



## SE UM BLOOM DE CIANOBACTÉRIAS TE BATESSE À PORTA?

### MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE FITOPLÂNCTON

Para a quantificação da densidade das culturas de fitoplâncton há a necessidade de quantificar o número de células por volume. A quantificação é efectuada por contagem dos organismos presentes num volume conhecido, usando câmaras de contagem. Estas são de vários tipos e normalmente apresentam uma superfície quadriculada, de dimensões conhecidas e ao qual é fácil fazer corresponder um determinado volume.

Dependendo do tamanho e da forma dos organismos a ser quantificados e do volume de amostra onde se pretende fazer a quantificação, podem ser utilizadas câmaras de contagem que vão desde a câmara de Neubauer (3 x 3 mm x 0,1 mm de profundidade), à câmara de Sedgewick Rafter (50 x 20 mm x 1 mm de profundidade), muito utilizadas na contagem de fitoplâncton filamentosos e de zooplâncton ou a câmaras de sedimentação de Utermohl onde volumes até 25 ml podem ser quantificados.

As câmaras de Neubauer são muito utilizadas na quantificação de microalgas de forma esférica. As câmaras de Neubauer são feitas de vidro e possuem duas zonas de contagem (\*) separadas por um sulco horizontal e limitadas de cada lado por um canal vertical (Fig. 1).



Figura 1 - Câmara de Neubauer (vista de topo).

Para que se crie um espaço que possa ser preenchido por um determinado volume, coloca-se uma lamela sobre as zonas de contagem da câmara, formando-se um espaço com uma altura de 0,1 mm (Fig.2).

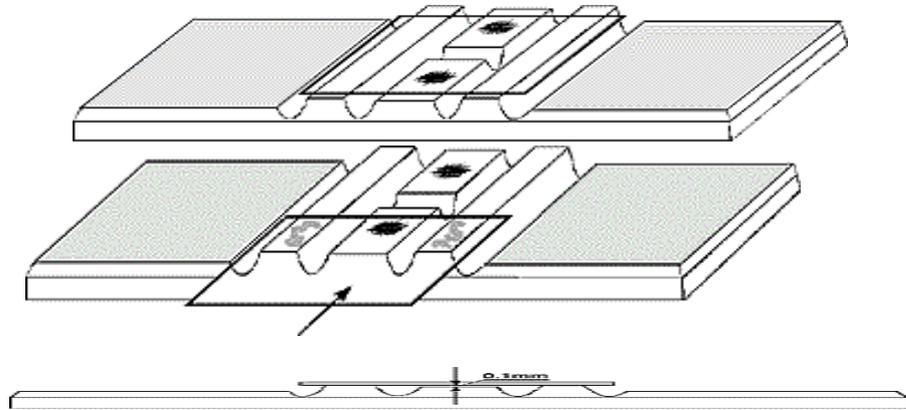


Fig. 2 – Colocação da lamela sobre as zonas de contagem

A superfície de contagem, reticulada, está marcada com um grande quadrado que tem 3 mm de lado (Fig.3).

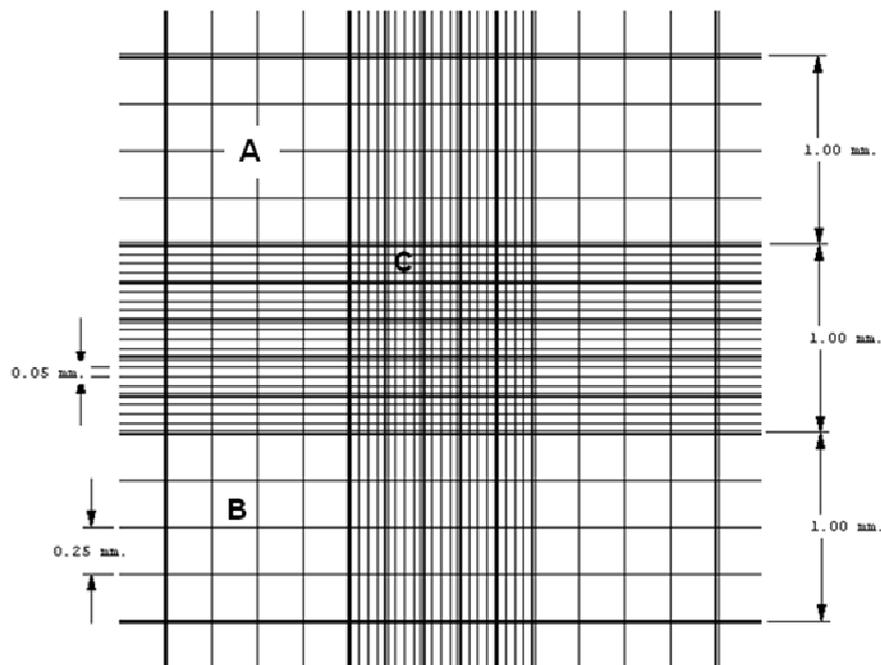


Fig. 3 – Superfície de contagem

O grande quadrado é constituído por 9 pequenos quadrados (A), cada um com 1 mm de lado.

Os 4 pequenos quadrados que formam as esquinas do grande quadrado estão divididos em 16 outros quadrados mais pequenos (B), cujo lado mede 0,25 mm.

O quadrado central mais pequeno está por sua vez dividido em 25 quadrados mais pequenos (C). Grandes densidades celulares por exemplo são contadas nos quadrados mais pequenos que formam as esquinas do quadrado central e no quadrado mais pequeno central Fig. 4). Ou seja contam-se apenas as células contidas num volume igual a  $5/25$  ou  $1/5$  do volume total do quadrado central.

**COM BASE NAS MEDIDAS DISPONIBILIZADAS É POSSÍVEL CALCULAR O VOLUME DE CONTAGEM DA CÂMARA DE NEUBAUER!**

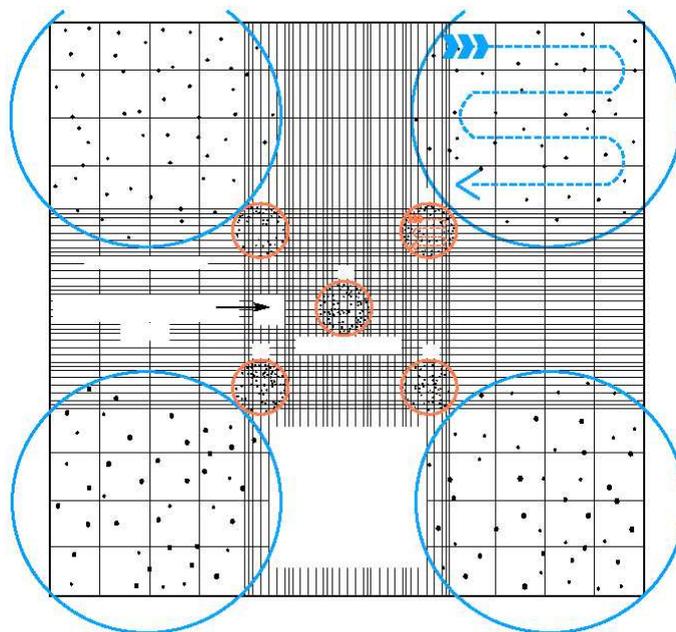


Fig. 4 – Local de quantificação de baixas densidades celulares (a azul) e densidades mais elevadas (vermelho)

De forma a uniformizar as quantificações, estipula-se que as células que fiquem em cima dos limites inferior e direito dos quadrados não sejam contadas e as células que fiquem em cima dos limites superior e esquerdo sejam contadas (Fig.5 a). De forma a evitar que a mesma célula seja contada mais do que uma vez ou não seja contada, estipula-se que se comece a contagem num canto do quadrado e se prossiga como indicado na Fig.5 b.

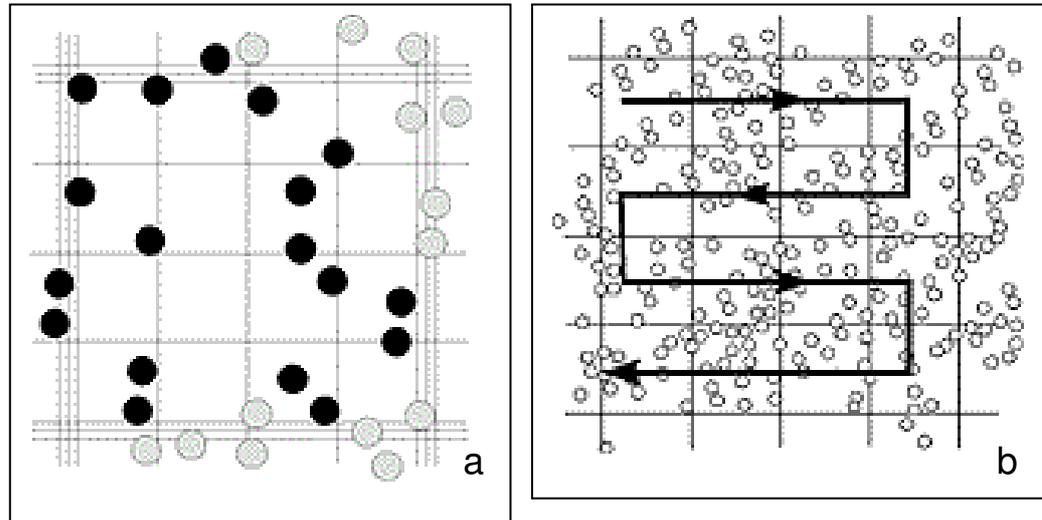


Fig. 5 – Esquema de contagem celular

## Procedimento prático

1. Prepare a câmara de Neubauer: humedeça os lados esmerilados com água e coloque a lamela (Fig.6).
2. Toque com a pipeta que contém a suspensão de células num dos lados da câmara, junto à lamela. Deixe sair a quantidade estritamente necessária para preencher por difusão o espaço de contagem, mas não deixe sair solução em excesso para não inutilizar a contagem.
3. Coloque a câmara no microscópio e deixe-a repousar a câmara no mínimo durante 3 minutos.
4. Conte as células usando o microscópio.
5. Calcule a concentração de células na suspensão fornecida (número de células contadas por unidade de volume, cél/ml).

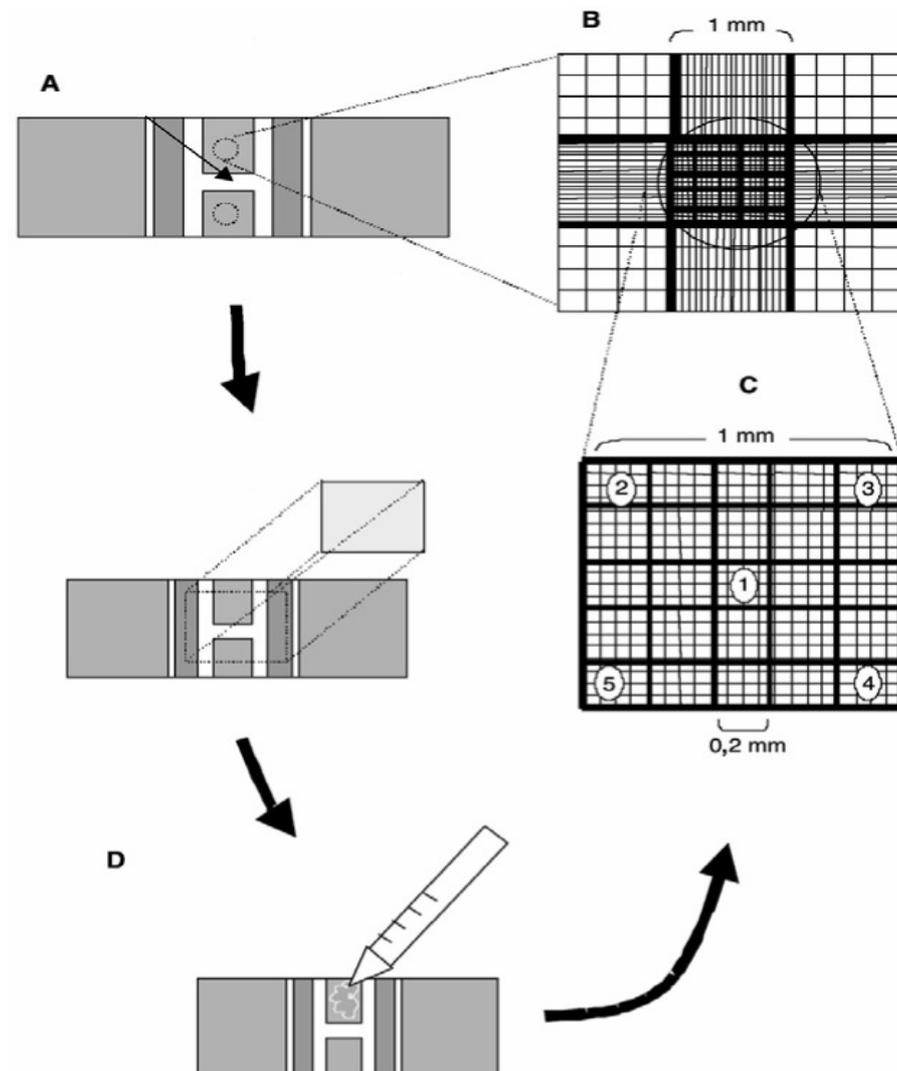


Fig. 6 – Montagem da Câmara de Neubauer