

MATERIAL SUPLEMENTAR A3MZS1

ZOOPLÂNCTON

1 METODOLOGIA

1.1 METODOLOGIA DE COLETA

As amostras de zooplâncton para o parâmetro qualitativo-quantitativo foram coletadas nas campanhas semestrais e trimestrais nos setores Abrolhos, Norte, Foz e APA - Costa das Algas, além da campanha emergencial em Janeiro de 2020 que também foi amostrada para esse parâmetro. Para a biomassa zooplânctônica, as coletas foram realizadas mensalmente, somente no setor Foz. As amostras foram obtidas no período noturno, a partir de arrastos verticais estratificados com rede de fechamento WP-2 e malha de 200 μ m, com um fluxômetro acoplado à boca da rede. Em profundidades entre 5 – 30 metros o arrasto foi feito do fundo (descontando 4m da rede) até metade da profundidade e seguidamente, da metade até a superfície. Em profundidades superiores a 30 metros o arrasto foi feito do fundo (descontando 4m da rede) até 30m e depois seguiu o padrão supracitado. As amostras foram fixadas em solução formaldeído (4%) em frascos de polietileno e tamponadas com tetraborato de sódio.

Durante o Período de Transição ocorreram mudanças estruturais na malha amostral em relação ao Ano 01. Foram adicionados 04 pontos no Setor Foz (SDS 19, SDS 35, SDN 12 e SDN 29), 03 pontos no Setor Norte (BS 01, BS 02 e CB 01) e 02 pontos no Setor Abrolhos (MUC 01 e MUC 02) e retirados das coletas 04 pontos no Setor APA – Costa das Algas (CA 10, CA 11, CA 12 e CA 14) e 02 pontos no Setor Abrolhos (ABR 02 e ABR 03).

1.2 METODOLOGIA DE ANÁLISE

1.2.1 Qualitativa – quantitativa

Em laboratório as amostras foram fracionadas utilizando um subamostrador *Folsom*, até a obtenção de aproximadamente 500 indivíduos e transferidas para placa Bogorov onde foi feita a identificação ao menor nível taxonômico possível utilizando bibliografia especializada (BOLTOVSKOY, 1999; BOLTOVSKOY, 1981). A nomenclatura dos taxa foi checada junto ao banco de dados do *World Register of Marine Species* (<http://www.marinespecies.org/>).

As espécies bioindicadoras analisadas foram selecionadas de acordo com sua relevância ecológica nos diferentes setores e importância na estruturação da comunidade encontrada após a identificação das amostras do Ano 01 e do Período de Transição. Foram selecionados os copepodas *Paracalanus cf parvus*, *Paracalanus* spp. e *Temora turbinata*, o tunicata *Oikopleura longicauda* e o cladóceros *Penilia avirostris*. Os copepodas classificados como *Paracalanus* spp. representaram majoritariamente indivíduos juvenis (copepoditos) da espécie *Paracalanus cf parvus* e foram considerados como tais nas análises descritivas.

1.2.2 Biomassa

Em laboratório, filtros de malha de náilon de 160 μ m foram pré-pesados em balança com precisão de 0,1 mg. Em seguida, as amostras foram acumuladas nos filtros e colocadas em dessecador com

sistema de bomba a vácuo para retirar o excesso de água. Após esta etapa, as amostras foram pesadas e a biomassa foi estimada através do peso úmido (g.m^{-3}), obtido pela fórmula:

$$B = \frac{N}{VAF}$$

Onde:

N é o peso da amostra final obtido pela fórmula $p1 - p2$ ($p1$ = peso do filtro; $p2$ = peso da amostra com filtro)

VAF = volume de água filtrada obtido pela fórmula $\pi \times r^2 \times h$, onde r é o raio da boca da rede e h é a altura da coluna d'água.

1.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O teste de variância ANOVA unifatorial foi aplicado sobre a abundância total do zooplâncton e aos índices ecológicos a fim de detectar variabilidade temporal entre as médias das campanhas para esses parâmetros (TURNER; THAYER, 2001). Para esta análise, a matriz de dados foi transformada através da raiz quarta com o objetivo de atender os pressupostos de normalidade e homogeneidade. Onde foram encontradas diferenças significativas para o teste de variância, foi aplicado o teste *posteriori* Tukey (HSD) para comparação pareada entre as campanhas a fim de identificar o local de ocorrência das diferenças entre as médias (TUKEY, 1977).

A análise de porcentagens *SIMPER* foi aplicada sobre a matriz de dados de zooplâncton através da dissimilaridade de Bray Curtis para verificar a contribuição percentual dos principais taxa encontrados em cada uma das campanhas por setor (CLARKE, 1993).

Os dados de composição e abundância zooplancônica também foram examinados através de análises multivariadas. As espécies e grupos taxonômicos que representaram ao menos 1% de abundância relativa foram selecionados para análise e todos os procedimentos realizados com índice de dissimilaridade de Bray Curtis. A dinâmica espaço-temporal da comunidade foi avaliada através da Análise de Coordenadas Principais (PCO), cujo procedimento de ordenação fornece uma projeção direta dos pontos no espaço definido pelas dissimilaridades entre amostras (ANDERSON et al., 2008).

Para testar a significância das diferenças observadas na comunidade, foi aplicada a análise de variância PERMANOVA entre campanhas e estratos da coluna d'água amostrados (superfície e fundo). Esta análise é um método não-paramétrico baseado na equivalente multivariada da razão F de Fisher (pseudo-F), sendo que os p-valores são obtidos através de permutações ($\alpha = 0,05$, $N = 9999$; ANDERSON, 2001). Comparações pareadas foram realizadas a posteriori em caso de diferenças significativas entre grupos (versão multivariada da estatística t de Student). A análise PERMDISP, equivalente ao teste de Levene para homogeneidade das variâncias, também foi aplicada para testar efeitos significativos de dispersão entre os grupos (ANDERSON, 2006).

As relações entre a comunidade zooplanctônica e as variáveis ambientais obtidas foram investigadas através da Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP). Este procedimento combina duas técnicas multivariadas (PCO e análise canônica) e identifica os eixos da análise que apresentam correlações com o outro conjunto de variáveis (ANDERSON et al., 2008). No setor Foz, os parâmetros ambientais utilizados foram: material particulado em suspensão (MPS, mg/L), clorofila- α ($\mu\text{g/L}$), vazão do Rio Doce (médias para 15 e 30 dias anteriores à coleta, em m^3/s) e altura de onda (médias para 15 e 30 dias anteriores à coleta, em metros). A análise canônica também foi utilizada para avaliar os dados de concentração de metais totais e dissolvidos na água (Vanádio, Cobre, Bário, Ferro, Alumínio e Manganês) e suas relações com a comunidade zooplanctônica em todos os setores. Os táxons que mais contribuíram para caracterização das assembleias foram identificados através da correlação (Spearman rank) entre as abundâncias relativas e os eixos da análise.

Os dados de biomassa foram transformados em raiz quarta para realização da análise multivariada, produzindo uma matriz de similaridade de Bray-Curtis. A análise de variância PERMANOVA foi conduzida sobre esta matriz para testar os fatores campanha (11/18 a 03/20), setor (Foz Sul, Foz Central e Foz Norte) e estrato (superfície e fundo) (UNDERWOOD, 2006; ANDERSON et al., 2008).

Para avaliar a possível influência das variáveis físico-químicas (MPS e concentrações de metais totais) e biológicas (concentração de fitoplâncton total e clorofila- a) sobre a distribuição da biomassa zooplanctônica, foi aplicado o teste RELATE seguido da análise multivariada DistLM (Distance-based Linear Model), para verificar quais dessas variáveis foram mais importantes na distribuição da biomassa dentre os fatores analisados.

As análises estatísticas foram realizadas através do software PRIMERV6 e PERMANOVA+ (CLARKE; GORELY, 2006; ANDERSON et al., 2008), com exceção das análises ANOVA e Tukey HSD que foram realizadas no software STATISTICA v. 12.

2 REFERÊNCIAS

ANDERSON, M.J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, p. 32-46, 2001.

ANDERSON, M.J.; GORLEY, R.N.; CLARKE, K.R. **PERMANOVA+ for PRIMER**: Guide to software and statistical methods. Plymouth: Primer-E Ltd., 2008.

ANDERSON, M.J. Distance-Based Test for Homogeneity of Multivariate Dispersions. **Biometrics**, v. 62, p. 245-253, 2006.

BOLTOVSKOY, D. (Ed.). **Atlas del zooplankton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con zooplancton marino**. Mar del Plata: Instituto Nacional de Investigacion y Desarrollo Pesquero,

1981

BOLTOVSKOY, D. (Ed.) **South Atlantic Zooplankton**. Leiden: Backhuys Publishers, 1999.

CLARKE, K.R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, p. 117–143, 1993.

CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. **PRIMER v6**: User Manual/Tutorial. Plymouth: PRIMER-E, 2006.

LEGENDRE P.; LEGENDRE L. **Numerical Ecology**. Amsterdam: Elsevier, 2006.

TUKEY, J. W. **Exploratory data analysis**. Reading, MA: Addison -Wesley, 1977.

TURNER, J. R.; THAYER, J. F. **Introduction to analysis of variance**: Design, analysis, & interpretation. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2001.

UNDERWOOD A.J. **Experiments in Ecology**: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance. Cambridge: University Press, 2006.