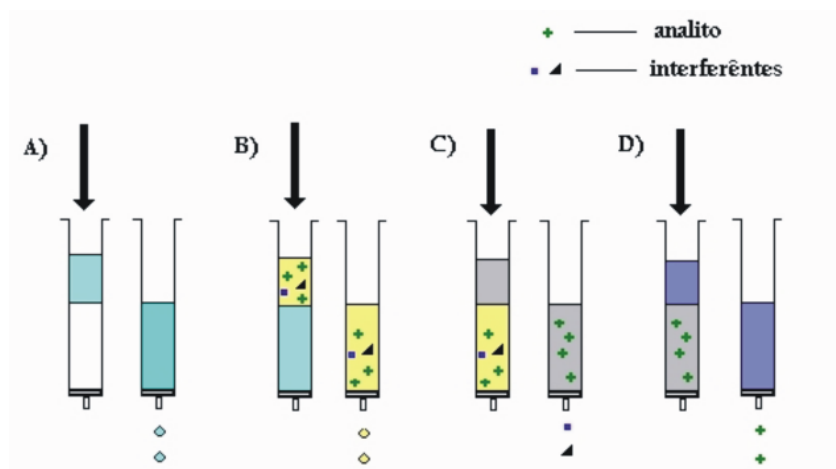


Fig. 1. Esquema de um cartucho de extração em fase sólida (EFS) operando no modo de pré-concentração seguida de *clean-up* de amostra. A) ativação e condicionamento do cartucho; B) aplicação da amostra, com retenção do(s) analito(s) e dos interferentes; C) troca de solvente e eluição dos interferentes; D) troca de solvente e eluição do(s) analito(s).

Esta técnica pode ser usada em programas de monitoramento com a vantagem adicional do transporte dos cartuchos ser muito mais conveniente que o de frascos de vidro.

9.4. Identificação e Registro

Toda e qualquer coleta deve conter informações que permitam a rastreabilidade dos dados gerados (EGLI et al., 2003).

Amostragem de água para análise de agrotóxicos

A ficha de coleta de campo deve conter as seguintes informações:

- Número de identificação da amostra.
- Identificação do ponto de amostragem e sua localização, contendo a latitude e longitude. Um mapa pode ser muito útil para visualizar os pontos de coleta.

Adicionalmente, para alguns tipos de amostra, o exato local da amostragem deve ser especificado, indicando a profundidade ou altura com relação à superfície ou nível do mar;

- data e hora da coleta;
- procedência da água;
- descrição do método de amostragem, incluindo a técnica e equipamento utilizado, tipo de amostras (replicata, espacialmente ou temporariamente compostas);

- medidas de campo (temperatura, condutividade, nitratos e pH). Estas informações são importantes para saber o tipo de água e como a sua composição pode afetar a estabilidade dos agrotóxicos, durante o monitoramento;

- eventuais observações de campo;
- condições meteorológicas nas últimas 24 horas que possam interferir na qualidade da água;
- indicação dos agrotóxicos a serem analisados no laboratório;
- nome do responsável pela coleta e
- nome do solicitante, com telefone para contato.

Referências

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. Sampling of polar pesticides from water matrices. **Analytica Chimica Acta**, v. 338, p. 3-18, 1997.

EGLI, H.; DASSENAKIS, M.; GARELICK, H.; VAN GRIEKEN, R.; PEIJNENBURG, W. J. G. M.; KLASINK, L.; KORDEL, W.; PRIEST, N.; TAVARES, T. Minimum requirements for reporting analytical data for environmental samples. **Pure and Applied Chemistry**, v.75, n. 8, p. 1097-1106, 2003.

EPA – Environmental Protection Agency. **40 CFR Ch.I, 07/01/2003 Edition, Part 136, Tabela I e II.** Washington, 2003.

LISKA, I.; BÍLIKOVÁ, K. Stability of polar pesticides on disposable solid-phase extraction precolumns. **Journal of Chromatography. Series A**, v. 795, p. 61-69, 1998.

QUEIROZ, S. C. N. **Determinação multiresíduos de pesticidas em água por cromatografia líquida de alta eficiência com ênfase em detecção por espectrometria de massas e novos sorventes para extração em fase sólida.** 2001. 153p. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química.

Parte IV

SEDIMENTOS

Capítulo 10

Amostragem de sedimentos para análise de metais pesados

Marco Antônio Ferreira Gomes e Heloisa Ferreira Filizola

A amostragem de sedimento para análise de metais pesados como também para agrotóxicos, requer a seleção de locais, onde a energia do agente transportador, no caso a água, é muito baixa. Nessas condições, a sedimentação é mais expressiva, com acúmulo considerável de sedimento ou material não consolidado. Trata-se do ambiente ideal para se encontrar compostos adsorvidos aos sedimentos, oriundos das áreas cultivadas.

Assim, a prática tem mostrado que os lagos, açudes e represas são os melhores locais para a amostragem de sedimentos, normalmente conduzidos até o fundo via escoamento superficial das partículas de solo, seja por meio de processos mais lentos (remoção lenta e gradual de partículas do solo, via erosão laminar, por exemplo), seja por meio de processos mais rápidos ou catastróficos (rompimento brusco de terraços e curvas de nível ou mesmo escorregamentos que dão origem a ravinas e voçorocas).

10.1. Planejamento da amostragem

10.1.1. Número de amostras e de locais de coleta

O número de amostras a serem coletadas e os locais de coleta são determinados pelo tamanho da área e os objetivos do trabalho, pela distribuição e concentração do contaminante a ser avaliado, pelas características e homogeneidade dos sedimentos, pelo volume de material necessário para as análises a serem feitas e pelo grau de confiabilidade desejado.

O número de amostras a serem analisadas pode ser determinado de maneira empírica ou estatística; independente da escolha, certos princípios não podem ser esquecidos, tais como:

- Quanto maior o número de amostras, melhor será a caracterização do padrão de distribuição espacial;
- Amostras únicas são inadequadas para caracterizar a variabilidade;
- A média de várias medidas de cada local é menos variável que uma só medida (ENVIRONMENT CANADA, 2002).

A amostragem poderá ser, como para solos (Capítulo 2), por critérios ou determinista, aleatória simples ou aleatória estratificada, podendo ser amostras pontuais simples ou pontuais múltiplas ou ainda compostas.

10.2. Amostradores

As coletas das amostras de sedimento normalmente são feitas por meio de coletores constituídos por um tubo de aço inox ou PVC (Capítulo 12) ou por coletores tipo “garra” (mini-dragas) (Capítulo 13). Existem diversos modelos de amostradores adaptados à profundidade da coleta e ao tipo de sedimento ser amostrado.

10.2.1. Amostrador manipulado por mergulhador

Esta técnica comporta vantagens como: melhor qualidade de amostragem para as amostras coletadas a menos de 2m graças ao controle das condições de penetração. Os tubos são geralmente de pequeno diâmetro (5cm) e curtos (≤ 1 m), mas podem ser utilizados tubos de até 12cm de diâmetro e 1,8m de comprimento (ENVIRONMENT CANADA, 2002). Os tubos são inseridos manualmente, utilizando-se, em caso de necessidade, um martelo especialmente adaptado. O tubo deverá ser fechado, em sua extremidade superior, após a introdução do tubo no sedimento e, após sua retirada, a extremidade inferior também deverá ser tampada.

Amostragem de sedimentos para análise de metais pesados

10.2.2. Amostradores a êmbolo ou pistão (Fig. 1)

A utilização deste tipo de amostrador é recomendada para sedimentos coesos, como argila ou silte, e não devem ser utilizados em sedimentos arenosos. Sua utilização requer um certo nível de experiência e uma avaliação profunda da profundidade da água, pois o êmbolo deve ser mantido justo acima dos sedimentos (ENVIRONMENT CANADA, 2002).

Estes amostradores são utilizados a partir de uma plataforma fixa, um barco ou outro tipo de embarcação; o amostrador é introduzido nos sedimentos com a ajuda de um tubo rígido que permite controlar a utilização do êmbolo por intermédio de um cabo ou de uma haste que passa no interior do tubo principal. Para amostragens de sedimentos espessos é necessário um outro tubo externo ao tubo principal, para que o amostrador possa receber as extensões necessárias à amostragem. Alguns modelos mais sofisticados utilizam água sob pressão para introduzir o amostrador.

Durante a amostragem, o amostrador é mergulhado até a superfície dos sedimentos e em seguida é introduzido no sedimento empurrando-se a haste manualmente ou com um martelo quando a resistência do material a ser coletado for grande.

Assim que o amostrador for içado à superfície, deverá ser colocada uma tampa em sua base antes que o tubo seja retirado da água, pois a pressão hidrostática limita a perda de material.

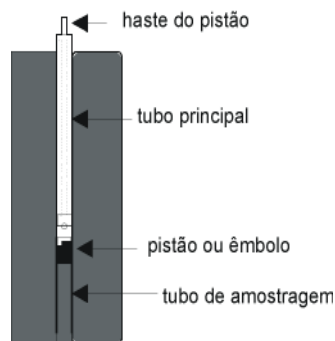


Fig. 1. Ilustração de um amostrador a PISTÃO

10.2.3. Amostradores vibratórios (Fig. 2)

O amostrador vibratório ou vibro-amostrador utiliza uma vibração de alta frequência, a qual permite reduzir o atrito na introdução do amostrador nos sedimentos, reduzindo os problemas de compactação da coluna de sedimentos provocada pelos outros tipos de amostradores (MARTIN et al., 1995). Estes amostradores também são utilizados a partir de uma plataforma fixa, um barco ou outro tipo de embarcação.

Normalmente o peso do amostrador é suficiente para a introdução do mesmo nos sedimentos, podendo chegar até 6m, dependendo do tipo de sedimentos e da força do motor.

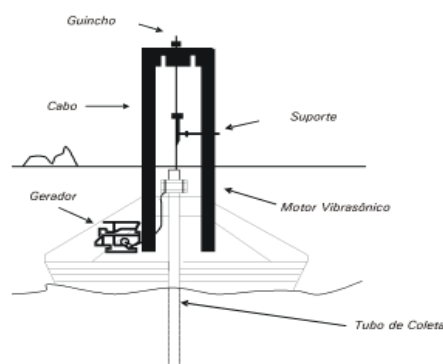


Fig. 2. Representação esquemática de um vibro-amostrador em operação.

10.2.4. Dragas (Fig. 3)

As dragas são utilizadas em estudos nos quais a caracterização vertical do sedimento não é necessária. Nesse caso, este tipo de amostrador é o mais indicado, pois seu emprego é mais fácil e a quantidade de amostra retirada é maior do que com os outros amostradores.

A escolha da draga mais apropriada dependerá do tipo de material a ser amostrado – dragas de Ekman e Petersen para sedimentos lodosos e dragas de van Veen e Ponar para sedimentos grosseiros. O nível de consolidação dos sedimentos, a velocidade da correnteza e o volume a ser coletado também interferem na escolha da draga apropriada. Os sedimentos consolidados não podem ser coletados com draga.

Amostragem de sedimentos para análise de metais pesados

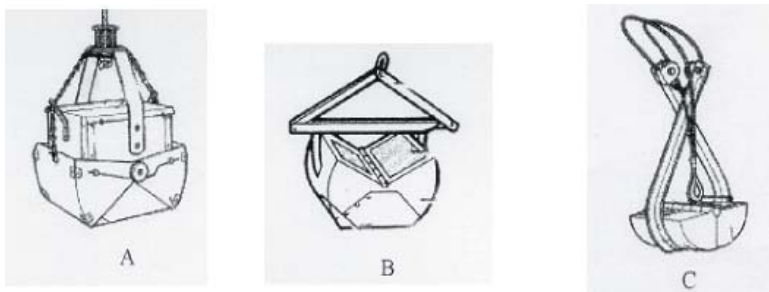


Fig. 3. A) Draga de Ekman; B) draga de Ponar e C) draga de van Veen

Os principais inconvenientes à utilização de dragas são: *i)* contaminação dos sedimentos por metal ou pelo revestimento da draga, quando esta não for de aço inoxidável; neste caso ou utiliza-se um revestimento em Teflon® ou uma capa em polietileno de alta densidade (HDPE) ou a alíquota da amostra a ser analisada deverá ser pega bem no centro da draga, evitando assim o contato com as paredes em metal; *ii)* pouca reprodutibilidade da amostragem; *iii)* alteração ou deslocamento da camada superficial devido ao impacto da draga; *iv)* perda da integridade da amostra dependendo da draga utilizada e *v)* dificuldade de utilização quando a correnteza for muito forte. Neste caso, o uso de dragas mais pesadas ou de um lastro podem ajudar.

10.3. Amostragem de sedimentos em rios, córregos e riachos

As amostragens de sedimentos em ambientes aquáticos de alta energia requerem a escolha de locais onde essa energia sofre diminuição, ou seja, em locais imediatamente à jusante de onde se verifica a ocorrência de escavação natural do leito (local de máxima energia). Os locais em que ocorre essa queda de energia da água podem ser identificados pela presença de um “remanso” ou pontos de baixa energia hidráulica.

No caso de áreas agrícolas, onde a fonte de contaminação é considerada difusa, é importante a coleta em pelo menos mais de um ponto a jusante da área potencialmente contaminadora. Os pontos de amostragem ao longo de um curso d’água deverão compreender coletas feitas próximas à margem, enquanto a existência de sedimentos permitir, já que a distribuição

dos sedimentos pode ocorrer em bandas estreitas ao longo do canal e sob a forma de acumulações nos locais de baixa energia.

10.4. Amostragem de sedimentos em lagos, represas e açudes

As amostragens de sedimentos em ambientes aquáticos de baixa ou de ausência de energia normalmente são mais bem definidas, uma vez que é possível estabelecer pontos de coleta em toda a extensão do corpo d'água, permitindo boa representatividade da amostra. É por isso mesmo que os trabalhos de monitoramento de resíduos químicos quase sempre dão respostas mais consistentes quando envolvem ambientes aquáticos pouco dinâmicos. No entanto, o número de amostras vai depender de vários fatores a saber: a) tamanho do corpo d'água; b) forma do corpo d'água e c) identificação das fontes potencialmente poluidoras (locais/margem/lado do corpo d'água por onde chegam os contaminantes).

10.5. Recuperação e acondicionamento das amostras

No caso dos amostradores, é preciso medir a profundidade de penetração antes da retirada e da divisão em subamostras; antes da subamostragem, as amostras devem decantar para permitir o depósito de sedimentos potencialmente mobilizados; as amostras devem ser mantidas em posição vertical até o momento de serem subamostradas. A retirada das amostras deve ser feita o mais rápido possível, respeitando-se o tempo de decantação, pois há o risco da consolidação das mesmas na parede do amostrador; a cada subamostra retirada, anotar a profundidade e descrever cada camada sedimentar (cor, textura, etc.). Quando o tubo do amostrador for descartável, o mesmo será seccionado nas profundidades desejadas.

Uma vez coletadas, as amostras devem ser acondicionadas, preferencialmente, em sacos plásticos resistentes e encaminhadas ao laboratório. Eventualmente, podem ser utilizados frascos ou potes plásticos.

Amostragem de sedimentos para análise de metais pesados

Referências

ENVIRONMENT CANADA. **Guide déchantillonnage des sédiments du Saint-Laurent pour les projets de dragage et de génie maritime**. v. 1. Directives de planification. Québec: Environnement Canada. Direction de la Protection de l'Environnement, Région du Québec. Section Innovation Technologique et Secteurs Industriels, 2002. Rapport, 106p.

MARTIN, L.; FLEXOR, J.M.; SUGUIO, K. 1995 Vibrotestemunhador leve: construção, utilização e potencialidades. **Revista IG**, São Paulo, n. 16, p. 59-66, 1995.

Capítulo 11

Amostragem de sedimento para análise de agrotóxicos

*Vera Lúcia Ferracini, Sonia Cláudia Nascimento de Queiroz e
Marco Antônio Ferreira Gomes*

Sedimento é uma matriz constituída por detritos de rochas e de material orgânico, de natureza heterogênea em relação às suas características físicas, químicas e biológicas. Os sedimentos funcionam como reservatório para numerosos poluentes que constituem um problema de saúde pública. Devido a diversos processos, os metais e outros compostos potencialmente poluentes, ligados ao sedimento, podem ser remobilizados e liberados para água causando efeitos adversos nos organismos terrestres e aquáticos. Os efluentes não tratados provenientes de atividades industriais e urbanas (uso doméstico) e de regiões agrícolas são as principais fontes de contaminação de ambientes aquáticos.

Os organoclorados, como os resíduos de DDT, embora tenham sido banidos dos Estados Unidos durante os anos 70, isto é, há mais de 30 anos, continuam sendo detectados em água, sedimentos e na biota aquática. Alguns países em desenvolvimento ainda utilizam essas substâncias devido ao baixo custo e à versatilidade na indústria, agricultura e saúde pública. Em consequência, os problemas ambientais associados à contaminação nesses países são preocupantes pois os organoclorados entram para os ambientes aquáticos de diferentes maneiras (MORA et al., 2004).

Os organoclorados, tais como hexaclorociclohexanos (OCPs), DDT e seus metabólitos, são poucos solúveis em água, mas seus resíduos podem persistir no solo, no sedimento e nos organismos por muitos anos após sua aplicação. Essas substâncias tendem a acumular-se na biota por serem lipofílicas e altamente resistentes a degradação. Os OCPs têm afinidade com materiais particulados, podendo estar presentes em sedimentos de rios ou mares. As bifenilas policloradas (PCBs) também têm sido motivo de pesquisas e

monitoramento (BHATTACHARYA et al., 2003; SAPOZHNIKOVA et al., 2004; BAKAN & ARIMAN, 2004). Esses compostos, liberados para o meio e depositados ao longo dos anos constituem ainda uma fonte difusa de poluição e de contaminação do ambiente, apesar da proibição da sua produção e de controles sobre a comercialização e a utilização em muitos países. Vários estudos indicam que os PCBs foram detectados em várias espécies marinhas ainda em baixas concentrações, o que serve de alerta principalmente devido à sua extrema persistência e toxicidade e à sua utilização, ilícita ou lícita, em muitas regiões.

11.1. Amostragem

A amostragem de sedimentos a primeira vista parece simples, mas quando são considerados os diversos fatores que podem influenciá-la, como, profundidade e velocidade de correntes, é fundamental a adoção de equipamentos apropriados. Além disso, é importante que a amostra seja representativa. A amostragem é fundamental para que os resultados das análises sejam válidos.

Devido à variabilidade das amostras de sedimentos, as técnicas de amostragem devem ser previamente avaliadas e sua escolha depende do: a) propósito da amostragem; b) local onde será coletado; e c) das características do sedimento. Após a definição do propósito é que se define o plano de amostragem.

No plano de amostragem deve ser considerada a época do ano em que serão feitas as coletas. Em geral, a amostragem é feita em condições de fluxo baixo no inverno e na primavera pela sua praticidade. As variações sazonais de depósitos de sedimentos e sua qualidade podem ocorrer devido ao fluxo alto e a correnteza dos rios, cobertura de folhas, práticas agrícolas, tais como aplicação de agrotóxicos na agricultura ou variações sazonais em populações bentônicas. As propriedades físicas e químicas dos sedimentos podem ser utilizadas como ferramentas para o monitoramento de descargas de poluentes nos rios ou lagos.

Amostragem de sedimento para análise de agrotóxicos

Sedimentos compostos de areias (0,06 -2,0 mm) e partículas maiores são freqüentemente minerais de silicatos inorgânicos estáveis. Essas partículas têm menor capacidade específica e uma superfície de carga elétrica mais neutra. Este tipo de sedimento usualmente não está associado a contaminantes e, portanto, não é recomendado para análises.

Partículas mais finas como silte e argila (< 0,06 mm) têm maior capacidade específica e possuem maior área superficial. Essas propriedades tornam as partículas mais interativas com os contaminantes e são esses os sedimentos que devem ser amostrados para análises. Esses tipos de sedimentos são localizados em águas calmas no fundo da área de amostragem, nas margens, obstruções e curvas dos rios. Para amostragem costuma-se escolher os lagos, açudes e represas. Contudo, esses locais podem apresentar inconvenientes, principalmente para as moléculas de rápida degradação devido à ação da luz solar (SAPOZHNIKOVA et al., 2004).

As amostras de determinada localidade devem ser coletadas a distâncias que variam de 20 a 200 metros da margem dependendo do corpo de água, no mesmo período de tempo, usando o mesmo equipamento e a mesma técnica de amostragem. Usualmente, são feitas replicatas para determinar a variabilidade da amostra em um dado local e em um certo tempo. No entanto, para fazer comparações entre locais diferentes a mesma técnica de amostragem deve ser utilizada durante todo o estudo (OHIO ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001).

Os procedimentos de coleta de amostras de sedimentos superficiais e profundos são semelhantes, diferindo basicamente no cuidado necessário que se deve ter com as amostras destes últimos, uma vez que pode ocorrer alguma mistura acidental e mascarar o resultado. Entende-se como amostragem superficial aquela cuja coleta se faz na profundidade limite de 30cm (ex. 0-10cm; 0-15cm; 0-20cm; 0-30cm).

Essas amostragens podem ser classificadas quanto à localização em: a) pontuais e b) não-pontuais. As amostragens pontuais são aquelas realizadas em torno do equipamento, enquanto que as não-pontuais são aquelas realizadas por meio do arraste do equipamento de coleta no fundo do leito (FIGUEIREDO JR. & BREHME, 2000). Por outro lado, as amostragens quanto

ao número podem ser classificadas em: a) individuais e b) coletivas, dependendo para o fim a que se destinam.

Nos frascos que contêm as amostras devem ser coladas etiquetas que contemplem informações como, data e hora da coleta, local com latitude e longitude, profundidade da água, tempo, equipamento utilizado, descrição física da amostra como cor, textura, odor, nome do coletor, entre outros, para facilitar o rastreamento posteriori (OHIO ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2001). As etiquetas devem acompanhar as amostras em todos os momentos, durante qualquer etapa de análise, armazenamento e transporte.

Todas essas informações devem estar contidas em uma ficha (Fig. 1) a ser preenchida no momento da coleta para facilitar o processamento dos dados e esclarecer dúvidas futuras caso existam.

É necessária à coleta de uma amostra testemunha que represente as condições primárias do ambiente ou local, com isenção quanto à presença de supostos compostos ou elementos químicos introduzidos por meio de atividades antrópicas. Isso significa coletas bem distantes das áreas submetidas ao uso de poluentes, visando sua representatividade como amostra testemunha ou padrão. Além disso, a amostra testemunha deve ser coletada em local onde a deposição de sedimentos e o fluxo energético da água sejam similares àquele no qual se quer retirar as amostras do estudo em questão. Isso significa que as amostras testemunhas devem ter granulação similar aos sedimentos dos locais de coleta.

Projeto:		Data e hora da coleta:	
Nome do técnico que realizou a amostragem:		Condições do tempo:	
Local da amostragem:		Latitude:	
		Longitude:	
Informações sobre a água:			
Condutividade:		pH:	
Temperatura:	Oxigênio dissolvido:	Velocidade da correnteza:	
Informações sobre a amostragem sedimentar:		Tipo de coletor:	
Profundidade da amostra:			
Tipo da amostra:			
Replicatas foram coletadas? Sim ou Não			
pH do sedimento:		Cor:	
Textura:		Odor:	
Número de amostras enviadas ao laboratório:			
Condições de armazenamento da amostra imediatamente após a colheita			
Informações adicionais:			

Fig. 1. Exemplo de um formulário de informações sobre a amostragem.

11.2. Equipamentos de Amostragem

É importante ressaltar que os coletores devem ser de aço inoxidável, sendo o manuseio das amostras feito por meio do uso de luvas de polietileno, a fim de se evitar possíveis contaminações. O equipamento de amostragem (coletor) deve estar limpo antes do uso e após cada coleta com o intuito de se evitar problemas relacionados à contaminação ou mistura de amostras de diferentes profundidades, conforme os procedimentos a seguir:

1. Lavar o equipamento com solução de detergente e enxaguar com água;
2. Lavar com solução aquosa de HCl 1% e enxaguar com metanol;
3. Finalizada a limpeza, passar água deionizada e deixar secar ao ar;
4. Embrulhar todo o material com papel alumínio e conservar até sua utilização no campo (RMP Field Manual, 1999).

Outro aspecto importante é a limpeza dos recipientes nos quais serão colocadas as amostras, que deve feita com solução detergente contendo HCl 1%, seguida de metanol e, por último, com enxágüe em água deionizada (RMP Field Manual, 1999).

Geralmente são utilizados dois tipos de amostradores para a coleta dos sedimentos:

(1) Amostradores de **garra** para coletar os sedimentos de superfície, que fornecem o material para a determinação da distribuição horizontal das variáveis. Este tipo de amostrador é de fácil utilização e como a amostra obtida é grande, possibilita a avaliação das entradas recentes de poluentes;

(2) Amostradores de **núcleo**, para a coleta de um perfil dos sedimentos em profundidade, fornecem material para a determinação da distribuição vertical das variáveis analisadas. Esses amostradores são utilizados para registrar a entrada (histórico) de material ao longo do tempo. O tipo de amostrador a ser utilizado variará de acordo com a finalidade do estudo e será definido pelo projeto. Para maiores informações poderão ser consultadas as seguintes referências: Ohio Environmental Protection Agency (2001); Plumb

Jr.(1981), Burton & Landrum (1990), Mudroch & MacKnight (1994), Mudroch & Azcue (1995), Figueiredo Jr. & Brehme (2000).

11.2.1. Amostradores de Garra

Os modelos de amostradores de garra usados geralmente são os de **Ekman** e de **Ponar**, que permitem que a água flua livremente através do dispositivo durante a descida, reduzindo assim o distúrbio do sedimento causado pela onda na frente do amostrador. Estes amostradores são fáceis de usar e conseguem volumes relativamente grandes do sedimento, porém partículas de superfície fina podem ser carregadas pela correnteza da água.

O tamanho da **Garra de Ekman** utilizado normalmente é de 15 x 15 cm e de aço inoxidável. Este tipo é apropriado para coletar sedimentos que contenham silte e grãos de areia. As partículas maiores como o cascalho e objetos como fragmentos de madeira, prejudicam a coleta, resultando na perda do material da amostra.

A **Garra de Ponar** consiste em um par de maxilas, mantidas abertas por uma barra do prendedor. A parcela superior das maxilas é coberta com uma tela que permite que a água flua livremente durante a sua descida até o sedimento, reduzindo conseqüentemente a onda de choque que precede o amostrador. Este tipo é apropriado para coletar partículas pequenas.

11.2.2. Amostradores de Núcleo

Os amostradores de núcleo penetram no sedimento mais profundamente do que os de garra. Conseqüentemente, coletam uma fatia de seção transversal de camadas dos materiais, fornecendo deste modo informações sobre a dinâmica de deposição do sedimento. Este tipo de amostrador consiste em um tubo que penetra no sedimento pela queda livre a partir de uma altura suficiente.

Embora os amostradores previamente mencionados possam ser usados com a finalidade de determinar a distribuição completa de partículas, eles não são instrumentos ideais. Muito dos sedimentos finos são perdidos em

Amostragem de sedimento para análise de agrotóxicos

conseqüência da onda da pressão que precede estes amostradores. Os amostradores vibratórios evitam grandes perdas de sedimentos já que não são introduzidos em queda livre. Para maiores detalhes sobre este tipo de coletor consultar os capítulos 10 e 13.

11.3. Transporte das amostras

A logística de transporte das amostras deve ser cuidadosamente definida para evitar problemas de conservação.

Dependendo da distância entre a área de coleta e o laboratório, a amostra deve ser refrigerada o mais rapidamente possível. O transporte, portanto deve ser realizado em caixas de isopor e deve ser acompanhado do emprego de gelo seco ou em gel. No laboratório, as amostras devem ser armazenadas em freezer ou câmaras frias numa temperatura de cerca de -18 °C e em condições de ausência de luz. As amostras, uma vez congeladas, devem ser mantidas nesta condição até o momento da análise. Sucessivas etapas de congelamento e descongelamento das amostras podem resultar em degradação não desejada.

11.4. Considerações Finais

A amostragem de sedimentos envolve desafios e quando realizada com sucesso permite que vários parâmetros da amostra sejam analisados com detalhes. Contudo é fundamental que o equipamento de amostragem seja apropriado para o tipo de sedimento e análise que se pretende realizar. Além disso, as amostras sob investigação devem ser representativas.

Referências

BAKAN, G.; ARIMAN, S. Persistent organochlorine residues in sediments along the coast of mid-Black Sea region of Turkey. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p. 1031–1039, 2004.

BHATTACHARYA, B.; SARKAR, S. K.; MUKHERJEEA, N. Organochlorine pesticide residues in sediments of a tropical mangrove estuary, India: implications for monitoring. **Environment International**, v.29, p.587–592, 2003.

BURTON JR., G. A.; LANDRUM, P. F. **ASTM standard guide for collection, storage, characterization, and manipulation of sediments for toxicological testing**. Philadelphia: ASTM, 1990.

FIGUEIREDO Jr, A. G.; BREHME I. Amostragem geológica na pesquisa mineral. **Brazilian Journal of Geophysics**, v.18, n.3, p.269-280, 2000.

MORA, S. De; VILLENEUVE, J.P.; SHEIKHOESLAMI, M. R.; CATTINI, C.; TOLOSA, I. Organochlorinated compounds in Caspian Sea sediments. **Marine Pollution Bulletin**, v.48, p.30–43, 2004.

MUDROCH, A.; MACKNIGHT, S. D. **Handbook of techniques for aquatic sediment sampling**. Boca Raton: Lewis Publishers, 1994.

MUDROCH A.; AZCUE, J. **Manual of aquatic sediment sampling**. Boca RATON: Lewis Publishers, 1995.

OHIO ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Ohio EPA sediment sampling guide and methodologies**. 2. ed. Columbus: Division of Surface Water, 2001.

PLUMB Jr., R. H. **Procedure for the handling and chemical analysis of sediment and water samples**. Technical Report EPA/CE-81-1, prepared by Great Lakes Laboratory, State University College at Buffalo, Buffalo, N.Y., for the U.S. EPA/U.S. Army Corps of Engineers Technical Committee on Criteria for Dredged and Fill Material. Vickburg: U.S. Engineer Waterways Experiment Station, 1981.

Amostragem de sedimento para análise de agrotóxicos

RMP FIELD MANUAL - **Field sampling manual for the regional monitoring program for trace substances** (version 1, January 1999).

SAPOZHNIKOVA Y.; BAWARDI O.; SCHLENK D. Pesticides and PCBs in sediments and from the Salton Sea, California, USA. **Chemosphere**,v.55, p. 797-809,2004.

Capítulo 12

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas

*Júlio Ferraz de Queiroz, Rita Carla Boeira e
Mariana Pinheiro Silveira*

A interação entre a água e os sedimentos do fundo dos lagos, das represas e dos viveiros de aquicultura não deve ser ignorada, porque o manejo inadequado da água e dos sedimentos pode prejudicar a biodiversidade desses locais e também a sobrevivência e o crescimento dos organismos aquáticos. A amostragem correta dos sedimentos do fundo dos lagos e dos viveiros para a determinação de parâmetros físico-químicos é fundamental para assegurar uma análise adequada, cujo objetivo é avaliar, não só a qualidade dos sedimentos, como também, identificar alternativas para otimizar a preservação e o manejo dos lagos e represas e, no caso de viveiros de aquicultura, ainda permitir a elevação dos índices de produtividade e rentabilidade, além de possibilitar a indicação de procedimentos de manejo mais efetivos. Geralmente, a maioria das análises de sedimentos pode ser feita sem problemas nos laboratórios de solo, porém é preciso ter conhecimento de como coletar e preparar essas amostras, antes de enviá-las para os respectivos laboratórios. Nesse sentido, vários fatores devem ser levados em consideração para realizar uma coleta adequada permitindo a obtenção de resultados significativos que expressem a situação real das condições dos sedimentos do fundo dos lagos e dos viveiros de aquicultura (BOYD, 1995).

A coleta de amostras é uma etapa crítica do procedimento e deve ser executada adequadamente para que se possa obter uma representação confiável das condições do sedimento do fundo dos lagos e dos viveiros. Dessa forma, é preciso estabelecer métodos práticos e seguros para

o uso correto dos equipamentos para coleta e processamento das amostras. A análise correta dos sedimentos indicará quais são as influências dos fluxos das substâncias encontradas na coluna d'água sobre os sedimentos, e quais são os impactos ambientais causados pela atividade, relacionados com a erosão dos próprios lagos, represas e viveiros, e com as altas concentrações de sólidos em suspensão na coluna d'água.

A caracterização dos sedimentos também é importante para ilustrar a relação entre a espessura dos sedimentos do fundo dos lagos, de represas e dos viveiros e a reatividade da matéria orgânica. Essas informações são indispensáveis para indicar procedimentos de gestão e monitoramento dos lagos e dos reservatórios, e também fazer recomendações quanto à localização, construção e manejo dos viveiros de aquicultura. A caracterização dos sedimentos reflete exatamente as condições reais dos lagos e dos viveiros de produção de peixes e camarões com relação à composição dos efluentes e dos sedimentos, evidenciando quais são as oportunidades existentes nesses locais para a adoção de Boas Práticas de Manejo (BPM).

Além disso, a coleta adequada deve permitir a obtenção de resultados que expressem a situação real das condições dos sedimentos do fundo dos lagos, das represas e dos viveiros de aquicultura. Para isso, devem ser considerados os seguintes fatores: tipo de equipamento utilizado para coleta, local de coleta das amostras, espessura das camadas de sedimento das amostras, número de amostras por local (lago, represa ou viveiros), hora da coleta, técnica utilizada para secagem das amostras, método de trituração das amostras, e forma de acondicionamento e armazenamento das amostras.

Neste capítulo, descreve-se de uma maneira simplificada a metodologia proposta por Boyd (1995) para coleta de amostras de sedimento do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura, e também da utilização do coletor simplificado, visando a sua aplicação prática nos trabalhos de pesquisa realizados no Brasil sobre qualidade da água e dos sedimentos dos lagos, das represas e dos viveiros de aquicultura.

12.1. Tipos de coletores para sedimentos

De maneira geral, a coleta de sedimentos do fundo dos corpos de água pode ser feita com dragas de várias dimensões e características, sendo que as mais comuns são a draga de Ekman e a draga de Petersen. Dentre elas, a draga de Ekman é a mais leve, alguns modelos pesam menos de 1,0 kg, e é por esse motivo que ela é mais indicada para a coleta de amostras de sedimentos de lagos, represas e viveiros, cujo fundo é menos compacto e mais macio. A draga de Ekman não foi projetada para penetrar no fundo de locais constituídos de material mais compacto, duro e com grande quantidade de argila, e além disso, essa draga não deve ser utilizada em locais onde existam muitos fragmentos de rocha, galhos e raízes de plantas, os quais impedem o seu fechamento completo. Para esse tipo de amostragem deve-se utilizar a draga de Petersen, a qual foi projetada para coletar amostras em local onde o fundo é duro e compacto. A draga de Petersen é construída em aço, e é muito pesada (alguns modelos pesam mais de 50 kg), sendo que devido ao seu peso elevado, ela penetra no solo compactado cortando a amostra desejada. Entretanto, esta draga só pode ser utilizada se estiver fixa a um barco e acoplada a um guincho; conseqüentemente, a draga de Petersen raramente é utilizada para coletar amostras de sedimento do fundo de viveiros de aquicultura (BOYD, 1995).

Embora as dragas permitam coletar amostras com um volume conhecido, o qual é pré-determinado em função do seu respectivo tamanho, elas não são muito indicadas para coletar sedimentos do fundo de lagos pequenos e dos viveiros de aquicultura, porque não permitem regular a espessura da camada da amostra que se pretende coletar. Além disso, a quantidade de sedimento coletado pelas dragas depende diretamente da compactação dos sedimentos.

Para contornar as dificuldades encontradas para obtenção de amostras de sedimentos do fundo de lagos e dos viveiros de aquicultura com o uso de dragas, foram projetados vários tipos de coletores que permitem obter amostras relativamente não perturbadas e consolidadas de sedimentos nos mais diversos locais, como por exemplo, no fundo de lagos e reservatórios, córregos, canais e viveiros de aquicultura. Em geral esse tipo de coletor,

denominado *core sampler*, é constituído de um tubo de PVC transparente com 5 cm de diâmetro e aproximadamente 1,5 m de comprimento, e fica inserido no interior de um tubo de metal de maiores dimensões, conforme descrição de Boyd (1995).

Esse equipamento possibilita coletar amostras de sedimentos de uma área conhecida, em solos compactados e duros. A amostra pode ser dividida em várias sub-amostras de camadas uniformes e de mesma espessura, de acordo com as várias profundidades. A maioria dos coletores do tipo *core sampler* é constituído dos seguintes componentes (Fig. 1A): 1) parte superior que se resume em apoio para as mãos para auxiliar o manuseio durante as coletas feitas em áreas rasas. Para as coletas feitas em áreas mais profundas, a parte superior do coletor é mais complexa, porque contém uma válvula para saída de água e um encaixe para acoplar uma extensão; 2) tubo de metal - normalmente feito de aço inox, e serve como um invólucro do tubo de PVC; e 3) tubo de PVC transparente, normalmente com 5 cm de diâmetro e 1,5 m de comprimento.

O coletor tipo *core sampler* completo, descrito acima, pode ser perfeitamente substituído pelo coletor simplificado (Fig. 1B). Para isso, basta eliminar alguns componentes do coletor completo, tais como: a) parte superior - apoio para as mãos, válvula para saída de água, e encaixe para acoplar a extensão; e b) tubo de metal - tubo de aço inox no qual é inserido o tubo de PVC. Conseqüentemente, o coletor simplificado é constituído apenas pelo tubo de PVC e por duas tampas plásticas que se adaptam perfeitamente às extremidades do tubo. A validação do uso do coletor simplificado já pôde ser comprovada em inúmeros trabalhos realizados no exterior e no Brasil (BOYD, 1995; MUNSIRI et al., 1995; BOYD & BOWMAN, 1997; BOYD & TUCKER, 1998; BOYD et al., 1998 e 1999 e THUNJAI et al., 2001).

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas

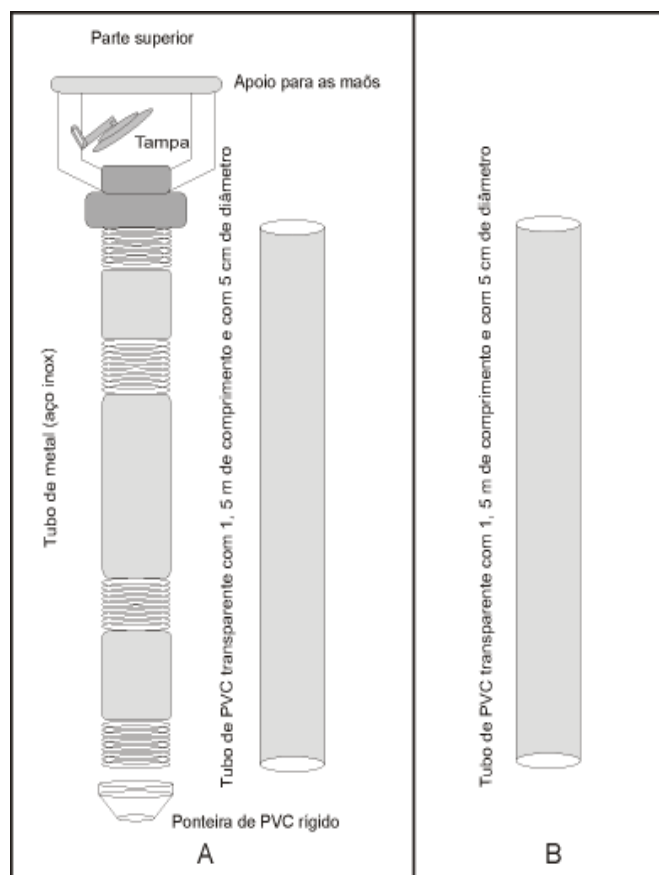


Fig. 1. Representação esquemática de: (A) coletor tipo *core sampler* de acordo com Boyd (1995) e (B) coletor simplificado.

O coletor simplificado é mais simples, mais barato e mais leve do que o coletor completo, porque dispensa a aquisição e o uso dos componentes de aço inox, que constituem a parte superior e o tubo de metal, no qual deve ser inserido o tubo de PVC. Além disso, a utilização do coletor simplificado facilita e agiliza o trabalho metodológico de amostragem de sedimentos em viveiros, geralmente pouco profundos, por meio da realização de coletas em séries sucessivas. Esta forma de amostragem é inviável com o coletor completo devido ao seu peso e à complexidade de manuseio; além disso, não seria possível dispor de vários coletores completos simultaneamente, em função do seu alto custo e da dificuldade de seu manuseio no momento da coleta.

12.2. Local de amostragem

De modo geral, o fundo dos lagos, represas e dos viveiros de aqüicultura não apresenta uniformidade na espessura da camada de sedimentos, na textura ou na composição química (Figs. 2 e 3).

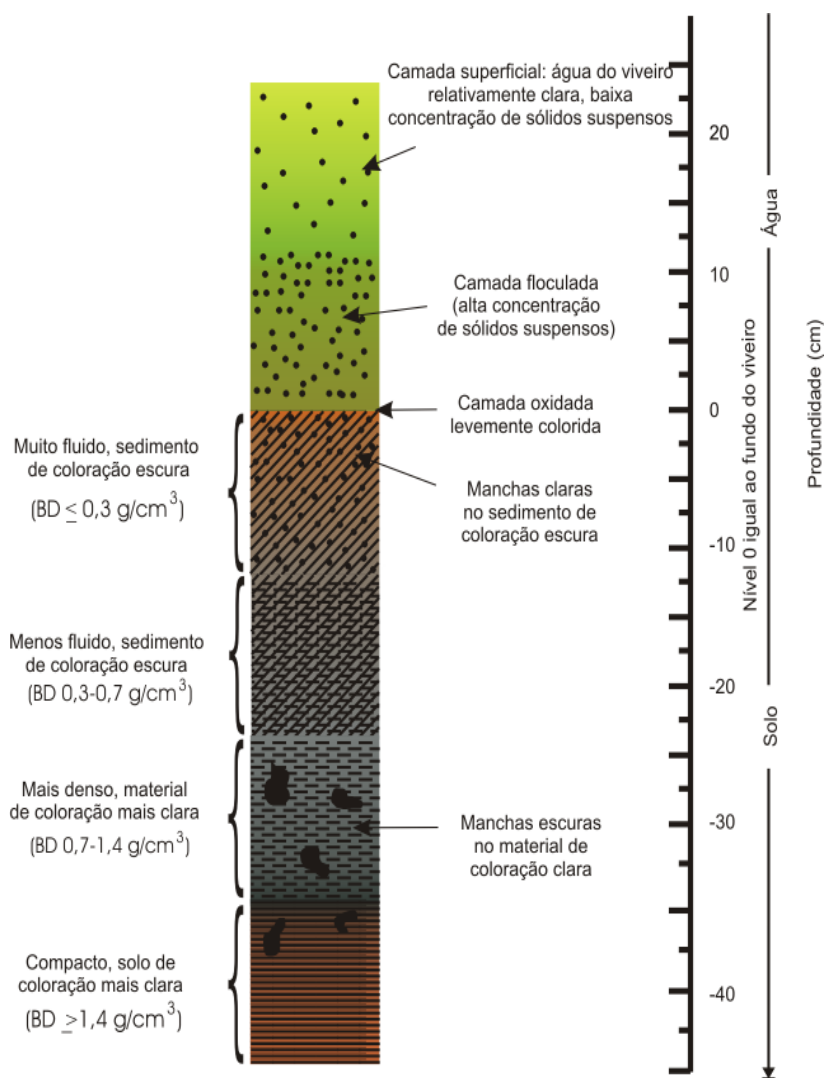
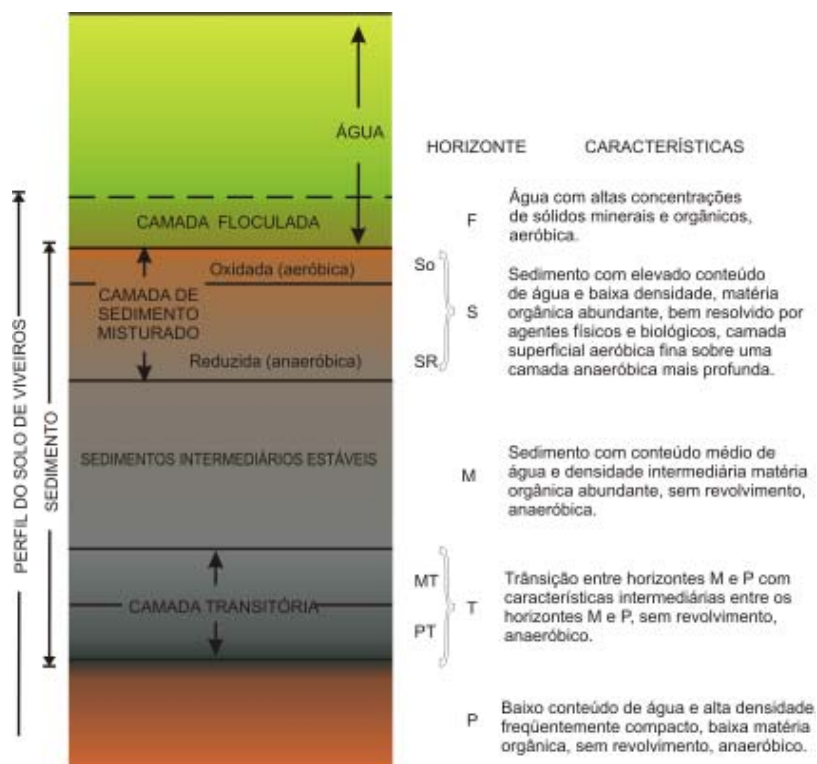


Fig. 2. Representação esquemática do perfil de uma amostra consolidada de solo de um viveiro de aquicultura (Boyd, 1995)

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas



Legenda: F= floculado, S= solo / água, So= sedimento oxidado, Sr= sedimento reduzido, M= estável, T= transitório, MT= estável transitório, PT= original transitório, P= original.

Fig. 3. Sistema proposto para denominação das camadas do perfil dos sedimentos dos viveiros de aquicultura (Boyd, 1995)

Normalmente, a espessura da camada de sedimentos aumenta das áreas mais rasas para as áreas mais profundas, e a textura dos sedimentos é mais fina nas áreas mais profundas do que nas áreas mais rasas, sendo que algumas propriedades do sedimento, como por exemplo, teor de matéria orgânica, capacidade de troca de cátions e teor de nitrogênio orgânico, freqüentemente apresentam concentrações mais elevadas em direção ao centro dos lagos e dos viveiros. Além disso, mesmo ao redor de uma área com a mesma profundidade, algumas propriedades do sedimento exibem variações aleatórias entre pontos diferentes, sendo que essas propriedades também podem variar de acordo com a espessura da camada dos sedimentos coletados.

12.3. Metodologias de amostragem

O objetivo do trabalho de caracterização dos sedimentos do fundo dos lagos, represas e dos viveiros, deve ser considerado para a escolha do método adequado de coleta das amostras. Se o objetivo for determinar qual é a influência da coluna d'água sobre as propriedades do sedimento de fundo, as amostras devem ser coletadas ao longo de linhas imaginárias (transeção ou transecto) (Fig. 4). Assegura-se, assim, que as amostras sejam coletadas ao longo de toda a extensão dos lagos e dos viveiros, e em pontos nos quais a estrutura do sedimento do fundo não foi alterada anteriormente pela passagem da pessoa que está realizando a coleta.

As coletas devem ser feitas a partir das áreas mais rasas em direção às áreas mais profundas, ou seja, das bordas em direção ao centro dos corpos d'água. Portanto, em cada um dos locais selecionados as amostras devem ser coletadas em pontos distintos que podem variar em número de 5 a 10 dependendo da área do lago, da represa ou do viveiro, observando-se constantemente o mesmo espaçamento entre os distintos pontos de coleta, por exemplo, a cada 5 metros de distância entre eles.

É necessário que, em todos os pontos ao longo da transeção ou transecto, as amostras coletadas tenham a mesma espessura, eliminando-se, com este procedimento, a variabilidade devida aos diferentes perfis sedimentares.



Fig. 4. Representação esquemática dos transectos (linhas imaginárias) para coleta de sedimentos em um viveiro de aquicultura (Itupeva, SP, Foto: Julio F. Queiroz).

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas

Por outro lado, se o objetivo do trabalho for somente à obtenção de uma média dos parâmetros físico-químicos do sedimento de um determinado corpo de água, várias amostras podem ser coletadas em diferentes pontos do fundo que devem ser selecionados aleatoriamente. Para isso, as amostragens freqüentemente mais recomendadas são aquelas feitas de acordo com um padrão em forma de S, sendo que os pontos de coleta ao longo desse padrão também poderão ser selecionados aleatoriamente (Fig. 5). Normalmente, um sistema com nove quadrantes é o mais utilizado para amostrar solos para estudos agrônômicos, sendo que esse sistema também é adequado para aplicação em lagos, represas e em viveiros de aquicultura. Finalmente, o ponto de coleta em cada um dos quadrantes também deverá ser selecionado aleatoriamente (Fig. 5). Como mencionado anteriormente, as amostras deverão ser coletadas com a mesma espessura (BOYD, 1995).

Um estudo realizado por Munsiri et al. (1996) sobre a variabilidade das concentrações de carbono orgânico, no sedimento de viveiros de 1.000 m², em Honduras, sugeriu que é preciso realizar uma amostragem intensiva para detectarem-se as diferenças dessa variável entre os tratamentos. A conclusão desse trabalho indicou que para detectar uma alteração de 0,2% a 0,3% na concentração de carbono no sedimento, são necessários no mínimo três viveiros por tratamento e oito amostras por viveiro.

Na prática, para efetuar um manejo adequado dos lagos, represas e dos viveiros de aquicultura, não é necessário obter estimativas da variação entre as amostras de sedimentos, entretanto, é necessário obter amostras representativas e confiáveis. Em lugar de analisar todas as amostras, para obter a média da concentração de uma determinada variável, pode-se juntar e misturar completamente volumes ou pesos iguais de cada uma das amostras, a fim de obter uma amostra composta para análise. Dessa forma, a análise da amostra composta irá fornecer uma média da concentração das variáveis físico-químicas do sedimento.



Fig. 5. Representação esquemática dos quadrantes (A) e do padrão em forma de S (B) para coleta de sedimentos em um viveiro de aquicultura. (Itupeva, SP, Foto: Julio F. Queiroz).

Devido à variação resultante encontrada em áreas com profundidades diferentes nos lagos, represas e viveiros, e também das variações que normalmente ocorrem em função da localização e da espessura da camada de sedimentos coletados, é fundamental incluir pelo menos 10 a 12 amostras, ou mais, que devem ser coletadas aleatoriamente, para compor a amostra composta. Normalmente, a espessura da camada das amostras de sedimento do fundo dos viveiros deve ter pelo menos 20 cm.

Na falta de equipamentos específicos, é possível coletar amostras de sedimento do fundo dos lagos e dos viveiros de aquicultura com qualquer lata vazia presa na ponta de um bastão de madeira. As amostras de sedimento dos locais mais rasos e mais próximos das bordas dos lagos e dos viveiros podem ser coletadas pela escavação manual da superfície com uma pá, ou então, pode-se inserir um tubo, ou outro artefato semelhante diretamente no fundo do lago ou do viveiro. Para os locais mais afastados da borda é necessário andar ou nadar até alcançar o local desejado para se efetuar a coleta.

Quando os lagos ou os viveiros estiverem vazios, entre um ciclo de cultivo e outro, é possível coletar o sedimento ainda úmido e macio com uma pá pequena de jardim, ou com tubos que podem ser pressionados diretamente sobre a superfície do sedimento. No entanto, depois que o sedimento do fundo desses locais secar e endurecer, após longos períodos de exposição ao sol, é necessário usar uma pá ou um trado para coletar as amostras. Esta forma de coleta, no entanto, não permite uma caracterização

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas

apropriada da profundidade da camada amostrada, ou a obtenção de amostras relativamente não perturbadas.

Após a coleta, as amostras de sedimento devem ser segmentadas com 2,0 cm de espessura, guardadas, em latas de alumínio, ou sacos plásticos, etiquetados de acordo com a data de coleta, local de amostragem, e profundidade da amostra que foi segmentada.

12.3.1. Procedimento de coleta com o coletor simplificado

De modo geral, os lagos, no Brasil, e os viveiros de aquicultura não são profundos e o coletor simplificado constituído apenas por um tubo de PVC, pode ser utilizado sem problemas. O procedimento para a coleta é simples, e se resume nas etapas seguintes:

- inserir os tubos de PVC no sedimento do fundo dos lagos e dos viveiros até a profundidade desejada (utilizar uma pequena prancha de madeira apoiada na borda superior do tubo de PVC, e exercer uma pressão suficientemente forte com a ajuda do peso do próprio corpo, a fim de que o tubo de PVC penetre no fundo do lago ou do viveiro) (Fig. 6A);
- preencher a parte superior do tubo de PVC com água do próprio local, e tampar a sua extremidade superior (utilizar as tampas de plástico próprias para essa finalidade);
- retirar o tubo de PVC do fundo do lago ou do viveiro (fazer uma série de movimentos circulares para desprender o tubo de PVC da argila do fundo), tampar a extremidade inferior do tubo e transportar os tubos, na vertical, com as amostras de sedimento para a borda dos corpos de água (Fig. 6B);
- sifonar a água situada logo acima da camada de sedimentos contida no interior dos tubos de PVC, retirar a tampa da parte inferior do tubo, posicionar o êmbolo de metal na parte inferior do tubo e exercer uma pressão ascendente no sentido vertical para coletar os primeiros centímetros da amostra consolidada de sedimento (camada oxidada aeróbica) (Fig. 7A e 7B);

- utilizar um anel com o mesmo diâmetro do tubo de PVC (5,0 cm), e com 2,0 cm de altura para permitir a retirada da amostra de sedimento, tomando sempre o cuidado para que a amostra seja prensada para fora do interior do tubo corretamente, de modo a evitar a perda de material das primeiras camadas que serão segmentadas, em função do seu elevado conteúdo de água (Fig. 7C);

- remover totalmente a amostra de sedimento com o anel colocado sobre a extremidade superior do tubo de PVC, empurrando a amostra de sedimento para cima com o êmbolo, até que o topo da amostra fique nivelado com a borda superior do anel, de modo a permitir a segmentação da amostra de sedimento com uma espátula larga, inserida entre a borda inferior do anel e a parte superior do tubo de PVC

- em seguida essas amostras devem ser preparadas (secagem, trituração e peneiração) de acordo com os procedimentos descritos por Boyd (1995). Os sedimentos devem ser secos, logo em seguida à coleta, para interromper a atividade microbiana.

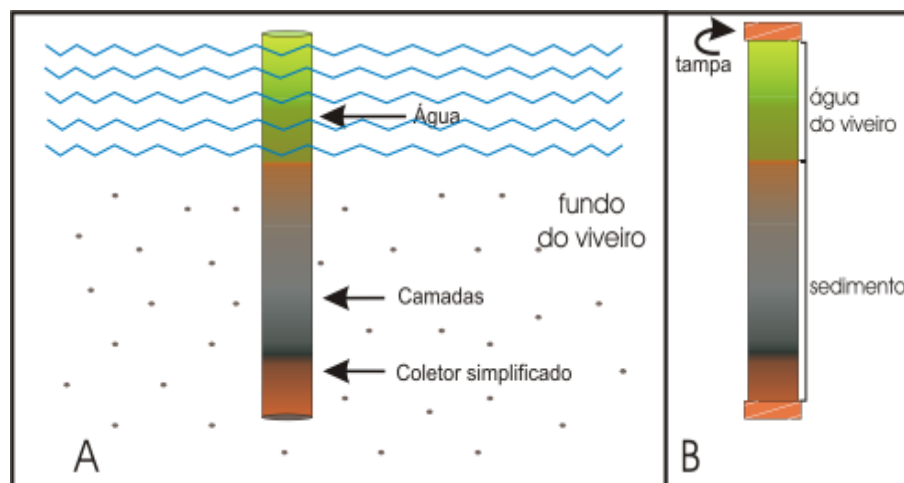


Fig. 6. Representação esquemática das etapas iniciais do procedimento de coleta com o coletor simplificado: (A) tubo de PVC inserido no fundo do viveiro; (B) tubo de PVC contendo a amostra dos sedimentos, preenchido com água do viveiro e com tampas plásticas colocadas nas duas extremidades.

Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de aquicultura para análise físico químicas

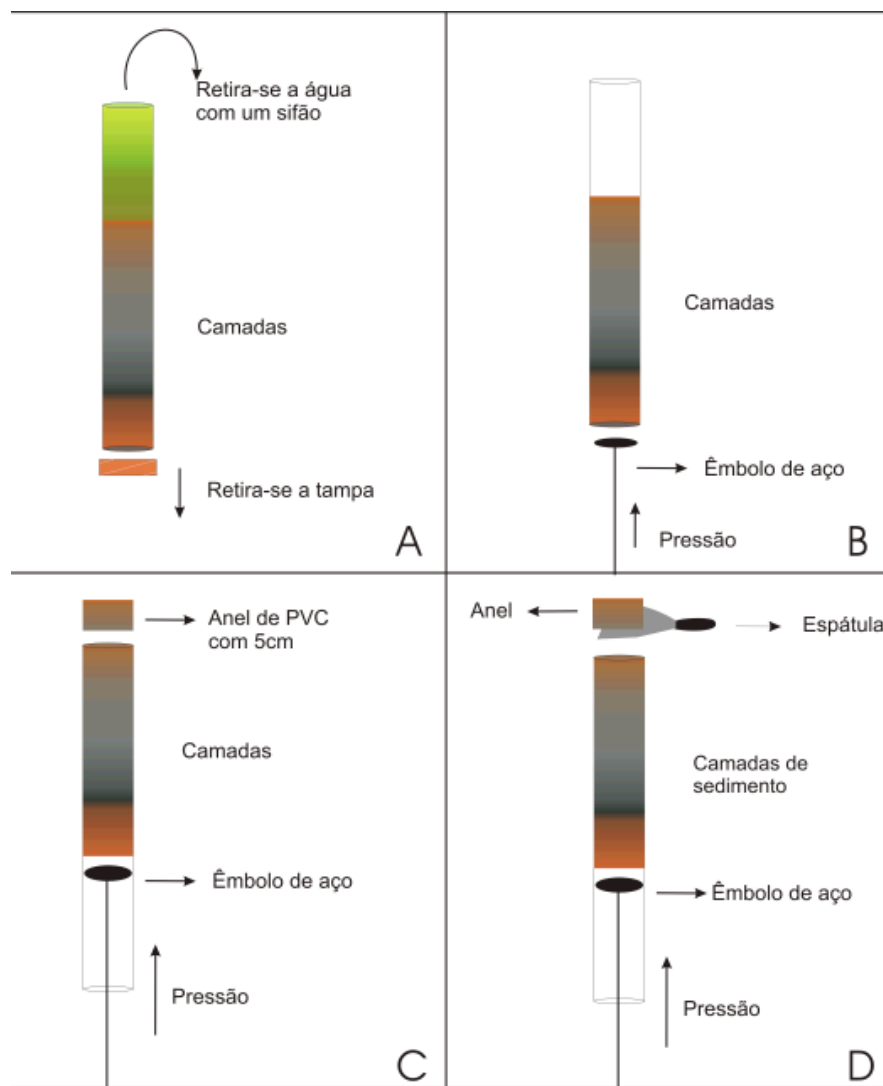


Fig. 7. Representação esquemática das etapas finais do procedimento de coleta com o coletor simplificado: (A) retirada da água do coletor e da tampa inferior; (B) utilização do êmbolo de aço para deslocar a amostra de sedimento para cima; (C) utilização do anel de PVC para segmentar a amostra de 2 em 2 cm e (D) anel de PVC contendo a amostra após a segmentação com a espátula.

12.3.1.1. Amostragem de sedimentos em séries sucessivas com a utilização do coletor simplificado

Para efetuar as coletas de sedimentos em séries sucessivas basta apenas possuir uma quantidade suficiente de tubos de PVC (no mínimo 20 unidades) e também várias tampas de plástico (pelo menos 50 unidades). Para isso, basta entrar nos lagos ou nos viveiros carregando os vários tubos de PVC, e inserir os mesmos no fundo dos lagos ou dos viveiros de acordo com os pontos de coleta pré-selecionados.

A metodologia de coleta de amostras de sedimentos do fundo dos lagos ou dos viveiros com o coletor simplificado é mais rápida, e menos cansativa, do que a coleta realizada com o coletor tipo *core sampler*, porque não é preciso manusear os pesados componentes de metal do coletor completo dentro dos lagos ou dos viveiros. Ressaltam-se, assim, as vantagens da presente metodologia de coleta em séries sucessivas, com o coletor simplificado.

Referências

- BOYD, C.E. **Bottom soils, sediment and pond aquaculture**. New York: Chapman and Hall, 1995. 347p.
- BOYD, C.E.; BOWMAN, J.R. Pond bottom soils. In: EGNA, H.S.; BOYD, C.E. (Ed.). **Dynamics of pond aquaculture**. Boca Raton: CRC Press, 1997. p. 135–162.
- BOYD, C.E.; TUCKER, C.S. **Pond aquaculture water quality management**. Boston: Kluwer Academic Publishers, 1998. 700p.
- BOYD, C. E.; QUEIROZ, J. F.; WOOD, C. W. **Pond soil characteristics and dynamics of soil organic matter and nutrients** - Part I. Fifteenth Annual Technical Report - Pond Dynamics/Aquaculture CRSP, p.11 - 25, 1998.
- BOYD, C. E.; QUEIROZ, J. F.; WOOD, C. W. **Pond soil characteristics and dynamics of soil organic matter and nutrients** - Part II. Sixteenth Annual Technical Report - Pond Dynamics/Aquaculture CRSP, p.1 - 7, 1999.

**Amostragem de sedimentos do fundo de lagos, represas e viveiros de
aquicultura para análise físico químicas**

MUNSIRI, P.; BOYD, C.E.; HAJEK, B.J. Physical and chemical characteristics of bottom soil profiles in ponds at Auburn, Alabama, USA, and a proposed method for describing pond soil horizons. **Journal of the World Aquaculture Society**, v.26, p.346–377, 1995.

MUNSIRI, P.; BOYD, C.E.; TEICHERT-CODDINGTON, D.; HAJEK, B.F. Texture and chemical composition of soils from shrimp ponds near Choluteca, Honduras. **Aquaculture International**, v.4, p.157-168, 1996.

THUNJAI, T.; BOYD, C.E.; DUBE, K. Pond soil pH measurement. **Journal of World Aquaculture Society**, v.32, p.141–152, 2001.

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.

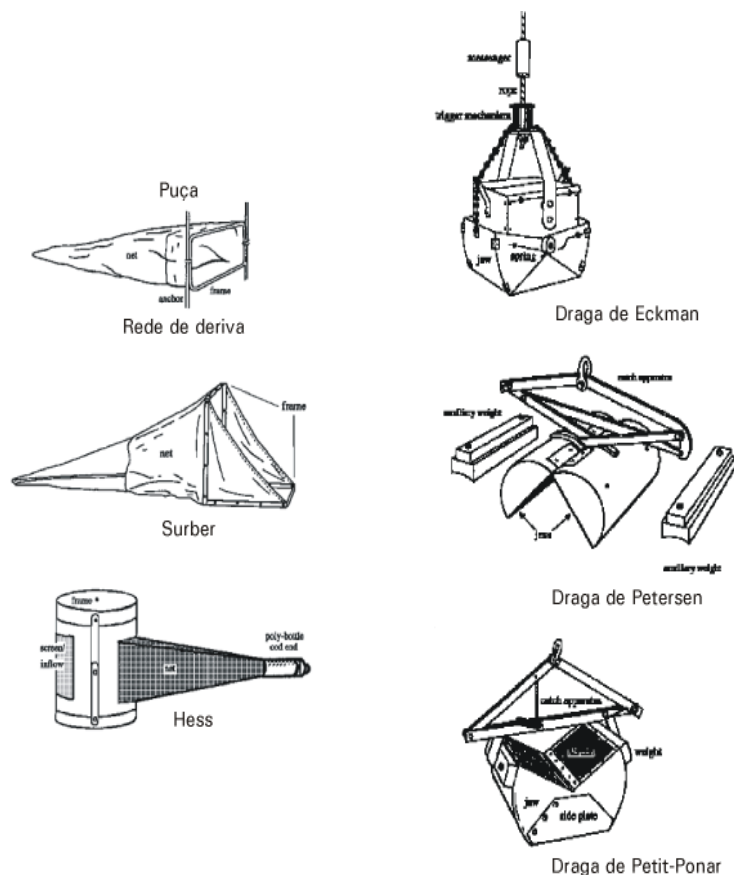


Fig. 1. Amostradores para ambiente lótico (com correnteza).

Fig. 2. Amostradores para ambiente lêntico (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

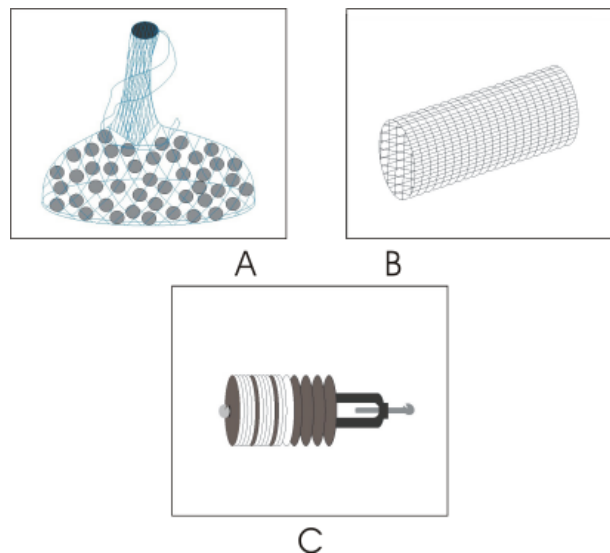


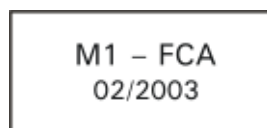
Fig. 3. Amostradores de substratos artificiais. A – Saco com pedras; B – Cesto de metal; C – Placas múltiplas.

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 folhedo

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 perifiton, 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 perifiton 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 perifiton. 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.