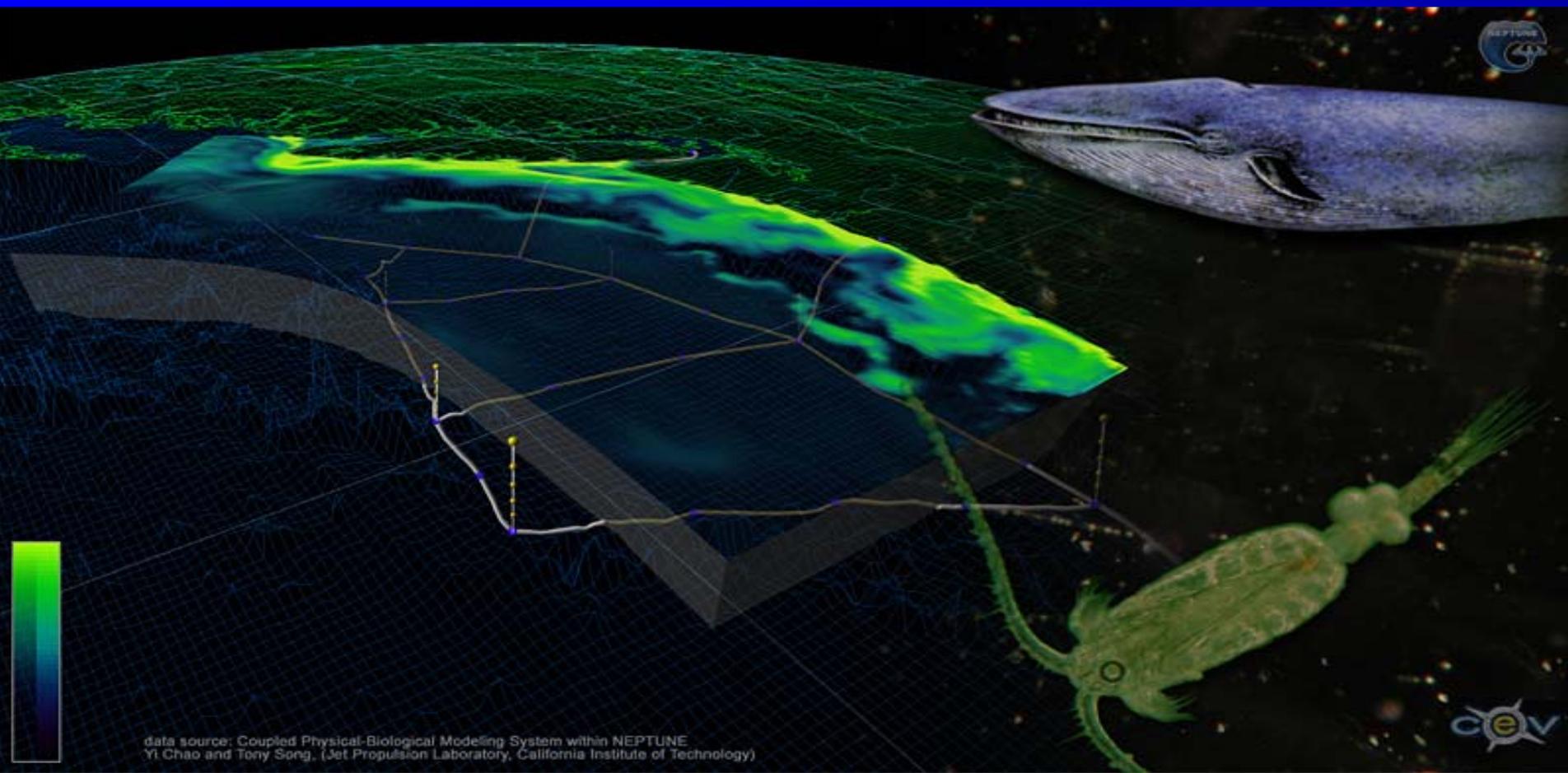


Métodos em Produção Primária e seu Significado Ecológico

Profa. Sônia M. F. Giancesella



O método ideal: medida do fluxo de energia através do sistema → difícil de ser conseguido.

A maioria dos métodos → mensuração da Matéria Prima Consumida ou do Produto.

Atualmente: grande número de métodos sendo desenvolvidos

Observe: não existem dois métodos que meçam exatamente o mesmo aspecto do complexo processo de metabolismo autotrófico – heterotrófico!

Escolha do método: depende das disponibilidades técnicas, de infra-estrutura, das condições ambientais, da escolha do pesquisador.

Métodos diretos:

Método do oxigênio (produto primário):

As primeiras medidas no oceano → Gaarder & Gran, 1927 (técnica do O₂ de Winkler). Não tem sofrido grandes alterações desde então. (Garrafas claras e escuras)

Princípio:

Titulação do I₂ liberado numa reação estequiométrica de amostras mantidas no claro e no escuro durante um período de tempo.

Procedimento:

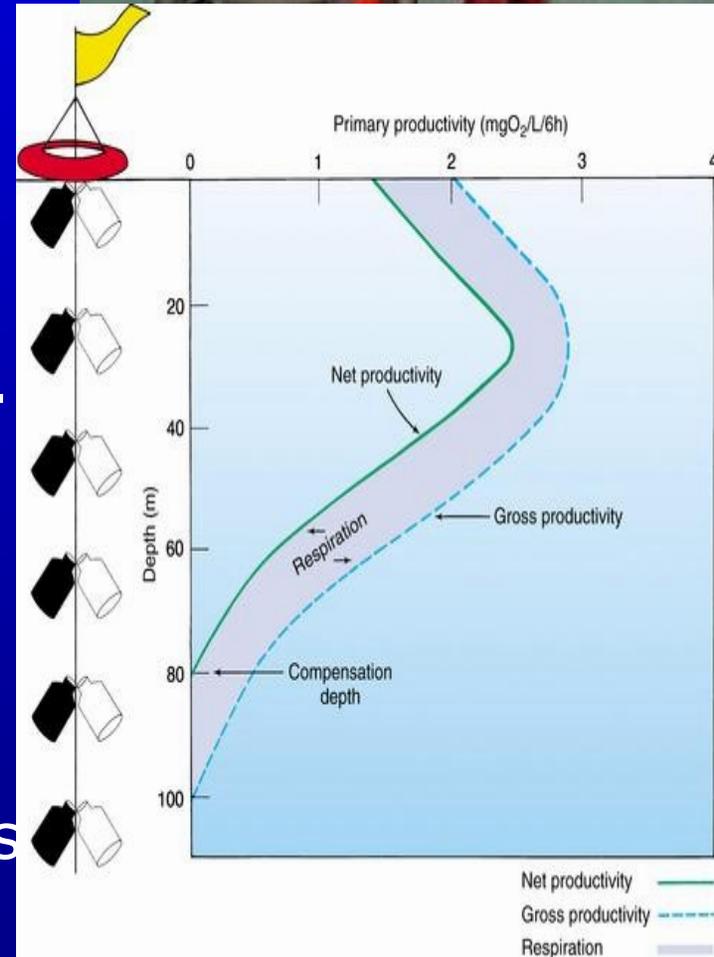
Amostras de diferentes profundidades.

Subamostras em garrafa clara, e opaca mais uma (Inicial) de cada profundidade.

Re-submergir as garrafas claras e escuras às profundidades de origem.

Recuperar as garrafas após um tempo, especificado em horas.

Medir as concentrações de oxigênio nas garrafas iniciais, claras e escuras



Significado dos resultados:

Inicial- Garrafa Escura : Respiração no período

Garrafa Clara-Inicial: Produção Líquida

Produção Líquida + Respiração= Produção Bruta

Vantagens:

Técnica simples, barata, exige poucos recursos de infra-estrutura.

Problemas:

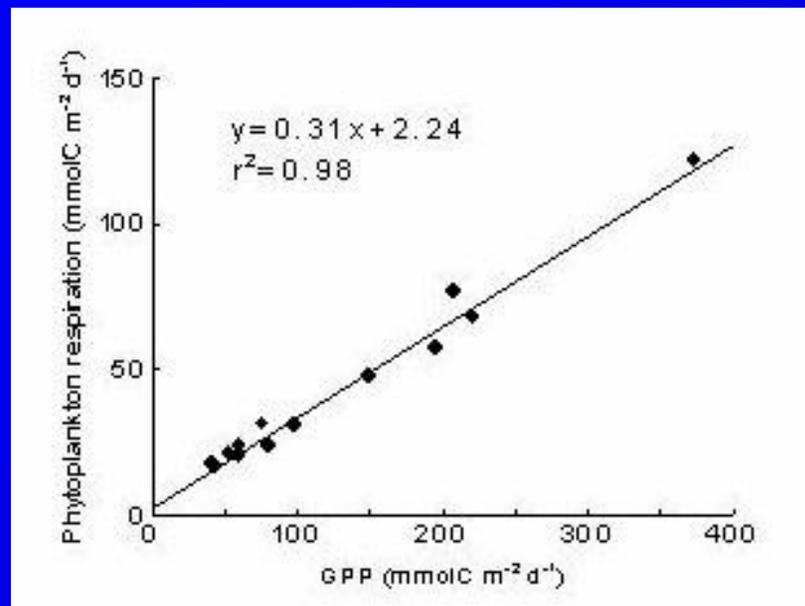
1- Além da respiração dos autótrofos, também a dos heterotrófos (zooplâncton e bactérias).

Portanto, produção líquida da comunidade.

2- Superfícies sólidas podem provocar uma proliferação de bactérias nos frascos (conf. ZoBell & Anderson, 1936) aumentando a R heterotrófica.

Portanto, R da comunidade superestimada.

3- Não estima a PP Bruta real (R frasco escuro pode ser \neq frasco claro).



Porque?

Causas de diferenças:

- se organismos do zooplâncton presentes em maior Q em uma das garrafas, aumenta o consumo;
- bactérias podem ter respiração maior no escuro: ação bactericida da luz.

Controvérsia → efeito bactericida da luz solar sobre os frascos transparentes:

Vaccaro & Ryther (1954) → efeitos são insignificantes (vidro barra a luz UV, bactericida);

Teixeira *et al.* (1965) → relação sazonal para o efeito bactericida da luz: no verão é significativo.

Provavelmente existe uma variação também durante o decorrer do dia. O número de horas de exposição, em consequência, deveria ser o menor possível.

4- Re-assimilação endógena de O_2 : o valor de PPB também não representa a verdadeira taxa de fotossíntese bruta e sim um valor subestimado da mesma.

5-Método pouco sensível: apenas para ambientes mesotróficos a eutróficos. Ambientes oligotróficos não apresentam variação nas concentrações num período razoável de incubação.

Como a biomassa algal usualmente encontrada em águas oceânicas é baixa, o experimento deve ser mantido por um mínimo de 6-8 horas para provocar mudança no conteúdo de O_2 na água .

6- Tempo de incubação: em geral, em torno de 4 horas → esgotamento de nutrientes no interior do frasco. Se tempo for menor, não acusa variação.

7-Ambientes eutróficos: lipídeos do fitoplâncton podem adsorver iodo e falsear resultados

8-Fitoplâncton submetido a uma profundidade fixa (ausência de mistura turbulenta) → questões de luz e esgotamento de nutrientes

Limite de detecção:

Depende da sensibilidade da técnica de medir as concentrações de O_2 . No caso do método de Winkler, com uma precisão de $0,05\text{mg } O_2/l$, baixa sensibilidade.

Em geral os resultados são transformados em Carbono, considerando-se que os produtos da fotossíntese são essencialmente carboidratos, através da utilização de um quociente fotossintético (QF) = 1,2 (para carboidratos)

Métodos eletroquímicos de dosagem do O₂

Harris, 1973 e Harris & Piccinin, 1977 utilizaram sensores eletroquímicos para medidas de PP em populações naturais de fito.



Problemas

- semelhantes aos do método químico em relação à sensibilidade.
- exige suspensões concentradas de células

Vantagens:

permite medidas instantâneas e contínuas.

Como obter suspensões densas de células e quais os problemas que surgem como resultado de um processo de concentração?

Harris & Piccinin (1977) → processo de filtração delicada para concentrar populações de fito natural de lagos.



Compararam os resultados de eletrodos de O_2 com medidas in situ com ^{14}C e obtiveram excelente correspondência em níveis de luz abaixo do I_k (fase luz-dependente).

Os efeitos da concentração de células mais difíceis de avaliar: autosombreamento no eletrodo, supersaturação de OD, depleção de CO_2 e nutrientes durante o experimento.

A técnica do ^{14}C (matéria prima consumida):

A técnica do ^{14}C *in situ* → descrita por Steemann-Nielsen, em 1952 para o ambiente marinho.

Desde essa ocasião tem sido revista e descrita por uma série de outros autores (UNESCO (1967), Strickland & Parsons (1968), Vollenweider (1969) Quasin et al (1972), etc., sem sofrer modificações em sua essência.

Princípio:

Fornecimento de uma quantidade conhecida de ^{14}C (radioativo) (como $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$) (radiação beta) a uma amostra, exposição da mesma à luz por um período de tempo, e posterior determinação da porcentagem do ^{14}C fixado em relação ao total fornecido através de medidas da radiação.

Para calcular o carbono assimilado pelo fitoplâncton, é necessário conhecer também o conteúdo total de CO_2 da amostra: carbono assimilado é função do carbono disponível.



Para isto, multiplicar a quantidade do ^{14}C encontrado, por fator correspondente à razão entre o CO_2 total da água e o $^{14}\text{CO}_2$ adicionado no início do experimento.

Vantagens:

A relativa simplicidade da técnica e sua grande sensibilidade. Mundialmente utilizada para medir a produção primária no oceano.

Problemas

1-Caro, exige equipamentos sofisticados .

2-Apesar de simples realização tanto no campo como em laboratório, o método apresenta problemas, tanto no aspecto experimental como na interpretação dos resultados.

3- Mede produção bruta se incubação durar menos que 1 hora.

Se durar mais, há perda de ^{14}C recém fixado pela respiração ou excreção. Portanto, medirá alguma coisa entre PP bruta e líquida.

4-Problemas com segurança e disposição de resíduos

Procedimento geral para incubações in situ:

- a) amostragem em diferentes profundidades
- b) inoculação com ^{14}C
- c) retorno às profundidades de origem
- d) remoção do ^{14}C inorgânico por acidificação
- e) medida da atividade
- f) cálculos

a) Coleta do material

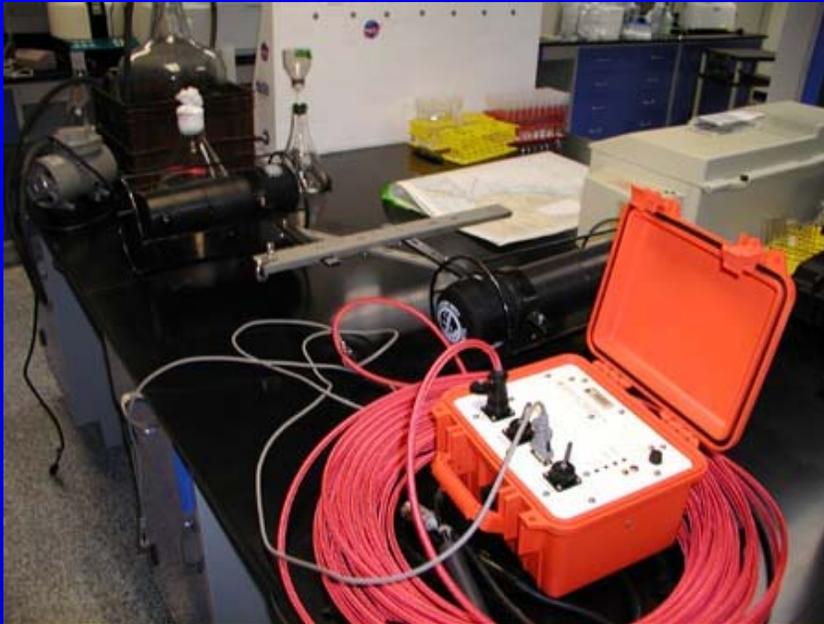
Coletores em plástico inerte. Metais interferem no metabolismo pela liberação de íons para a amostra.

Profundidade de coleta → critérios geralmente baseados na penetração de luz, desde a superfície (100%) até a base da camada eufótica (1%).



a) Coleta do material

Determinação das profundidades de coleta com sensores de luz



Radiômetro subaquático



Secchi e sensor do radiômetro

Volume de água suficiente para frascos experimentais, determinação da alcalinidade, pH, contagem de plâncton, determinação de pigmentos, e outras variáveis de interesse.

A água dos frascos experimentais deve ser mantida no escuro até início do experimento, para evitar choques de luz nas águas da base da camada eufótica.

b) Inoculação

Pipetas automáticas para distribuir o $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ com precisão nas amostras.

Quantidade de ^{14}C ditada pela experiência levando em conta a atividade das ampolas de ^{14}C disponíveis, o volume do frasco, a densidade do fitoplâncton, o tempo de exposição à luz disponível, etc.

Para águas com produtividade moderada, $20\mu\text{Ci}/10\text{ml}$ de amostra, com 1 horas de incubação são suficientes.

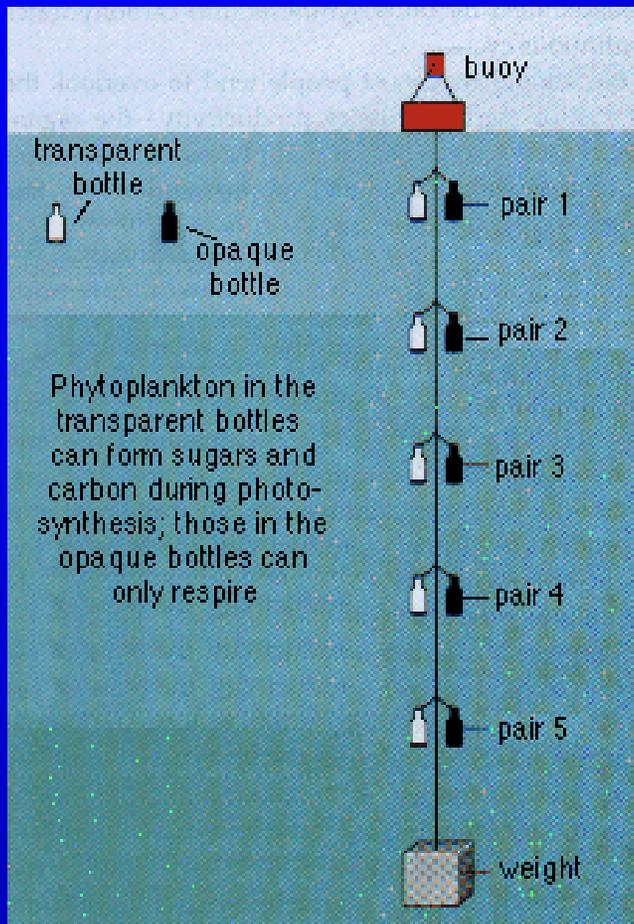
Amostras devem ser colocadas em três frascos: dois transparentes (réplicas) e um escuro.

O frasco escuro aqui tem o papel distinto do frasco escuro do método do oxigênio: não irá medir respiração mas sim determinar o “branco” do experimento, isto é, determinar os valores de fixação de ^{14}C por processos não fotossintéticos (tais como adsorção ou fixação no escuro por carboxilação).

O valor obtido do frasco preto, portanto, deve ser subtraído daqueles dos frascos transparentes.

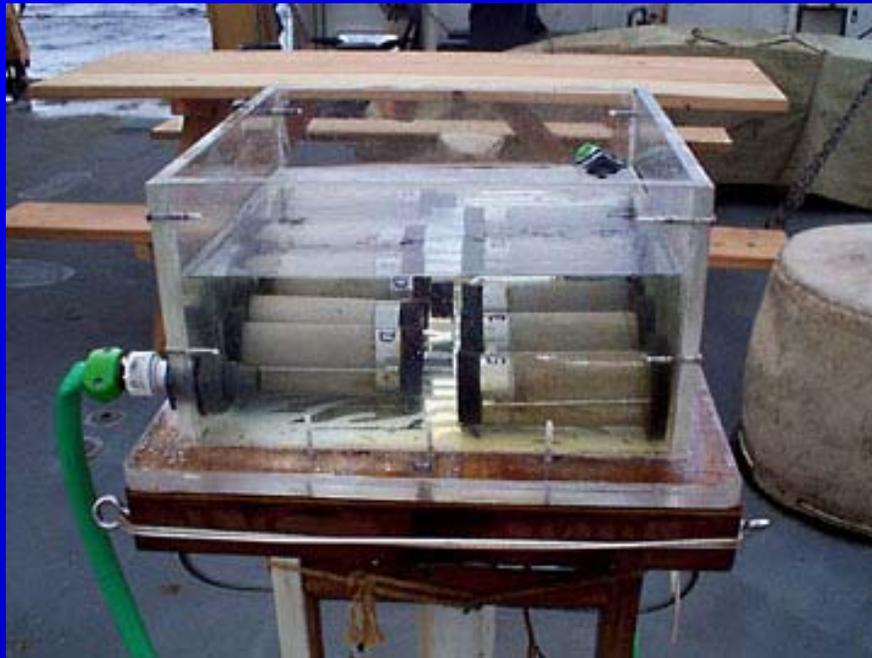
c) Exposição à luz:

“in situ”: amostras voltam às profundidades de origem.



devido à necessidade de deslocamento da embarcação, uso de incubação “in situ” simulado ou simulado, através de incubadores.

“In situ” simulado: incubadores com água do mar corrente (manutenção da temperatura das amostras), expostas à **radiação solar**, filtros neutros simulam os níveis de luz da coluna de água (não simulam modificações na qualidade). Filtros: telas de nylon ou aço que produzem apenas anteparo físico à luz.



Simulado:

Incubadores com **iluminação artificial** e filtros de luz simulam as modificações na quantidade de radiação incidente.

→ é preciso atentar para que a lâmpada do incubador atinja a luz de saturação para simular a radiação de superfície.

→ utilizar lâmpadas com espectro semelhante à da luz solar (incandescentes ou mistas)

→ cuidar para que a temperatura da água circundante não seja elevada pelo calor das lâmpadas.



Tempo de incubação:

De preferência menos de 1 hora, jamais exceder a 6 horas, para evitar a ocorrência de perdas de carbono marcado, fotossintetizado no interior das células, para o exterior, através da respiração ou excreção.

d) Remoção do ^{14}C inorgânico.

Adição de HCl. *Bicarbonato é transformado em $^*\text{CO}_2$ e liberado para a atmosfera.

e) medida de atividade do *C no cintilador líquido. Adição de líquido cintilador. Solução irá fluorescer sob a ação da radioatividade da amostra de modo proporcional a esta radioatividade. A fluorescência será medida em impulsos luminosos por minuto.

f) É medida também a atividade de uma das ampolas de ^{14}C do mesmo lote do experimento. Os valores de desintegração por minuto em termos absolutos são obtidos com base em padrões fornecidos pelo fabricante.

- $P = (R_L - R_D) \times [CO_2] k / (R \times t)$

- onde:

- P = Produção;
- R = radiação adicionada;
- R_L = radiação no frasco transparente após incubação;
- R_D = radiação no frasco escuro após incubação
- $[CO_2]$ = concentração de CO_2 total na água do mar;
- t = tempo de incubação
- k=fator para correção de volume

- $[CO_2]$ precisa ser determinada á parte por titulação e tabelas (função da salinidade)

Como geralmente todas as variáveis são constantes no experimento, podemos simplificar o cálculo

$$PP(\text{mgC}/\text{m}^3/\text{h}) = (\text{dpm f.transp.} - \text{dpm f escuro}) \times K_2$$

Onde $k_2 = [\text{CO}_2] k / (R \times t)$

Interpretação das medidas de produção pelo método do ^{14}C :

Pontos polêmicos: mede produção bruta ou aparente (líquida)?

Em princípio, a fotossíntese bruta pode ser medida sob as seguintes condições:

- a) quando a taxa de assimilação do ^{14}C for exatamente igual à do ^{12}C (mais pesado, portanto mais lenta)(fator 1.05 para discriminação isotópica).
- b) quando todo ^{14}C for incorporado somente pela fotossíntese (descontado no frasco preto).
- c) nenhum ^{14}C assimilado deve ser perdido por meio de respiração durante a incubação (redução do tempo de incubação).

Perdas de ^{14}C no processo respiratório.

Parte do ^{14}C recém fixado pode ser perdido como $^{14}\text{CO}_2$ pela respiração. A aplicação de um fator de correção para as perdas de ^{14}C devida aos processos respiratórios é bastante incerta.

Em populações marinhas naturais, a respiração corresponde, em média, a 15% ou menos da taxa de fotossíntese no seu ponto de saturação (Steemann-Nielsen & Hansen, 1959).

Se todo CO_2 respirado for $^{14}\text{CO}_2$, o método medirá fotossíntese aparente. Nem todo CO_2 respirado é $^{14}\text{CO}_2$, portanto, o método mede um valor intermediário entre bruta e aparente.

No entanto, o valor medido tende a ser mais próximo da fotossíntese total, em baixos tempos de incubação (1956).

Significado dos métodos do oxigênio e do carbono.-14

Os métodos do oxigênio e do ^{14}C , ao medirem a taxa das diferentes reações, poderão produzir resultados discordantes.

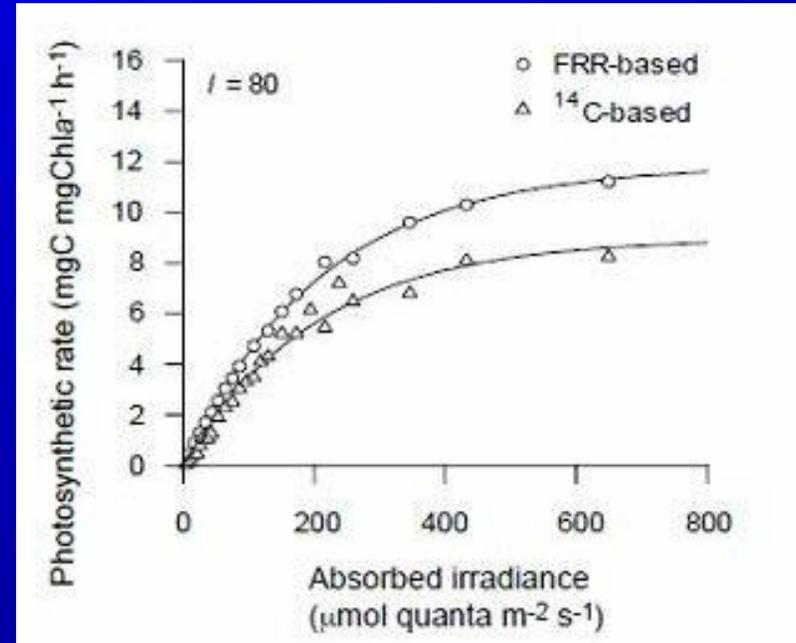
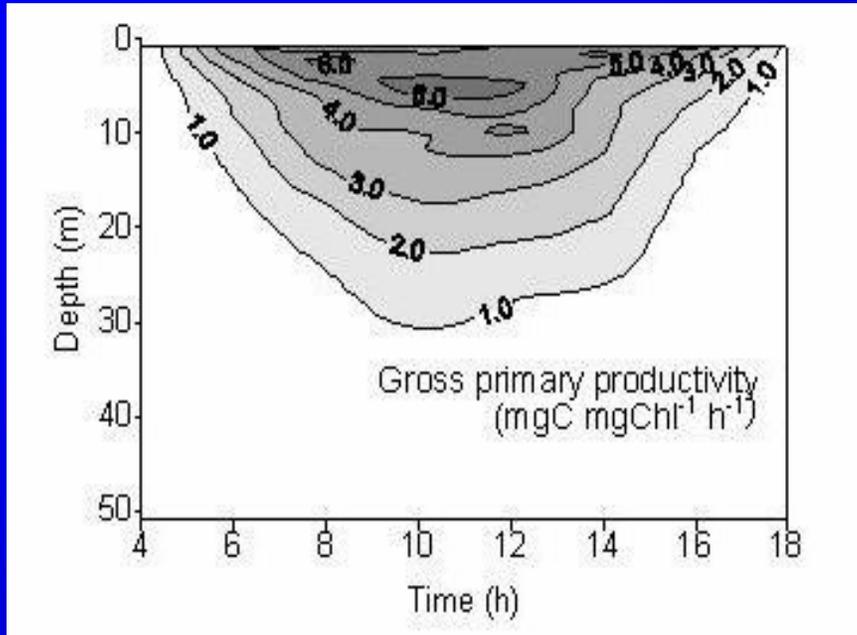
Métodos mais recentes, ainda experimentais, baseados na fluorescência da clorofila (para medidas "in situ")

FRRF –fast repetition rate fluorometry

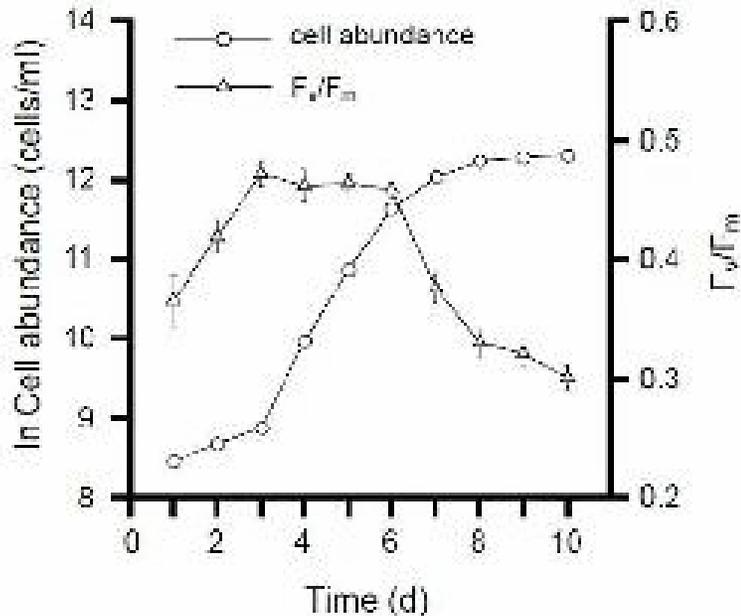
Comparação de curvas P-I com ^{14}C e FRR fluorescência, usando LEDs (light emitting diodes) como luz ambiente demonstram que a eficiência fotossintética é cerca de 27% mais elevada por fluorescência e a P_{max} cerca de 32-40% mais elevada que nas curvas P-I.



Resultados sugerem que FRR fluorescência mede Produção Bruta durante as reações luminosas e que ^{14}C mede Produção Líquida das reações de luz e escuro.



Fluorescência PAM –pulse amplitude modulated (para medidas em laboratório)
Baseada em fluorescência de resolução temporal, permite estimar o rendimento quântico da fotossíntese. Método ainda experimental (Mohovic & Giancesella, Roy, 2006), também ainda não aplicado rotineiramente em oceanografia.



Métodos indiretos:

Não utilizam as medidas de consumo de matéria prima ou de produtos primários, e sim medidas de indicadores secundários.

Neste caso, uma das maiores dificuldades na determinação da produção primária de um ecossistema é saber se o mesmo se encontra ou não em "steady-state", ou seja, em equilíbrio dinâmico ($\Delta C/\Delta t = P-R = \text{constante no tempo}$).

Os métodos indiretos só podem ser aplicados em ambiente que não se encontrem em "steady-state", pois neste caso as variações dos indicadores não serão detectadas.

Variação da biomassa:

$$P = \Delta B / \Delta t$$

Clorofila "in situ":

a medida instantânea

mede apenas a biomassa. Variação (aumento) na concentração pode ser indicador da produtividade.

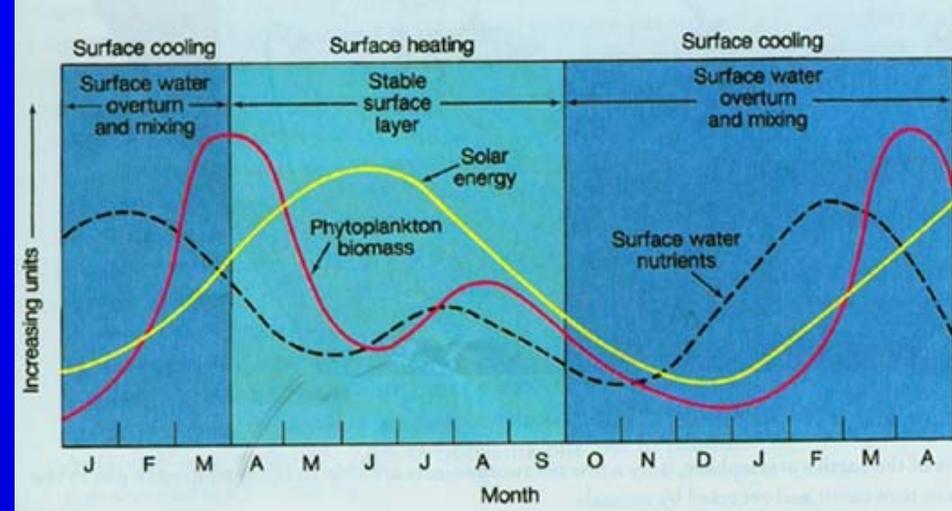
Vantagens: Simples.

Desvantagens:

Estimativa grosseira da P líquida.

não pode ser utilizado em situação de "steady-state"

Se a concentração de clorofila não varia, significa que não está havendo produtividade? Não. Apenas que a PP é igual à taxa de saída (sedimentação mais consumo)



Variações diurnas do oxigênio no sistema

Uma variante do método do OD. Não se aprisiona a amostra em frascos: variações no conteúdo de O_2 das águas ao longo do dia podem ser usadas para se obter estimativas da produtividade (Hornberger & Killy, 1974), se levarmos em conta os intercâmbios com a atmosfera (Seeley, 1969).

Método do ^{15}N :

Dugdale & Goering (1967). técnica semelhante à do ^{14}C , mas apresenta algumas diferenças que complicam a manipulação:

- a- exige grandes volumes (5 a 10 l de água)
- b-necessita de um espectrógrafo de massa
- c-necessita transformar o N-orgânico em N_2
- d-necessita da dosagem do N-particulado

Utiliza uma amostra com adição de $^{15}\text{NH}_4$ e uma amostra com $^{15}\text{NO}_3$.

Vantagem: permite identificar a produção por regeneração de nutrientes e a produção "nova".

Desvantagem: extremamente trabalhosa e cara. Não é possível ser aplicada como rotina.

Método do pH:

O pH da água \rightarrow f (CO_2 dissolvido) \rightarrow , decresce com a respiração e aumenta com a fotossíntese.

Exige uma curva de calibração para a água de cada ambiente a ser estudado, porque:

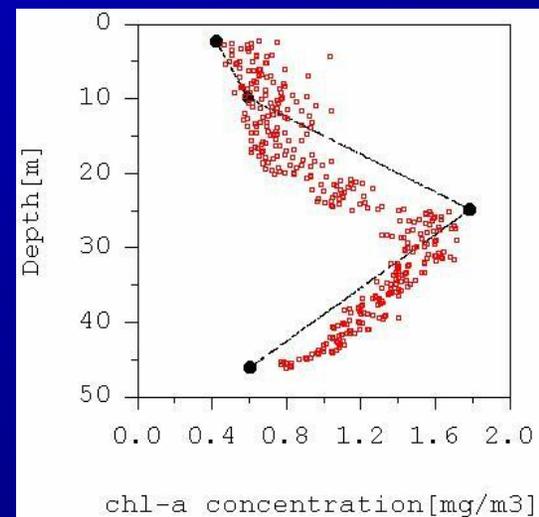
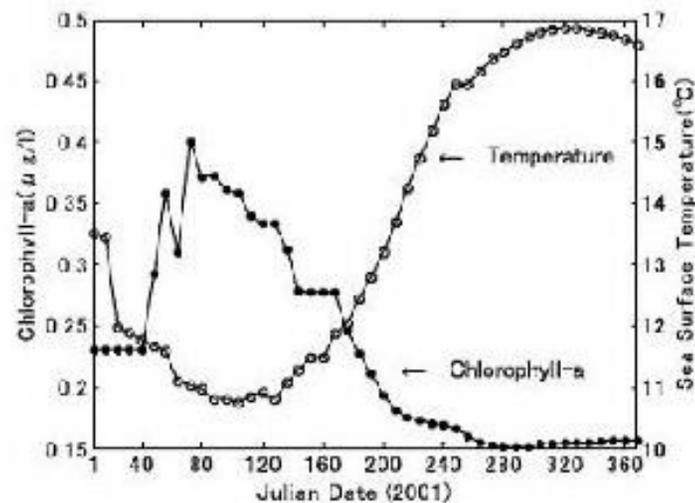
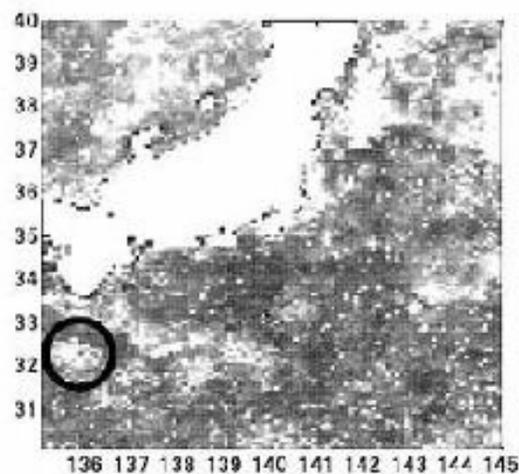
1- o pH e o conteúdo de CO_2 não estão relacionados linearmente.

2- o grau de variação de pH por unidade de variação de CO_2 depende da alcalinidade da água.

Útil no estudo de microecossistemas de laboratório \rightarrow simples introdução do eletrodo permite obter as variações na fotossíntese sob luz e respiração, no escuro, sem perturbar a comunidade.

Modelos a partir da clorofila:

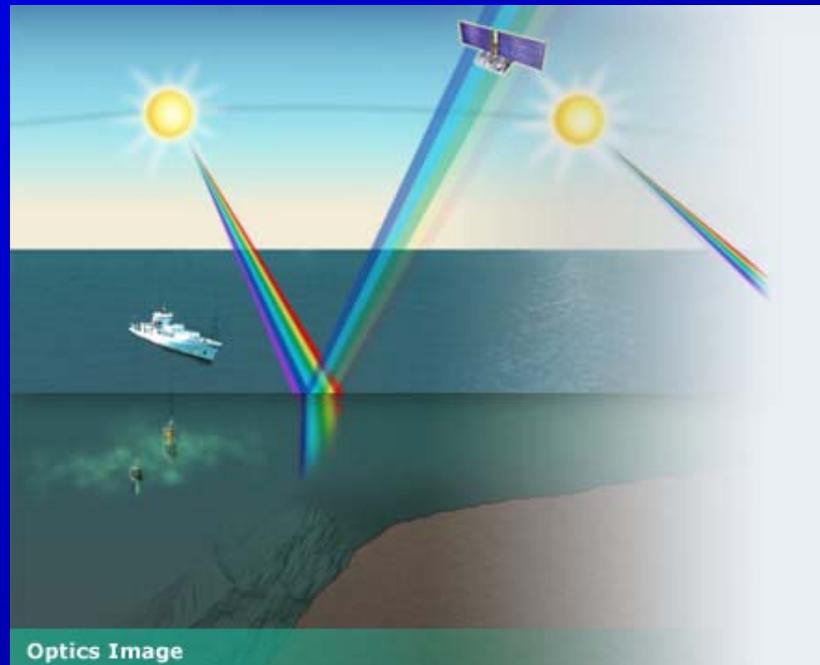
Uso de modelos para estimar a PP com base em clorofila por satélite, luz, temperatura da água (nutrientes). Baseado sempre em dados regionais de biomassa e PP por ^{14}C utilizando-se parâmetros da curva de luz/fotossíntese.



Medidas *in situ* (ship-based) X Satélite

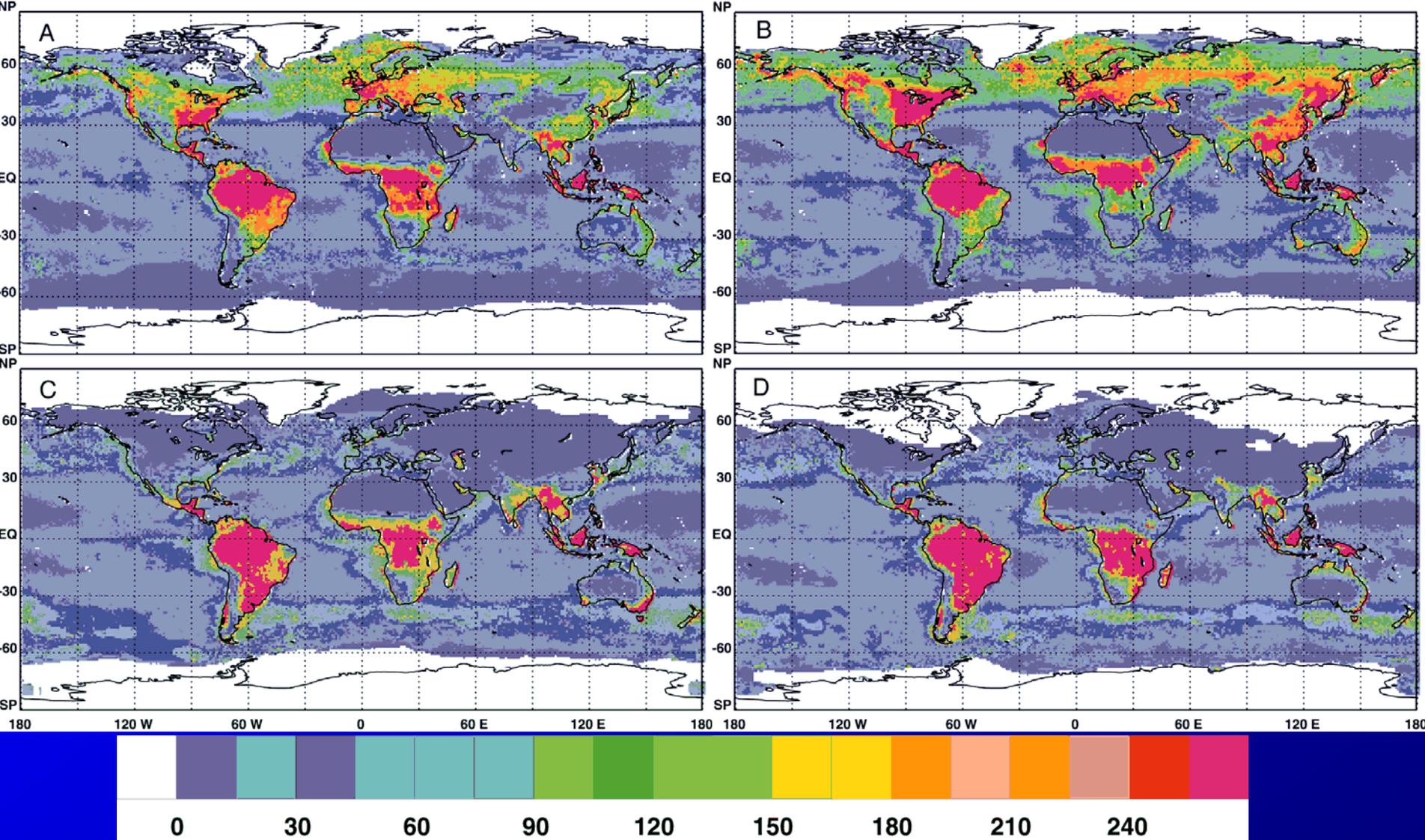
Medidas *in situ* são mais precisas, mas perdem-se informações entre estações de amostragens distantes. Médias entre pontos nem sempre refletem a realidade.

Sensores remotos: varredura e medidas sinóticas mas devem ser calibrados com medidas *in situ*. Não avaliam PP de toda a zona eufótica.



- Medidas globais da PP com satélite:
- Dificuldade em quantificar a PP em escala global por causa da grande variação de habitats da Terra e devido aos impactos climáticos (disponibilidade de luz, água) sobre esta variabilidade.
- Usando estimativas derivadas de satélites do **índice normalizado de diferença de vegetação** (NDVI) para habitats terrestres e **clorofila** de superfície para os oceanos, a produção primária fotoautotrófica foi estimada em 104.9 Gt C/ano (Field et al, 1998).

- Desta, 56.4 Gt C/ano (53.8%), foi produto de organismos terrestres, e as restantes 48.5 Gt C/ano, foram atribuídas à produção oceânica.
- Em termos de área, foi estimado que a produção terrestre foi cerca de 426 g C/m²/ano (excluindo áreas cobertas por gelo permanente) , enquanto que para o oceano foi 140 g C/m²/ano.
- Outra diferença significativa entre terra e oceano reside no “standing-stock” – apesar de ser responsável por quase metade da produção total, os autótrofos do oceano representam apenas 0,2% da biomassa total.



- Fig. PPL global, sazonal ($\text{g C m}^{-2} \text{ ano}^{-1}$) para a biosfera, calculado a partir do modelo integrado CASA-VGPM (Field et al, 1998). A resolução espacial dos cálculos é de $1^\circ \times 1^\circ$ (terra) e $1/6^\circ \times 1/6^\circ$ (oceanos). Dados de cor do oceano são médias de 1978 a 1983. O índice de vegetação de terra é média de 1982 a 1990. (A) Abril a Junho, (B) Julho a Setembro, (C) Outubro a Dezembro, e (D) Janeiro a Março.**

- **Impacto humano e apropriação**
- O uso humano extensivo da terra resulta em vários níveis de impacto sobre a PPL real.
- Em algumas poucas regiões, como o vale do Nilo, a irrigação resultou num aumento considerável na PPL. Esta é uma exceção à regra, que é que ocorre uma redução da PPL devido às mudanças de uso da terra (Δ NPPLC) de 9.6% nas massas de terra do globo.
- Além disso, o consumo final pelo homem gera uma apropriação de PPL (*human appropriation of net primary production*, HANPP) de 23.8% da *vegetação potencial* (NPP0).
- Esta quantidade desproporcional reduz a energia disponível para as outras espécies, produzindo um impacto marcante sobre a biodiversidade, fluxo de C, água e energia e serviços ecossistêmicos. (Haberl et al, 2007)

Leitura básica:

**Phytoplankton Productivity : Carbon Assimilation
in Marine and Freshwater Ecosystems-US-**
Williams, Peter J. Le B. (EDT) /Thomas, David N. (EDT)
/Reynolds, Coli /Publisher:Iowa State Pr Published
2002/05

uma apresentação dos métodos mais modernos que estão sendo utilizados para medir a PP marinha pode ser encontrado no site da Universidade de Nagoya

co2.hyarc.nagoya-u.ac.jp/labhp/page003.html

- Referências adicionais:
- Leith, Helmut; Robert Harding Whittaker (1975). *Primary Productivity of the Biosphere*. New York: Springer-Verlag. ISBN 0387070834.
- Marra, J. (2002), pp. 78-108. In: Williams, P. J. leB., Thomas, D. N., Reynolds, C. S. (Eds.), *Phytoplankton Productivity: Carbon Assimilation in Marine and Freshwater Ecosystems*. Blackwell, Oxford, UK
- Martin, J. H. and Fitzwater, S. E. (1988) Iron-deficiency limits phytoplankton growth in the Northeast Pacific Subarctic. *Nature* **331**, 341-343
- Steeman-Nielsen, E. (1951) Measurement of production of organic matter in sea by means of carbon-14. *Nature* **267**, 684–685
- Steeman-Nielsen, E. (1952). The use of radioactive carbon (C14) for measuring organic production in the sea. *J. Cons. Int. Explor. Mer.* **18**, 117-140
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., Randerson, J. T. and Falkowski, P. (1998) Primary production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *Science* **281**, 237-240
- H. Haberl, *et al.* (2007). "Quantifying and mapping the human appropriation of net primary production in earth's terrestrial ecosystems". *Proc. Natl Acad. Sci. USA* (online early edition). doi:10.1073/pnas.0704243104.