

**Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da  
Área Ambiental I – Porção Capixaba do Rio Doce e Região  
Marinha e Costeira Adjacente**

**Material Suplementar – Tema Fundos Recifais**

**RT- 43/ JUN 23**

**RA2022 PMBA/Fest**

Vitória,

Junho de 2023

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>4</b>
2.1	COLETA .....	4
2.1.1	Cobertura bêntica .....	4
2.1.2	Fisiologia de corais .....	13
2.1.3	Diversidade genética de simbioses de corais.....	13
2.1.4	Natureza do sedimento e taxas de sedimentação em recifes e bancos de rodólitos ...	14
2.1.5	Produção de $\text{CaCO}_3$ e colonização de organismos em estruturas artificiais .....	14
2.1.6	Variáveis físico-químicas da água .....	16
2.1.7	Obtenção de amostras de água e organismos, disponibilizando o material para análises de concentração de metais .....	16
2.2	ANÁLISE.....	16
2.2.1	Cobertura bêntica .....	16
2.2.2	Fisiologia de corais .....	18
2.2.3	Diversidade genética de simbioses de corais.....	20
2.2.4	Natureza do sedimento e taxas de sedimentação em recifes e bancos de rodólitos ...	21
2.2.5	Produção de $\text{CaCO}_3$ e colonização de organismos em estruturas artificiais .....	22
2.2.6	Variáveis físico-químicas da água na malha amostral do projeto.....	23
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	24
<b>3</b>	<b>RESULTADOS DOS INDICADORES .....</b>	<b>24</b>
3.1	COBERTURA BÊNTICA DE RECIFES CORALÍNEOS.....	26
3.2	COBERTURA BÊNTICA DE BANCOS DE RODÓLITOS.....	40
3.3	COBERTURA BÊNTICA DE RECIFES ADJACENTES AO LITORAL DA APA COSTA DAS ALGAS.....	45
3.4	FISIOLOGIA DE CORAIS .....	48
3.5	DIVERSIDADE GENÉTICA DE SIMBIOTES DE CORAIS .....	59

3.6	NATUREZA DO SEDIMENTO E TAXAS DE SEDIMENTAÇÃO EM RECIFES E BANCOS DE RODOLITOS .....	64
3.7	PRODUÇÃO DE $\text{CaCO}_3$ E COLONIZAÇÃO DE ORGANISMOS SÉSSEIS EM ESTRUTURAS ARTIFICIAIS.....	78
4	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS, JUSTIFICATIVAS.....	83
5	REFERÊNCIAS .....	84

## 1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

O histórico de malha e frequência amostrais do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) abrange informações de suma importância para o balizamento do presente programa, uma vez que passou por modificações ao longo do tempo, visando melhor atender aos objetivos do PMBA/Fest. Estas alterações foram aprovadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) por meio de: (1) ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019 (para o período de transição) e (2) Proposta Técnica de continuação do monitoramento, apresentada no primeiro semestre de 2022 visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest”.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) **MS - Malha e frequência amostrais**, onde as diferentes malhas e frequências amostrais são apresentadas nas abas “Ano 1”, “Transição”, “Novo Ciclo” e “Histórico Frequências” e 2) MS – **Mapas das malhas amostrais**, com a espacialização referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais coletadas entre setembro de 2018 e setembro de 2019, “Transição” às estações entre outubro de 2019 e julho de 2022 e “Novo Ciclo” referente às estações amostrais coletadas a partir de agosto de 2022.

## 2 METODOLOGIA

A metodologia apresentada contempla o escopo em vigência no momento de entrega deste relatório, ou seja, as amostragens e análises previstas para o Novo Ciclo do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática – PMBA submetidas à Fundação Renova através do FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE PLANO DE TRABALHO em 31 de agosto de 2022. Após a descrição da metodologia implementada, será apresentado um breve descritivo sobre as modificações metodológicas (parâmetros, análise de parâmetros ou grupo de parâmetros, dentre outros) que ocorreram ao longo da evolução do PMBA/Fest a fim de determinar os indicadores.

### 2.1 COLETA

#### 2.1.1 Cobertura bêntica

A cobertura bêntica foi estimada a partir de imageamentos ortogonais do fundo, usando sistemas e protocolos específicos para as condições de cada ambiente (profundidade, turbidez, operação por mergulhador ou a partir da superfície). Os procedimentos de amostragem estão descritos para cada ambiente, seguidos pelo procedimento de anotação de imagens (semelhante para os três ambientes) e pelos protocolos utilizados para agrupar os organismos em grupos funcionais.

#### *Recifes coralíneos*

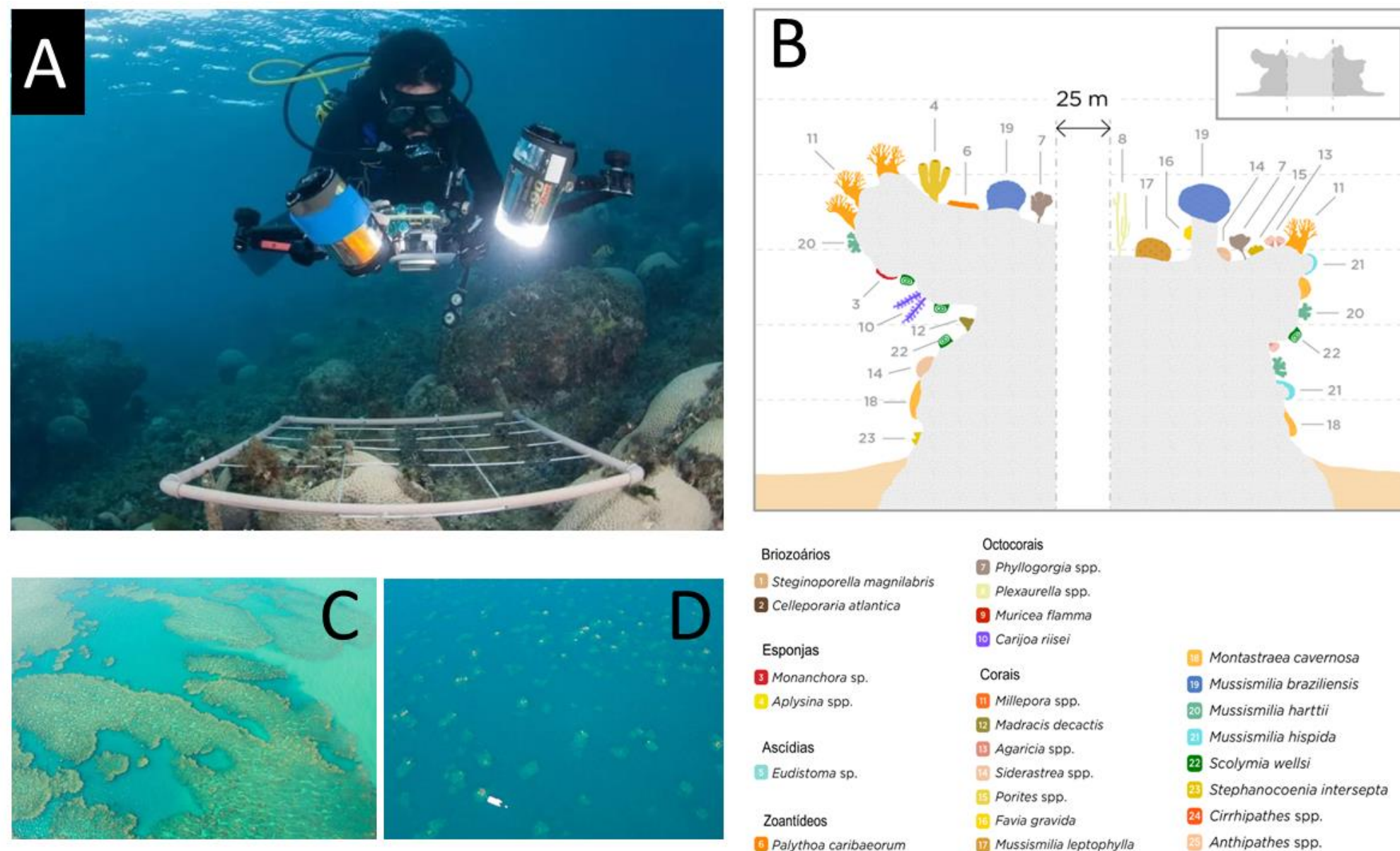
Nos recifes coralíneos, que se apresentam tanto como bancos (e.g., sítios A1 e A2) quanto como pináculos isolados (e.g., A3, A6, A7 e todos os sítios da Área B) (Figura 1), o uso de amostras repetidas em fotoquadrados tomados em parcelas fixas foi preponderante ao longo de todo o trabalho (os dados

anteriores ao rompimento foram adquiridos com o mesmo protocolo). O relatório anterior (RRDM, 2022) trouxe uma avaliação detalhada da precisão e acurácia da amostragem com fotoquadrados em comparação com outros protocolos comumente usados em ambientes recifais (AGRRA e ReefCheck), baseados em transectos, revelando a maior capacidade dos fotoquadrados na detecção de mudanças temporais no recobrimento por corais.

O imageamento dos fotoquadrados foi feito com câmeras fotográficas digitais com resolução entre 12 e 20 MP (marcas Canon e Sony), na medida em que câmeras com melhor resolução ficaram disponíveis. As câmeras foram operadas dentro de caixas estanque (acrílicas ou de alumínio). Esses sistemas, operados por mergulhadores, contaram com dois flashes estanques posicionados a 45°, no sentido de minimizar sombras e “backscatter” de partículas em suspensão. As imagens foram tomadas em parcelas marcadas com pinos metálicos fixados ao fundo (i.e., parcelas fixas), cada uma cobrindo 0,7 m<sup>2</sup> (Figura 1A). Os pinos são fixados com auxílio de furadeira subaquática, para minimizar danos ao fundo, e sofrem manutenção constante, a cada 2-3 anos. Em cada sítio foram dispostas 10 parcelas no topo e 10 parcelas na parede do recife (Figura 1B), no sentido de controlar a principal fonte de variabilidade na cobertura recifal (habitat; TEIXEIRA et al., 2021). A posição das parcelas foi disposta aleatoriamente no primeiro momento de amostragem. As amostras subsequentes foram obtidas nessas mesmas parcelas (“repeated measures”). Em cada estação amostral, um quadrado de PVC com 15 subunidades (que correspondem a fotografias individuais) foi colocado cuidadosamente junto ao fundo, com os vértices posicionados nos pinos no sentido de guiar o imageamento (Figura 1). Detalhes adicionais acerca do procedimento amostral podem ser encontrados em TEIXEIRA et al. (2021).

A cobertura temporal de cada sítio foi variável, sendo que alguns sítios da Área A (Abrolhos e adjacências) contam com dados pretéritos ao rompimento (Figura 1B) e dados cobrindo o hiato de três anos sem o monitoramento sistemático do PMBA/Fest. Esse conjunto de dados foi obtido no âmbito do Programa de Pesquisas Ecológicas de Longa Duração (PELD/CNPq/FAPES/FAPERJ), do *International Ocean Discovery Program* (CAPES/IODP), e de outros projetos desenvolvidos pela equipe executora. Para a Área B (Recifes Esquecidos), as primeiras amostras da cobertura dos recifes foram feitas antes da implementação do PMBA/Fest, também no âmbito de outros projetos.

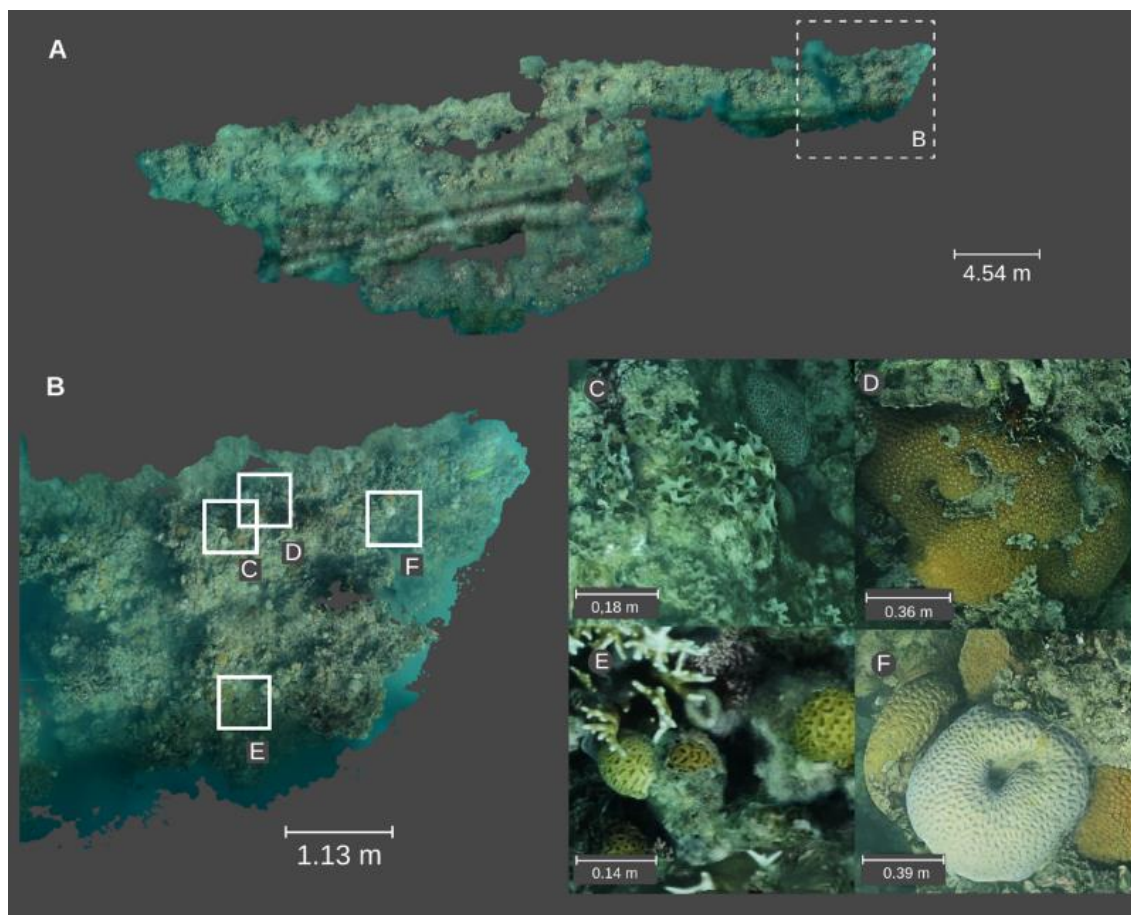
Figura 1 : Fotoquadrado em parcela fixa marcada por pinos metálicos (A) e representação esquemática dos pináculos recifais (B), evidenciando suas formas mais típicas e a distribuição dos principais organismos. Imagem: Rede Abrolhos®.



A partir de 2020 as estimativas de cobertura dos recifes passaram a ser complementadas com ortomosaicos baseados em fotogrametria (Figura 2), técnica que consiste na reconstrução tridimensional de um cenário com imagens sobrepostas, ortogonais ou tomadas a partir de diferentes ângulos (FIGUEIRA et al., 2015). Os ortomosaicos complementam a amostragem com fotoquadrados, que podem apresentar limitações em ambientes tridimensionais e espacialmente heterogêneos. Apesar de se tratar de uma abordagem com imenso potencial para o monitoramento, permitindo visualizar, *in silico*, as diferentes escalas da complexidade estrutural e biológica dos recifes (Figura 2B-F), as reconstruções fotogramétricas estão sendo realizadas em apenas quatro sítios, em caráter piloto e comparativo (RRDM 2022). Em cada sítio, a obtenção das imagens ortogonais foi feita sem “zoom” (com lente de 24 mm) e sem iluminação, com o menor ISO possível, fixado entre 100-125. Ajustes de velocidade e obturador foram feitos manualmente em tempo real. As fotos foram tomadas com sobreposição de 60-70%, ao longo de parcelas demarcadas com vergalhões fixados ao fundo (verticais) e contando com tralhas de chumbo paralelas dispostas na paisagem (para guiar o fotógrafo) e vergalhões de ferro pintados de amarelo (escalas de 50 cm, horizontais) acoplados a um “color-checker”® (i.e., paleta com alvo de calibração de cores). As tralhas e vergalhões pintados são cuidadosamente dispostas no fundo antes de cada imageamento, e removidas logo após. As imagens foram tratadas no programa Adobe Lightroom® para correção do balanço de branco e importadas para o programa Agisoft Metashape Pro®, no qual foram processadas com o protocolo descrito por BURNS et al. (2015), com ajustes menores. Os ortomosaicos foram extraídos em formato .jpeg e segmentados em parcelas de 0.5 m<sup>2</sup>, as quais foram anotadas de forma semelhante aos fotoquadrados.



Figura 2 : **Ortomosaico de um recife costeiro** (Pedra de Leste, A1). **Painel A**: imageamento da cobertura em uma área extensa (aproximadamente 50 m<sup>2</sup>), baseada em centenas de imagens com sobreposição parcial. **Painel B**: recorte mostrando a visualização da cobertura em diferentes escalas. **Paineis C-F**: ampliação dos recortes, usando o mesmo ortomosaico.

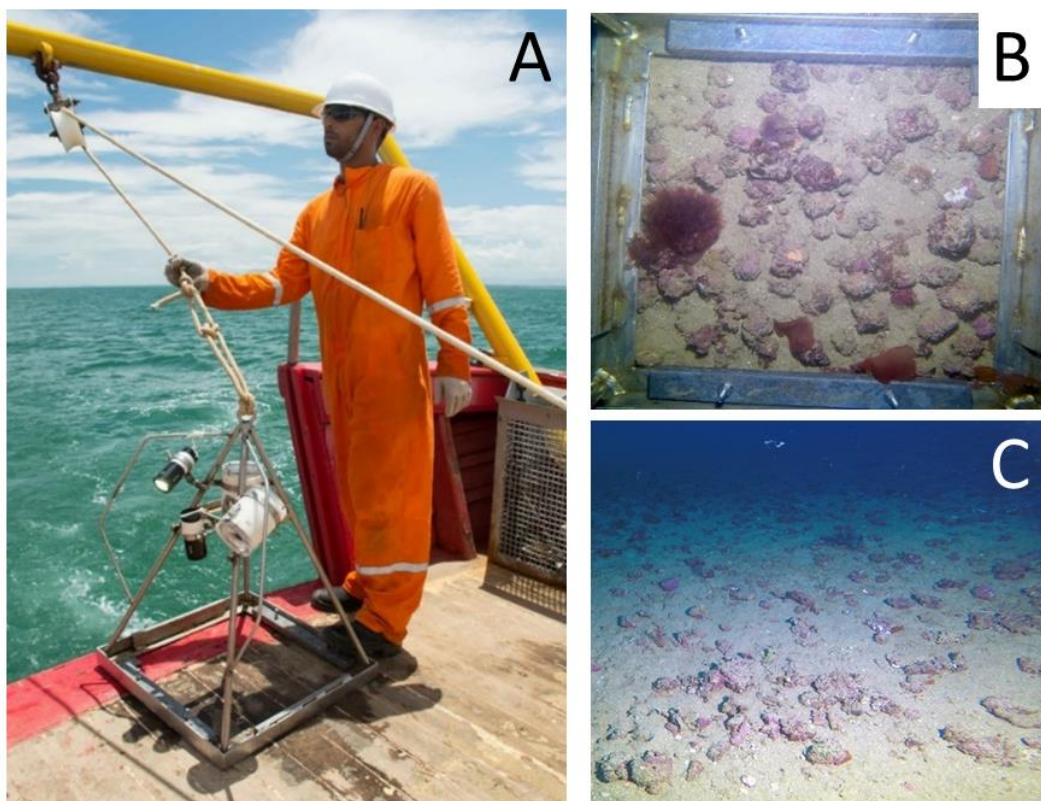


### ***Bancos de rodolitos***

Nos bancos de rodolitos foram usados tanto fotoquadrados (descritos acima) quanto “*dropcams*” operadas a partir da superfície com cabos e guinchos (Figura 3A). Nesse ambiente, onde a topografia é plana (Figura 3B e C), não é possível nem pertinente estratificar a amostragem em habitats. Fotoquadrados foram usados nos sítios de bancos de rodolitos acessíveis por mergulhadores (A5, RH18), todos na Área A (adjacências de Abrolhos), ao passo que “*dropcams*” foram usadas nos sítios mais profundos (além dos 30 m) ou em estações amostrais sob condições climáticas que dificultam a amostragem por mergulhadores. As “*dropcams*” contam com estrutura metálica piramidal lastreada na base e duas câmeras marca GoPRO (12 a 27 MP de resolução), uma ortogonal e outra em posição lateral e orientação diagonal. Ambas as câmeras são colocadas em caixas estanque de acetato com tampas acrílicas (operacionais a até 110 m de profundidade) e contam iluminação auxiliar (marca BigBlue) (Figura 3A). Os instrumentos laterais são protegidos por arcos metálicos, visto que o capotamento da estrutura junto ao fundo é frequente e pode danificar o sistema de câmeras e luzes. Trata-se de um sistema desenvolvido pela equipe do projeto. A câmera ortogonal cobre uma área de fundo de 0,25 m<sup>2</sup> (Figura 3B) e a câmera lateral é usada para se obter uma visão panorâmica da paisagem (Figura 3C), a qual não é usada em quantificações do recobrimento. Em cada estação

amostral, cujas posições são marcadas com GPS, a “dropcam” é lançada pelo menos cinco vezes (ou são obtidas cinco réplicas de fotoquadrados), em um raio de 10-20 m no entorno de cada coordenada.

Figura 3 : “Dropcam” com câmeras ortogonal e lateral e sistemas de iluminação (A), imagem ortogonal usada para estimativa do recobrimento (B) e imagem diagonal panorâmica (C).



### ***Recifes adjacentes ao litoral***

Nos oito sítios de recifes adjacentes ao litoral (Figura 4), onde a influência terrígena é maior e o acesso é feito sem apoio de embarcações, foram usados tanto fotoquadrados (descritos acima) quanto “dropcams” com estrutura acrílica preenchida com água limpa (Figura 5), permitindo o imageamento sob condições de elevada turbidez ou durante marés altas. Essas “dropcams”, também desenvolvidas pela equipe do projeto, são semelhantes às descritas acima em termos de instrumentos, mas cobrem uma área de fundo menor, com 0,2 m<sup>2</sup>, visto ser impraticável deslocar estruturas acrílicas de maior tamanho.



Figura 4 : **Visão panorâmica dos oito sítios monitorados nos recifes adjacentes ao litoral** (APA Costa das Algas e REVIS Santa Cruz). **Legenda:** A= D14; B= D15; C= D16; D= D17; E= D18; F= D19; G= D20; H= D21. Os sítios D15 (painel A) e D19 (painel F) contam com dados antecedentes ao rompimento da barragem (veja item 3.3).



Figura 5 : **Dropcam acrílica para imageamento nas águas mais turvas dos recifes adjacentes ao litoral** (APA Costa das Algas e REVIS Santa Cruz).



### Anotação

As imagens obtidas com os diferentes instrumentos e protocolos acima descritos foram anotadas semi-automaticamente com uso da rede neural (*“deep neural network”*) disponível na plataforma CoralNet (BEIJON et al. REF), usando um limiar de confiança de 80%. Outros parâmetros de configuração da rede neural (e.g., *“label accuracy”*, *“fraction above threshold”*) estão descritos em maior detalhe em TEIXEIRA et al. (2021). Para os fotoquadrados usados nos recifes coralíneos, a cobertura relativa dos diferentes grupos de organismos foi estimada a partir de 40 pontos distribuídos aleatoriamente em cada subunidade (25 x 15 cm). Para os ortomosaicos foram usados 100 pontos para cada parcela (0,5 m<sup>2</sup>).

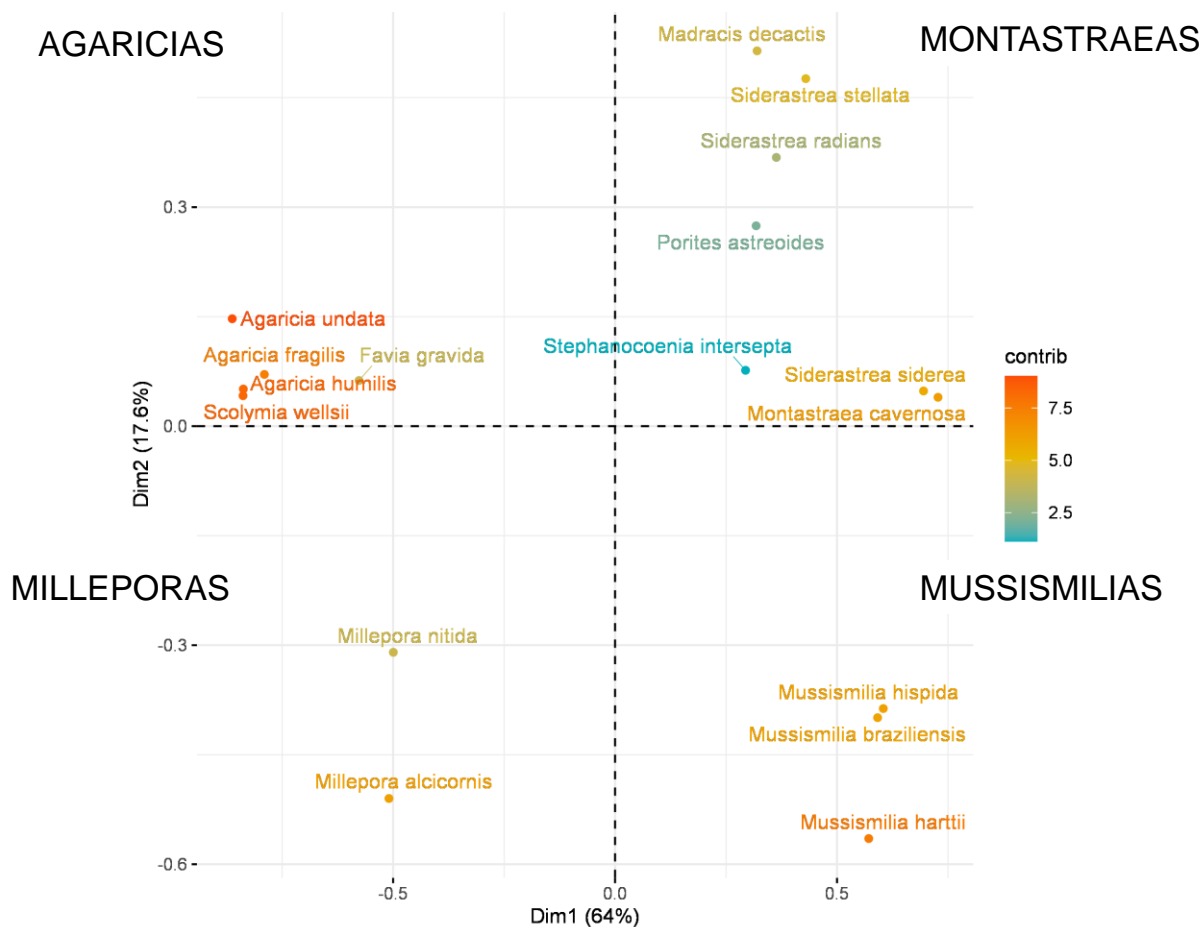
Para os bancos de rodolitos foram usados 40 pontos para cada imagem de “dropcam” (0,5 m<sup>2</sup>). Para os recifes adjacentes ao litoral foram usados 52 pontos para cada imagem de “dropcam” acrílica (0,2 m<sup>2</sup>) ou 15 pontos por subunidade de fotoquadrado. Em todos os ambientes, os organismos abaixo dos pontos foram identificados na melhor resolução taxonômica possível e posteriormente agregados em categorias taxonômicas mais abrangentes e/ou grupos funcionais.

### **Grupos funcionais**

Antes das análises, os organismos foram agregados em categorias mais abrangentes e grupos funcionais. Para os recifes, compilamos uma matriz de oito grupos de atributos das espécies, incluindo variáveis contínuas e categóricas (Quadro 1) e utilizamos o procedimento de agrupamento e ordenação proposto por DARLING et al. (2012), utilizando tanto análise de componentes principais (PCA) quanto análises de coordenadas principais (PCoA), as quais resultaram em configurações equivalentes. Três espécies, *Meandrina braziliensis*, *Mussismilia leptophylla* e *Porites branneri*, cuja cobertura é muito baixa na área de estudo (<0,1 % da cobertura dos recifes), foram excluídas da análise, uma vez que não foi possível compilar pelo menos 60% dos atributos.

Essa análise revelou quatro grupos funcionais de corais, denominados de MUSSISMILIAS, AGARICIAS, MILLEPORAS e MONTASTRAEAS (Figura 6). O grupo funcional **MUSSISMILIAS** foi composto por espécies massivas, longevas (vivem por décadas) e de crescimento relativamente rápido (~1cm.ano<sup>-1</sup> de extensão linear em bandas de crescimento), com esqueletos de densidade relativamente baixa. Todas as espécies desse grupo são endêmicas do Brasil e possuem o modo reprodutivo “broadcaster”, com desovas concentradas no tempo. O grupo funcional **AGARICIAS** foi composto por espécies incrustantes ou sub massivas de vida relativamente curta (<10 anos), crescimento relativamente rápido (como acima) e esqueletos de densidade relativamente baixa. As espécies tendem a ser amplamente distribuídas no Atlântico; a maioria incubadora (“brooder”) e com reprodução contínua. O grupo funcional **MILLEPORAS** foi composto pelos hidrocorais ramificados de crescimento rápido e esqueletos de alta densidade, muito sensíveis a anomalias na temperatura da água do mar, abrangendo tanto espécies endêmicas do Brasil quanto espécies amplamente distribuídas no Atlântico. Por fim, o grupo funcional **MONTASTRAEAS** foi composto por espécies massivas ou sub massivas, longevas (vivem por décadas) e de crescimento relativamente lento (escala de mm.ano<sup>-1</sup>), com esqueletos de densidade relativamente alta. O grupo inclui espécies endêmicas e amplamente distribuídas, com diferentes modos e estratégias reprodutivas.

Figura 6 : Diagrama de Ordenação (PCA) baseado nos atributos morfofuncionais de todas as espécies de corais registradas no estudo (Quadro 1), evidenciando os quatro grupos funcionais (em caixa alta).



Quadro 1 : **Espécies de corais registradas na área de estudo e sua respectiva atribuição a grupos funcionais.** A última linha mostra os atributos utilizados nas ordenações.

Espécie	Grupo Funcional
<i>Agaricia humilis</i>	AGARICIAS
<i>Agaricia fragilis</i>	
<i>Agaricia undata</i>	
<i>Favia gravida</i>	
<i>Scolymia wellsii</i>	
<i>Millepora alcicornis</i>	MILLEPORAS
<i>Millepora nitida</i>	
<i>Madracis decactis</i>	MONTASTRAEAS
<i>Montastraea cavernosa</i>	
<i>Porites astreoides</i>	
<i>Siderastrea radians</i>	
<i>Siderastrea stellata</i>	
<i>Siderastrea siderea</i>	
<i>Stephanocoenia intersepta</i>	
<i>Mussismilia braziliensis</i>	MUSSISMILIAS
<i>Mussismilia hispida</i>	
<i>Mussismilia harttii</i>	
Atributos usados na PCA (Figura 6): forma de crescimento, ramificação, modo reprodutivo, tamanho, mortalidade pós-branqueamento, densidade (esqueleto), diversidade de simbiontes, taxa de crescimento.	

Para os recifes adjacentes ao litoral e bancos de rodolitos, ambientes dominados por macroalgas, usamos uma caracterização funcional adaptada da literatura (7 grupos, Quadro 2) (STENECK, DETHIER, 1994; VELEZ-RUBIO et al. 2021).



Quadro 2 : **Grupos funcionais de macroalgas utilizados no estudo.** Adaptados de STENECK, DETHIER (1994) e VELEZ-RUBIO et al. (2021), com exemplos de táxons registrados na área de estudo.

GF	Características e exemplos
1 - Fotossintetizantes filamentosos	Textura macia, consistência delicada, alta ramificação; algumas espécies com corticação. <b>Exemplos:</b> <i>Centroceras</i> , <i>Chamaedoris penicilum</i> , <i>Chadophora</i> , <i>Gracilaria</i> , <i>Chaetomorpha</i> , <i>Polisphonia</i> , <i>Meristotheca</i> . Turf e cianobactérias.
2 - Macroalgas foliosas corticadas	Textura rugosa, consistência dura, corticadas. Talo flexível. <b>Exemplos:</b> <i>Anadyomne</i> , <i>Caulerpa prolifera</i> , <i>Cryptonemia</i> , Dictyotaceae ( <i>Dictyopteris</i> , <i>Dictyota</i> ), <i>Haloplegma</i> , <i>Halymenia</i> , <i>Osmundaria</i> , <i>Stypopodium</i> .
3 - Macroalgas corticadas	Textura de borracha ou esponjosa, consistência dura. Frondes corticadas. Talo compacto com baixa ramificação, ereto e com eixos grossos. <b>Exemplos:</b> <i>Asparagopsis</i> , <i>Botryocladia</i> , <i>Caulerpa</i> (exceto <i>C. prolifera</i> ), <i>Codium</i> , <i>Colpomenia</i> , <i>Dictyosphaeria</i> , <i>Gelidiales</i> , <i>Hypnea</i> , <i>Laurencia</i> , <i>Neomeris</i> , <i>Ochtodes</i> , <i>Penicillus</i> , , <i>Udoteaceae</i> , <i>Valonia</i> .
4 - Macroalgas coriáceas	Textura rugosa e coriácea, consistência dura. Fucal e Laminariales. <b>Exemplos:</b> <i>Sargassum</i> , <i>Lobophora</i> , <i>Padina</i> , <i>Spatoglossum</i> , <i>Zonaria</i> .
5 - Algas crostosas	Consistência pedregosa, dura, com textura áspera sem ramificação. Formam crostas firmes e duras, aderidas ao substrato. <b>Exemplos:</b> algas coralináceas crostosas (CCA), incluindo as formadoras de rodólitos e concreções calcárias.
6 - Macroalgas foliáceas	Textura macia, consistência delicada, com pouca ou nenhuma ramificação. Talos variáveis formando lâminas ou tubos ocos. <b>Exemplo:</b> <i>Ulva</i> .
7 - Articuladas	Consistência pedregosa, textura áspera com ramificação e eixos eretos. <b>Exemplos:</b> <i>Amphiroa</i> , <i>Halimeda</i> , <i>Jania</i> , <i>Tricleocarpa</i> .

## 2.1.2 Fisiologia de corais

Foram escolhidas 5 réplicas de colônias de três espécies de corais no mesmo estrato do recife (topo dos chapeirões). Nessas colônias foi aplicada a metodologia de curva rápida de luz (RLC) *in situ* com equipamento de amplitude de pulso modulada (DIVING-PAM). Em seguida, uma fração da colônia foi retirada com auxílio de marreta e talhadeira e levada à embarcação. O tecido retirado de fragmentos padronizados das colônias, através de jateamento de ar comprimido, foi diluído em água do mar filtrada em membranas de 0,2µm. Essas amostras foram alíquotadas para quantificação da densidade e morfologia (fixação em paraformaldeído 1% conc. final) e concentração pigmentar (congeladas em Nitrogênio Líquido).

## 2.1.3 Diversidade genética de simbiontes de corais

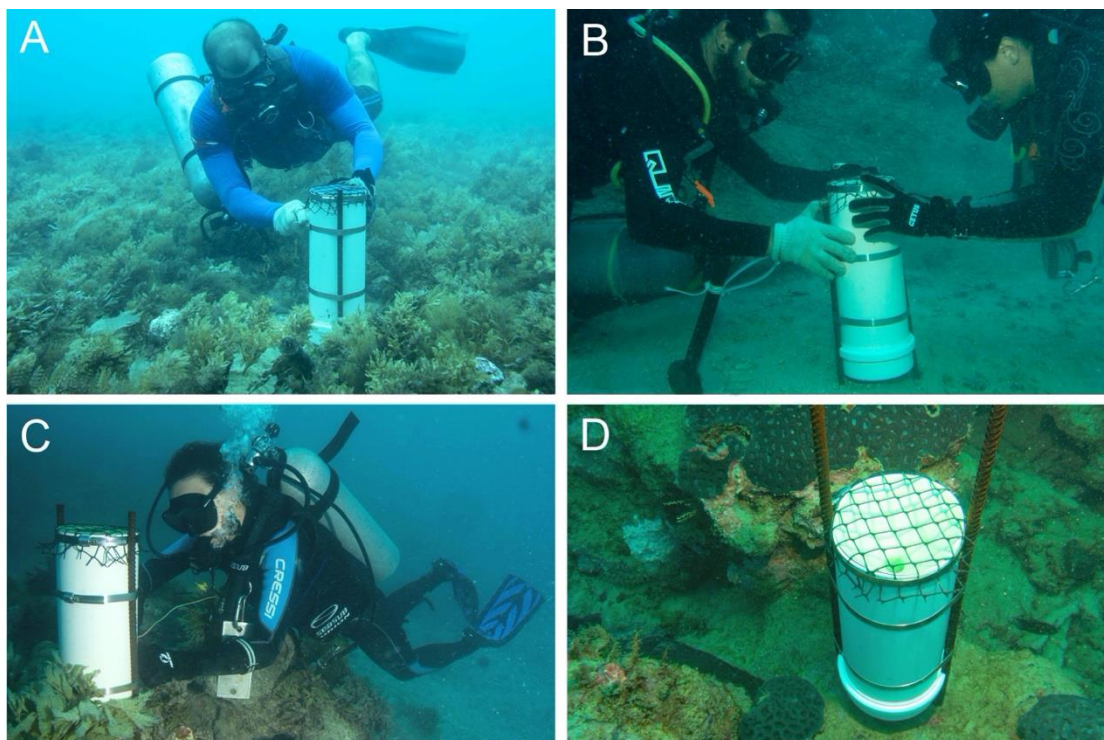
Alíquotas do tecido de corais obtidas a partir da raspagem de fragmentos de espécimes de corais (item 2.1.2) foram armazenadas a bordo em nitrogênio líquido e preservadas para as análises laboratoriais

visando a avaliação da diversidade genética de zooxantelas (dinoflagelados simbiotes da família Symbiodiniaceae) e bacteriana (auto e heterotrófica) associada aos corais.

#### 2.1.4 Natureza do sedimento e taxas de sedimentação em recifes e bancos de rodolitos

As amostras foram obtidas com métodos complementares (Figura 7). Sedimentos superficiais foram obtidos através coletas manuais (áreas A e B e recifes adjacentes ao litoral da Área D) ou dragagens (áreas C e D). Os dados oriundos de armadilhas de sedimento (n=3 réplicas por sítio) foram obtidos em sete campanhas, contemplando períodos de cerca de 3 a 12 meses de submersão, nas Áreas A (PARNAM Abrolhos e adjacências) e B (Recifes Esquecidos), nos sítios A1, A2, A3, A4, A5, A6, B1, B2, B4 e B6. Durante o procedimento de retirada, as armadilhas foram transportadas para a embarcação fechadas com tampas plásticas, de forma a impedir a perda de material fino. Os sedimentos retirados das armadilhas foram transportados para o laboratório em recipientes plásticos refrigerados, no escuro, após decantação e remoção do excesso de água.

Figura 7: Coleta de sedimentos recifais com armadilhas. Legenda: A e B) Armadilhas em bancos de rodolitos; C) Armadilhas em recifes; D) Detalhe das armadilhas (tela de proteção, funil e fixação ao fundo).

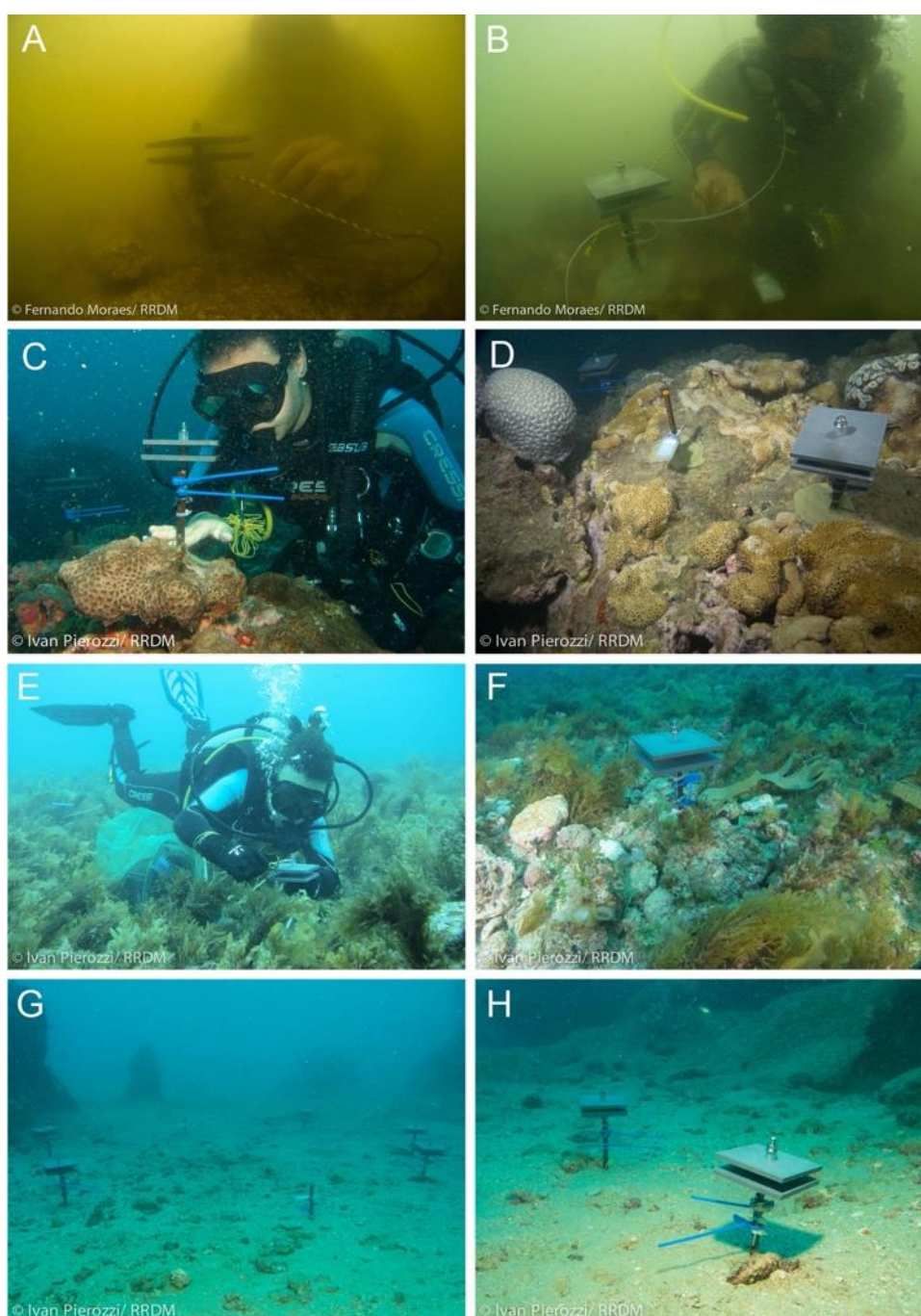


#### 2.1.5 Produção de $\text{CaCO}_3$ e colonização de organismos em estruturas artificiais

A avaliação das taxas de colonização de organismos sésseis foi estimada utilizando-se placas artificiais denominadas CAUs (*“Calcification Accretion Units”*), as quais foram mantidas submersas por períodos de cerca de um ano. Na retirada, as CAUs foram acondicionadas em sacos plásticos ainda embaixo d’água, a fim de preservar a integridade de organismos frágeis e evitar a perda de fragmentos no transporte à superfície. Na embarcação, as placas foram desmontadas sobre bandejas plásticas e lavadas com água do mar. Cada face de cada placa foi fotografada e, posteriormente, preservada em formol à 10% e protegida da luz.

As análises aqui apresentadas correspondem às CAUs coletadas em abril/agosto de 2019, janeiro de 2020, fevereiro/março de 2021 e março de 2022 (Figura 8). No segundo ciclo de experimentação (2019-2020), a malha amostral foi ampliada com a instalação de CAUs nos sítios A6 (Timbebas), D15 e D21 (recifes adjacentes ao litoral, APA Costa das Algas). Nos ciclos seguintes, foram incluídos os sítios A2 e A4. A metodologia de processamento e análise seguiu REIS et al. (2016), envolvendo a quantificação da produção de  $\text{CaCO}_3$ , descrição dos organismos colonizadores e a contribuição relativa de organismos construtores e não-construtores. No terceiro e quarto ciclo (2020-2021/2021-2022) foram contemplados apenas sítios das áreas A (A1, A2, A3, A4, A5, A6) e B (B1, B2 e B4).

Figura 8 :Estruturas artificiais de colonização para estudos de calcificação e colonização instaladas em recifes adjacentes ao litoral (A, B), recifes coralíneos (C, D) e bancos de rodólitos (E-H).





### **2.1.6 Variáveis físico-químicas da água**

A área de estudo abrange ca. 300 km da costa do Espírito Santo e Sul da Baía, com grande variabilidade em relação à influência de aportes continentais de sedimentos, fortes gradientes cross-shelf com variações marcantes na profundidade e na extensão da plataforma continental. Pela porção norte, a região recebe influência das águas oligotróficas da Corrente do Brasil. O aporte continental resulta em mistura sobre a plataforma, formando a água costeira. Regiões de maior profundidade na plataforma externa estão sujeitas a incursões de águas intermediárias frias e ricas em nutrientes (ACAS). Isto resulta em um cenário complexo e dinâmico nas características da coluna d'água e nos padrões de sedimentação em escala regional.

As variáveis físico-químicas da água na malha amostral do projeto foram obtidas através de duas abordagens complementares: (i) compilação de dados de sensoriamento remoto; (ii) perfilagens verticais na coluna d'água com CTD ou fundeios próximos ao leito marinho com duração de ca. 1 dia com sonda multiparamétrica (SeaGuard-Aanderaa). Perfilagens e fundeios foram feitos concomitantemente à coleta de amostras e dados da biota planctônica e bentônica. Este conjunto de variáveis não compõe os indicadores do tema Fundos Recifais e Bancos de Rodólitos mas é importante para subsidiar interpretações acerca da estrutura e funcionamento dos sistemas recifais e os possíveis efeitos do rompimento da barragem.

### **2.1.7 Obtenção de amostras de água e organismos, disponibilizando o material para análises de concentração de metais**

Em estações inseridas nas Áreas A (Abrolhos e adjacências), B (Recifes Esquecidos) e D (Recifes adjacentes ao litoral das APA Costa das Algas) foram obtidos espécimes de algas pardas, corais e outros invertebrados através de coletas manuais feitas por mergulhadores. Os espécimes foram acondicionados em sacos ou frascos plásticos e congelados, rotulados e imediatamente congelados em freezer convencional (-18°C) e foram enviados para análise de concentração de metais. As amostras de água foram coletadas na Área A (Abrolhos) pela equipe de Ecotoxicologia, e nas áreas B (Recifes Esquecidos) e D (Recifes adjacentes ao litoral das APA Costa das Algas) pela equipe de Hidrogeoquímica.

## **2.2 ANÁLISE**

### **2.2.1 Cobertura bêntica**

Os conjuntos de dados brutos extraídos das imagens, inseridos inicialmente em planilhas do MS Excel®, foram codificados e formatados com uso do “software” livre R (R CORE DEVELOPMENT TEAM, 2018) e em programas comerciais (e.g., Primer-e®), após procedimentos básicos de controle de qualidade. Os pacotes utilizados no R para tratamento e controle de qualidade, bem como para as análises, incluíram Dplyr, Psych e tidyverse, ggplot2 e GGally para compor as visualizações, e pca, FactoMineR, factoextra para as análises multivariadas, que também foram feitas em programas comerciais (CLARKE; WARWICK, 2001). A maior parte dos dados de comunidades biológicas possui uma estrutura com alta dimensionalidade, dado o grande número de variáveis exploradas simultaneamente.



Assim, as análises envolveram técnicas multivariadas de ordenação, visando descobrir padrões em dimensões reduzidas, incluindo Análise de Componentes Principais (PCA) e Escalonamento Multidimensional não métrico (nMDS). Os dados foram analisados com transformações baseadas no cálculo da raiz quarta dos percentuais de cobertura de cada amostra. A medida de dissimilaridade utilizada em todas as matrizes de dados de cobertura foi o índice de Bray-Curtis (CLARKE; WARWICK, 2001).

Nas análises de PCA, novas componentes de dimensão reduzida são criadas com base em projeções ortogonais, com o objetivo de minimizar a variação residual e maximizar a variabilidade explicada no espaço euclidiano (CLARKE; WARWICK, 2001). Os mapas fatoriais mostram a relação entre as variáveis originais e os dois componentes principais (Dim 1 e 2, ou PC 1 e 2), indicando a contribuição de cada uma delas na ordenação. O nMDS, também denominado Análise de Redução de Dimensão, foca na preservação da ordem das dissimilaridades nas dimensões previamente definidas (no nosso caso usamos sempre três dimensões). O algoritmo busca construir um "mapa de configuração" para posicionar as espécies e amostras minimizando o estresse, uma medida que reflete quão bem as distâncias na matriz de dados representam a dissimilaridade original. O estresse varia entre zero e um, com zero indicando uma configuração perfeita. O cálculo do estresse foi baseado em 100 ou mais repetições.

Diferenças estatísticas foram exploradas com análise de variância permutacional (PERMANOVA - *Permutation Multivariate Analysis of Variance*). A PERMANOVA é uma análise multivariada não paramétrica que testa a hipótese nula de que a dispersão das observações é equivalente em todos os grupos. Para tal, a análise compara a Soma dos Quadrados (SQ ou SS) entre grupos e dentro dos grupos (fatores) (ANDERSON, 2014).

Os resultados do indicador "cobertura bêntica de recifes coralíneos (Indicador 1) não contemplaram o sítio A4 (Portinho Norte, PNOR), localizado no costão da Ilha Santa Bárbara, uma vez que esse sítio possui uma estrutura de hábitat que não é comparável com a dos demais sítios. Além disso, consideramos, para todos os demais sítios recifais, apenas os dados obtidos no primeiro semestre, sem interferência de sazonalidade, uma vez que a variabilidade sazonal expressiva na cobertura por macroalgas e cianobactérias só ocorre em alguns sítios (e.g., Pedra de Leste – A1; veja a seção "Ortomosaicos" no Item 16). Incorporar o sítio A4 e a sazonalidade na análise do Indicador 1 iria agregar fontes adicional de variação sem contribuir para elucidar a possível associação entre mudanças na estrutura da comunidade (especialmente no que diz respeito aos corais) e o rompimento da barragem - tema norteador do presente relatório.

Contrastando com os recifes, os bancos de rodolitos (Indicador 2) e os recifes adjacentes ao litoral (Indicador 3) têm cobertura bêntica dominada por organismos de crescimento mais rápido (macroalgas) e/ou que apresentam episódios curtos de crescimento explosivo (cianobactérias filamentosas) (BRASILEIRO et al., 2016; RIBEIRO et al., 2018; RIBEIRO et al. 2022; TEIXEIRA et al., 2021; MOURA et al., 2021). Assim, no caso dos bancos de rodolitos (Indicador 2) agrupamos as amostras de cada ano por semestres na maior parte das análises e visualizações. Além disso, como apenas um sítio com

bancos de rodolitos está contemplado na malha amostral da área B (Esquecidos), não incorporamos esse sítio nas análises (B1), com a mesma fundamentação usada para desconsiderar o sítio A4 das análises de cobertura dos recifes.

No caso os recifes adjacentes ao litoral (Indicador 3), buscamos isolar efeitos sazonais nos contrastes do tipo “Before-After” (BA), considerando apenas dados do primeiro semestre, no sentido de incorporar adequadamente os “baselines” pré-rompimento. De forma complementar e com o intuito de acompanhar a evolução do quadro desses recifes após o rompimento, mantivemos os dados temporalmente desagregados, ou seja, compreendendo amostras trimestrais e semestrais.

### 2.2.2 Fisiologia de corais

Para a quantificação de simbionte (*Symbiodiniaceae*), suspensões de tecido de corais foram homogeneizadas utilizando vortex (1 minuto) e sonicador (30 segundos, com pulsos intervalados de 1 segundo, a 20% de amplitude do aparelho Cole Palmer CPX 130) com o objetivo de romper grumos celulares. Posteriormente, as suspensões foram filtradas em malha de nylon de 25  $\mu\text{m}$  para remoção de partículas maiores (sedimento, fragmentos de esqueleto de coral). Alíquotas da suspensão foram analisadas em um citômetro de fluxo utilizando um laser azul de excitação, a um fluxo de 66  $\mu\text{L min}^{-1}$  durante 2 min. Células de *Symbiodiniaceae* foram discriminadas nos citogramas pelo seu tamanho (FSC-H) e fluorescência de clorofila (FL3-H), com um filtro 670 nm long pass (90% de atenuação). Microesferas fluorescentes de 3  $\mu\text{m}$  com concentração conhecida foram adicionadas em todas as amostras durante a leitura para o estabelecimento de um controle interno. A partir de fotografias dos espécimes adquiridos em campo, a área dos corais foi estimada utilizando o software Coral Point Count with Excel extensions, CPCe (KÖHLER & GILL, 2006). Os valores de contagem celular foram normalizados pela área raspada, assim como as concentrações pigmentares. As densidades foram expressas em células de *Symbiodiniaceae* por  $\text{cm}^2$  de superfície do coral.

Para as análises morfométricas de estimativas de biovolume de zooxantelas presentes nos corais, uma alíquota da suspensão de tecido de cada coral foi analisada em um sistema de imageamento em fluxo (FlowCam® VS, Fluid Imaging Technologies, USA) com uma célula de fluxo FOV de 90 $\mu\text{m}$  a um fluxo de 100 $\mu\text{L min}^{-1}$ . As células de *Symbiodiniaceae* foram imageadas em uma objetiva de 20X de aumento a uma taxa de aquisição de 20 imagens por segundo. Células de *symbiodiniaceae* em foco foram selecionadas semi-automaticamente para medições celulares (largura e comprimento) usando o software VisualSpreadsheet (Fluid Imaging Technologies, USA). Comprimento e largura foram usados para estimativas de biovolume ( $\mu\text{m}^3 \text{ célula}^{-1}$ ) através de aproximação do formato de um esferoide prolado (SUN LIU, 2003).

Para análise pigmentar, alíquotas de 500 $\mu\text{L}$  a 1mL de suspensão de tecido de coral contendo os simbiontes foram filtradas, sob um vácuo inferior a 200 mbar sobre filtros GF/F de 25mm ou 47mm de diâmetro montados sobre um sistema de filtração. Este procedimento objetivou concentrar o tecido sobre o filtro e eliminar o máximo de água possível contida na suspensão. Após as filtrações os filtros foram alocados em tubos de vidro de 10 mL e conservados a  $-80^\circ\text{C}$  até a análise pigmentar.

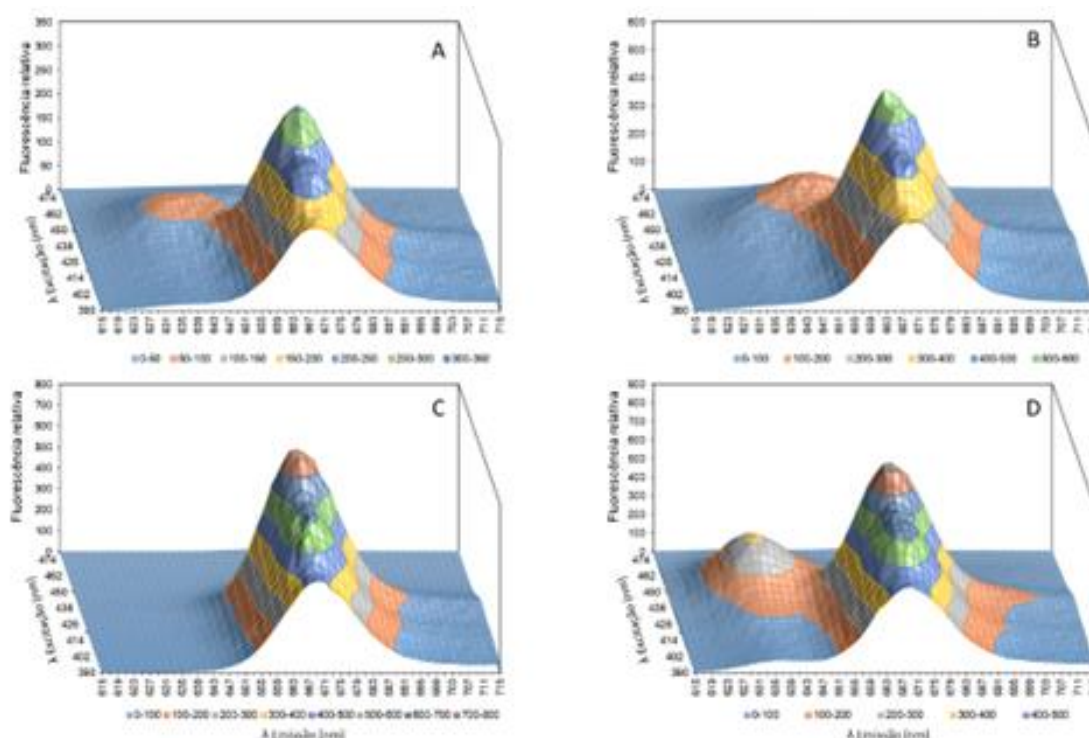
Os pigmentos clorofilianos e carotenóides presentes nas amostras de tecido de coral foram extraídos em 6ml de acetona 90% (volume final) adicionados aos tubos de vidro. Em seguida, os filtros foram macerados com auxílio de um bastão de vidro com ponta recém-quebrada e os tubos lacrados com Parafilm ®. Em seguida, as amostras foram sonicadas por 2 minutos a 0°C e mantidas a 4 °C durante um período de 12 a 16h. Após este período, os tubos foram centrifugados por 10 minutos a 3500 rpm e a fluorescência dos extratos medida em um espectrofluorímetro VARIAN CARY ECLIPSE® para se obter as concentrações de pigmentos clorofilianos e as absorbâncias obtidas por um espectrofotômetro Femto Cirrus 80ST para estimativa das concentrações de carotenóides totais.

As concentrações de carotenóides totais foram calculadas segundo a metodologia de PARSONS et al. (1984), a partir do registro das absorbâncias em 480 e 510nm, corrigidas pela absorbância a 750nm.

Os coeficientes específicos de fluorescência de cada pigmento foram estimados por diluição serial da solução estoque, e os respectivos pigmentos de degradação tipo feopigmentos obtidos por acidificação, conforme as recomendações de NEVEUX & PANOUSE (1987).

As concentrações dos pigmentos clorofilianos foram avaliadas segundo o método de NEVEUX & LANTOINE (1993) modificado por TENÓRIO et al. (2005). A aquisição de dados foi realizada por registro do espectro de emissão de fluorescência, composto por 31 comprimentos de onda de excitação de 390 a 480 nm, com intervalo de 3 nm. Para cada comprimento de onda de excitação obteve-se um espectro de emissão de 615 a 715 nm com intervalos de 2 nm, resultando em 51 dados de fluorescência. As concentrações pigmentares foram estimadas a partir dos 1581 dados de fluorescência (31 comprimentos de onda de excitação \* 51 comprimentos de onda de emissão) utilizadas em 1581 equações lineares com 10 incógnitas mais uma constante e eliminação dos resultados negativos a partir da técnica dos mínimos quadrados. A significância dos resultados obtidos por espectrofluorimetria está relacionada com as concentrações relativas dos pigmentos no extrato e do seu rendimento quântico no solvente. São consideradas significativas apenas as concentrações dos pigmentos acessórios que representem pelo menos 5% da Cla. Valores inferiores não significam necessariamente a ausência de um pigmento, mas sua determinação é considerada imprecisa. A resolução de equações para obter a concentração dos pigmentos clorofilianos em microgramas por litro no extrato acetônico foi realizada por meio de uma rotina desenvolvida para o programa MATLAB e os valores normalizados pela área de tecido de coral raspado.

Figura 9: Exemplos de espectros de populações naturais de microalgas marinhas dominadas por A) **clorófitas** (clorofila b), B) **cromófitas** (clorofila c), C) **cianobactérias** (ausência de pigmentos clorofilianos acessórios) e D) amostra de extrato de tecido de coral contendo células de **Symbiodiniaceae** (clorofila c).



Através da fluorimetria buscamos mensurar o funcionamento do aparato fotossintético por meio da quantificação da fluorescência emitida e cálculo do que foi absorvido e dissipado (HUOT; BABIN, 2010). O método de fluorimetria foi aplicado para construção de curvas rápidas de luz (RLC, "Rapid Light Curves"), utilizando da modulação da amplitude de pulsos, como descrito acima. Mais detalhes são fornecidos em COSGROVE; BOROWITZKA (2010). Através das curvas foram calculados os parâmetros de rendimento fotossintético efetiva ( $F_v/F_m'$ ), taxa máxima relativa de transporte de elétrons ( $rETR_m$ ) e irradiância mínima saturante ( $E_k$ ) (RALPH & GADEMANN, 2005).

### 2.2.3 Diversidade genética de simbioses de corais

O DNA do tecido de coral foi extraído com protocolo adaptado de FUKAMI et al. (2004) que, resumidamente, consiste na adição do tampão Chaos-forming (4 M guanidine thiocyanate, 0.1% N-lauroyl sarcosine sodium, 10 mM Tris-HCl pH8, 0,1 M 2-mercaptoethanol) por aproximadamente sete dias, para digestão do tecido e preservação do material genômico. Foi realizada uma etapa de adição de CETAB, com a amostra mantida em 50 graus por 60 minutos. A separação dos compostos orgânicos foi feita por adição de clorofórmio e, posteriormente, etanol 70% para precipitação e retirada de excesso de sais. O material genômico final foi eluído em água ultrapura e armazenado a -18°C. O DNA genômico total foi quantificado e purificado com kit ProNex® Size-Selective Purification System. A região transcrita do espaçador interno ribossomal (ITS2) foi amplificada por PCR com iniciadores (Sym\_VAR\_5.8SF e SYM\_VAR\_REV) em uma primeira reação de 25 ciclos. O amplicon gerado foi purificado do gel de agarose com kit GeneJET Gel Extraction Kit, e reamplificado com os mesmos primers ligados a cauda



Illumina (KUMAR et al., 2002; HUME et al., 2018) por mais 10 ciclos de PCR. Os amplicons foram sequenciados na plataforma Illumina em fragmentos de 250 pares de base pelo modo *pair-end*, em cerca de 50.000 leituras por amostra. As sequências foram processadas pelo conjunto de passos no programa Symportal (HUME et al., 2019). Todas as sequências foram reamostradas pelo menor número de sequências obtidas nas amostras, utilizando o pacote vegan (OKSANEN et al., 2018) na plataforma R (R Core Development Team, 2018). Buscando minimizar o efeito da superestimativa de diversidade devido as múltiplas cópias interagenômicas, as ITS2 types correlacionadas foram agrupadas, também na plataforma R. Dentro dos conjuntos com valores positivos de correlação foram reconsideradas como OTUs (*Operational Taxonomy Units*) aquelas mais abundantes dentro do agrupamento, e as demais como cópias intragenômicas. Abundâncias relativas foram calculadas utilizando essa abordagem.

As comunidades bacterianas foram estudadas através do marcador 16S (região V3 e V4). A região foi amplificada com iniciadores descritos em KLINDWORTH et al. (2013) já com a cauda adaptadora da plataforma Illumina em 35 ciclos, e os amplicons foram quantificados e sequenciados pelo modo *pair-end* com leituras de 300 pares de base. As sequências foram filtradas por qualidade e os adaptadores foram retirados pelo programa Trimmomatic (BOLGER et al., 2014). Os pares de leituras foram assimiladas em consenso aceitando ao menos uma ambiguidade, e posteriormente filtradas dentro do tamanho esperado (250-550bp). Sequências iguais foram agrupadas em sequências únicas (unidades taxonômicas operacionais de distância zero; zOTUs) utilizando a ferramenta unoise implementada no programa Usearch (EDGAR, 2010). Sequências quiméricas foram removidas e as zOTUs foram classificadas com o algoritmo Bayesian Last Common Ancestor (BLCA) contra o banco de dados GTDB (<https://ftdb.ecogenomic.org>). Todas as zOTUs não bacterianas foram removidas junto com zOTUs de cópia única na base de dados. As sequências processadas foram distribuídas para contagens em cada amostra.

A dissimilaridade entre as amostras para os conjuntos de dados de comunidades simbiotes (Symbiodiniaceae e Bactérias) foram calculadas na plataforma R (R CORE DEVELOPMENT TEAM, 2018), utilizando o pacote Vegan (OKSANEN et al., 2018), com uso do índice de Bray-Curtis, após transformação das proporções relativas da composição em sua raiz quadrada. Essas distâncias são visualizadas em uma ordenação não-métrica de escala multidimensional (nMDS). Os agrupamentos foram com PERMANOVAs, incluindo análise par a par com a correção dos valores de significância das múltiplas comparações (FDR – *False Discovery Rate*) (BENJAMINI & HOCHBERG, 1995). As interseções entre os conjuntos de zOTUS encontrados em cada espécie de coral e em cada sítio foram ilustradas em gráfico usando o pacote UpSetR (CONNWAY et al., 2017), disponível para a plataforma R (R CORE DEVELOPMENT TEAM, 2018).

#### **2.2.4 Natureza do sedimento e taxas de sedimentação em recifes e bancos de rodólitos**

Os processos de erosão de rochas resultam na produção de partículas que são transportadas através de processos hidroclimatológicos e geológicos altamente dinâmicos no espaço e no tempo, adicionando complexidade às investigações sobre a origem e deposição de sedimentos no meio

marinho. O tipo e a quantidade de sedimentos em transporte e em deposição impactam a penetração de luz no oceano, modula diversos processos biogeoquímicos e é vital para o funcionamento dos ecossistemas marinhos (ŻTTKOWICZ, 1994, SZCZUCINSKI, 2007). A dinâmica sedimentar é uma das dimensões mais críticas no funcionamento de sistemas recifais e, portanto, é um tema central para ações de manejo (SHEPPARD et al., 2009; GOLDBERG, 2013). Além disso, o transporte de sedimentos está intimamente ligado à introdução e à persistência de contaminantes nos recifes.

Os sedimentos coletados (de armadilhas e superficiais) foram lavados duas vezes com água deionizada e centrifugados. Em seguida, o material foi seco por liofilização durante 48h e sua massa foi obtida para o cálculo da taxa de sedimentação mensal, considerando o período de permanência das armadilhas no ambiente. As armadilhas também forneceram uma aproximação inicial sobre a variação espaço-temporal nas taxas de sedimentação (BUESSELER et al., 2007).

Posteriormente, para análise granulométrica, o sedimento foi passado por peneiras (4, 2 e 1 mm; 500, 250, 125 e 63  $\mu$ m) empilhadas sobre agitador eletromagnético, durante 1 h. Cada peneira foi pesada em balança digital de precisão, antes e depois da separação, para cálculo da porcentagem de sedimentos retidos em cada fração. Os sedimentos foram classificados com base na escala granulométrica de fragmentos clásticos de Wentworth, como segue: Argila (<0,004 mm); Silte (0,004–0,064 mm); Areia (0,064–2 mm); Grânulo (2–4 mm); Seixo (4–64 mm). Análises granulométricas são utilizadas para definir as classes de tamanhos dos grãos sedimentares e contribuem para identificar processos de transporte e deposição (WENTWORTH, 1922).

A mineralogia, ou estudo das propriedades químicas, cristalinas e físicas dos minerais, é importante para acessar a origem e os processos de transformação sofridos pelos sedimentos. A mineralogia dos sedimentos coletados em recifes e bancos de rodolitos foi determinada através de difração de raios X. Para análise mineralógica, os sedimentos finos (n=3 réplicas por estação) foram analisados por difração de raios-X. As amostras (50 mg por réplica) foram previamente moídas 2 vezes (em moinho de bolas), por 10 minutos, e peneiradas em malha de 25  $\mu$ m. Foi utilizado um difratômetro de raios-X PANalytical Empyrean, com as seguintes características/configurações: geometria Bragg-Brentano, radiação  $\text{CuK}\alpha$ , gerador: 40 mA and 40 kV, amplitude angular 5-90° 2 $\theta$ , tomada a cada 0.02°, 180 s por medida. A identificação das fases cristalinas, na forma de picos no difratograma, foi realizada utilizando o software Panalytical X' Pert Pro V3, baseada na comparação com dados de minerais de origem orgânica e inorgânica (e.g., Crystallographic Open Database - COD). A quantificação de fases cristalinas e parâmetros de rede foram baseadas na técnica de refinamento Rietveld, com uso do software MAUD, também usado para determinar a porcentagem de substituição de Mg por cristais de calcita (TITSCHACK et al. 2011). Os dados sedimentológicos foram explorados e analisados com gráficos de proporcionalidade, de regressão e PERMANOVAs.

## **2.2.5 Produção de $\text{CaCO}_3$ e colonização de organismos em estruturas artificiais**

As medições do balanço carbonático revelam se o recife está acumulando ou perdendo  $\text{CaCO}_3$ . A produção líquida se refere ao balanço entre a produção orgânica e a respiração, e a calcificação líquida se refere ao balanço carbonático entre a calcificação e a dissolução do  $\text{CaCO}_3$ . As CAUs ("Calcification

Accretion Units") representam unidades experimentais usadas para medir a variação na massa carbonática e orgânica, e também são valiosas para acessar a composição da comunidade bentônica de colonizadores em estágios sucessionais iniciais (VARGAS-ANGEL ET AL., 2015; REIS et al., 2016).

A metodologia de processamento e análise das CAUs ("Calcification Accretion Units") seguiu REIS et al. (2016), envolvendo a quantificação da produção de  $\text{CaCO}_3$ , descrição dos principais organismos colonizadores e a contribuição relativa de organismos construtores e não-construtores. Para a análise de diversidade e cobertura de organismos, as imagens das placas foram analisadas com o software ImageJ 1.48. Especialistas auxiliaram na identificação de grupos específicos de organismos (e.g. ascídias e briozoários). A área de cada organismo foi obtida através do contorno de seu perímetro na imagem, com uso de mesa digitalizadora. O percentual de cobertura foi relativo à área total da superfície da CAU ( $400 \text{ cm}^2$  - representando duas superfícies superiores e duas inferiores das duas placas que compõem cada CAU, com  $100 \text{ cm}^2$  cada).

Em laboratório, as placas foram lavadas separadamente (3x) em solução de hidróxido de cálcio em água deionizada (pH 10) para evitar a desmineralização de organismos, e posteriormente secas a  $60^\circ\text{C}$  por 5-6 dias. O material seco foi raspado, triturado em moinho de bolas, homogeneizado e pesado para obtenção da massa total (calcária + não calcária). Alíquotas (1 g, peso seco) das amostras pulverizadas foram analisadas para a determinação do percentual de massa calcária e não calcária. Estas alíquotas foram submetidas a tratamento ácido para desmineralização, por imersão em solução de ácido nítrico 5% até a completa dissolução do  $\text{CaCO}_3$ . O material remanescente (massa não calcária ou massa orgânica) foi seco e sua massa determinada em balança analítica. O valor da massa calcária foi obtido pela subtração do valor da massa total pelo da massa não calcária. Para determinação da produção anual líquida de  $\text{CaCO}_3$  ( $\text{g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$ ), os valores de massa calcária foram normalizados considerando a área total das CAUs e o tempo de submersão. Os dados foram explorados graficamente e com nMDS e PERMANOVAs, considerando que os sítios A5 e B1 correspondem a bancos de rodolitos, ao passo que os demais correspondem a recifes coralíneos (A1, A3, A6, B2 e B4) e recifes lateríticos adjacentes ao litoral (D15 e D21). Os nMDS e PERMANOVAs foram baseados em dados transformados (raiz quarta) e matrizes de distância de Bray-Curtis, com exceção do contraste (univariado) entre massas calcárias antes e após o rompimento (veja Tabela 6), baseado em distâncias Euclidianas.

## 2.2.6 Variáveis físico-químicas da água na malha amostral do projeto

A área de estudo abrange ca. 300 km da costa do Espírito Santo e Sul da Baía, com grande variabilidade em relação à influência de aportes continentais de sedimentos, fortes gradientes cross-shelf com variações marcantes na profundidade e na extensão da plataforma continental. Pela porção norte, a região recebe influência das águas oligotróficas da Corrente do Brasil. O aporte continental resulta em mistura sobre a plataforma, formando a água costeira. Regiões de maior profundidade na plataforma externa estão sujeitas a incursões de águas intermediárias frias e ricas em nutrientes (ACAS). Isto resulta em um cenário complexo e dinâmico nas características da coluna d'água e nos padrões de sedimentação em escala regional.

As variáveis físico-químicas da água na malha amostral do projeto foram obtidas através de duas abordagens complementares: (i) compilação de dados de sensoriamento remoto; (ii) perfilagens verticais na coluna d'água com CTD ou fundeios próximos ao leito marinho com duração de ca. 1 dia com sonda multiparamétrica (SeaGuard-Aanderaa). Perfilagens e fundeios foram feitos concomitantemente à coleta de amostras e dados da biota planctônica e bentônica. Este conjunto de variáveis não compõe os indicadores do tema Fundos Recifais e Bancos de Rodólitos mas é importante para subsidiar interpretações acerca da estrutura e funcionamento dos sistemas recifais e os possíveis efeitos do rompimento da barragem.

O estudo com o uso de imagens de sensoriamento remoto inclui as variáveis iPAR (Photosynthetic Active Radiation), Kd490 (Diffuse Attenuation Coefficient Kd490) e concentração de clorofila. Essas variáveis foram adquiridas na base ERDDAP (Easier Access to Scientific Data), repositório de dados administrado pela National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). Estes dados foram processados, calibrados e validados pela NASA's Ocean Biology Processing Group (OBPG) (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/>). Os valores de SST (4 microns – nighttime) (Sea Surface Temperature), foram adquiridos na PO.DAAC (Physical Oceanography Distributed Active Archive Center), repositório responsável por disponibilizar dados oceanográficos para comunidade científica e a NASA. Este repositório é administrado pelo Jet Propulsion Laboratory (JPL). Os parâmetros SST, iPAR, Kd490 e clorofila são produtos do sensor MODIS. A resolução espacial de todas as imagens representadas nos mapas é de 16 km<sup>2</sup>. O cálculo dos valores destas variáveis para cada ponto amostral foi calculado como a média de 4 pixels, utilizando uma máscara poligonal quadrada de 64 km<sup>2</sup>. A resolução temporal das imagens produzidas é de 2 dias (i.e. o satélite faz o imageamento da mesma área a cada 2 dias). Todas as variáveis foram inicialmente compiladas com frequência mensal e representadas nos mapas como médias semestrais, sendo o período de dezembro a maio rotulado como verão e o período de junho a novembro rotulado como inverno.

### 2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

Não houve nenhuma alteração significativa.

## 3 RESULTADOS DOS INDICADORES

Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest e obtidos ao longo do monitoramento (setembro/2018 – setembro/2022) na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito clarificar e sintetizar a historicidade dos resultados, interpretação e conclusões do monitoramento, promovendo o acompanhamento espaço-temporal da qualidade ambiental e biodiversidade, além de configurarem importantes ferramentas de suporte a gestores ambientais. A partir destes indicadores, pode-se identificar os impactos com relação direta ou indireta ao rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana (MG).

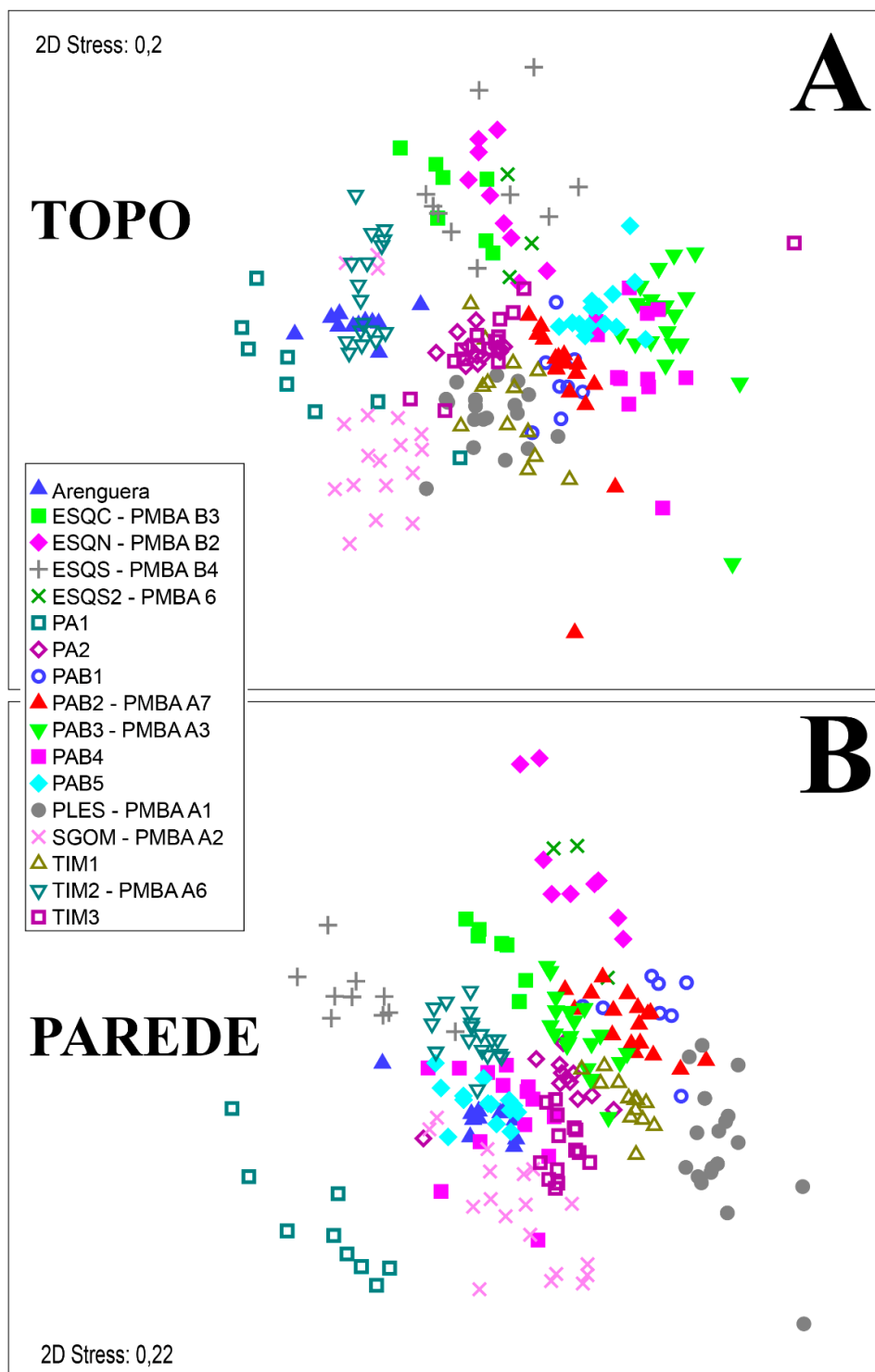
Os indicadores do PMBA/Fest vêm se consolidando ao longo de quatro anos de monitoramento, onde seus principais resultados foram discutidos em todos os relatórios técnicos entregues até o presente,

entretanto a partir do novo modelo de relatório solicitado via ofício SEI nº 85/2022-CTBio/DIBIO/ICMBio, proposto via ofício FR.2023.0214 (SEI13515133) e aprovado via ofício SEI nº4/2023-CTBio/DIBIO/ICMBio, a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue.



### 3.1 COBERTURA BÊNTICA DE RECIFES CORALÍNEOS

Figura 10: **Variação espaço-temporal ao nível dos sítios amostrais. Diagrama de ordenação nMDS com todos os dados comparáveis disponíveis para a região de estudo.** Os sítios abrangidos pelo PMBA/Fest estão discriminados com o código “PMBA” na legenda lateral. Painel A= Topo; Painel B= Parede. Observe que, apesar da cobertura ampla (17 sítios com entre 2 e 16 anos de dados), o diagrama revela claramente a “identidade” dos sítios, que possuem e mantêm uma estrutura de comunidades própria.



A primeira rodada de ordenações visou examinar a variabilidade espaço-temporal no recobrimento bêntico ao nível dos sítios, em toda a região de estudo, considerando o recobrimento percentual pelos quatro grupos funcionais de corais (Figura 10) e nove categorias bênticas (macroalgas, CCA, turf, gorgônias, esponjas e ascídias, zoantídeos, cianobactérias, outros organismos e sedimentos). Foram utilizados todos os dados do PELD Abrolhos, antecedentes (a partir de 2006) e posteriores ao PMBA/Fest (~53.000 amostras), bem como todas as amostras de cobertura bêntica obtidas no âmbito do PMBA/Fest a partir de 2018 (~28.000 amostras).

Apesar da cobertura espaço-temporal expressiva, que possivelmente representa a maior base de dados padronizados de cobertura recifal no Atlântico Sul (17 sítios, 2-16 anos de amostragens), observou-se uma discriminação consistente dos sítios nos diagramas de ordenação (Figura 10), as quais foram confirmadas por PERMANOVAs “pairwise” (par-a-par) de 1 fator (sítio), para cada habitat. Essas PERMANOVAs, que abrangeram todos os 136 pares de sítios (272 contrastes, considerando os dois habitats), revelaram estrutura de comunidades bênticas similares apenas entre as paredes do sítio ESQS2 – B6 e os sítios ESQNB2 e ESQS – B4). Essa similaridade entre as paredes de alguns sítios nos Recifes Esquecidos pode estar relacionada, de forma não mutuamente exclusiva (i.e., e/ou), às características morfológicas dos chapeirões dessa região (e.g., maior profundidade dos topos; paredes menos inclinadas), às características oceanográficas da Área B (e.g., variabilidade na turbidez) e à maior variação que esses sítios apresentaram após o início do monitoramento. Esse último aspecto é perceptível pela maior dispersão das amostras das paredes de alguns sítios da Área B (e.g., B2 e B3) no diagrama de ordenação, em relação às amostras da Área A (Figura 10B). Para os demais pares de sítios a cobertura foi significativamente diferente ( $p < 0,001$ ) em ambos os habitats.

**Conclui-se, portanto, que, apesar de apresentarem variação temporal relevante, os sítios recifais mantiveram uma estrutura de comunidades bênticas própria, singular** (alguns sítios abrangeram 16 anos de dados e não se sobrepueram às nuvens de pontos dos demais sítios). **Esse padrão, que chamaremos de “identidade” de sítio, é relevante por demandar cautela nas estratificações espaciais subsequentes.** Por exemplo, embora seja plausível explorar o efeito da distância da costa (e.g. contrastes entre sítios costeiros versus “*offshore*”), a exploração da evolução temporal (e.g., pré-versus pós-rompimento), que têm a maior relevância no âmbito do PMBA/Fest, deve ser idealmente realizada sítio a sítio, e não em estratos que agreguem diferentes sítios com base na sua proximidade ou outros atributos.

Tabela 1 : **Efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades recifais bênticas.** Resultados dos testes multivariados (PERMANOVA de dois fatores) baseados nos dados de cobertura dos topos e paredes dos nove sítios recifais monitorados no âmbito do PMBA/Fest (dados do primeiro semestre, incluindo dados pré-rompimento oriundos do PELD Abrolhos). O fator “Barragem” (2), fixo no modelo, se refere à codificação categórica das amostras como anteriores ou posteriores (2016 em diante) ao rompimento. \*\* = nem todos os níveis do segundo fator estão presentes em todos os sítios.

#### TOPOS

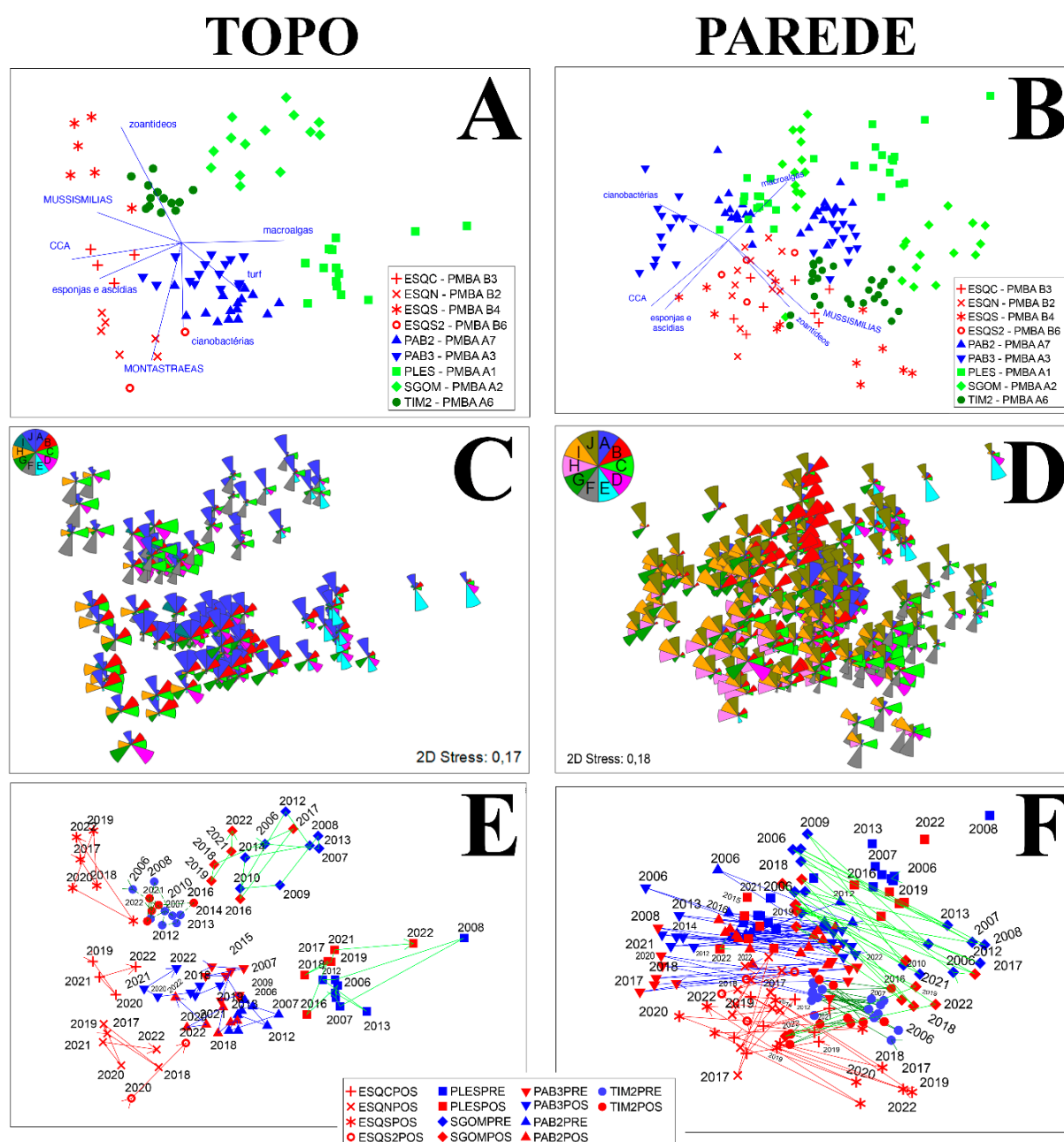
	df	SS	MS	Pseudo-F	P(MC)
(1) Sítio	8	18051	2256,3	42,294	<b>0,0001</b>
(2) Barragem	1	1202,3	1202,3	6,6228	<b>0,0037</b>
(1)x(2) **	4	721,96	180,49	3,3832	<b>0,0001</b>
Resíduos	75	4001,1	53,348		
Total	88	23976			

#### PAREDES

	df	SS	MS	Pseudo-F	P(MC)
(1) Sítio	8	22357	2794,7	12,922	<b>0,0001</b>
(2) Barragem	1	1581,6	1581,6	8,009	<b>0,0027</b>
(1)x(2) **	4	788,06	197,01	0,91094	0,539
Resíduos	160	34604	216,28		
Total	173	59331			

Figura 11 : Efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades recifais bênticas . Diagrama de ordenação (nMDS)

baseados nos dados obtidos nos nove sítios recifais abrangidos pelo PMBA/Fest [dados dos primeiros semestres, incluindo dados pré-rompimento (PRE) oriundos do PELD Abrolhos]. As “pizzas” representam a cobertura percentual dos quatro grupos funcionais de corais e das categorias de recobrimento mais representativas (>20% de recobrimento). Nos painéis A e B estão sobrepostas as correlações de Pearson (>0,5) com os dados de cobertura percentual (sem transformação) para topos e paredes, respectivamente. **Legendas para o Painel C:** A=Grupo funcional AGARICIAS (corais de crescimento rápido), B=MONTASTRAEAS (corais massivos de crescimento lento), C= MUSSISMILIAS (corais massivos endêmicos), D= MILLEPORAS (hidrocorais ramificados), E= Macroalgas, F= Zoantídeos, G=Cianobactérias, H= Esponjas e ascídias, I= Sedimentos, J=Turf. **Legendas para o Painel D:** A-H= como acima, I=CCA, J=Turf. A posição relativa das amostras foi mantida para os painéis de topo (A, C e E) e parede (B, D, F), respectivamente. Nos painéis C e D as categorias menos discriminantes não foram mostradas nas “pizzas”, visando facilitar a visualização dos padrões na estrutura das comunidades de cada estação amostral. **Legendas para os painéis D e F:** Azul=pré-rompimento (PRE); vermelho=pós-rompimento (POS). Alguns códigos de anos foram omitidos para facilitar a visualização e as cabeças de seta indicam o início e final de cada série.





Considerando os dados dos nove sítios recifais monitorados no âmbito do PMBA/Fest, incluindo os dados antecedentes à implementação do PMBA/Fest (provenientes do PELD Abrolhos e outros projetos), passamos a destrinchar a variação espaço-temporal na estrutura das comunidades bênticas. Para isso, buscamos, a seguir, identificar os elementos dominantes nos diferentes sítios e estratos espaciais (e.g., áreas A e B, recifes costeiros e “offshore”) e identificar a variação na estrutura das comunidades ao longo do tempo.

A Figura 11, que representa as amostras das coberturas dos recifes no espaço multidimensional do diagrama de ordenação por nMDS, revela padrões espaciais facilmente perceptíveis, destacados a seguir. Para os topos (Figura 11A e C), os sítios Timbebas (TIM2-A6), Esquecidos Sul (ESQS-B4) e Sebastião Gomes (SGOM-A1), costeiros, tendem a apresentar as maiores coberturas por zoantídeos, organismos alelopáticos a corais e típicos de locais rasos sob intensa sedimentação (TEIXEIRA et al. 2021). O sítio Pedra de Leste (PLES-A1), seguido por Sebastião Gomes (SGOM-A2), ambos costeiros, se destacam pela contribuição expressiva de macroalgas, organismos que podem ser alelopáticos a corais e que podem ser indicadores de sobrepesca (mas veja TEIXEIRA et al. 2021), e também pela menor contribuição de corais do grupo funcional MUSSISMILLIAS. Os sítios no Parcel dos Abrolhos (PAB2 e 3, A7 e A3) apresentaram contribuição mais expressiva de corais dos grupos funcionais MILLEPORAS e MONTASTRAEAS, ao passo que o sítio mais central dos Recifes Esquecidos (ESQC-B3) apresentou contribuição mais importante de esponjas e ascídias.

A estrutura de comunidades das paredes foi, de maneira geral, mais homogênea do que a dos topos (Figura 11B e D). Os sítios Timbebas (TIM2-A6), Esquecidos Sul (ESQS-B4) e Sebastião Gomes (SGOM-A1) apresentaram coberturas importantes de corais do grupo funcional MUSSISMILLIAS (especialmente *M. harti*), ao passo que Sebastião Gomes (SGOM-A2) se destacou pela contribuição de corais do grupo funcional MONTASTRAEAS. Os sítios nos Recifes Esquecidos (ESQC-B3) tenderam a apresentar contribuição importante de esponjas e ascídias e se assemelharam aos sítios no Parcel dos Abrolhos (PAB2 e 3, A7 e A3) pela contribuição mais expressiva de turf em relação a macroalgas.

A variabilidade temporal na estrutura das comunidades tendeu a ser maior nas paredes, uma vez que esse habitat possui participação maior de organismos de crescimento rápido e ciclo de vida curta (e.g., macroalgas, turf). A maior variabilidade das paredes dificulta a detecção de padrões inter-anuais, os quais ficam muito mais claros nos topos (Figura 11E e F).

Os sítios Esquecidos Sul (ESQUS – B4) e Esquecidos Norte (ESQN – B2), a despeito de contarem com séries temporais mais curtas em relação aos cinco sítios da Área A (seis *versus* 16 anos de monitoramento), apresentaram as maiores dispersões nos diagramas de ordenação, ao passo que o sítio Timbebas (TIM2 – A6), o mais afastado da foz do Rio Doce (localizado ao norte da Ponta da Baleia, BA), apresentou a menor variação ao longo do tempo. Essa maior estabilidade temporal de A6 foi registrada nas paredes (Figura 11F) e, principalmente, nos topos (Figura 11E). Os topos dos sítios “offshore” do Parcel dos Abrolhos (PABs-A3 e A7) e de Pedra de Leste (PLES-A1), no arco costeiro,

também apresentaram deslocamento temporal relevante, nitidamente maior do que o do topo do recife costeiro Sebastião Gomes (SGOM – A2), dominado por zoantídeos.

Para uma avaliação mais objetiva das possíveis mudanças associadas ao período após o rompimento da barragem utilizamos PERMANOVAs de dois fatores (uma para cada habitat), explorando o efeito dos sítios (fator aleatório, 9 níveis) e do rompimento da barragem (fator fixo, 2 níveis: Pré e Pós rompimento) (Tabela 1). Trata-se de uma abordagem conservadora, uma vez que quatro dos nove sítios recifais monitorados no âmbito do PMBA/Fest (os sítios da Área B – Recifes Esquecidos) só possuem séries de dados iniciadas três anos após o rompimento da barragem. As PERMANOVAs confirmaram a forte identidade dos sítios e revelaram efeito significativo do rompimento e interações significativas entre os dois fatores, exceto nas paredes.

Tabela 2 : **Efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades recifais bênticas . Resultados dos testes multivariados** (PERMANOVA de dois fatores) **baseados nos dados de cobertura dos cinco sítios recifais com dados pré e pós rompimento.** O fator “Barragem” (2), fixo no modelo, se refere à codificação categórica das amostras como anteriores ou posteriores (2016 em diante) ao rompimento.

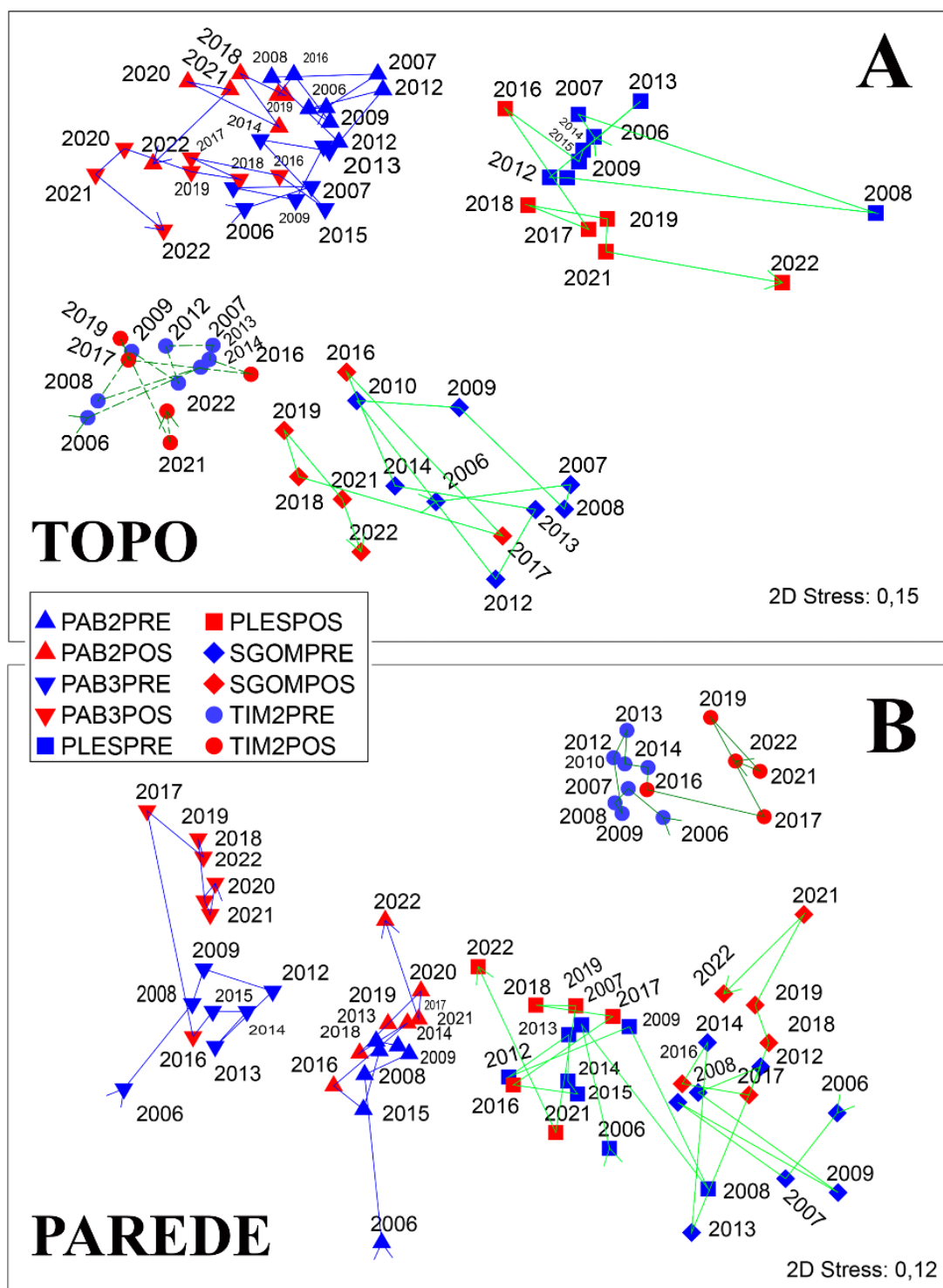
#### TOPO

	df	SS	MS	Pse.-F	P(MC)
(1) Sítio	4	11282	2820,5	54,37	<b>0,0001</b>
(2) Barragem	1	1202,3	1202,3	6,62	<b>0,0041</b>
(1)x(2) **	4	721,96	180,49	3,48	<b>0,0002</b>
Resíduos	61	3164,2	51,871		

#### PAREDE

	df	SS	MS	Pse.-F	P(MC)
(1) Sítio	4	14779	3694,7	16,58	<b>0,0001</b>
(2) Barragem	1	1581,6	1581,6	8,01	<b>0,0004</b>
(1)x(2) **	4	788,06	197,01	0,89	0,5834
Resíduos	128	28527	222,87		

Figura 12 : Efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades recifais bênticas . Diagramas de ordenação (nMDS) baseados nos dados de cobertura dos cinco sítios recifais com dados pré e pós rompimento (primeiro semestre, incluindo dados pré-rompimento oriundos do PELD Abrolhos). O **Painel A** se refere aos dados de topo e o **Painel B** se refere aos dados das paredes. As cabeças de seta indicam o início e o final de cada série. Alguns anos não estão plotados junto às amostras para melhorar a legibilidade. As amostras pré (PRE) e pós (POS) rompimento estão codificadas em azul e vermelho, respectivamente.



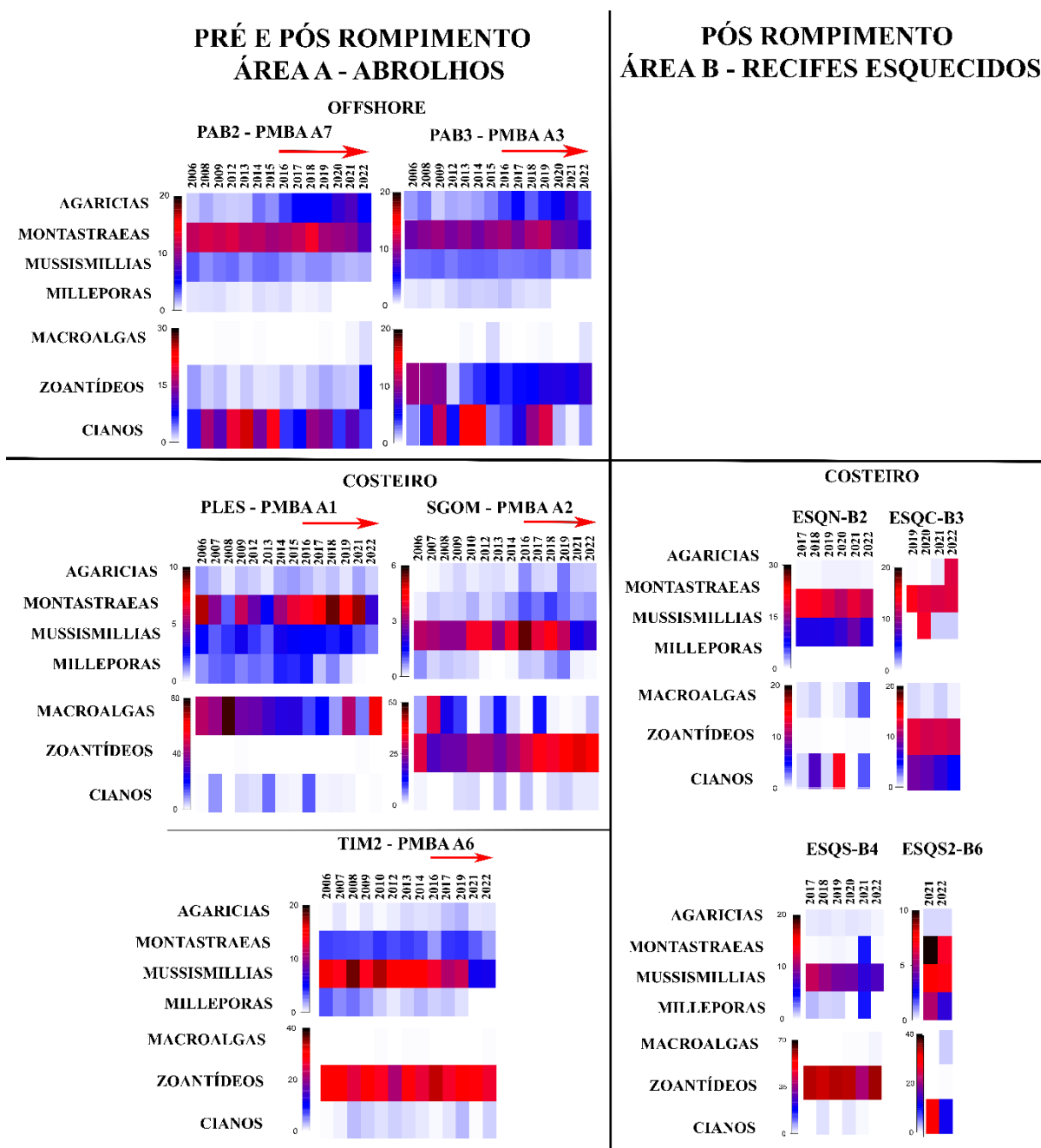
Em caráter complementar, realizamos novas ordenações, considerando apenas os quatro sítios para os quais existem dados anteriores e posteriores ao rompimento, todos na Área A (Abrolhos e

adjacências). Essas novas ordenações (Figura 12) confirmaram os resultados anteriores e apontam claramente para o efeito do rompimento da barragem na estrutura de comunidades recifais em Abrolhos e adjacências (Área A). Confirma-se também a menor variabilidade do topo de Timbebas (TIM2-A6), sítio mais afastado da foz do Rio Doce. Além disso, alguns padrões importantes para o dimensionamento e monitoramento do impacto do rompimento da barragem sobre os ecossistemas recifais ficaram evidentes. Embora a chegada de materiais associados ao rompimento da barragem (ocorrido em novembro de 2015) na Área A (Abrolhos e adjacências) tenha sido demonstrada para o ano de 2016 (CARDOSO et al., 2021), as alterações das posições relativas das amostras no espaço multidimensional começam a se intensificar em 2017 ou 2018 (Figura 12), confirmando nossa premissa inicial de que alterações em nível de comunidades/ecossistemas submetidas/os a estressores sub-letais se processam mais lentamente, com “lags” temporais e certa heterogeneidade espacial.

A partir das matrizes de similaridade usadas nas ordenações realizamos uma nova rodada de PERMANOVAs com o mesmo delineamento fatorial e separadamente para os habitats, também evidenciando o efeito do rompimento, sem interação significativa para as paredes (Tabela 2).



Figura 13 : Efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades recifais bênticas . Cobertura percentual dos quatro grupos funcionais de corais e de três categorias de recobrimento que compõe o indicador de cobertura bêntica nos topos dos nove recifes abrangidos pelo PMBA/Fest (considerando também dados pré rompimento obtidos pelo PELD Abrolhos). As linhas de cada elemento de cada painel representam os quatro grupos funcionais de corais e as categorias de organismos indicadores, ao passo que as colunas representam os anos. Os anos após o rompimento (apenas para a Área A) estão destacados com uma linha vermelha. Observe que as escalas dos valores das abundâncias diferem em cada elemento de cada painel, de maneira a facilitar a visualização da variação em cada categoria de organismos, separadamente, através da variação na temperatura da cor (branco= mínimo, azul= intermediário, vermelho=intermediário, preto = máximo).



Uma vez demonstrado que o rompimento da barragem afetou a estrutura das comunidades recifais, buscamos identificar quais organismos tiveram alterações na sua abundância, considerando os anos anteriores e posteriores ao evento (dados do primeiro semestre). Para isso, usamos plotagens múltiplas (“*shade plots*”) com os anos representados na dimensão vertical (colunas) e a cobertura percentual

máxima e mínima de cada grupo de organismos representada na dimensão horizontal, em escala de cor correspondendo à amplitude própria de cada sítio. Essa abordagem visa controlar a “identidade” dos sítios e permite visualizar a variação entre grupos de organismos menos (e.g., corais) e mais (e.g., macroalgas e zoantídeos) abundantes nos diferentes sítios (Figura 13). As séries temporais mais elucidativas são aquelas da Área A (Abrolhos e adjacências), por serem mais longas e, portanto, cobrirem a variabilidade registrada antes do rompimento da barragem, ou sejam, representam adequadamente a linha de base.

Ao longo do tempo, em todos os sítios, os corais do grupo funcional AGARICIAS tiveram sua cobertura relativa aumentada, aumento esse relacionado à perda de cobertura por parte dos outros grupos funcionais de corais. O grupo funcional AGARICIAS abrange espécies com colônias relativamente pequenas, de crescimento mais rápido e vida mais curta (e.g., *Agaricia* spp., *Favia gravida*, *Scolymia* spp.; veja Quadro 1), as quais tendem a ser relativamente mais resilientes. Algumas espécies desse grupo funcional se reproduzem continuamente ao longo do ano e são protagonistas na colonização primária por corais. Apesar de ser o grupo funcional com maior variabilidade na cobertura relativa, ao longo de toda a série de dados, o aumento na cobertura desses corais foi consistentemente maior após o rompimento. Por outro lado, a cobertura relativa pelos corais do grupo funcional MONTASTRAEAS, que abrange corais longevos e de crescimento lento, com esqueletos de alta densidade, tendeu a diminuir em todos os sítios após o rompimento, especialmente a partir de 2019 (ou seja antes do evento de branqueamento; TEIXEIRA et al., 2020). Um padrão semelhante de declínio também foi registrado para o grupo funcional das MUSSISMILIAS, que abrange espécies massivas de crescimento intermediário e alta longevidade, porém com inflexão a partir de 2018 ou 2019, a depender dos sítios. Após o rompimento da barragem é facilmente perceptível o declínio do grupo funcional MILLEPORAS, hidrocorais ramificados de crescimento muito rápido. No entanto, a aceleração no declínio desse grupo funcional se intensificou a partir de 2021, possivelmente como consequência das anomalias térmicas de 2019-2020 (TEIXEIRA et al., 2020).

A abundância relativa de zoantídeos, organismos associados a sítios rasos sob intensa sedimentação, foi espacialmente heterogênea. A variação temporal, por outro lado, foi pontuada, especialmente nos locais onde a cobertura relativa por parte desse grupo é relativamente baixa (<5-10%). A exceção notável à variabilidade pontuada foi o recife Sebastião Gomes (A2), onde foi registrado aumento contínuo na participação relativa por esses organismos, a qual é associada ao descarte de sedimentos dragados nas proximidades (TEIXEIRA et al. 2021). Não foi detectada nenhuma associação entre as variações nas abundâncias de zoantídeos e o rompimento da barragem, possivelmente porque os impactos desse evento no ecossistema recifal não se processam em função de aumento significativo na deposição sedimentar (que favorece os zoantídeos), mas principalmente pela dispersão de partículas muito pequenas e materiais dissolvidos, que afetam negativamente os corais (CARDOSO et al. 2021). A participação das cianobactérias filamentosas, cuja cobertura média, no geral, foi relativamente baixa, também foi temporalmente pontuada, possivelmente relacionada a variações meteoceanográficas e ondas de calor (“*heatwaves*”) (RIBEIRO et al. 2018, 2022). Por fim, a abundância relativa de macroalgas foi espacialmente heterogênea e relacionada com a proximidade à costa, com

baixa cobertura desse grupo nos sítios offshore e em Timbebas (A6). Nos dois sítios costeiros da Área A (A1 e A2) e em Esquecidos Norte e Central (B3 e B4), a variação temporal na abundância relativa de macroalgas, embora pontuada, pode ter sido influenciada pelas alterações consequentes do rompimento da barragem, uma vez que foram registradas oscilações maiores a partir de 2016. Trata-se de um componente das comunidades recifais cuja resposta aos impactos do rompimento, do clima e de outros indutores merece maior investigação.

Figura 14 : **Ortomosaicos** . Contrastes temporais (2021 - vermelho *versus* 2022-azul) na cobertura percentual por corais (coluna da esquerda), macroalgas (coluna central) e cianobactérias filamentosas (coluna da direita) nos dois sítios (A1=Pedra de Leste - PLES; A7=Parcel dos Abrolhos - PAB 2) amostrados com ortomosaicos e fotoquadrados.

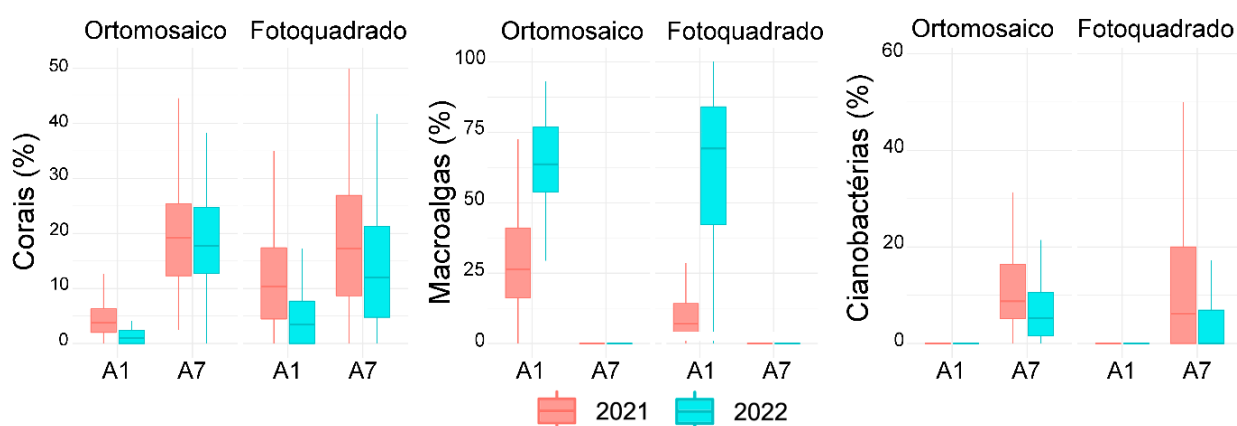


Figura 15 : Ortomosaicos de um sítio do Parcel dos Abrolhos (PAB2, A7) construídos com dados de 2021 (A) e 2022 (B).

Além de fornecer um panorama geral da paisagem do fundo recifal, alterações na cobertura são facilmente visualizadas quando se destaca pequenas unidades de área (veja quadrados brancos). Por exemplo, compare as áreas D com F e as áreas C com E, mostrando corais que sofreram lesões e diminuição aguda de área.

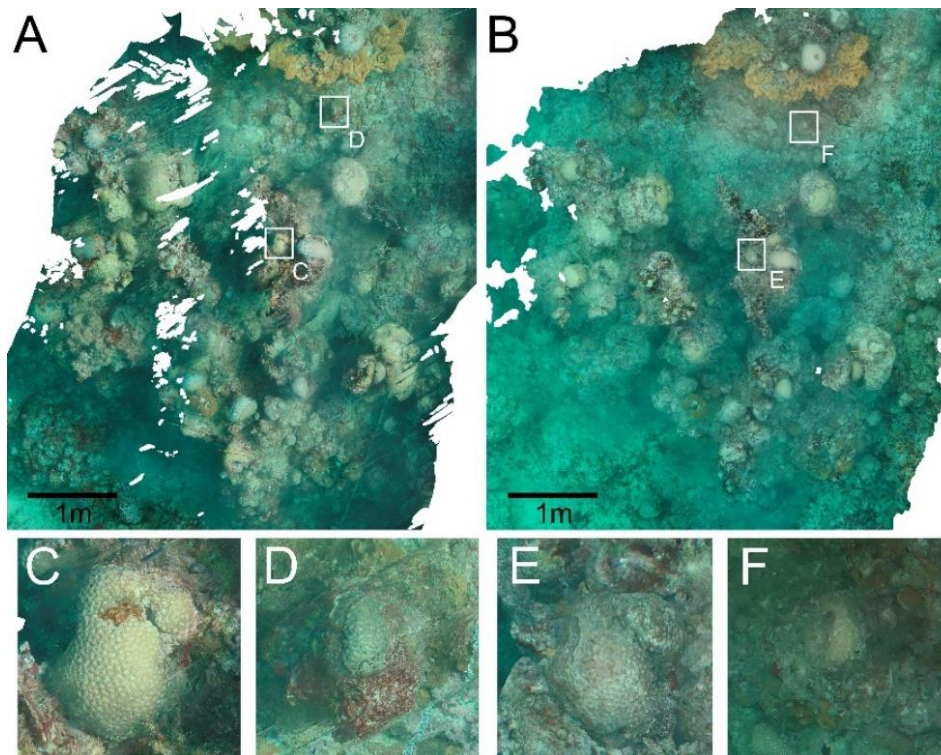
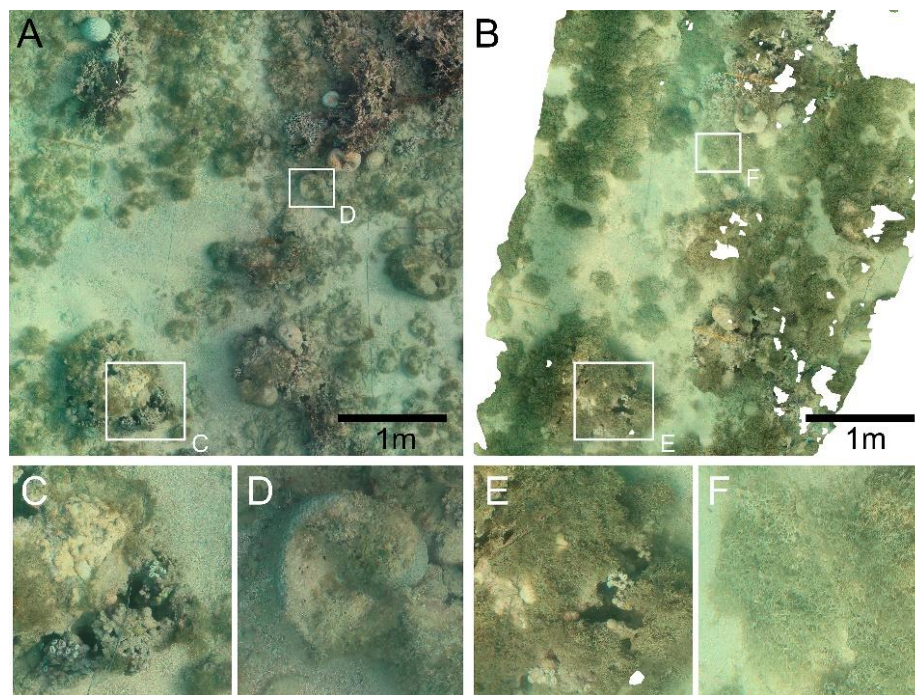




Figura 16 : **Ortomosaicos de um trecho do recife Pedra de Leste (PLES, A1) construídos com dados de 2021 (A) e 2022 (B).** Além de fornecer um panorama da mudança expressiva na paisagem do fundo recifal, com “bloom” de macroalgas (*Dyctiotacea*) em 2022, a tendência também é facilmente visualizada nos destaques de pequenas unidades de área (quadrados brancos). Por exemplo, compare as áreas D com F e as áreas C com E, mostrando corais sobrepostos por macroalgas.



Os ortomosaicos abrangem menos sítios amostrais e possuem cobertura temporal mais restrita e, portanto, representam um componente complementar à amostragem com fotoquadrados. As estimativas de cobertura com ortomosaicos estão sendo desenvolvidas em caráter piloto, dado seu potencial como abordagem de monitoramento em longo prazo. No relatório anterior (RRDM, 2022) utilizamos ortomosaicos como paisagens de referência para avaliar a precisão e acurácia de amostragens de cobertura recifal baseadas em fotoquadrados e outros dois protocolos amostrais (AGRRA e ReefCheck). Para isso, usamos os sítios Pedra de Leste (A1) e Parcel dos Abrolhos (A7), que são heterogêneos quanto à proporção de corais e algas, no sentido de explorar a contexto-dependência dos contrastes entre métodos. Resumidamente, além de revelar a alta capacidade de detecção de alterações temporais com fotoquadrados, **esses primeiros contrastes demonstraram que os ortomosaicos possuem alto poder de discriminação da cobertura entre sítios** (RRDM, 2022).

**Aqui, completamos o quadro piloto de exploração dos ortomosaicos para avaliação de mudanças temporais**, uma abordagem inédita. Nesse sentido, construímos e comparamos paisagens dos mesmos dois sítios (A1 e A7), com imageamentos feitos em 2021 e 2022, e **verificamos que os ortomosaicos apresentaram uma capacidade de discriminação de alterações temporais equivalente à dos fotoquadrados** (Figura 14). Por exemplo, a variação nas coberturas de macroalgas (+) e corais (-) entre 2021 e 2022 para os sítios A1 (ANOVA de 2 fatores,  $p < 0,0001$  para método e tempo) e A7 (ANOVA de 2 fatores, F:  $p < 0,001$ ) foi igualmente detectada com uso de ortomosaicos e

fotoquadrados. Uma avaliação mais definitiva que abranja a estrutura da comunidade ou organismos cuja variação tenda a ser mais lenta ou cuja cobertura percentual seja muito baixa (e.g., esponjas), ainda depende de séries temporais mais longas de ortomosaicos. Além disso, também já é possível inferir a alta capacidade de detecção de mudanças temporais quando se isola, na paisagem, organismos em pequenas unidades de área (Figura 15).

### 3.2 COBERTURA BÊNTICA DE BANCOS DE RODOLITOS

Figura 17 : **Diagramas de ordenação (nMDS) com todos os dados de cobertura dos bancos de rodolitos das áreas A** (adjacências de Abrolhos), **C** (Foz do Rio Doce) e **D** (APA Costa das Algas). Os **painéis A e B** mostram a ordenação baseada em dados de cobertura pelos grupos funcionais de algas e demais categorias de recobrimento e o **painel C** mostra a ordenação baseada em dados de cobertura pelos grandes grupos taxonômicos e demais categorias de recobrimento. No **Painel A** estão sobrepostas as correlações de Pearson ( $>0,5$ ) com os dados de cobertura percentual (sem transformação). **Legenda para o Painel B:** A=sedimentos, B=Fotossintetizantes filamentosos, C=Macroalgas foliosas corticadas, D=Macroalgas corticadas, E=Macroalgas coriáceas, F=Algas crostosas, G=Macroalgas foliáceas. **Legenda para o Painel C:** A=Chlorophyta, B=Ochrophyta, C=Rhodophyta, D=turf. As categorias menos discriminantes não foram mostradas nas pizzas, para facilitar a visualização dos padrões na estrutura das comunidades de cada estação amostral.

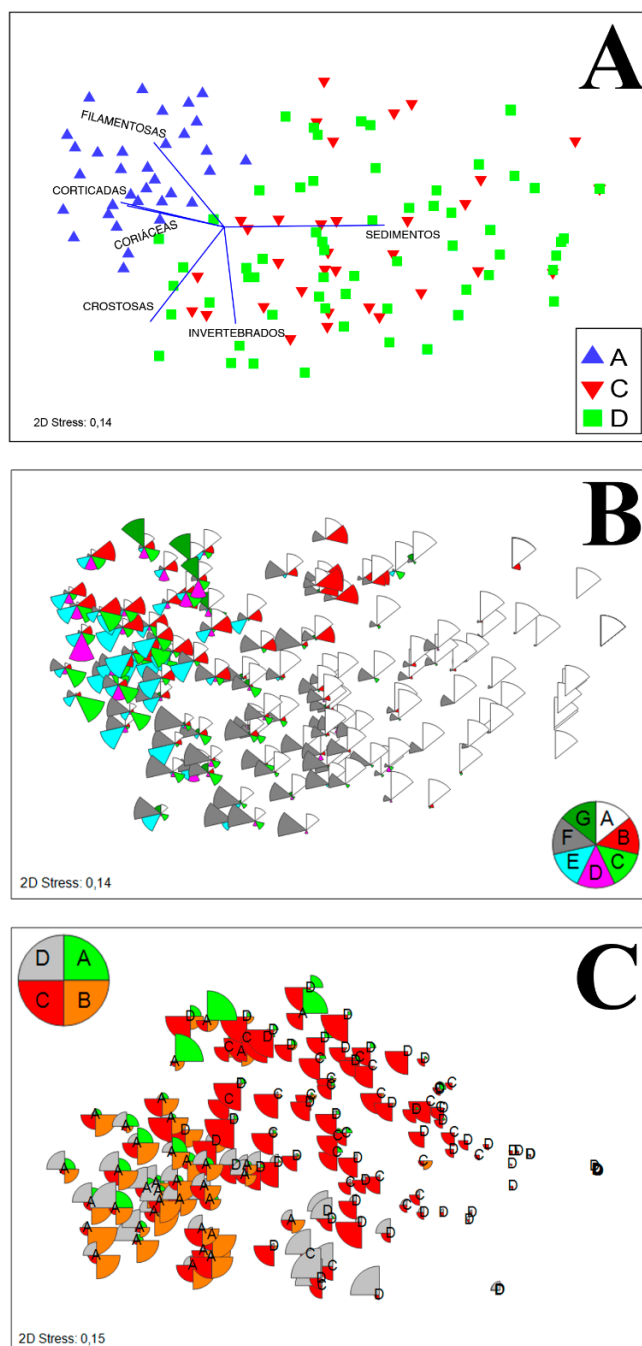


Figura 18 : **Diagramas de ordenação (nMDS) com todos os dados de cobertura** (grupos funcionais de algas e outras categorias de recobrimento) **dos bancos de rodolitos da área A** (adjacências de Abrolhos), **obtidos após o rompimento da barragem**. No **Painel A** estão sobrepostas as correlações de Pearson ( $>0,5$ ) entre as posições relativas das amostras no diagrama e os dados de cobertura percentual (sem transformação). **Legenda para o Painel B**: A=fotossintetizantes filamentosos, B=Macroalgas foliosas corticadas, C=Macroalgas corticadas, D=Macroalgas coriáceas, E=Algas crostosas; F=Macroalgas foliosas (algumas categorias não foram mostradas nas “pizzas” para facilitar a visualização dos padrões mais heterogêneos nas comunidades de cada estação amostral). No Painel C, as cabeças de seta indicam o início e o final de cada série e alguns anos não estão plotados junto às amostras para melhorar a legibilidade (sem.= semestre) (alguns semestres possuem 2 amostras, provenientes do regime trimestral de amostragem inicialmente adotado).

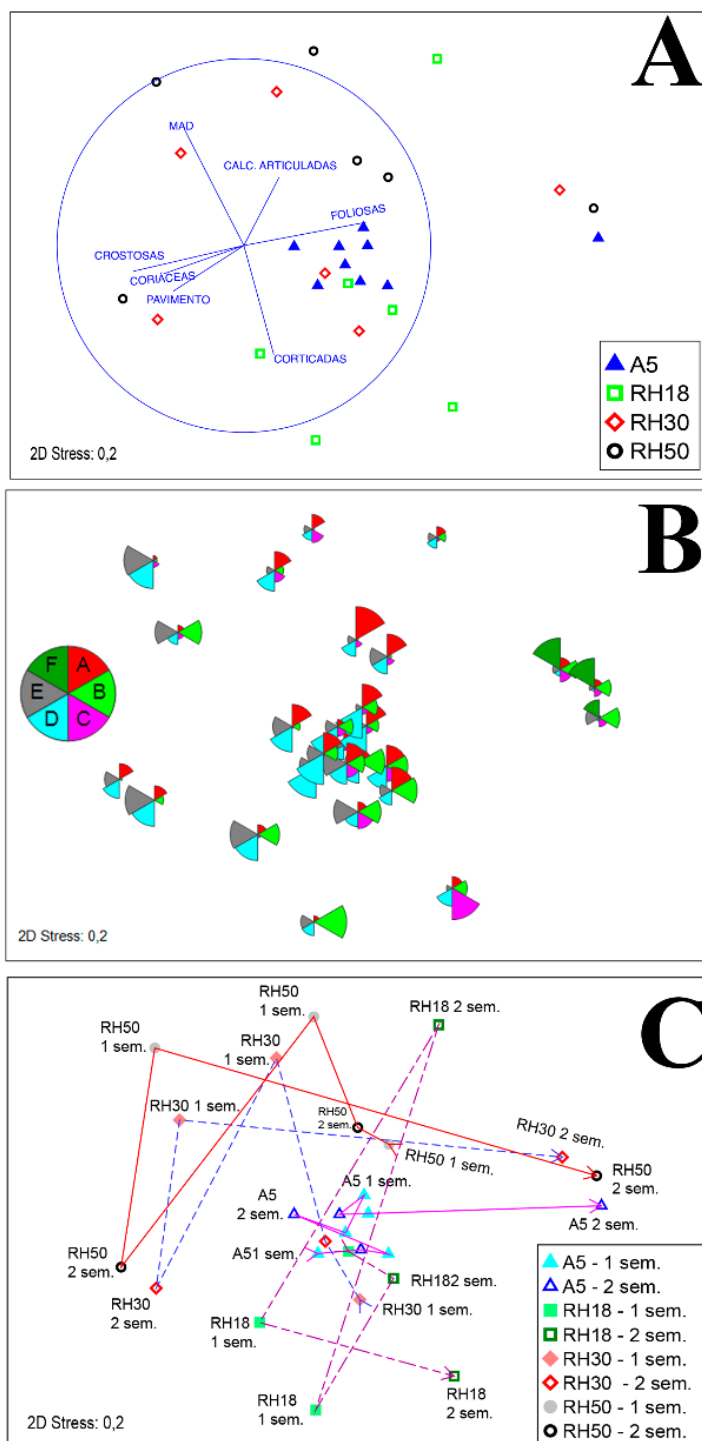
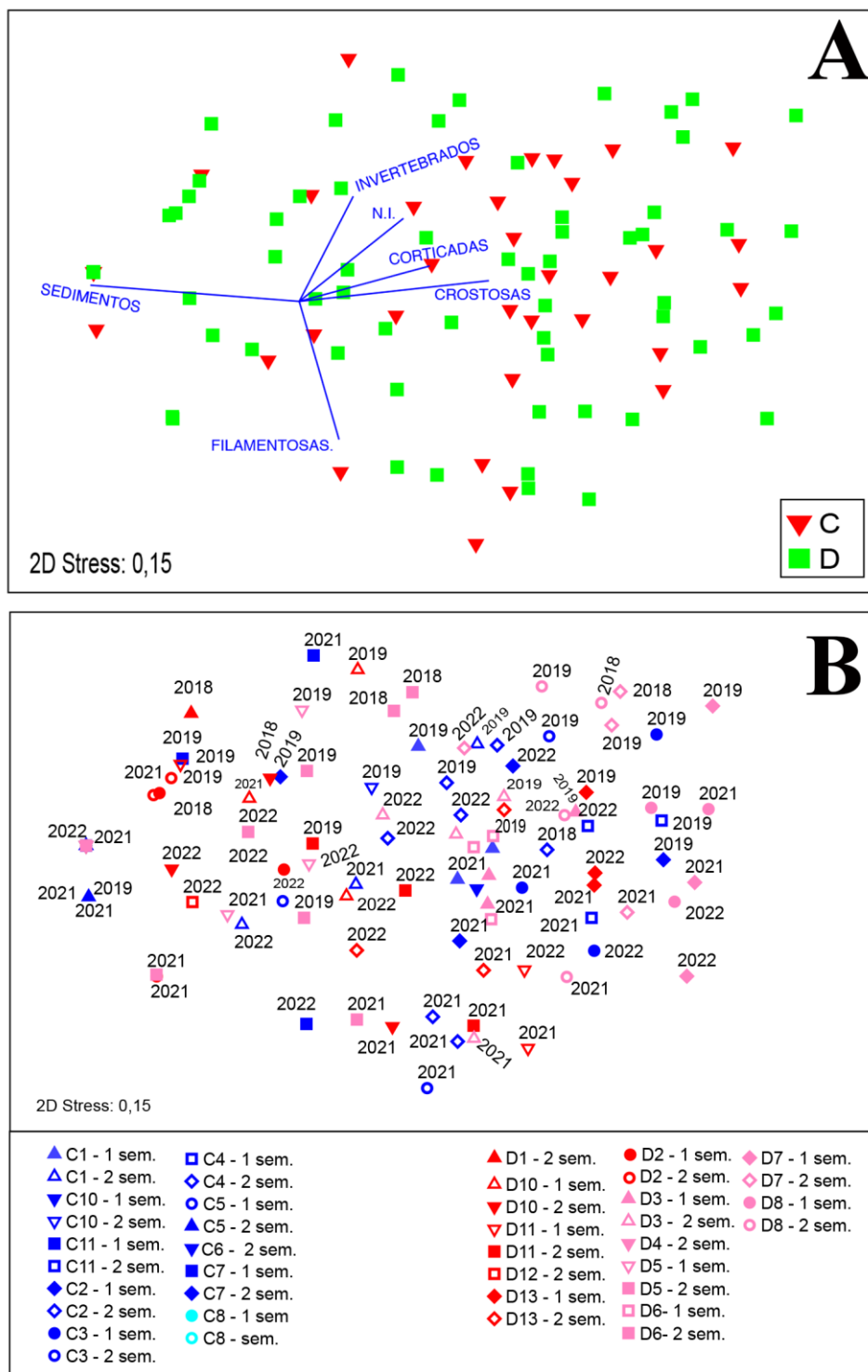




Figura 19 : **Diagramas de ordenação (nMDS) com todos os dados de cobertura** (grupos funcionais de algas e outras categorias de recobrimento) **dos bancos de rodolitos das áreas C (Foz do Rio Doce) e D (APA Costa das Algas)**. Todos os dados foram obtidos após o rompimento da barragem. **Painel A:** sítios discriminados por área (C e D) com sobreposição das correlações de Pearson ( $>0,5$ ) entre as posições relativas das amostras no diagrama e os dados de cobertura percentual (sem transformação). **Painel B:** amostras discriminadas por sítios e semestre (sem.). Alguns semestres possuem 2 amostras, provenientes do regime trimestral de amostragem inicialmente adotado.



A análise da cobertura bêntica de bancos de rodolitos está baseada na avaliação da variação espaço temporal na cobertura por grupos funcionais de macroalgas e outras categorias de recobrimento bêntico. Ressaltamos que as análises de diversidade da flora e de invertebrados associada aos bancos de rodolitos, bem como da estrutura e dos sedimentos internos dos nódulos, foram apresentadas em relatórios anteriores (RRDM 2021; RRDM 2022) e não serão detalhadas no presente documento. No entanto, reiteramos, resumidamente, que foram identificados 47 táxons de macroalgas associadas a rodolitos nas Áreas C e D (Foz do rio Doce e APA Costa das Algas, respectivamente), 13 deles correspondendo a algas coralináceas incrustantes (formadoras de rodolitos). Esse inventário revelou uma flora cerca de três vezes mais pobre do que aquela encontrada nos rodolitos nas adjacências de Abrolhos, descrita por BRASILEIRO et al. (2016). Além disso, os relatórios anteriores (e.g., RRDM, 2022) apresentaram um quadro detalhado sobre a estrutura das comunidades ao nível de gêneros e espécies, tendo revelado variação espacial (i.e., entre sítios e áreas) latitudinal e relacionada à distância da costa e à turbidez. Essas análises espaciais, baseadas em modelos de redundância (dbRDA), bem como a descrição detalhada dos bancos de rodolitos ao largo da foz do Rio Doce, apresentada em relatórios anteriores e já publicada (HOLZ et al. 2020), não serão aqui repetidas, no sentido de manter o foco na análise dos indicadores.

Referente à variação temporal e efeito do rompimento sobre a estrutura das comunidades, a primeira rodada de ordenações com os todos os dados de cobertura dos bancos de rodolitos, obtidos após o rompimento, visou examinar a variabilidade espacial ao nível dos sítios e das três áreas onde esse ecossistema vêm sendo monitorado: 1) Área A (adjacências de Abrolhos, em uma malha “cross-shelf” entre 8 e 50 metros de profundidade – pontos A5 e RH); 2) Área C (Foz do Rio Doce), em pontos na plataforma externa; 3) Área D (APA Costa das Algas), em pontos dispostos na plataforma média e externa (os pontos mais costeiros não apresentaram rodolitos). Os dados de cobertura foram agregados em seis grupos funcionais de algas e nas frações de cobertura por invertebrados (principalmente esponjas e briozoários), material algal em decomposição (MAD), sedimento e pavimento consolidado (HOLZ et al., 2020). Uma rodada complementar de ordenações contemplou os grandes grupos taxonômicos (Ochrophyta, Rhodophyta e Chlorophyta), turf e as frações de cobertura por invertebrados (principalmente esponjas e briozoários), sedimento e pavimento consolidado.

A estrutura das comunidades epibiontes dos bancos de rodolitos da Área A (adjacências de Abrolhos) se destacou claramente daquela registrada nas áreas C (Foz do Rio Doce) e D (APA Costa das Algas) (Figura 17A). A Área A apresentou dosséis mais expressivos de macroalgas, em oposição à expressiva cobertura sedimentar (i.e., menor densidade de nódulos) e maior contribuição de invertebrados sésseis (especialmente esponjas e briozoários) e macroalgas corticadas nestas últimas áreas (Figura 17B). O diagrama também revela, claramente, a similaridade entre os pontos amostrais das Áreas C e D, cujas amostras aparecem consistentemente sobrepostas (Figura 17A e B). Apesar da ausência de uma linha de base, não há evidências que permitam associar esse contraste espacial [impacto (Áreas C e D) *versus* “controle” (Área A)] ao rompimento da barragem, confirmando a premissa de que as possíveis alterações nessas comunidades, em decorrência desse evento, devem ser endereçadas a partir da aquisição e interpretação de séries temporais representativas. Com relação à estrutura taxonômica

(Figura 17C), fica claro o contraste entre as áreas A, com assembleias mais diversificadas e participação expressiva de algas pardas (Ochrophyta), e as áreas B e C, com assembleias menos diversificadas e participação expressiva de macroalgas vermelhas (Rhodophyta). Em todas as áreas, a participação de algas verdes foi relativamente baixa. Um outro aspecto a destacar foi a menor “identidade” dos sítios em bancos de rodolitos, visto que as amostras estiveram mais dispersos, em suas respectivas áreas, no diagrama de ordenação (veja Figura 18C e Figura 19B).

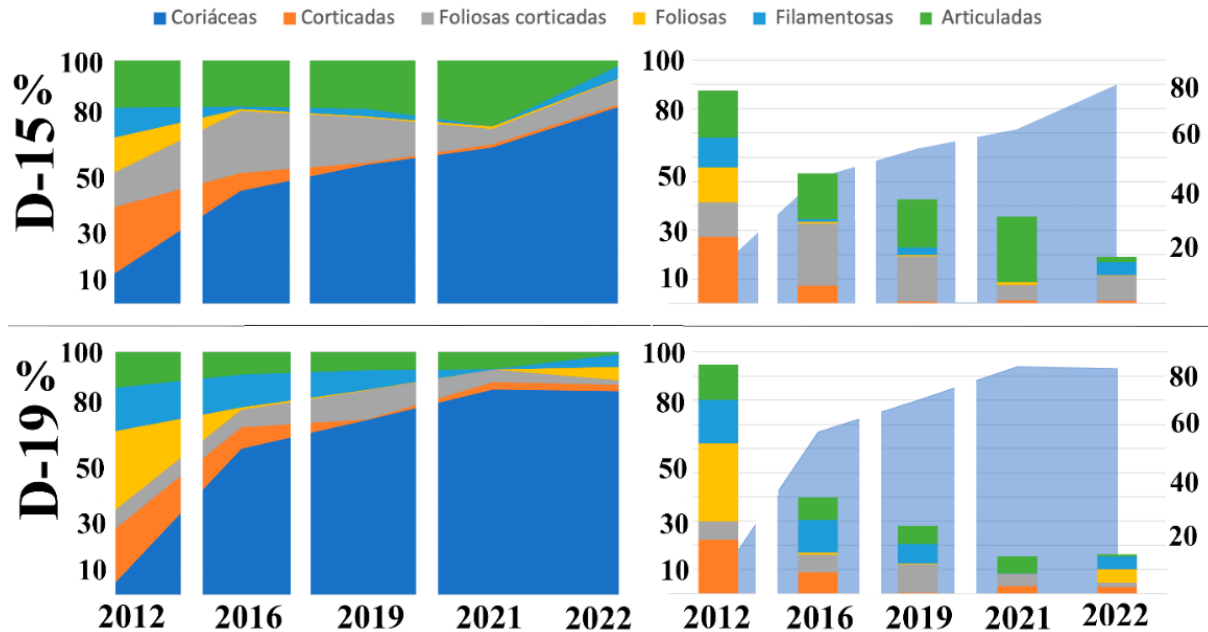
No sentido de explorar a variação temporal no recobrimento dos bancos de rodolitos, tanto sazonal quanto inter-anualmente, foram feitas novas ordenações (nMDS) que consideraram, separadamente, os dados de recobrimento pelos grupos funcionais de algas e outras categorias das áreas A (Abrolhos) (veja Quadro 2) e C e D (Figura 19). Essa estratificação em duas áreas se mostrou pertinente em função do forte contraste latitudinal registrado na rodada anterior de ordenações, com todos os dados considerados conjuntamente (veja Figura 17A).

A despeito da extensão do gradiente “cross-shelf” coberto pelas amostragens (8 a 50 m de profundidade), não foi possível identificar um padrão espacial marcante de variação espacial na estrutura funcional das comunidades da Área A (Figura 18A e B). Ou seja, houve um nível mais baixo de “identidade” dos sítios, pelo menos quando se compara com aquela dos sítios dos recifes (veja Figura 10). No entanto, mesmo com essa relativa homogeneidade, observa-se maior representatividade de algas crostosas e material algal em decomposição (MAD) associada aos sítios mais profundos RH30 e RH50, a 30 e 50 m de profundidade respectivamente, bem como maior representatividade de algas corticadas (e.g., *Codium* spp.) no sítio RH18, a 18 m de profundidade. A maior exposição das algas crostosas que recobrem os nódulos parece estar relacionada aos dosséis algais menos expressivos nos sítios mais profundos. A menor fragmentação dos bancos de rodolitos e a sazonalidade marcante no seu recobrimento, que é predominantemente algal, juntamente com a menor complexidade e maior homogeneidade estrutural desse ecossistema (AMADO-FILHO et al., 2012; MOURA et al. 2021), parecem condicionar o menor nível de “identidade” dos sítios amostrais. Temporalmente, destacamos a menor variabilidade no sítio mais raso, A5, que contrastou com a de alguns sítios com variações mais acentuadas (e.g., RH50, RH18) (Figura 18A e C). Apesar da variação temporal relevante, com uma dimensão sazonal evidente em alguns sítios, aparentemente associada à variação nos dosséis de macroalgas coriáceas (e.g., *Stypopodium* spp. e *Sargassum* spp. em RH30) e corticadas (e.g., *Codium* spp. em RH18), não detectamos variação interanual significativa (PERMANOVA, n.s.; resultados não apresentados).

Nas áreas C e D, a variação na estrutura das comunidades epibiontes dos bancos de rodolitos foi ainda mais homogênea, tanto espacial quanto temporalmente. A menor contribuição de algas que formam dosséis mais extensos explica essa maior homogeneidade, visto que quanto mais altos os dosséis macroalgais, maior é o efeito da sazonalidade ou de eventos de natureza mais estocástica (e.g., turbulência junto ao fundo, gerada por tempestades) que removem ou danificam as frentes. Além disso, a maior fração de sedimentos também parece atuar reduzindo a abundância de macroalgas, possivelmente em função dos sedimentos condicionarem maior mobilidade aos nódulos e abrasão nas macroalgas.

### 3.3 COBERTURA BÊNTICA DE RECIFES ADJACENTES AO LITORAL DA APA COSTA DAS ALGAS

Figura 20: Contrastes pré e pós rompimento da barragem de Fundão no recobrimento por diferentes grupos funcionais de macroalgas nos recifes adjacentes ao litoral da APA Costa das Algas. Os dois painéis representam visualizações alternativas do mesmo conjunto de dados.



Dados quantitativos sobre as comunidades bênticas da APA Costa das Algas, pretéritos ao rompimento da barragem, são escassos. Essa região foi alvo de estudos comparáveis (amostragens com fotoquadrados) em 2012 (pré-rompimento) (SCHERNER et al., 2013) e 2016 (logo após o rompimento) (GOLDER, 2016), em apenas dois dos sítios monitorados após o evento (D15 e D19) (veja detalhes em RRDM (2022)). Assim, restringimos os contrastes pré *versus* pós rompimento a esses dois sítios, utilizando apenas dados do primeiro semestre, no sentido de controlar efeitos sazonais (a sazonalidade foi extensivamente discutida em relatórios anteriores; e.g., RRDM, 2022). Além disso, utilizamos apenas a fração de cobertura relativa por macroalgas, desconsiderando outras categorias de recobrimento. Vale ressaltar que as macroalgas são os elementos dominantes nesses recifes rasos com crostas lateríticas na chamada “Costa das Algas”, região que abriga a maior diversidade florística do Atlântico Sul (RRDM, 2022).

Os contrastes pré *versus* pós rompimento revelaram duas tendências temporais relevantes no contexto da avaliação dos efeitos do rompimento da barragem (Figura 20): 1) o aumento na participação relativa de algas coriáceas, especialmente *Sargassum* spp., após o rompimento, com consequente redução na diversidade; 2) uma tendência recente, a partir de 2022, da recuperação na estrutura das comunidades, especialmente no sítio D19.

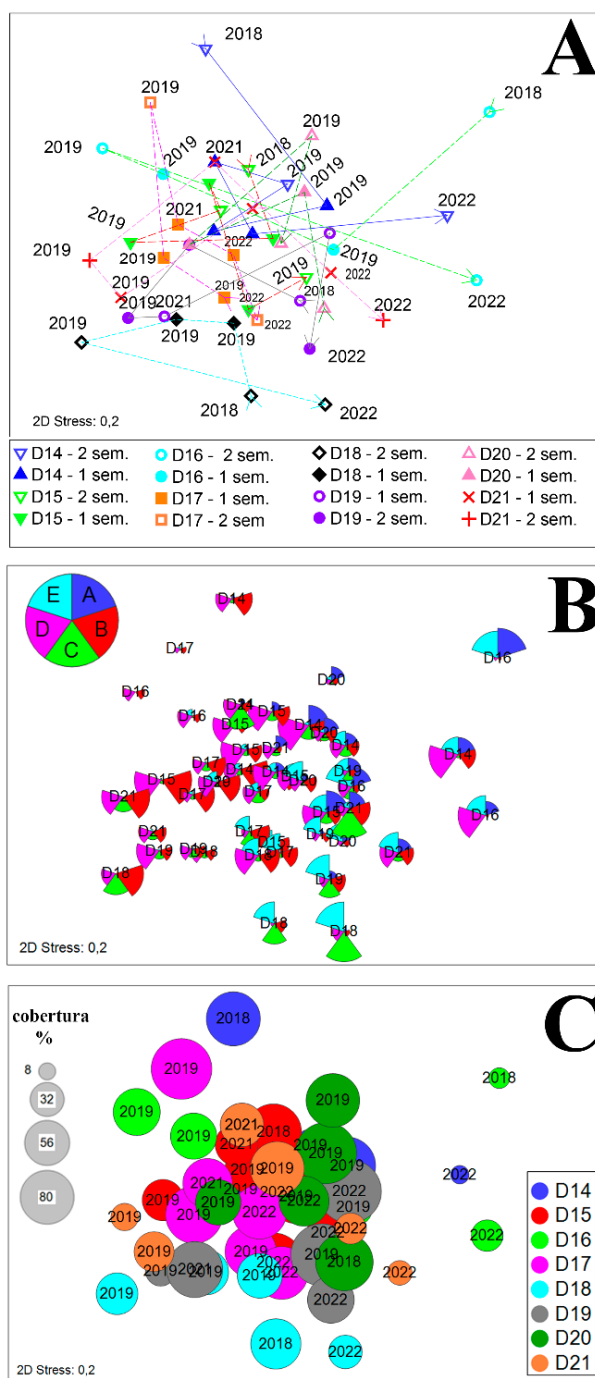
O aumento na participação de *Sargassum* spp. (efeitos diretos), bem como a redução competitiva na cobertura por outros grupos de algas (efeitos indiretos), são os dois principais aspectos da alteração

temporal registrada nas comunidades dos recifes adjacentes ao litoral (Figura 20). A redução na riqueza e diversidade de macroalgas foi explorada nos relatórios anteriores (RRDM, 2022), com dados coletados até 2019, no qual afirmamos que o “*aumento de cinco vezes na cobertura de Sargassum spp. e outras espécies de algas pardas (e.g., Padina sp.) pode estar relacionado com sua alta tolerância a contaminação por metais-traço (AMADO-FILHO et al., 1997, AMADO-FILHO et al., 1999; ALI et al., 2017) e ambientes impactados por distúrbios (SULLAWAY, EDWARDS, 2020)*”. Essas conclusões se mantêm com os dados coletados até o primeiro semestre de 2022. Além disso, vale ressaltar que algas coriáceas do gênero *Sargassum* apresentam alta tolerância a soterramento, prosperando em ambientes com deposição de sedimento fino (0,5-2 mm) (KAWAMATA et al. 2011, 2012), um processo que também pode estar relacionado à redução na cobertura por algas foliáceas (e.g., *Ulva* spp.) (e.g., PARK; HWANG, 2011; SFRISO; MARCOMINI, 1996).

Ressaltamos que os relatórios anteriores (e.g., RRDM, 2022) apresentaram um quadro detalhado sobre a estrutura das comunidades ao nível de gêneros e espécies (incluindo um *checklist* das espécies), tendo revelado variação espacial (i.e., variação entre sítios) relacionada à distância da foz do Rio Doce e da principal drenagem local (Rio Piraquê-Açú), bem como à cobertura relativa e natureza dos sedimentos em cada sítio amostral (cascalho ou sedimentos finos). Essas análises espaciais, baseadas em modelos de redundância (dbRDA), não serão repetidas no presente relatório.



Figura 21 : **Variação espaço-temporal na estrutura das comunidades após o rompimento. Diagramas de ordenação (nMDS) baseados em todos os dados de cobertura** (grupos funcionais de algas e três outras categorias de recobrimento) **obtidos nos recifes adjacentes ao litoral (APA Costa das Algas) após o rompimento da barragem.** No **Painel A** as amostras estão categorizadas por semestre (sem.) e ligadas por um fio temporal com cabeças de seta indicando o início e fim de cada série. Alguns semestres possuem mais de duas amostras (amostragens trimestrais) e alguns rótulos de ano de amostras na parte central do diagrama foram omitidos para facilitar a visualização. O **Painel B** mostra a contribuição da cobertura de cinco grupos funcionais de algas. Legenda para as pizzas do painel B: A=Algas foliosas, B=Algas corticadas foliosas, C=Algas corticadas, D=Algas calcárias articuladas (geniculadas), E=fotossintetizantes filamentosos (algumas categorias não foram mostradas nas "pizzas" para facilitar a visualização dos padrões mais heterogêneos na estrutura das comunidades de cada estação). O **Painel C** mostra a participação percentual de cobertura por macroalgas coriáceas nos diferentes sítios (codificados por cores) e estações amostrais, revelando a menor contribuição desse grupo funcional nas últimas amostras da série temporal (2022, segundo semestre), para a maioria dos sítios (veja porção direita do diagrama).

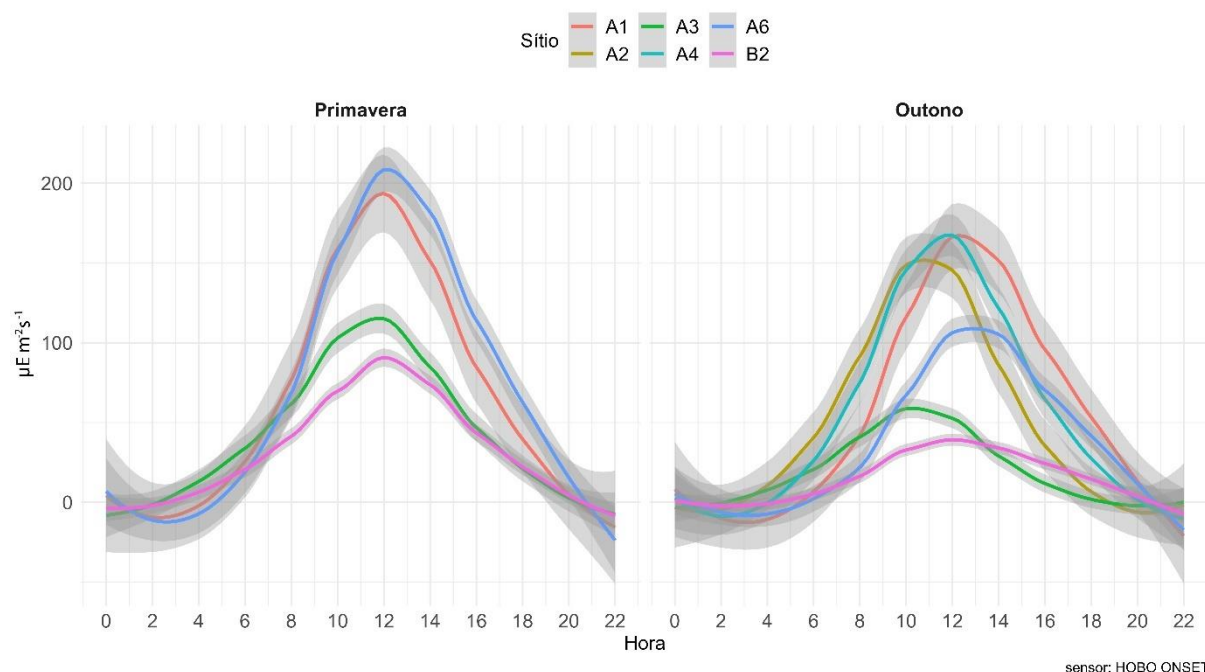


Assim como observado para as comunidades bênticas dos bancos de rodolitos, também dominadas por macroalgas (veja Figura 18 e Figura 19), as comunidades que recobrem os oito sítios amostrados nos recifes adjacentes ao litoral apresentaram uma menor “identidade” em relação aos recifes coralíneos. Em geral, as amostras se sobrepuseram no diagrama de ordenação (nMDS) (Figura 21A), com exceção do sítio D18, no qual a presença marcante de macroalgas corticadas se manteve ao longo de quase todo o período amostral (Figura 21B). Além de possuir a maior fração de sedimentos (cerca de 30%), D16, o mais variável dos oito sítios amostrais, apresentou presença marcante de fotossintetizantes filamentosos e algas foliosas, ambos com crescimento rápido e, no caso dessas últimas, com frondes sujeitas a quebra e fragmentação durante distúrbios turbulentos. No geral, a presença de maiores contribuições de algas foliosas parece estar relacionada com a maior variabilidade temporal no recobrimento dos sítios.

A redução recente na participação de macroalgas coriáceas, elementos dominantes nos recifes adjacentes ao litoral, tratada no bloco anterior (veja Figura 20) também ficou evidente nos diagramas de ordenação com todos os dados (Figura 21C).

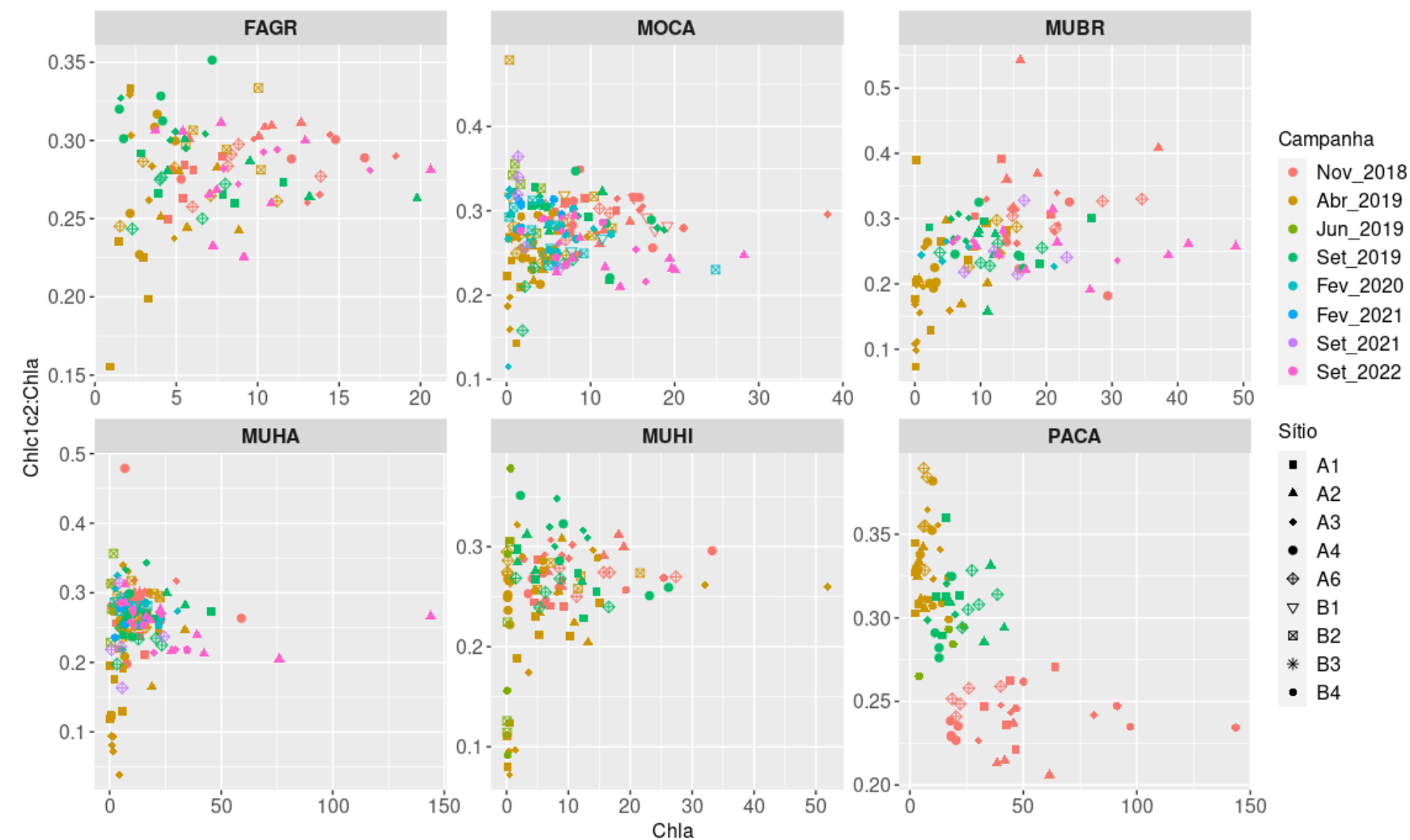
### 3.4 FISILOGIA DE CORAIS

Figura 22: Caracterização do regime médio de luz ao longo do dia, para os sítios amostrados nas áreas A e B, por duas estações do ano (primavera de 2019, e outono de 2019). Os dados foram coletados por sensores HOBO instalados no topo dos chapeirões.



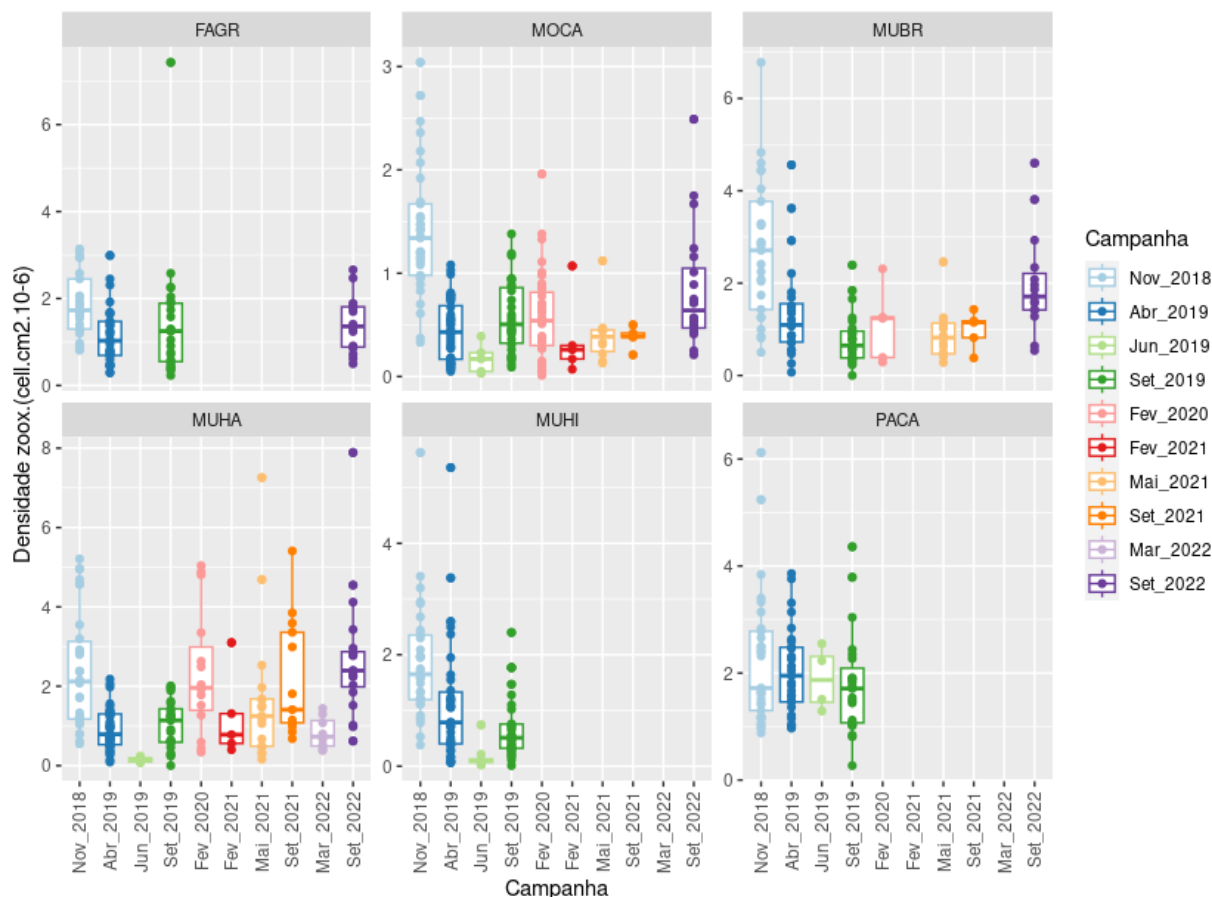
49

Figura 24: Razão de clorofilas  $c1$  e  $c2$  de zooxantelas por concentração de clorofila  $a$ , em função da clorofila  $a$ . Cores = campanha e símbolos = táxons. FAGR = *Favia gravida*, MOCA = *Montastrea cavernosa*, MUBR = *Mussismilia braziliensis*, MUHA = *Mussismilia hartii*, MUHI = *Mussismilia hispida*, PACA = *Palythoa caribaeorum*.



A concentração de clorofila  $a$  por unidade de área dos corais apresentou variação espaço-temporal dentro de aproximadamente duas ordens de grandeza, com os menores valores sendo observados com maior frequência em abril de 2019 (Figura 24). Esse último período foi caracterizado por uma anomalia térmica positiva severa e pelo branqueamento em massa de corais. A degradação dos fotossistemas nesse período anômalo, refletida nos parâmetros fotossintéticos e na redução pronunciada das concentrações de zooxantelas, resultaram numa drástica redução dos teores de Chla por unidade de área dos corais. Tais reduções nas concentrações de pigmentos clorofilianos (clorofilas  $a$  e  $c_2$ ) estão associadas a processos de foto-oxidação, redução nas densidades de zooxantelas (AMBARSARI et al., 1997; VENN et al., 2006) e redução na concentração de pigmentos (KLEPPEL et al., 1989). Durante o estresse térmico, as espécies mais afetadas foram *M. cavernosa*, *M. braziliensis* e *P. caribaeorum* que, em comparação com a campanha de novembro de 2018, apresentaram decréscimos de mais de 70% na média de concentração de clorofila  $a$ . Outras espécies de corais também foram afetadas pelo evento térmico, com redução acima de 40% na biomassa clorofiliana em relação à coleta anterior. Reduções no teor de pigmentos clorofilianos dessa ordem foram registradas em corais totalmente branqueados, em estudos realizados no Oceano Pacífico (AMBARSARI et al., 1997).

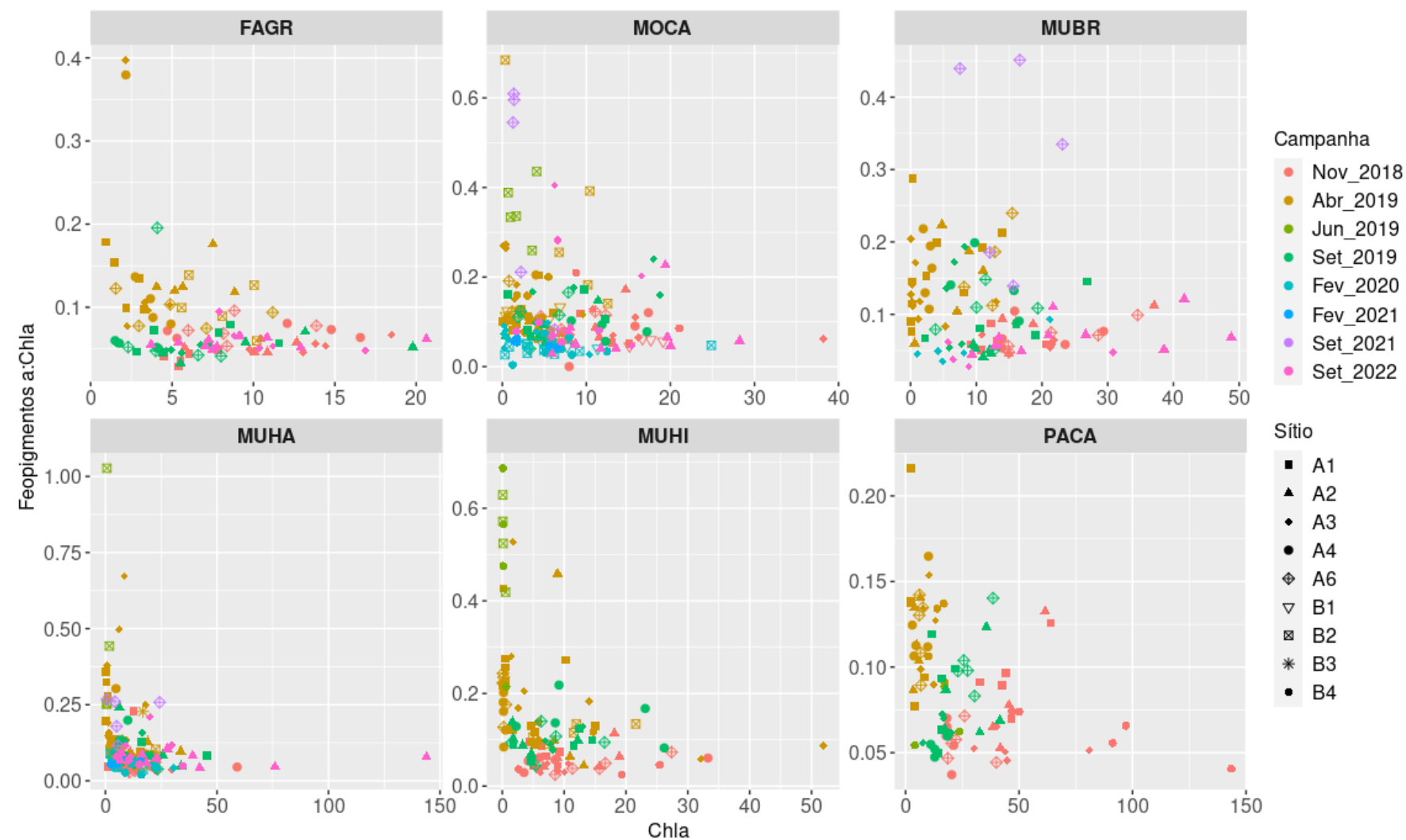
Figura 25: Densidade celular de zooxantelas por área de tecido do hospedeiro por campanha. FAGR = *Favia gravida*, MOCA = *Montastrea cavernosa*, MUBR = *Mussismilia braziliensis*, MUHA = *Mussismilia harttii*, MUHI = *Mussismilia hispida*, PACA = *Palythoa caribaeorum*.



Após a anomalia térmica, as médias das concentrações de clorofila *a* tenderam a aumentar, com algumas espécies de corais apresentando níveis similares aos de novembro de 2018 na campanha de setembro de 2022, indicando recuperação. De maneira geral, as variações temporais nas concentrações de clorofila *a* são convergentes com os dados de densidades de zooxantelas, que também apresentaram acentuada redução durante o branqueamento, seguidas por aumentos nas campanhas subsequentes, como será apresentado a seguir (ver Figura 25). Assim como observado nas variações temporais das concentrações de clorofila *a*, as razões clorofilas  $c_1+c_2$ /clorofila *a* (exceto em *P. caribaeorum*) decresceram em abril de 2019, durante o branqueamento em massa (Figura 24). Esta redução parece ter sido mais associada a uma queda na densidade de zooxantelas (Figura 25) do que à degradação da clorofilas  $c_1+c_2$  em relação a clorofila *a*, visto que as vias de degradação e os efeitos sobre cada pigmento são os mesmos. Assim, as reduções nas concentrações desses pigmentos pela degradação devem ser equivalentes, o que não alteraria as proporções entre eles.



Figura 26: Razão de feopigmentos de zooxantelas por concentração de clorofila *a*, em função da clorofila *a*. Cores = campanha e símbolos = táxons. FAGR = *Favia gravida*, MOCA = *Montastrea cavernosa*, MUBR = *Mussismilia braziliensis*, MUHA = *Mussismilia harttii*, MUHI = *Mussismilia hispida*, PACA = *Palythoa caribaeorum*.



Essa alteração drástica na pigmentação das colônias de todas as espécies em abril de 2019, foi também captada através da fotogrametria (RRDM, 2022).

As feofitinas e feoforbídeos (feopigmentos), pigmentos de degradação sem capacidade fotossintética, são frequentemente usados como indicadores do estado fisiológico dos organismos. No início do monitoramento (novembro de 2018), as razões feofitina *a*/clorofila *a* apresentaram valores relativamente baixos ( $< 0,10$ ) em mais de 75% dos espécimes de corais investigados (Figura 26), indicando um bom estado fisiológico das zooxantelas. Contudo, em abril de 2019 as razões apresentaram, em média, valores duas vezes maiores do que em novembro de 2018, com os maiores valores associados às menores concentrações de Chla. Este resultado, além de indicar degradação no estado fisiológico das zooxantelas, também evidencia que a degradação da clorofila *a* em feopigmentos *a* contribuiu com a forte redução da biomassa clorofiliana em abril de 2019. Este quadro corrobora as análises de capacidade fotossintética de zooxantelas, que apontam para uma degradação dos fotossistemas durante o período de estresse térmico e branqueamento em massa. Em setembro de 2019 e fevereiro de 2020 as razões feofitina *a*/clorofila *a* diminuíram e atingiram níveis similares aos observados em novembro de 2018. No entanto, em setembro de 2021 e setembro de 2022 observou-se alta proporção de feopigmentos em espécimes de *Montastrea cavernosa* e *Mussismilia braziliensis*. Esses níveis podem ser um indicativo de stress fisiológico, mas as causas não puderam ser estabelecidas. Eventual relação causal deste indicador de saúde fisiológica dos corais (com a contaminação pelos rejeitos ou outra forçante ambiental) poderá ser investigada com a continuidade do monitoramento.

Figura 27: Proporção de carotenoides totais em relação a clorofila *a* nos corais ao longo do monitoramento.

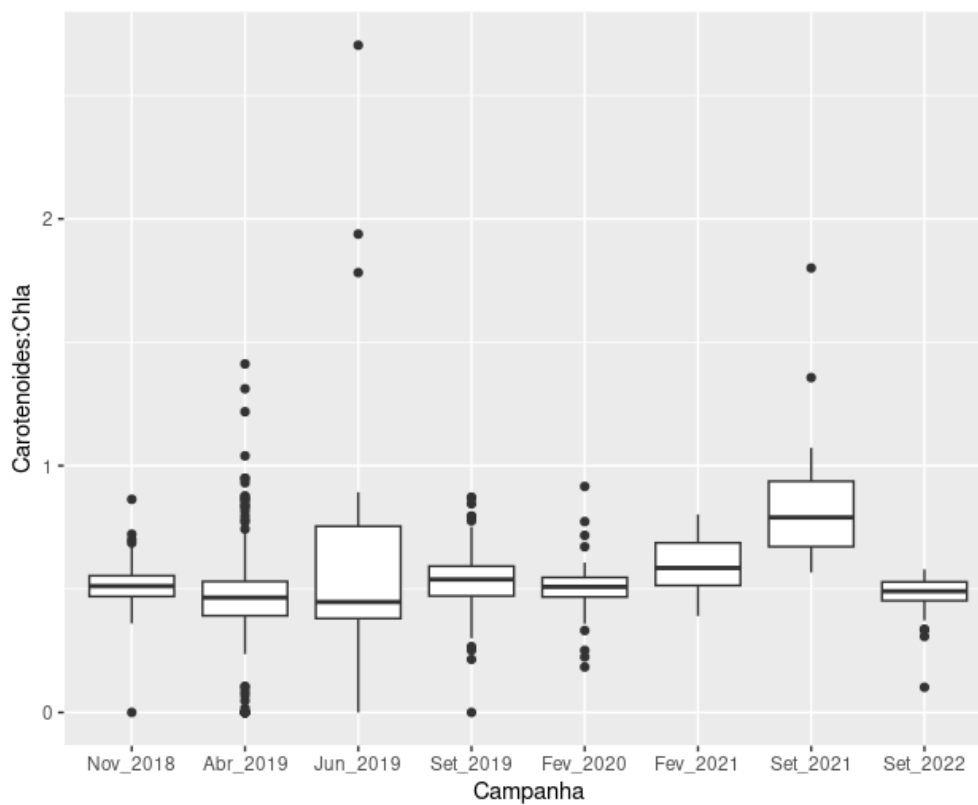
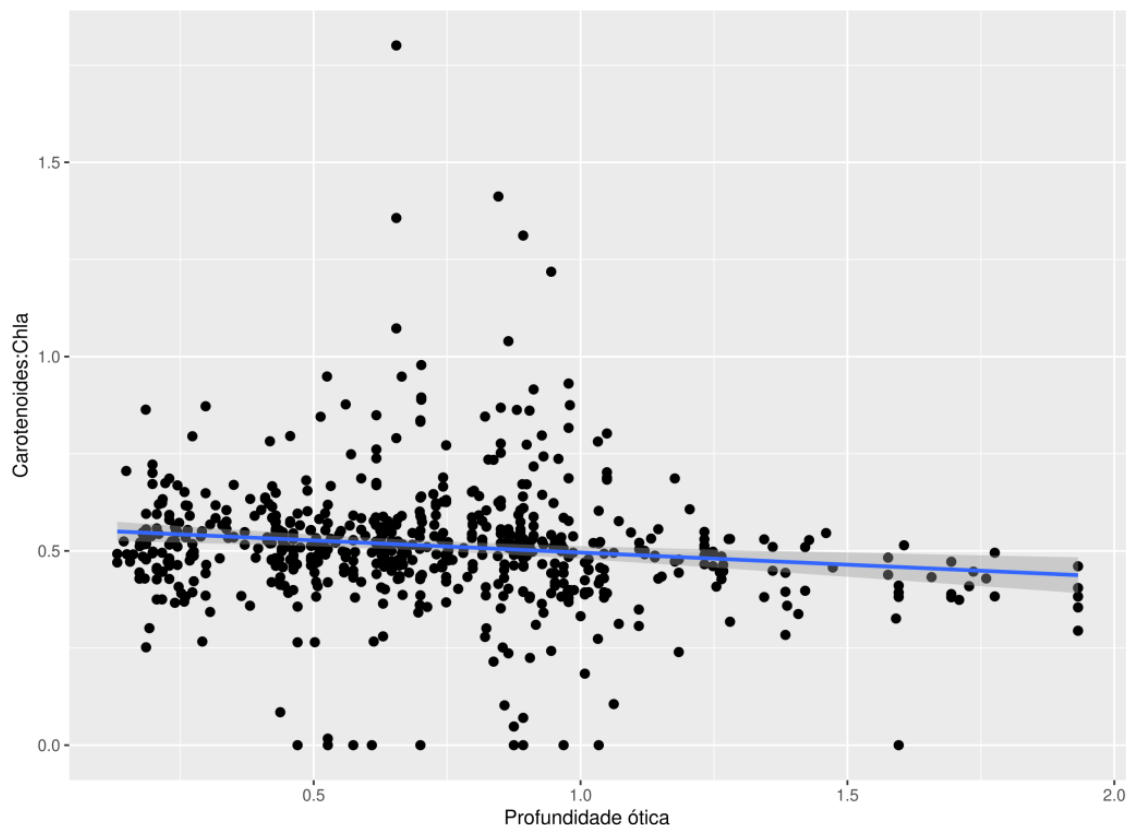


Figura 28: Proporção de carotenoides totais em relação a clorofila *a* em função da profundidade ótica para os dados coletados nas campanhas de novembro de 2018 a setembro de 2021 (dados de iPAR para estimativa de profundidade ótica não estão ainda disponíveis nas bases de dados de sensoriamento remoto, por isso não foram incluídos dados coletados em 2022). Valor da correlação de Pearson  $R: -0.14$ ,  $p < 0,001$ .



A proporção em massa de carotenoides totais em relação a Chla é um indicador da capacidade de fotoproteção das populações de organismos fotossintetizantes presentes nos corais. A razão carotenoides totais : Chla medida nos corais ao longo do monitoramento apresentou médias em torno de 0,5 para a maior parte do monitoramento (Figura 27), com valores extremos em alguns indivíduos principalmente nas duas campanhas de 2019, provavelmente reflexo dos efeitos da anomalia térmica que levou ao evento de branqueamento nesse período. Uma elevação na média na proporção de carotenoides foi observada em setembro de 2021, como resultado de valores elevados em espécimes de *Montastrea cavernosa* e *Mussismilia braziliensis*, o que deve ser elucidado com a continuidade do monitoramento, como explicado acima. Quando analisado frente à profundidade ótica, fica evidente a relação negativa significativa ( $R: -0,14$ ,  $p < 0,001$ ) desta com a razão carotenoide : clorofila *a* (Figura 28), indicando maior poder de fotoadaptação de corais em sítios e períodos com maior irradiância, conforme esperado.

Figura 29: Capacidade fotossintética (rETRm) em função da profundidade ótica. (dados de iPAR para estimativa de profundidade ótica não estão ainda disponíveis nas bases de dados de sensoriamento remoto, por isso não foram incluídos dados coletados em 2022). Linhas de tendência e respectivos intervalos de confiança correspondem a correlação de Pearson:  $R=-0,6$ ,  $p<0,001$ , novembro de 2018;  $R=0,47$ ,  $p<0,001$ , abril de 2019;  $R=-0,55$ ,  $p<0,01$ , fevereiro de 2020;  $R=-0,43$ ,  $p<0,05$ , maio de 2021. Cores = campanha e símbolos = taxon.

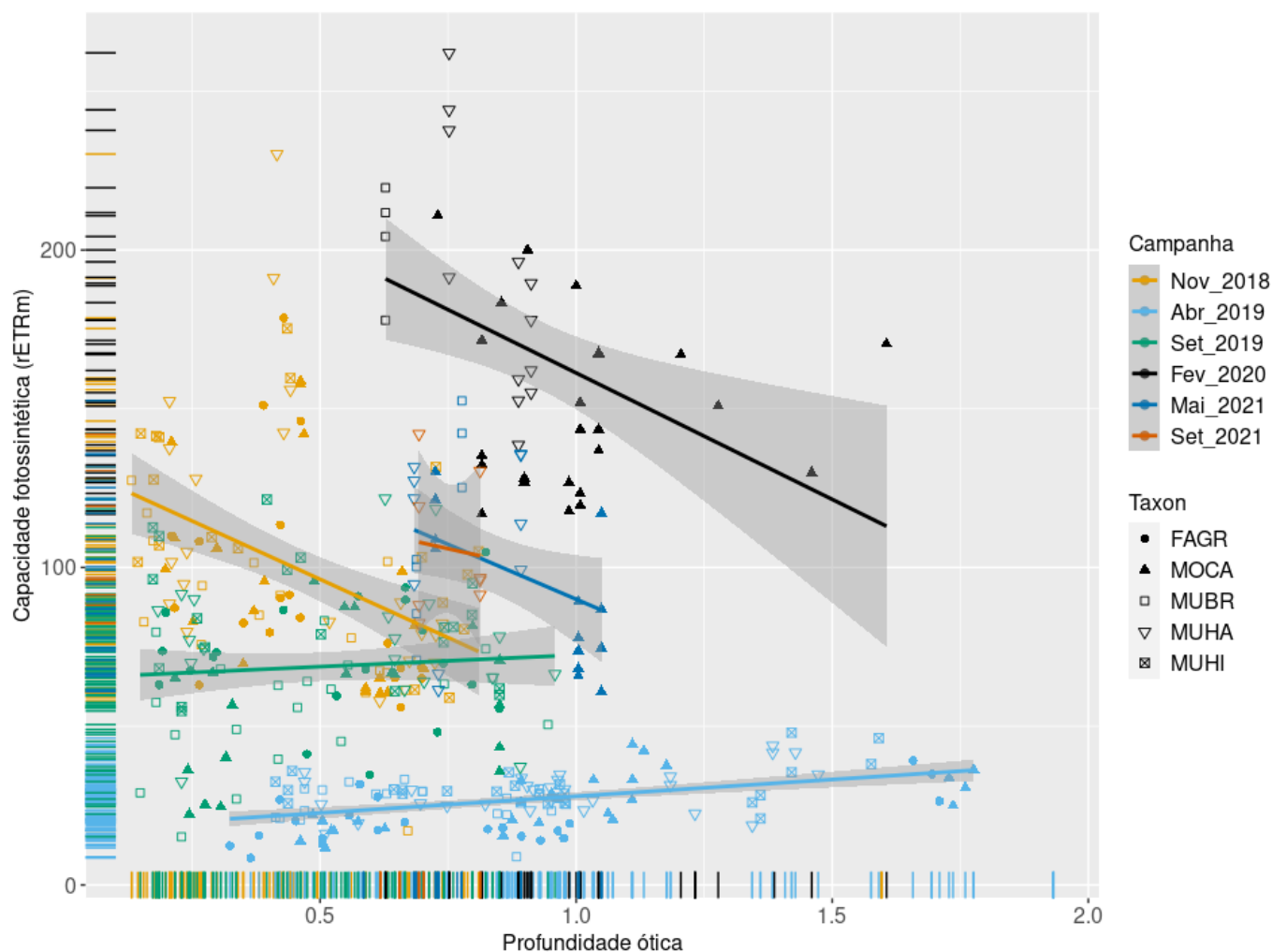
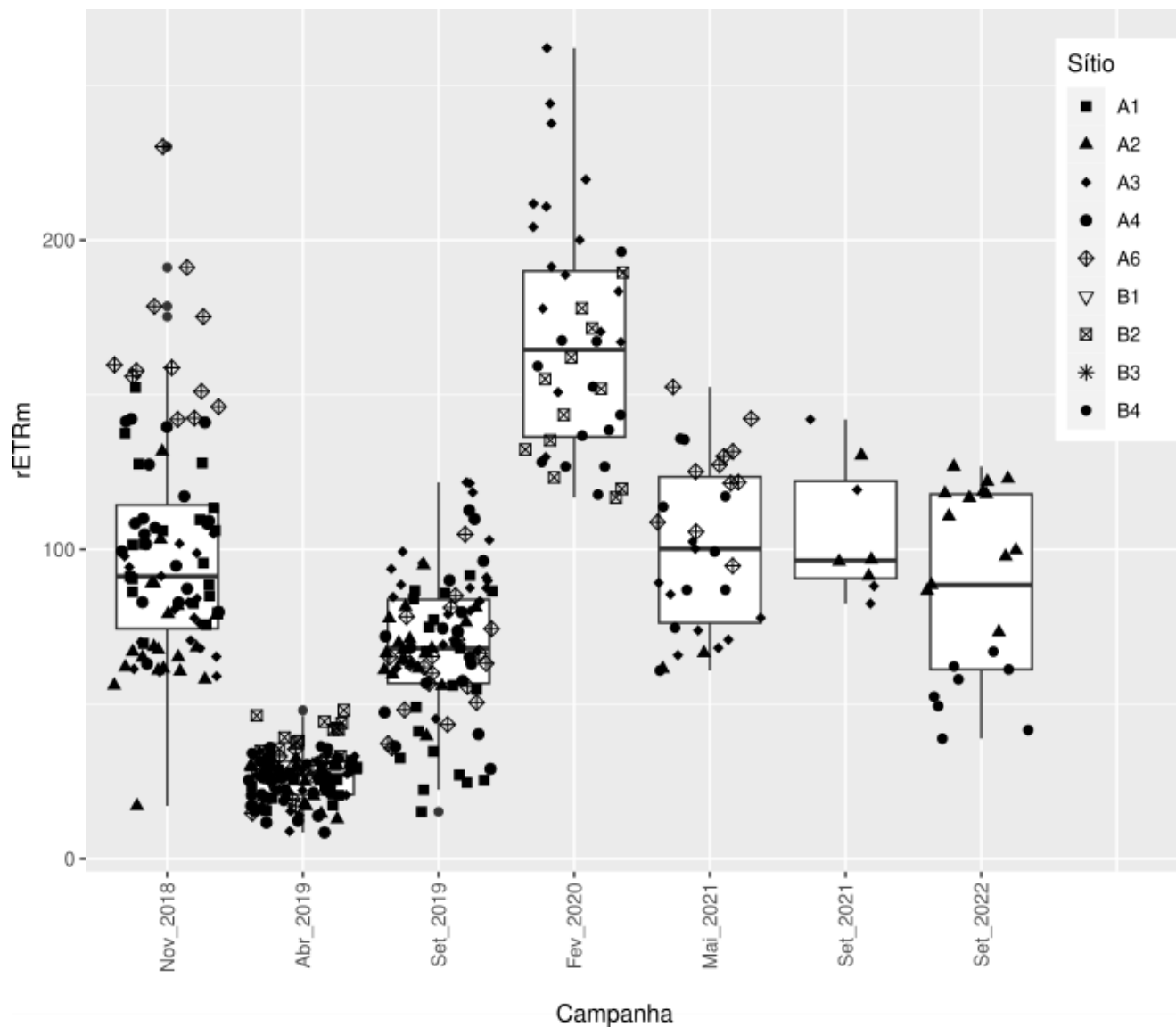


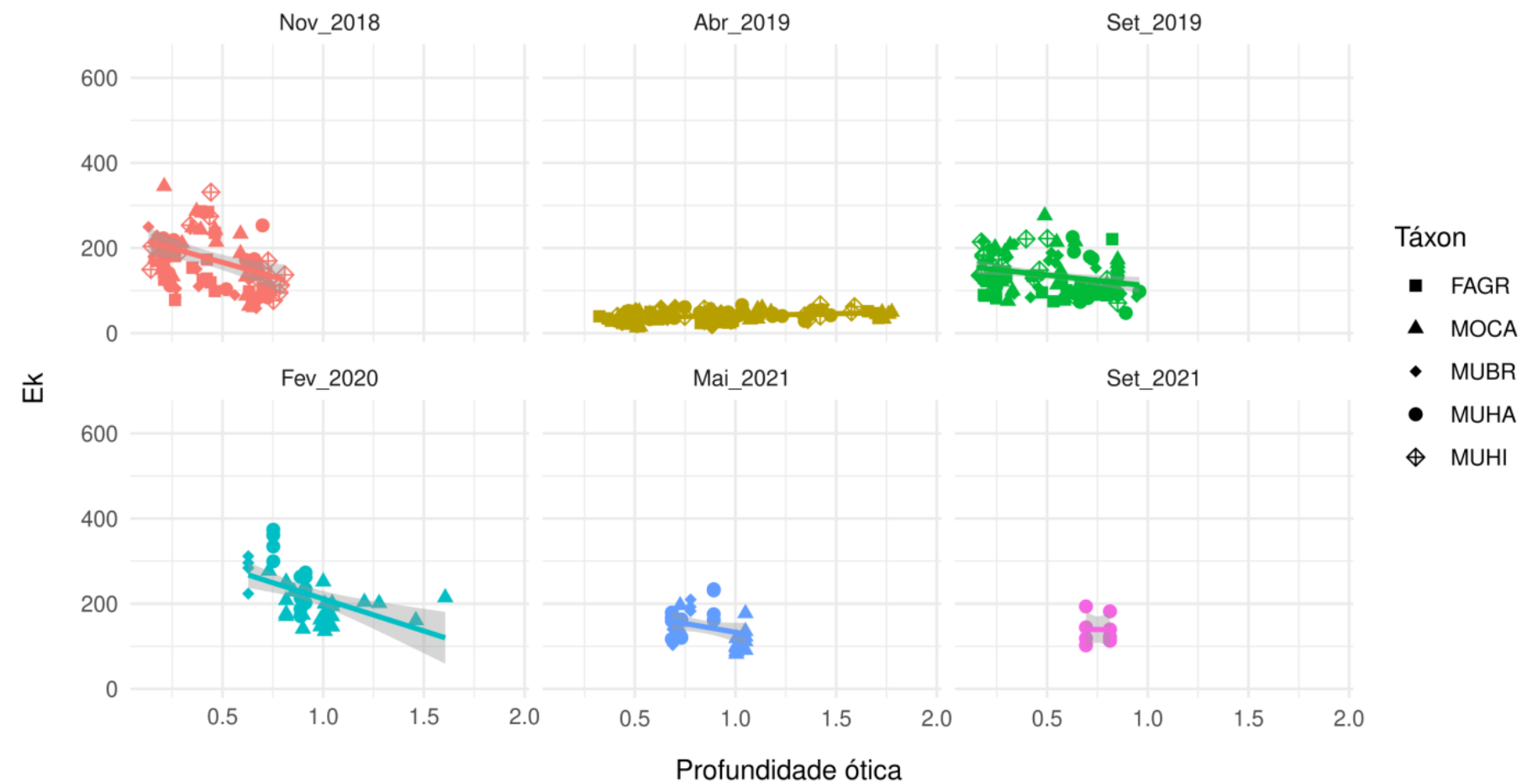
Figura 30: Capacidade fotossintética (rETRm) dos corais das diversas áreas de estudo discriminadas pelo período de coleta.





Já referente à Fotobiologia (rETR<sub>m</sub> e E<sub>k</sub>), na campanha de fevereiro de 2020 foram observados os maiores valores de rETR<sub>m</sub> (taxa relativa máxima de transporte elétrons, representando a capacidade fotossintética máxima do fotossistema), (Figura 29 e Figura 30), o que é esperado para verões típicos, onde se espera observar capacidades fotossintéticas máximas diretamente relacionadas com a irradiância e inversamente proporcionais à profundidade ótica (ILUZ & DUBINSKY, 2015; SCHEUFEN et al., 2017). Essa relação inversa entre rETR<sub>m</sub> e profundidade ótica foi observada na maioria das campanhas do monitoramento, exceto em abril e setembro de 2019 que apresentaram correlações positivas, fenômeno associado à anomalia térmica positiva severa levou ao branqueamento em massa de corais (DUARTE et al., 2019). A inversão da correlação, nesse período, portanto, parece relacionada à termodegradação dos fotossistemas e perda de zooxantelas, como observado nos indicadores de pigmentos e densidade de zooxantelas. Esses danos foram claramente mais acentuados nos sítios mais rasos e mais expostos a flutuações do meio. Além disso, sob condições térmicas mais típicas, com fotossistemas sob menor estresse oxidativo, a partir de fevereiro de 2020, ficou evidente a menor capacidade fotossintética em maiores profundidades óticas, tal como observado nos Recifes Esquecidos (sítios B2 e B4) (Figura 29 e Figura 30).

Figura 31: Irradiância mínima saturante ( $E_k$ ), ou a capacidade de fotoaclimação, em função da profundidade ótica. Linhas de tendência e respectivos intervalos de confiança correspondem a correlação de Pearson.  $R=-0,46$ ,  $p<0,001$ , novembro de 2018;  $R=0,29$ ,  $p<0,01$ , abril de 2019;  $R=-0,27$ ,  $p<0,01$ , setembro de 2019;  $R=-0,56$ ,  $p<0,001$ , fevereiro de 2020. Cores = campanha e símbolos = táxons. FAGR = *Favia gravida*, MOCA = *Montastrea cavernosa*, MUBR = *Mussismilia braziliensis*, MUHA = *Mussismilia harttii*, MUHI = *Mussismilia hispida*. (dados de iPAR para estimativa de profundidade ótica não estão ainda disponíveis nas bases de dados de sensoriamento remoto, por isso não foram incluídos dados coletados em 2022).



Os valores mais altos de irradiância mínima saturante ( $E_k$ , fluxo máximo de energia suportado pelo fotossistema, indicador da capacidade de fotoaclimação do organismo) são esperados em ambientes mais iluminados devido aos aparatos fotossintéticos estarem constantemente expostos a energia luminosa (ILUZ; DUBINSKY, 2015). Isso foi observado em novembro de 2018 e de fevereiro de 2020 nas menores profundidades óticas, para *M. braziliensis* e *M. hispida* (Figura 31). Notavelmente, houve decréscimo de todos os valores de  $E_k$  em abril de 2019, observado em todos os táxons, quando os corais estavam branqueados. Assim como observado nas medidas de  $rETR_m$ , os fotossistemas se recuperaram completamente em fevereiro de 2020 e mantiveram valores no nível pré-evento de anomalia térmica em 2021. Mesmo com diferenças menores na relação entre irradiância mínima saturante e a profundidade ótica, relacionadas à identidade dos corais hospedeiros, vale ressaltar que o fluxo máximo de energia suportado pelos fotossistemas, que é menor nas maiores profundidades óticas (Figura 31), foi menor nos sítios da Área B (Figura 30).

### 3.5 DIVERSIDADE GENÉTICA DE SIMBIONTES DE CORAIS

Figura 32: Composição da comunidade microbiana presente em diferentes espécies de corais amostrados, indicado no topo dos gráficos (FAGR: *Favia gravida*; MOCA: *Montastraea cavernosa*; MUBR: *Mussismilia braziliensis*; MUHA: *Mussismilia harttii*) e diferentes sítios recifais amostrados indicados na base dos gráficos. As barras superiores indicam linhagens de simbiontes dinoflagelados da família Symbiodiniaceae, e as barras inferiores indicam a composição da comunidade bacteriana, com as classes mais abundantes.

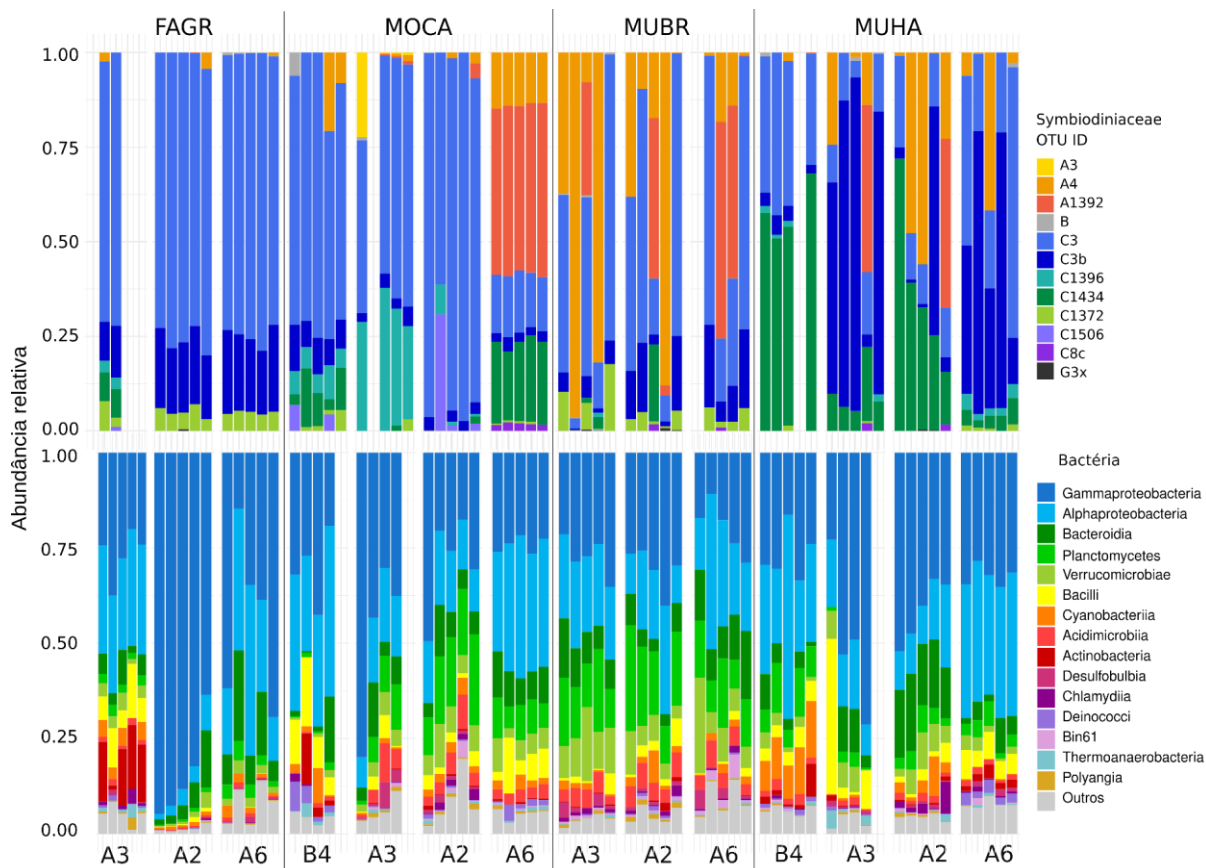
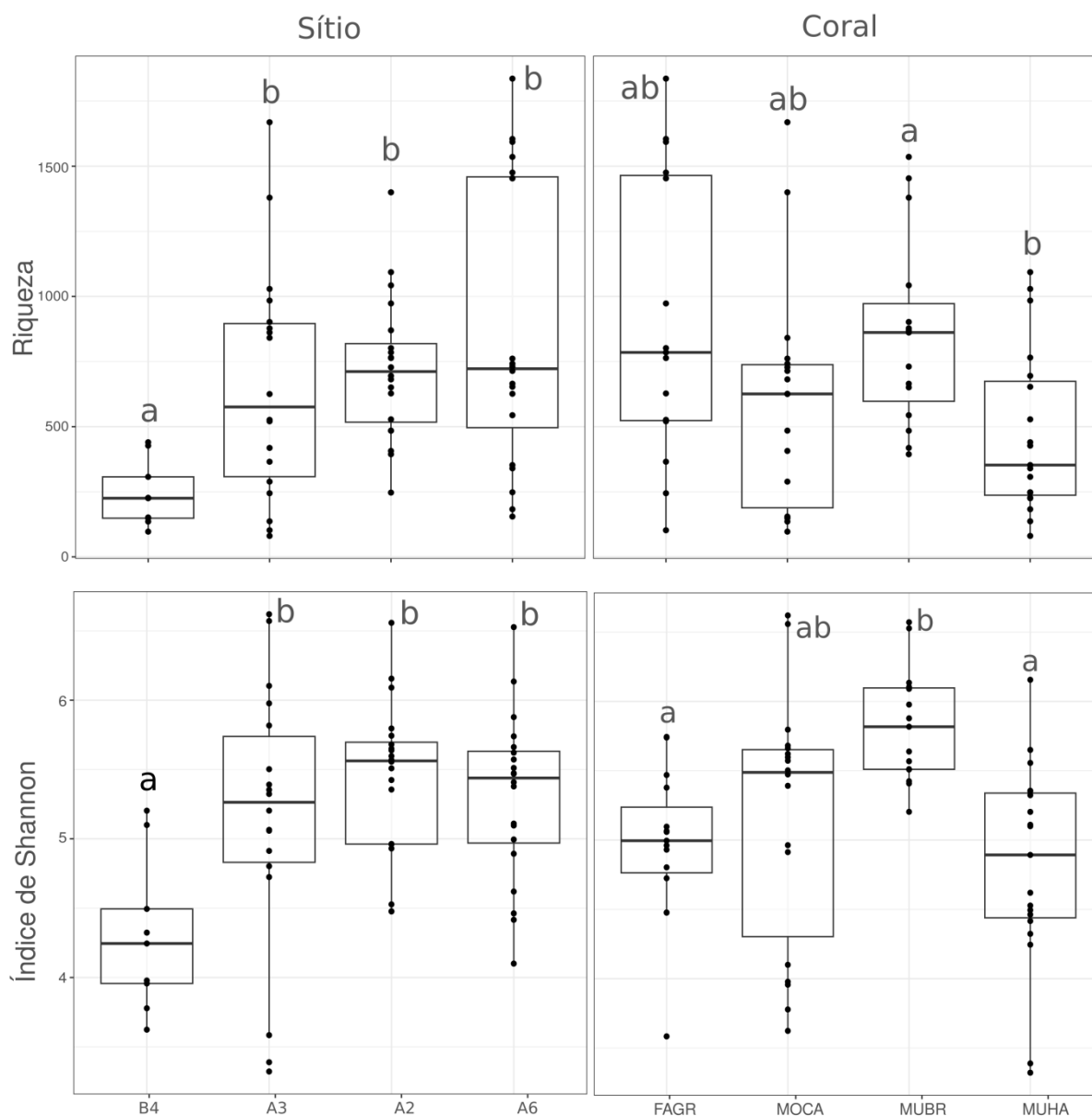


Figura 33: Riqueza e diversidade (índice de Shannon) da comunidade bacteriana por sítio recifal e por espécie de coral (FAGR: *Favia gravida*; MOCA: *Montastrea cavernosa*; MUBR: *Mussismilia braziliensis*; MUHA: *Mussismilia harttii*). Símbolos (\* ou letras) indicam comparações significativas ( $p < 0.05$ ) após correção de comparações múltiplas (BH).



A diversidade genética de zooxantelas e de Bactérias associadas aos corais nas áreas A (Abrolhos) e B (Recifes Esquecidos) foi determinada em 64 e 67 espécimes de corais, respectivamente, pertencentes a quatro espécies: *Mussismilia braziliensis*, *M. hartii*, *Montastrea cavernosa* e *Favia gravida* (Figura 32).

A análise genética de zooxantelas revelou os gêneros *Cladocopium* e *Symbiodinium* como os mais abundantes (Figura 32). Foram observadas diferenças na composição em relação à espécie do coral hospedeiro, sendo *F. gravida* foi dominada por *Cladocopium*, e ambas as espécies de *Mussismilia* com composição bastante variável, sendo que em *M. cavernosa* observou-se proporções altas de *Symbiodinium*, somente em um sítio (A6). Os resultados indicam haplótipos de *Cladocopium* ainda não

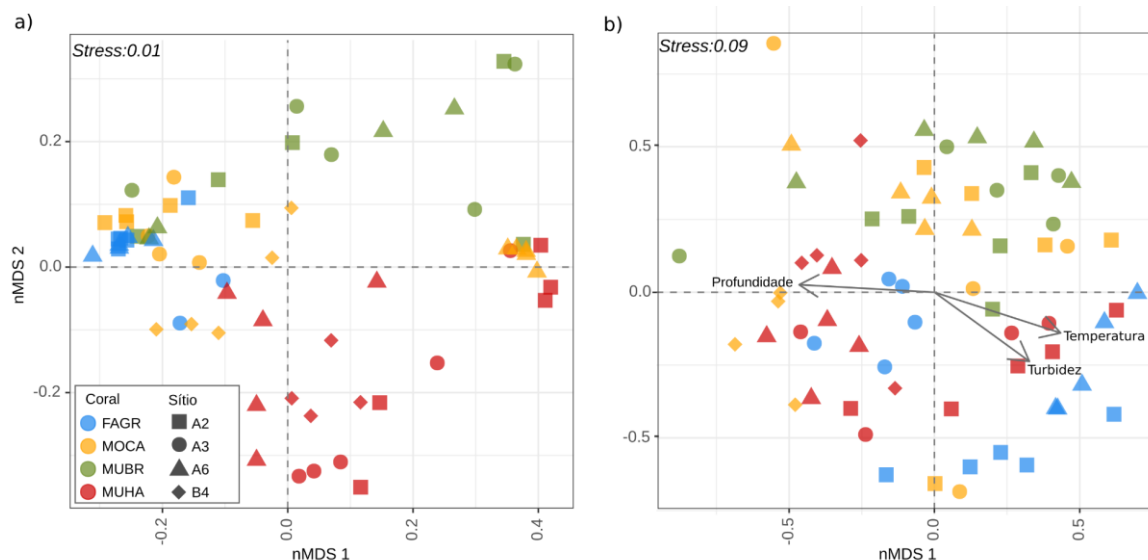
caracterizados na literatura e sem similares nos bancos de dados, alguns deles aparentemente importantes em sítios mais profundos (e.g. C\_1434, em *M. hartii*). Foram registradas novas ocorrências de haplótipos de *Symbiodinium* para a região e para determinados hospedeiros (e.g. *M. cavernosa*).

A análise da comunidade bacteriana revelou Gammaproteobacteria como a classe mais abundante, seguido de Alphaproteobacteria (Figura 32). De forma geral, neste nível taxonômico a comunidade bacteriana foi mais homogênea entre hospedeiros e sítios quando comparado com a variação dos haplótipos de zooxantelas.

Os novos dados gerados para as comunidades bacterianas mostram índices de riqueza e diversidade significativamente menores em Esquecidos Sul ( $p < 0,05$ ) em relação aos demais sítios estudados (Figura 33). A menor disponibilidade de luz e conseqüentemente menor disponibilidade de luz no sítio Esquecidos Sul em comparação com sítios rasos na área A e uma elevada e variável taxa de sedimentação, provavelmente pela maior influência da pluma do Rio Doce, confere uma condição de maior estresse às comunidades deste local. Esses fatores resultam em maior nível de distúrbios, o que pode estar reduzindo a diversidade da comunidade bacteriana. A continuidade do monitoramento deste indicador fornecerá elementos para uma melhor caracterização deste padrão.

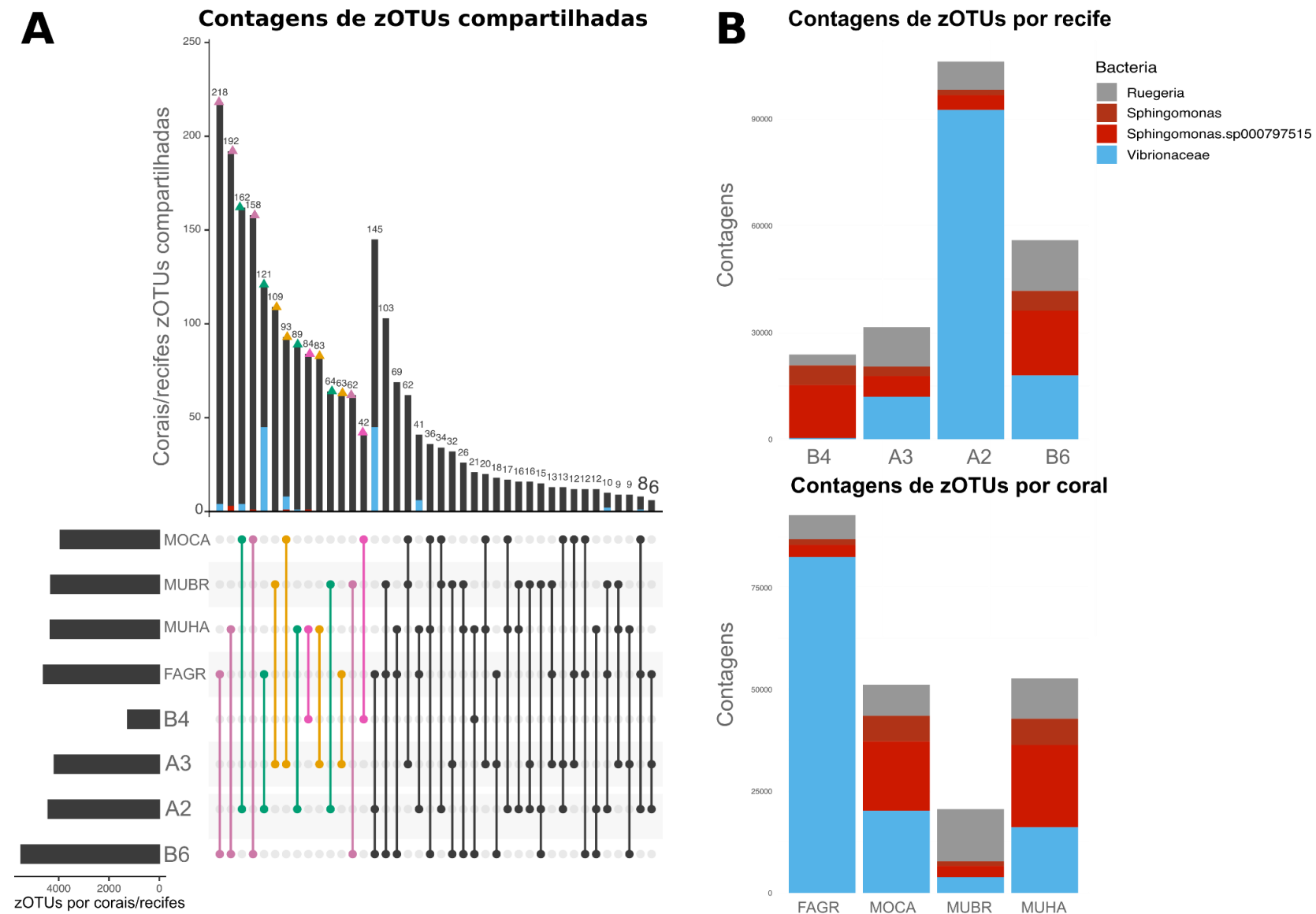


Figura 34: Ordenação não métrica multidimensional (nMDS) da diversidade das comunidades a) Symbiodiniaceae (ITS2), e b) Bacteriano (16S rRNA) baseado em distâncias de Bray-Curtis. As cores indicam a espécie de coral (FAGR: *Favia gravida*; MOCA: *Montastraea cavernosa*; MUBR: *Mussismilia braziliensis*; MUHA: *Mussismilia hartii*) e os símbolos, os sítios recifais amostrados. Resultados de PERMANOVA demonstram como significativos os agrupamentos em ambos os fatores, com valores para *Symbiodiniaceae* - Coral: 0.31, Recife: 0.10, e para Bactérias - Coral: 0.11, Recife: 0.14. Variáveis ambientais com valores de correlação significativa ( $p < 0.05$ ) também discriminadas no nMDS da comunidade bacteriana (b), profundidade: 0,26, temperatura: 0,23 e turbidez: 0,15).



O táxon do hospedeiro e o sítio apresentaram efeitos significativos sobre a composição das comunidades de zooxantelas e Bactérias (Figura 34). Uma análise de correlação entre a estrutura das comunidades e variáveis ambientais indicou efeito somente na comunidade bacteriana para as variáveis temperatura (0,23), turbidez (0,15) e profundidade (0,26).

Figura 35: zOTUs bacterianas compartilhadas entre espécies de corais e sítios recifais. A) Número total de zOTUs compartilhadas em diferentes interseções. As frações coloridas das barras correspondem aos taxa *Vibrionaceae* (azul) e *Shingomonas* (vermelho). As linhas verticais abaixo das barras as correlacionam com as interseções nos quais as zOTUs são compartilhadas, conforme indicação nas barras horizontais à esquerda. As cores das linhas verticais indicam os sítios das interseções: lilás (B6), verde (A2), amarela (A3) e azul (B4). B) Número por sítios de zOTUs pertencentes aos grupos taxonômicos prevalentes no total das amostragens. FAGR: *Favia gravida*; MOCA: *Montastrea cavernosa*; MUBR: *Mussismilia braziliensis*; MUHA: *M. harttii*.



Para a comunidade bacteriana, além da caracterização da diversidade bacteriana no nível de filo por hospedeiro e sítio independentemente (Figura 32), foram feitas análises das zOTUs (proxy de espécie) compartilhadas entre hospedeiros e sítios (Figura 35A). O maior número de zOTUs compartilhadas entre um hospedeiro e um sítio foi observado no para o coral *Favia gravida* e o sítio costeiro Timbebas (B6), e o menor em *Montastrea cavernosa* em Esquecidos (B4), sítio que apresentou os menores índices de riqueza e diversidade (Figura 33). As taxas mais abundantes em todas as amostras foram *Vibrionaceae* (principalmente *Vibrio* e *Photobacterium*), *Sphingomonas* e *Ruegeria*. Esses grupos apresentaram distribuição desigual entre os hospedeiros e sítios (Figura 35A). A zOTU mais abundante em todas as amostras foi *Sphingomonas* sp. 000797515, cuja abundância foi maior em *Mussismilia harttii* no sítio costeiro Timbebas (B6). o grupo com distribuição mais desigual entre as interseções coral-sítio foi *Vibrionaceae* (ou vibrios, como também se refere à família). Vibrios foram mais abundantes em *Favia gravida* no sítio Sebastião Gomes (A2), que foi previamente caracterizado como o recife mais degradado no Banco de Abrolhos (BRUCE et al., 2012). Ficou evidente a prevalência de vibrios no em Sebastião Gomes (A2), seguido do sítio costeiro Timbebas (B6) (Figura 35B). BRUCE et al. (2012) relataram maior número de sequências de vibrios (com metodologia *shotgun*) na água de Sebastião Gomes (A2) seguida de Timbebas (B6) (dentre os recifes em comum entre aquele estudo e o presente). Vibrios são reconhecidos indicadores da qualidade da água do mar, tanto pela capacidade de responder rapidamente a pulsos de nutrientes quanto pela presença de patógenos e oportunistas no grupo (de humanos e animais) (THOMPSON, & POLZ 2006). A prevalência de sequências atribuídas aos vibrios no sítio Sebastião Gomes (A2) possivelmente se relaciona ao estado de degradação e eutrofização do recife, fato conhecido há mais de uma década. Nesse sítio o hospedeiro mais permeável aos vibrios foi *Favia gravida* (Figura 35A) (idem em Timbebas (B6), Figura 35B), coral não encontrado no sítio Esquecidos (B4). Isso pode explicar porque a detecção de vibrios em Esquecidos (B4) foi baixa, uma vez que nesse sítio seu reservatório pode ser outro compartimento não amostrado. O fato dos grupos mais abundantes em todas as amostras estarem menos representados quantitativamente no sítio Esquecidos (B4) (Figura 35B) corrobora o fato de esse sítio ter apresentado os menores índices de riqueza e diversidade (Figura 33).

### 3.6 NATUREZA DO SEDIMENTO E TAXAS DE SEDIMENTAÇÃO EM RECIFES E BANCOS DE RODOLITOS

Tabela 3 : Polimorfos nos sedimentos superficiais em todos os sítios de recifes (RE) e bancos de rodolitos (RO) (médias de todas as amostras, 2018-2022). Os sítios A4, na Ilha Santa Bárbara, bem como os sítios D2 e D5 (sem rodolitos ou com rodolitos mortos e esparsos (veja Figura 2), destacados na base da tabela, não foram considerados nas séries temporais (Figura 27, Figura 28), por serem singulares.

Sítio		N de amostras	Gormanita	Greigita	Muscovita	Calcita	Aragonita	Calcita Mg	Caulinita
A1	RE	8	0,00	0,28	4,51	7,78	24,28	35,76	19,95
A2	RE	8	0,00	0,13	7,57	7,38	20,52	29,61	29,32
A3	RE	9	0,00	0,00	0,00	7,75	34,65	57,12	0,22
A6	RE	8	0,00	0,16	4,07	7,12	26,85	43,47	13,19
B4	RE	7	0,05	1,09	2,56	6,78	19,09	30,98	22,85
B6	RE	2	0,00	0,89	2,68	4,50	12,20	25,64	33,35
A5	RO	6	0,00	0,75	2,84	7,27	23,61	32,97	17,21
B1	RO	6	0,02	0,51	2,40	7,08	20,61	35,29	23,55
C2	RO	2	0,00	0,00	4,50	7,73	31,24	49,04	6,16
C4	RO	4	0,29	0,60	2,02	4,61	30,93	44,76	7,58
C8	RO	1	0,00	1,76	7,96	4,57	17,62	28,46	38,30
D3	RO	6	0,00	0,23	1,84	5,20	35,92	46,21	9,06
D6	RO	2	0,00	0,00	2,49	1,94	33,22	59,00	2,17
D7	RO	3	0,45	0,73	1,42	9,81	17,85	45,35	21,61
D8	RO	2	0,00	0,00	2,41	5,74	24,19	65,59	1,58
D10	RO	4	0,47	0,35	3,53	7,16	38,51	35,95	12,93
D11	RO	4	0,00	0,00	0,77	4,99	43,33	48,09	2,47
D13	RO	3	0,00	0,28	0,83	2,34	45,25	49,61	1,68
A4	AR	9	0,00	0,73	2,92	7,28	21,70	35,73	18,73
D2	RO	2	0,00	0,00	1,93	0,85	34,71	45,49	4,21
D5	RO	5	0,00	0,86	1,22	5,85	31,82	43,30	15,30

Figura 36 : Mineralogia dos sedimentos superficiais coletados nos recifes, agregados em valores médios semestrais. O sítio A6 (Timbebas – TIM2) está apresentado separadamente. Os valores dos sítios costeiros Pedra de Leste e Sebastião Gomes (“Inshore - A”) e de todos os sítios recifais da Área B estão agregados, dada a similaridade.

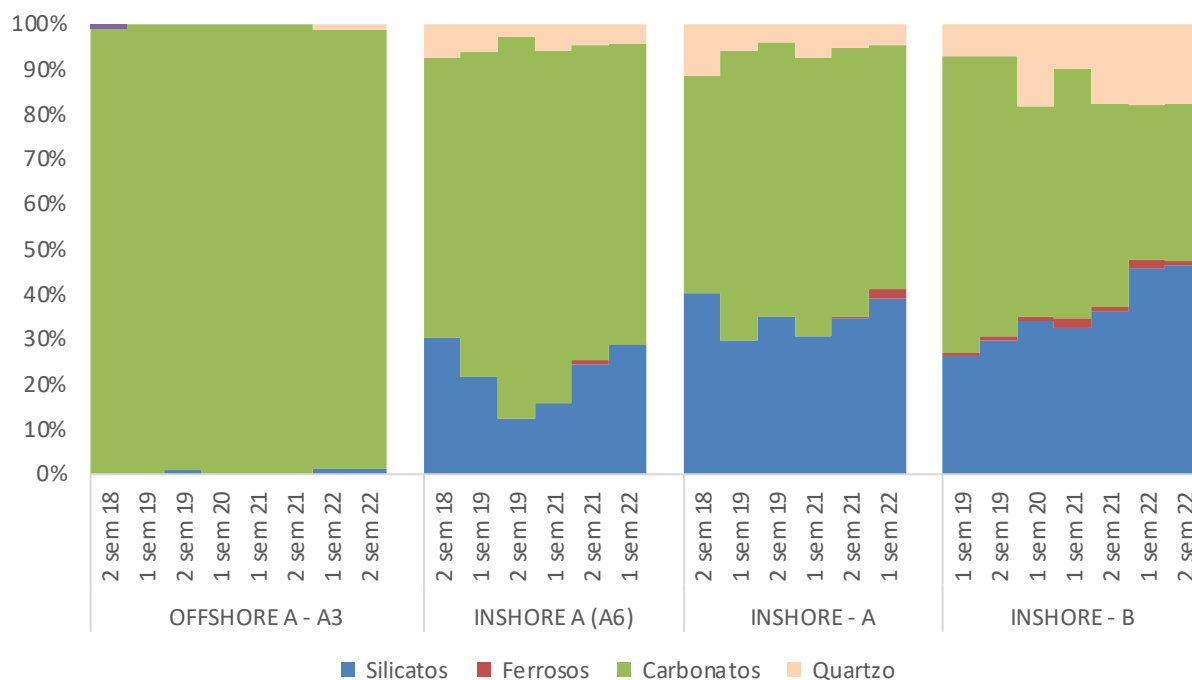


Figura 37 : Mineralogia dos sedimentos superficiais coletados nos bancos de rodolitos, agregados em valores médios semestrais. A Área A está representada apenas pelo sítio A5, a Área B apenas pelo sítio, a Área C pelos sítios C2, C4 e C8 (médias) e a Área D pelos sítios D3, D6-8, D10-11 e D13 (médias).

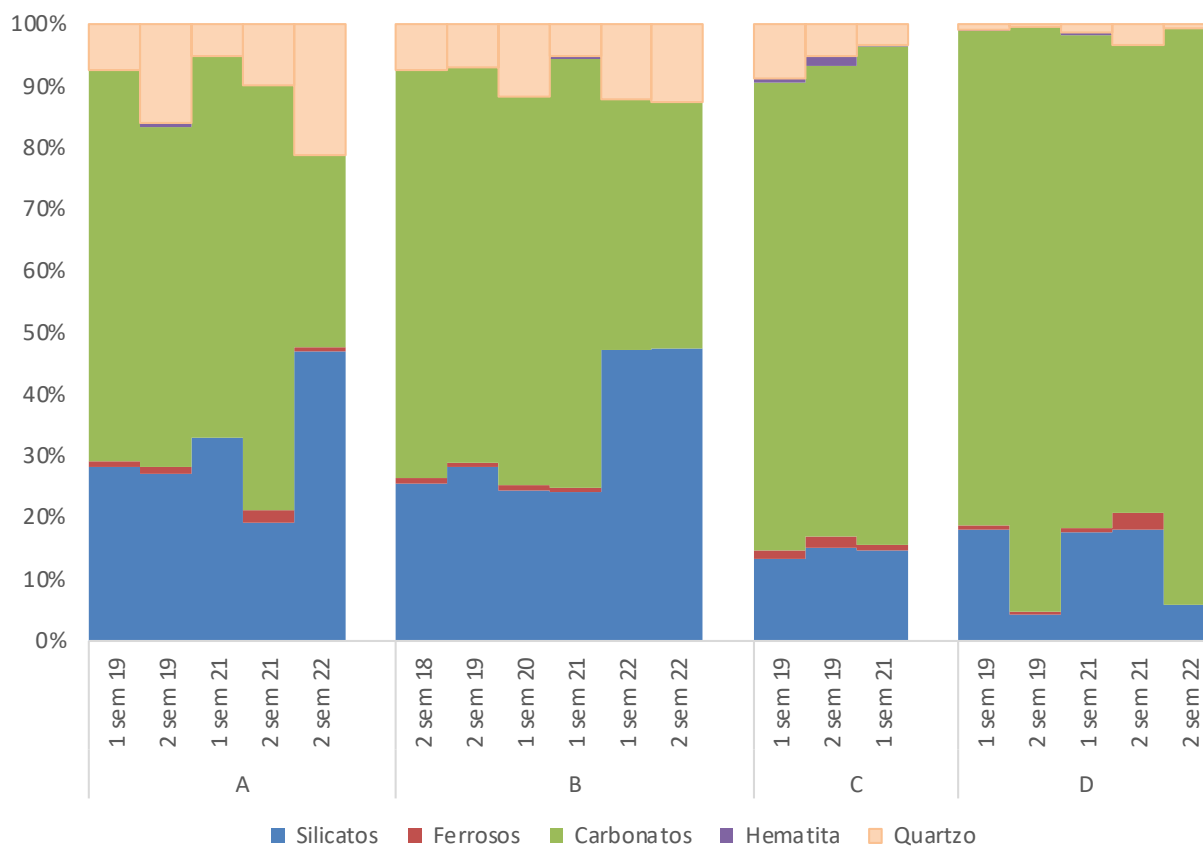




Figura 38 : Polímeros nos sedimentos superficiais coletados nos recifes, agregados em valores médios semestrais. O sítio A6 (Timbebas – TIM2) está apresentado separadamente (veja 3.1). Os valores dos sítios costeiros Pedra de Leste (A1) e Sebastião Gomes (A2) (rotulados como “Inshore - A”) e de todos os sítios recifais da Área B estão agregados para facilitar a visualização, o que é justificável dada a similaridade entre os sedimentos destes sítios (veja Tabela 3).

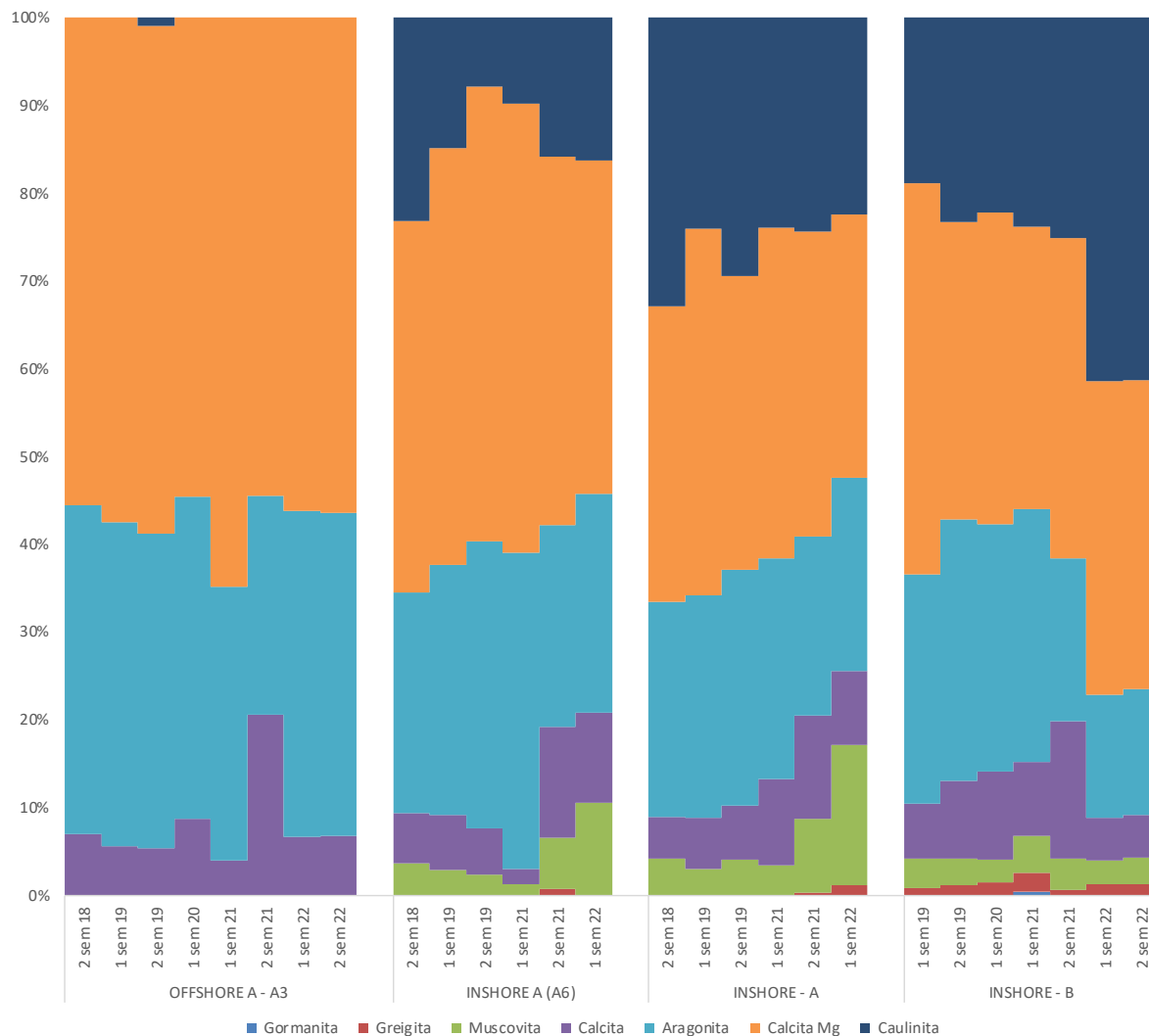


Figura 39 : Polimorfos nos sedimentos superficiais coletados nos bancos de rodolitos, agregados em valores médios semestrais. A Área A está representada apenas pelo sítio A5, a Área B apenas pelo sítio B1, a Área C pelos sítios C2, C4 e C8 (médias) e a Área D pelos sítios D3, D6-8, D10-11 e D13 (médias).

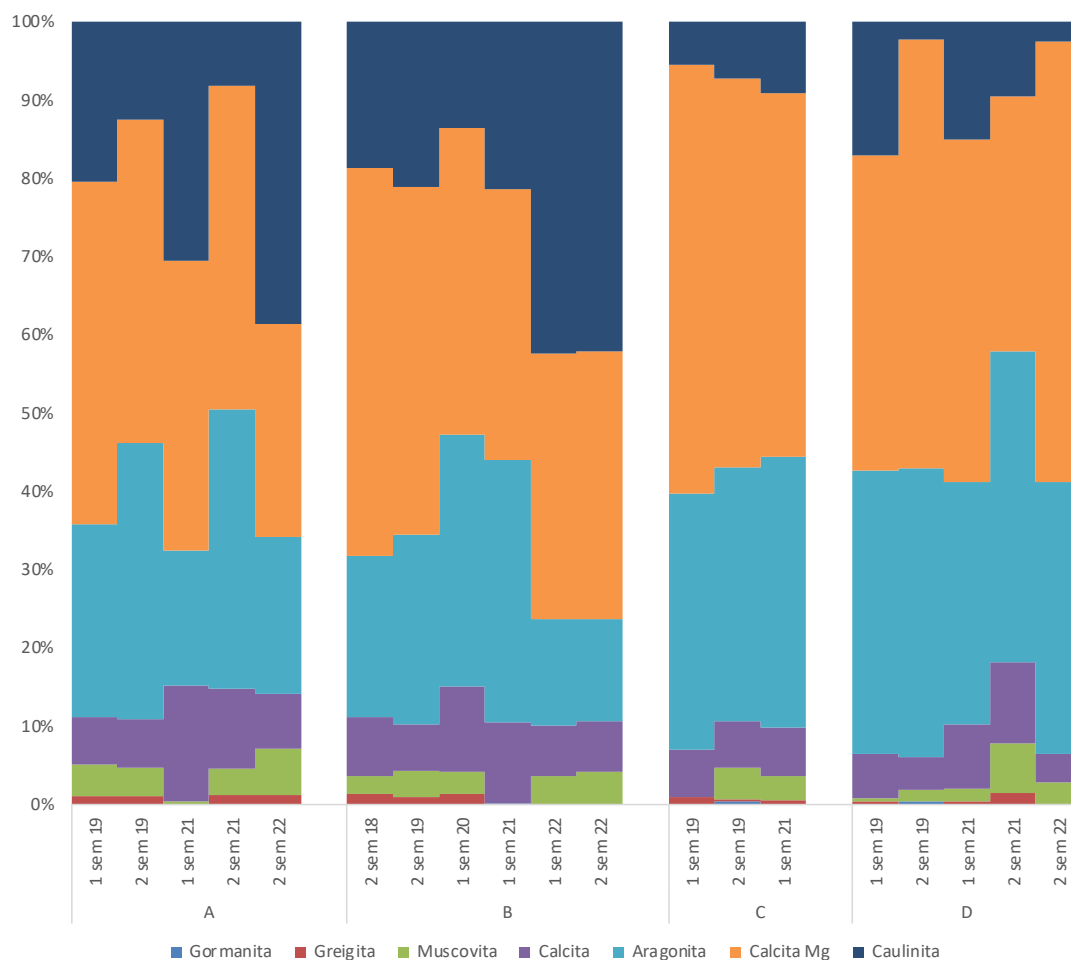


Figura 40 : Mineralogia dos sedimentos superficiais coletados nos recifes adjacentes ao litoral da APA Costa das Algas, agregados em valores médios semestrais.

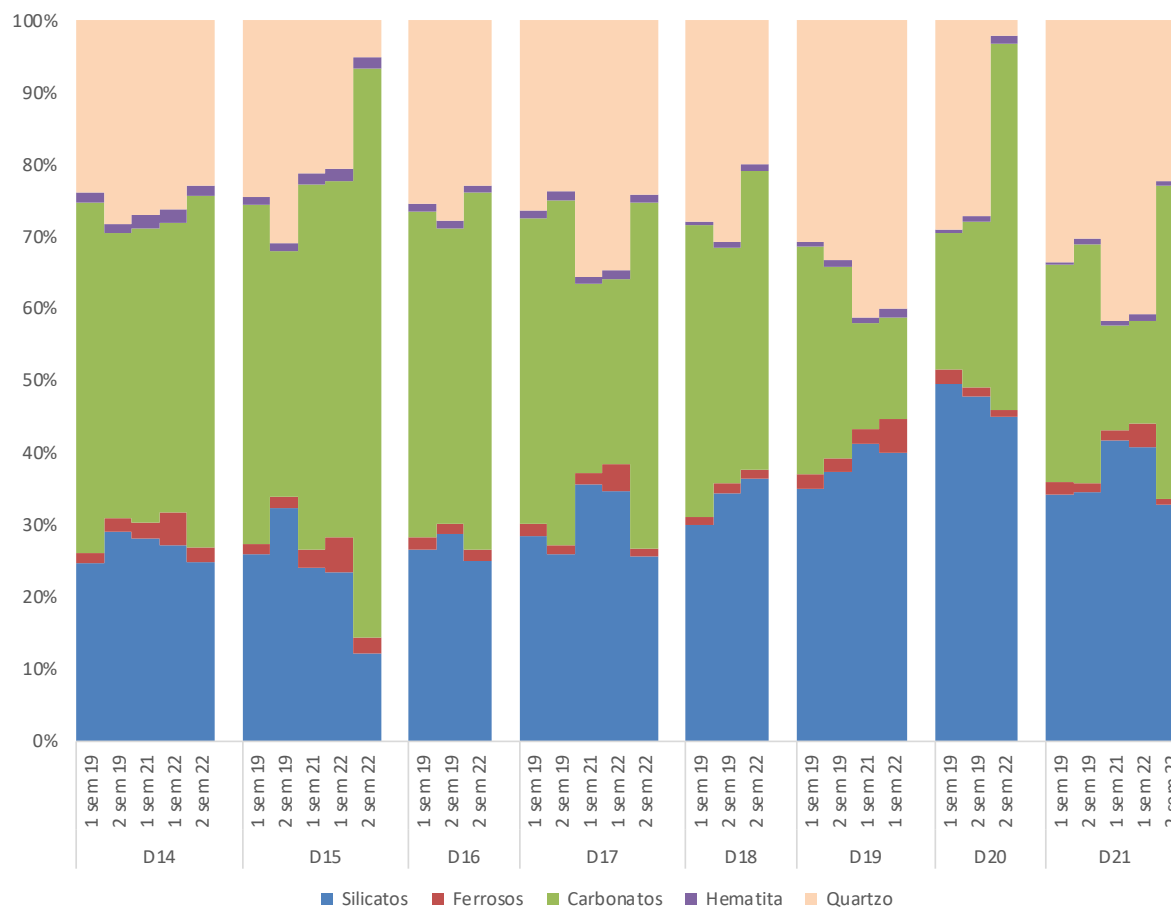


Figura 41 : Polimorfos nos sedimentos superficiais coletados nos recifes adjacentes ao litoral da APA Costa das Algas, agregados em valores médios semestrais.

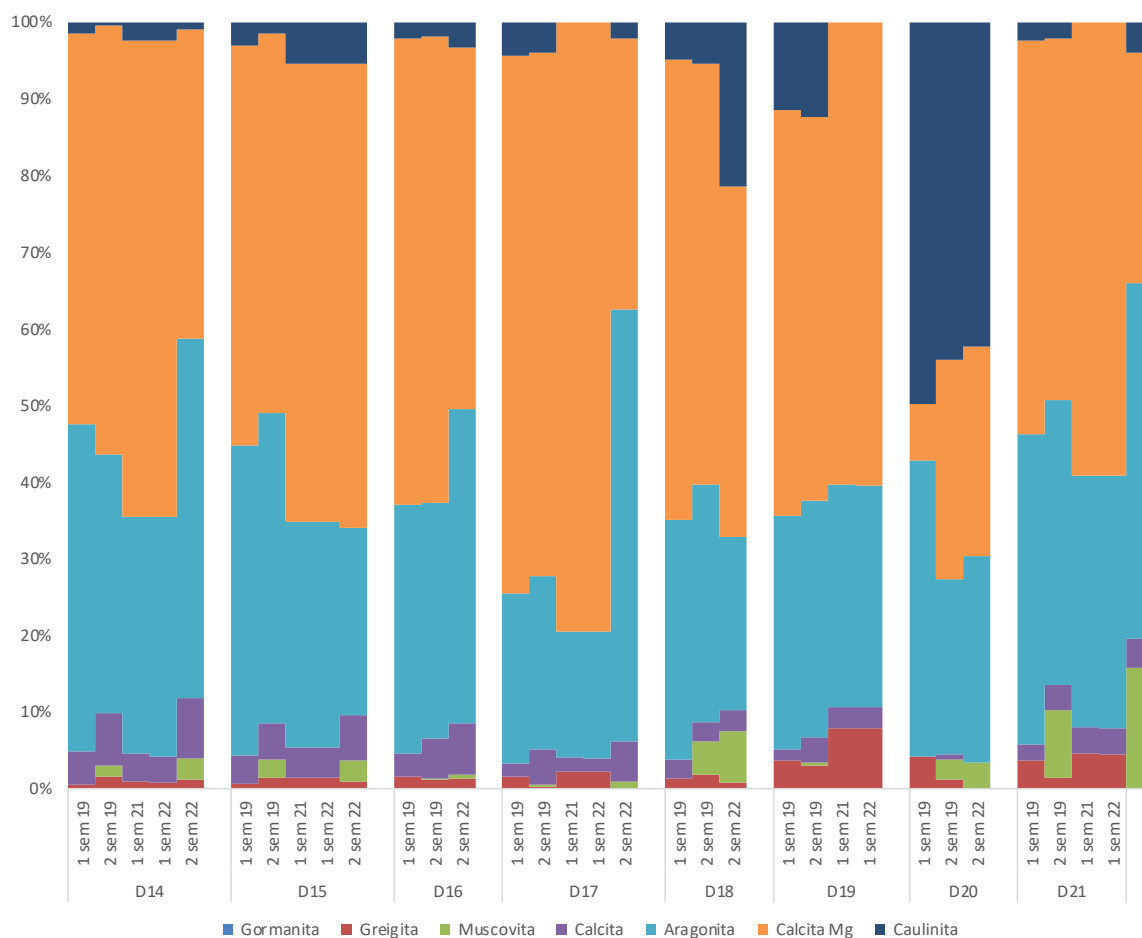
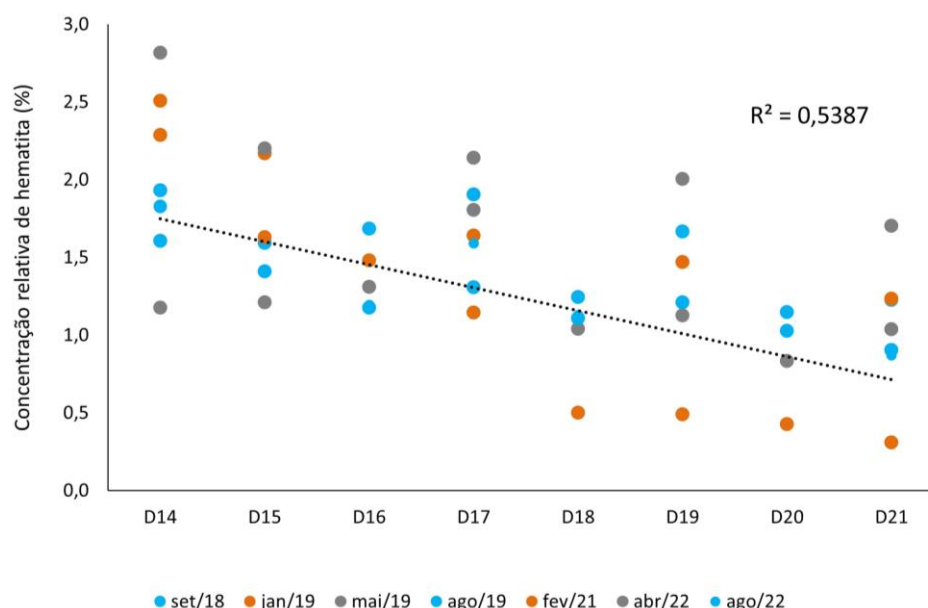


Tabela 4 : Polimorfos nos sedimentos superficiais em todos os sítios de recifes adjacentes ao litoral (APA Costa das Algas) (médias de todas as amostras, 2018-2022).

Sítio	N de amostras	Gormanita	Greigita	Muscovita	Calcita	Aragonita	Calcita Mg	Caulinita
D14	7	0,00	0,60	0,51	3,33	23,53	33,47	0,83
D15	7	0,00	0,71	0,72	2,99	22,90	37,41	2,57
D16	5	0,00	0,82	0,11	2,95	21,24	36,53	1,42
D17	7	0,00	0,58	0,11	1,89	15,59	38,42	1,71
D18	5	0,00	0,81	1,90	1,58	17,53	33,10	5,47
D19	6	0,00	1,83	0,07	1,05	13,10	23,11	4,04
D20	5	0,00	1,22	1,30	0,14	19,88	14,06	30,61
D21	7	0,00	1,04	2,97	1,43	18,62	22,05	1,06

Figura 42: Regressão linear entre o teor de hematita no sedimento superficial dos recifes costeiros e a os sítios dispostos em ordem da distância da foz do rio Doce (D14 ao D21) com dados coletados desde setembro de 2018 a agosto de 2022.



Ordenações (PCAs) apresentadas nos relatórios anteriores (RRDM, 2021; RRDM, 2022), baseadas em dados granulométricos e mineralógicos, permitiram discriminar os sítios da área A em relação aos da Área B, revelando também um agrupamento das amostras das áreas C e D. Essas análises não serão repetidas no presente relatório. As amostras da Área A foram relacionadas principalmente à natureza biogênica do fundo e à menor profundidade (REIS et al., 2016), além de estarem a maior distância da costa e da foz do Rio Doce. Os sítios A3 e A4, mais afastados da costa, se destacaram por apresentar praticamente 100% de sedimentos biogênicos. Por outro lado, as amostras da Área B, mais próxima da costa e da foz do Rio Doce, tiveram presença marcante de sedimentos terrígenos, principalmente quartzo. A segregação das Áreas C e D está associada a uma maior deposição de sedimentos flúvio-terrígenos na porção sul da área de estudo, incluindo sedimentos ferrosos.

Para uma melhor compreensão das variações nas frações dos minerais, ressalta-se que os três polimorfos do  $\text{CaCO}_3$  nos sedimentos superficiais são biogênicos, sendo a calcita magnesiana (calcita Mg) produzida principalmente por algas coralináceas e briozoários, ao passo que a calcita é produzida principalmente por bivalves e gastrópodes. A aragonita, por outro lado, é típica de corais (LEBRATO et al., 2016). Quanto aos sedimentos terrígenos, o quartzo é base para a formação dos silicatos de rochas e sedimentos continentais. Já a caulinita ( $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})$ ) é abundante em solos formados por intemperismo químico em regiões de clima quente e úmido (ANTHONY et al., 2017), enquanto que a muscovita ( $\text{KAl}_2(\text{AlSi}_3\text{O}_{10})(\text{OH})_2$ ) é comum em regiões costeiras, sendo componente primário de rochas ígneas e presente em rochas metamórficas e sedimentares detríticas (e.g. gnaisses, arenitos e argilitos) (WOODARD, 1951). Em locais de mineração, a muscovita, hematita e goetita tendem a ser os mais abundantes (YODER; EUGSTER, 1955). Já a greigita é um polimorfo de origem principalmente biogênica, formada principalmente por bactérias magnetotáticas e sulfato-redutoras, mas também associada à presença de água doce (QIANG et al., 2018). A gormanita é um minério de ferro fosfatado



raro, alvo de mineração em Minas Gerais e que pode vir associado a grãos de quartzo (<http://rruff.info/Gormanite/R080075>).

Quanto aos sedimentos superficiais, estão apresentados resultados consolidados, cobrindo o período entre novembro de 2018 e setembro de 2022. De maneira geral, os padrões reportados nos relatórios anuais anteriores (e.g. RRDM, 2022) não se alteraram.

Em praticamente todas as estações em **RECIFES E BANCOS DE RODOLITOS** os sedimentos foram majoritariamente compostos pela classe areia (50-95%; média ~75%), à exceção dos sítios D3 e D7 e de algumas estações (C4 e D11, dezembro de 2018; C4 e D7, fevereiro de 2019 e 2021) onde a classe cascalho predominou. A contribuição dos sedimentos mais finos (silte) foi menor nas demais estações (média de ~9%), exceto em fevereiro de 2021 no sítio C4. Cascalho teve contribuição média de ~16%. Os sítios com predominância de sedimentos mais grossos (C4, D7 e D11) foram os mais afastados da costa e mais próximos da quebra da plataforma. Nestes, a contribuição de sedimentos finos não variou de forma importante, nem mesmo em períodos de maior vazão do Rio Doce (COELHO, 2007).

Quanto à mineralogia, os sedimentos das campanhas de 2022 corroboraram resultados pretéritos, tendo sido compostos por três grandes grupos minerais: carbonatos (calcita Mg, calcita e aragonita), terrígenos ou silicilásticos (quartzo, caulinita e muscovita) e ferrosos (hematita, gormanita e greigita). Os minerais mais representativos foram os carbonáticos (média ~75%), seguidos dos silicilásticos (24% em média) e de ferrosos (1% em média). A evolução temporal da participação dos grandes grupos minerais está apresentada separadamente para os recifes (Figura 36) e bancos de rodolitos (Figura 37). As frações médias dos polimorfos nos sedimentos superficiais dos recifes e bancos de rodolitos estão mostradas na Tabela 3, de maneira a fornecer um contraste espacial entre todas as estações. A evolução temporal está apresentada em detalhe para os recifes (Figura 38) e bancos de rodolitos (Figura 39).

Embora a detecção de sedimentos ferrosos não representenexo causal com o rompimento da barragem, estes sedimentos revelam a ampla abrangência das plumas flúvio-costeiras. Por outro lado, a associação de sedimentos ferrosos com o rompimento da barragem foi demonstrada através de assinaturas microestruturais e químicas das partículas minerais ferrosas, as quais foram similares entre as quatro áreas de estudo (inclusive nos sedimentos internos dos rodolitos) e aquelas oriundas do local onde ocorreu o rompimento da barragem (RRDM 2021 e 2022). Neste sentido, a detecção da contaminação por metais em esqueletos de corais e algas coralináceas formadoras de rodolitos, apresentada em CARDOSO et al. (2021), confirma a chegada de materiais associados ao rompimento nesses ecossistemas. Sedimentos ferrosos aumentam a biodisponibilidade de íons de Fe e outros metais que podem ser incorporados e causar efeitos nocivos em organismos recifais (AMADO-FILHO et al., 1996; ANDRADE et al., 2002; ANDRADE et al., 2010; BRINKHUIS; CHUNG, 1986; CARDOSO et al., 2021).

Nos **RECIFES ADJACENTES AO LITORAL** da APA Costa das Algas a classe areia dominou em praticamente todos os sítios e campanhas (80% em média), com exceção de D18 e D21, onde houve dominância de cascalho (setembro de 2018 e janeiro de 2019). Este tipo de sedimento foi o segundo

mais encontrado nos demais sítios (15% em média), à exceção de janeiro de 2022, quando silte foi mais abundante que cascalho. De forma geral, sedimentos mais finos (silte) tiveram menor contribuição em todos os locais e campanhas (5% em média), mas chegaram a corresponder a ~40% da composição do sedimento de D14 (janeiro de 2022). Ordenações (PCA) apresentadas em relatórios anteriores revelaram que a granulometria está associada à distância da foz do rio Doce (RRDM 2021, 2022).

Os polimorfos carbonáticos e siliciclásticos apresentaram contribuição média de 51,7 e 46%, respectivamente, nos recifes adjacentes ao litoral. Os minerais ferrosos hematita e greigita apresentaram contribuição média de 1,4 e 0,9%, respectivamente. A contribuição de minerais de origem terrígena caiu ~30% nas campanhas de maio e julho de 2019 (em comparação a setembro de 2018 e janeiro de 2019) e aumentou ~15% em fevereiro de 2021 e abril de 2022 (chuvosos). Em agosto de 2022, uma nova redução da fração terrígena foi observada.

A evolução temporal da participação dos grandes grupos minerais está apresentada na Figura 40. As frações médias dos polimorfos estão mostradas na Tabela 4, de maneira a fornecer um contraste espacial entre todas as estações. A evolução temporal nas frações dos polimorfos está apresentada na Figura 41, à exceção da hematita, cuja análise foi apresentada em análises específicas a seguir.

Dentre as variações espaço-temporais observadas nos recifes costeiros da Área D, a hematita se destacou como possível assinatura da descarga sedimentar do rio Doce, pois apresentou atenuação linear com relação à distância da foz (do sítio D14 ao D21), ao longo de todo o período de monitoramento (2018-2022) (Figura 42). O aumento na concentração da hematita em função da proximidade da foz pode ser considerado uma evidência indireta do efeito do rompimento da barragem, ainda que não represente evidência direta da presença do rejeito da barragem na área de estudo. Por outro lado, outros sedimentos terrígenos não apresentaram aumento na concentração em função da proximidade da foz, como por exemplo os silicatos, cuja concentração tendeu a ser maior nos sítios mais ao sul da Área D (veja RRDM 2022).

Conforme discutido em relatórios anteriores (e.g. RRDM, 2022), o aumento de silicatos nos recifes adjacentes ao litoral mais ao sul pode indicar aportes de sedimentos de drenagens locais, tais como os rios Reis Magos, Laranjeiras e Piraquê-Açu (RRDM 2019 e 2020). Contudo, o possível efeito do rompimento da barragem na composição sedimentar nos recifes costeiros da Área D, indicado pelo padrão de distribuição da hematita nos recifes adjacentes ao litoral, é suportado por evidências de indicadores endereçados entre 2020 e 2022, tais como: 1) assinaturas microestruturais e químicas de partículas de óxidos de ferro nos sedimentos superficiais, similares àquelas oriundas do local do rompimento da barragem; 2) detecção de partículas de óxidos de ferro sobre talos de macroalgas, com assinatura microestrutural e química similar aos sedimentos oriundos da barragem; 3) alterações celulares em macroalgas dos sítios costeiros da Área D e incorporação subcelular de ferro nessas macroalgas (RRDM 2020, 2021, 2022).

Figura 43 : Mineralogia dos sedimentos coletados em armadilhas, agregados em valores médios semestrais. Os valores dos sítios costeiros Pedra de Leste (A1) e Sebastião Gomes (A2) (rotulados como “Inshore - A”) e de todos os sítios recifais da Área B estão agregados para facilitar a visualização.

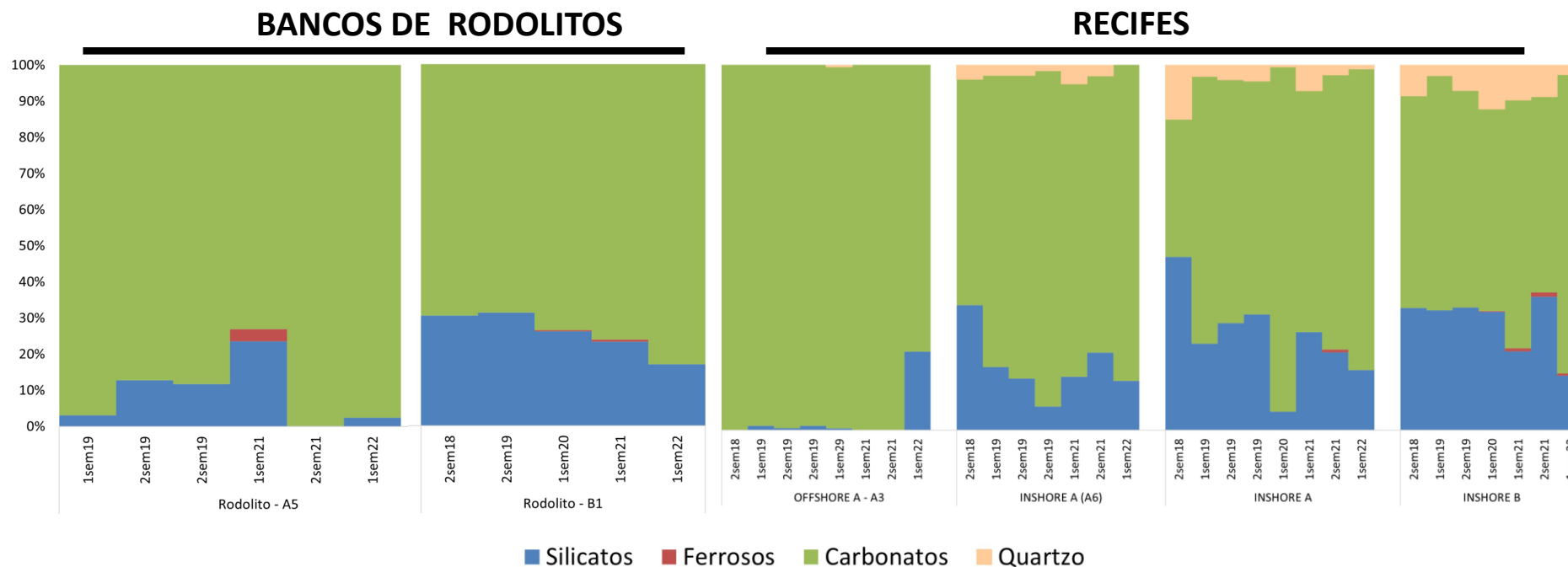
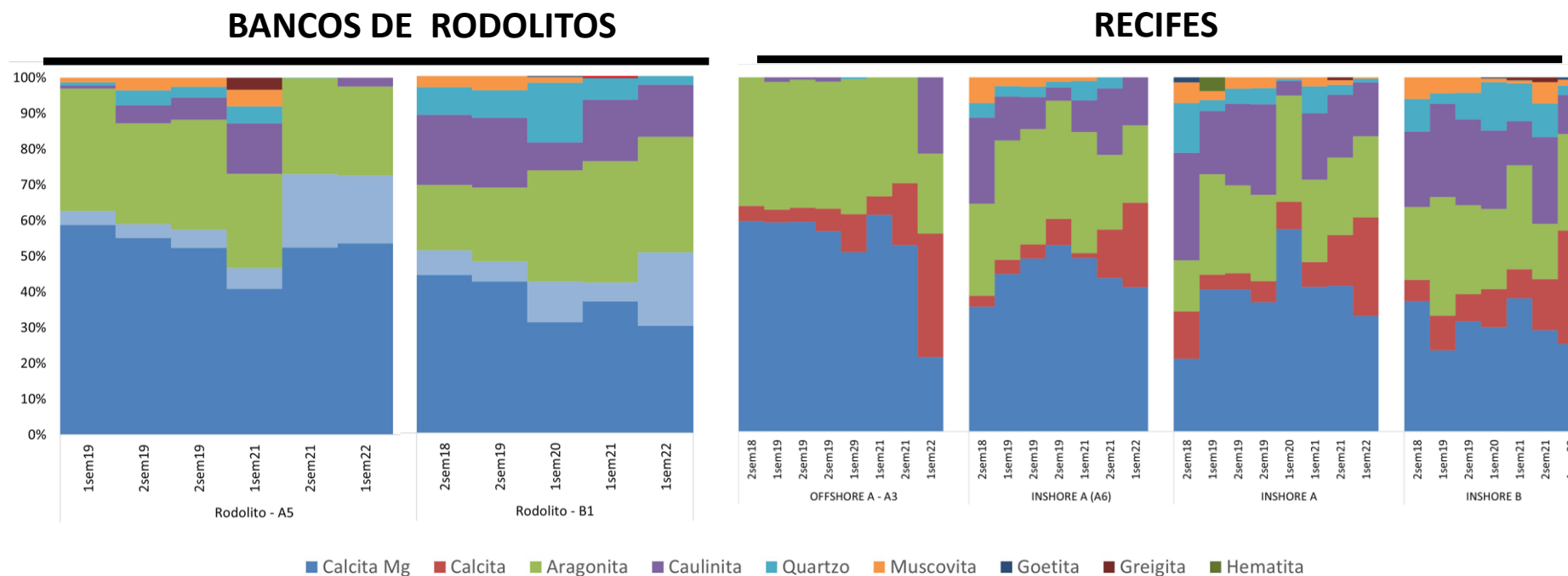


Figura 44 : Polimorfos nos sedimentos coletados em armadilhas, agregados em valores médios semestrais. Os valores dos sítios costeiros Pedra de Leste (A1) e Sebastião Gomes (A2) (rotulados como “Inshore - A”) e de todos os sítios recifais da Área B estão agregados para facilitar a visualização.



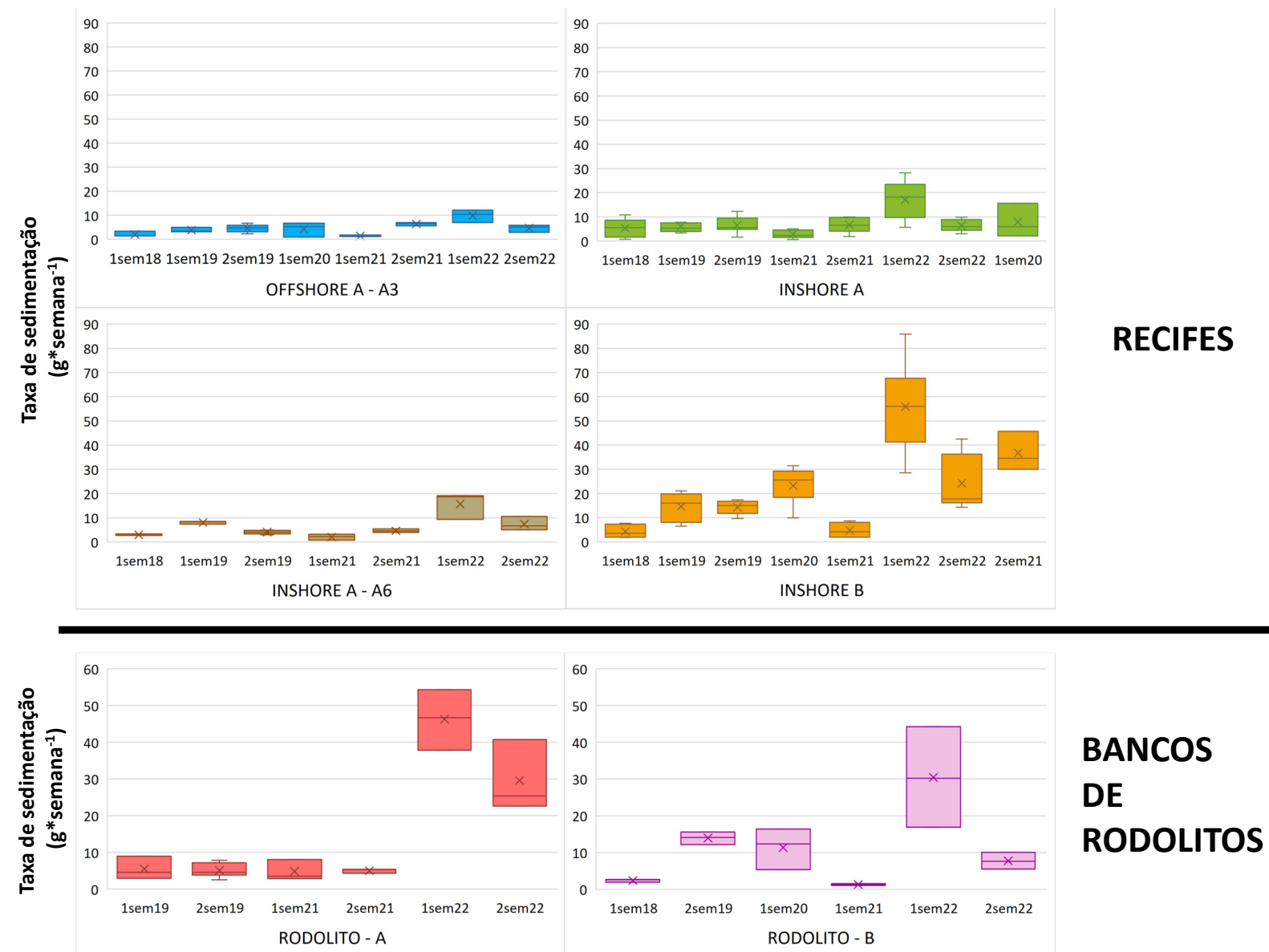
Quanto aos sedimentos capturados em armadilhas, além de fornecerem informações sobre taxas de sedimentação, armadilhas são úteis para a obtenção de sedimentos finos, uma vez que seu conteúdo é menos afetado por ressuspensão do que a superfície do fundo. Nos relatórios anteriores (RRDM, 2021; RRDM, 2022), análises de componentes principais (PCAs) com dados mineralógicos e granulométricos evidenciaram um grupo formado pelas amostras da Área A e o outro pelas da Área B. Destaca-se a segregação do sítio A3, com mineralogia 100% carbonática (calcita Mg, calcita e aragonita), à exceção de março de 2022 quando sedimentos terrígenos corresponderam à ~20%.

A classe granulométrica predominante, em todas as armadilhas, foi areia (~75% em média). A contribuição de sedimentos finos (silte) foi maior do que aquela observada nos sedimentos superficiais (9 e 20%, respectivamente). Os sedimentos mais grossos (cascalho) foram pouco presentes (~5 % em média), com exceção de A5, que apresentou maior contribuição de cascalho (~15% em média) na maior parte das campanhas.

Sedimentos de origem continental (e.g. silicatos) foram mais abundantes (20-30%, em média) nos recifes costeiros (“*inshore*”), seguidos dos sítios em bancos de rodolitos (A5 e B1; ~16%) e contrastando com o sítio A3, no Parcel dos Abrolhos (“*offshore*”), este último com mais de 80% de carbonatos em todas as campanhas (Figura 43). Ressalta-se o registro de minerais ferrosos goetita e hematita em recifes costeiros (“*inshore*”), mais abundantes na Área B (Figura 44).



Figura 45 : Taxas de sedimentação ( $\text{g} \cdot \text{semana}^{-1}$ ) registradas em armadilhas instaladas em recifes e bancos de rodolitos, agregadas por semestre. Os valores dos sítios costeiros Pedra de Leste (A1) e Sebastião Gomes (A2) (rotulados como "Inshore - A") e de todos os sítios recifais da Área B estão agregados para facilitar a visualização.



De forma geral, as taxas de sedimentação nos recifes da Área B ( $\text{g} \cdot \text{semana}^{-1}$ ) foram maiores do que na Área A (PERMANOVA,  $p < 0,001$ ) (Figura 45). Dentre os sítios recifais da Área A, as maiores taxas foram as de Sebastião Gomes e Pedra de Leste ("Inshore A", sítios A1 e A2) seguidas por A3 ("Offshore A", Parcel dos Abrolhos) e A6 ("Inshore A", Timbebas). Os sítios em bancos de rodolitos (e alguns sítios recifais, especialmente na Área B) apresentaram aumento nas taxas de deposição em 2022, indicando influência de forçantes meteocanográficas, cujo efeito parece ter sido maior nos Recifes Esquecidos (Área B).

### 3.7 PRODUÇÃO DE $\text{CaCO}_3$ E COLONIZAÇÃO DE ORGANISMOS SÉSSEIS EM ESTRUTURAS ARTIFICIAIS

Figura 46: Cobertura relativa (%) das placas (CAUS) nos diferentes períodos de submersão (duração de um ano cada) após 2018.

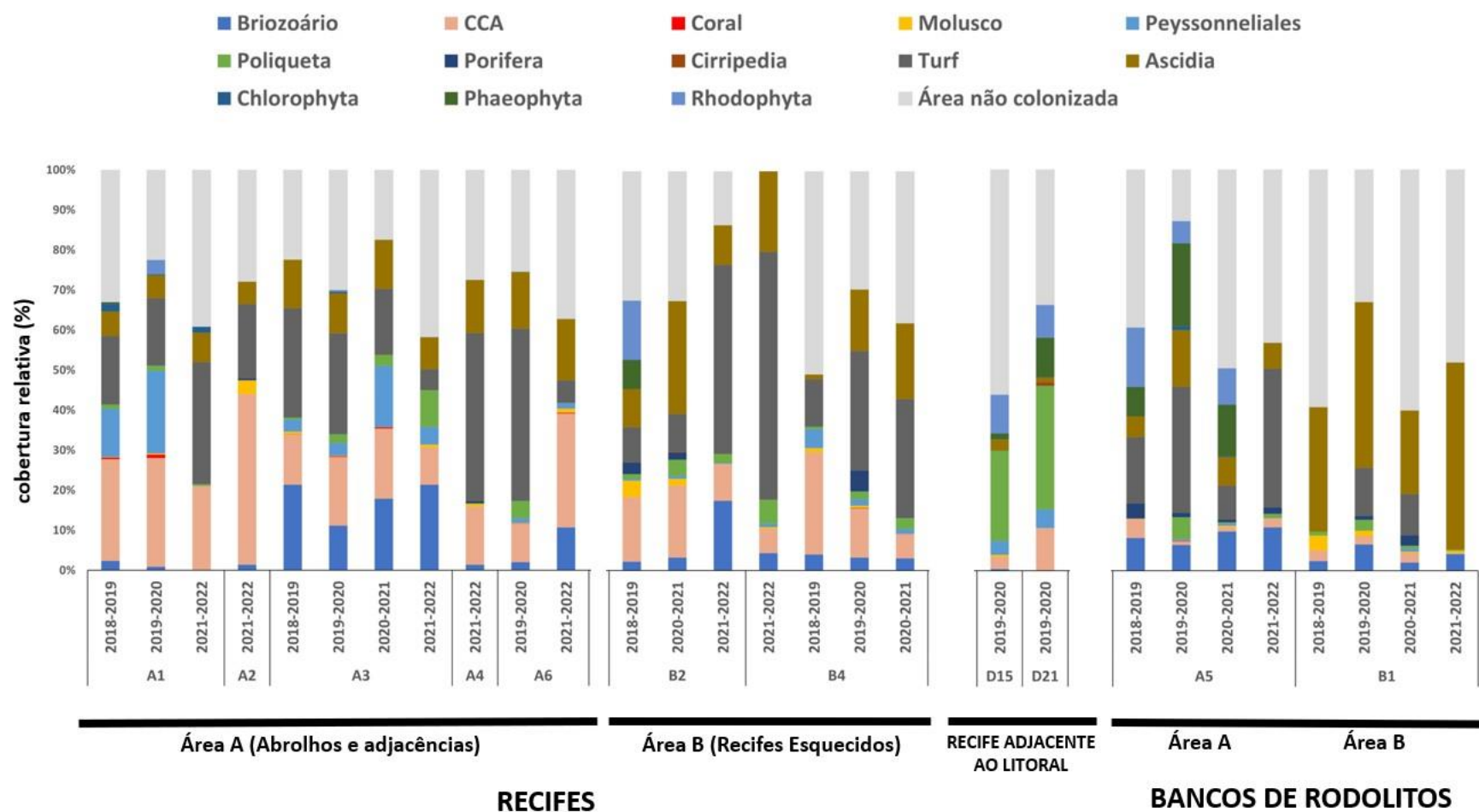
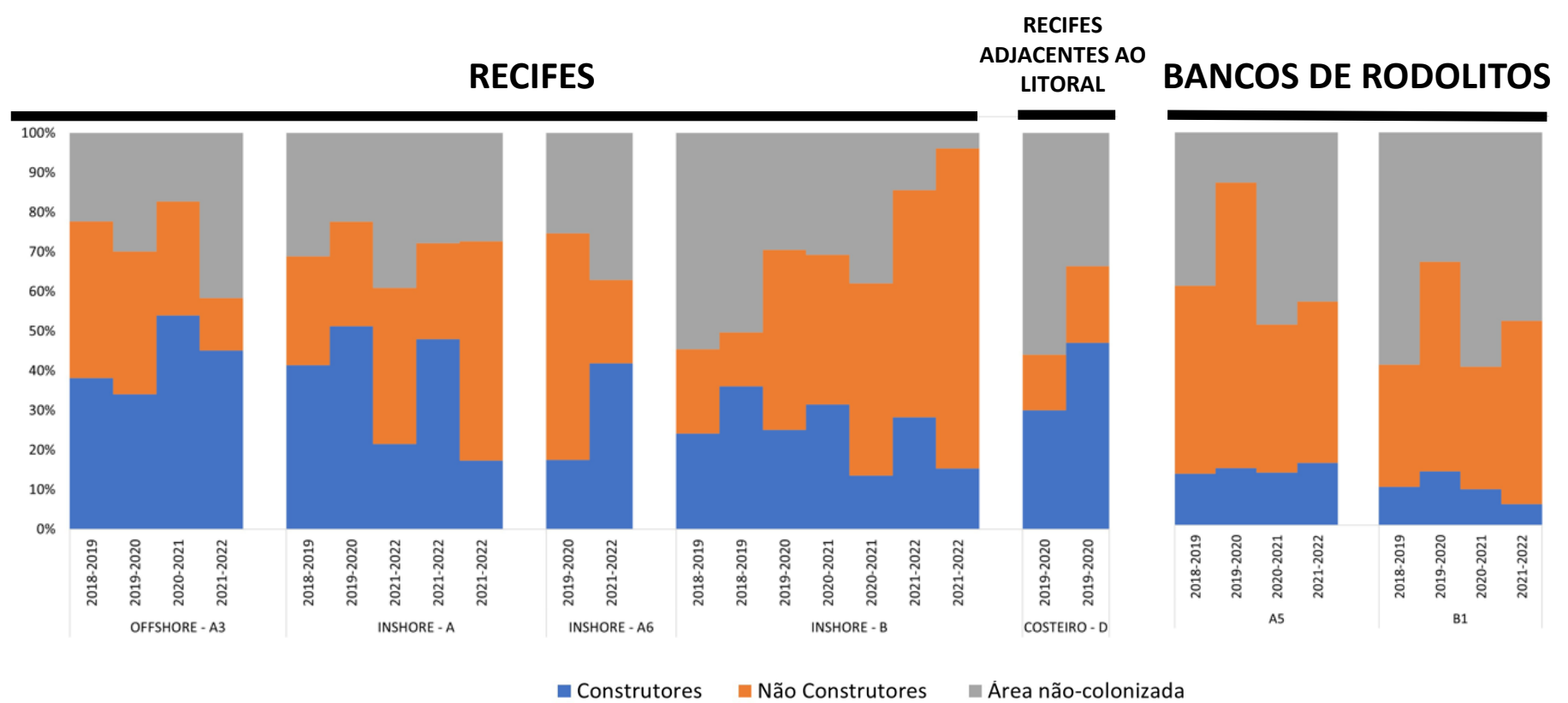
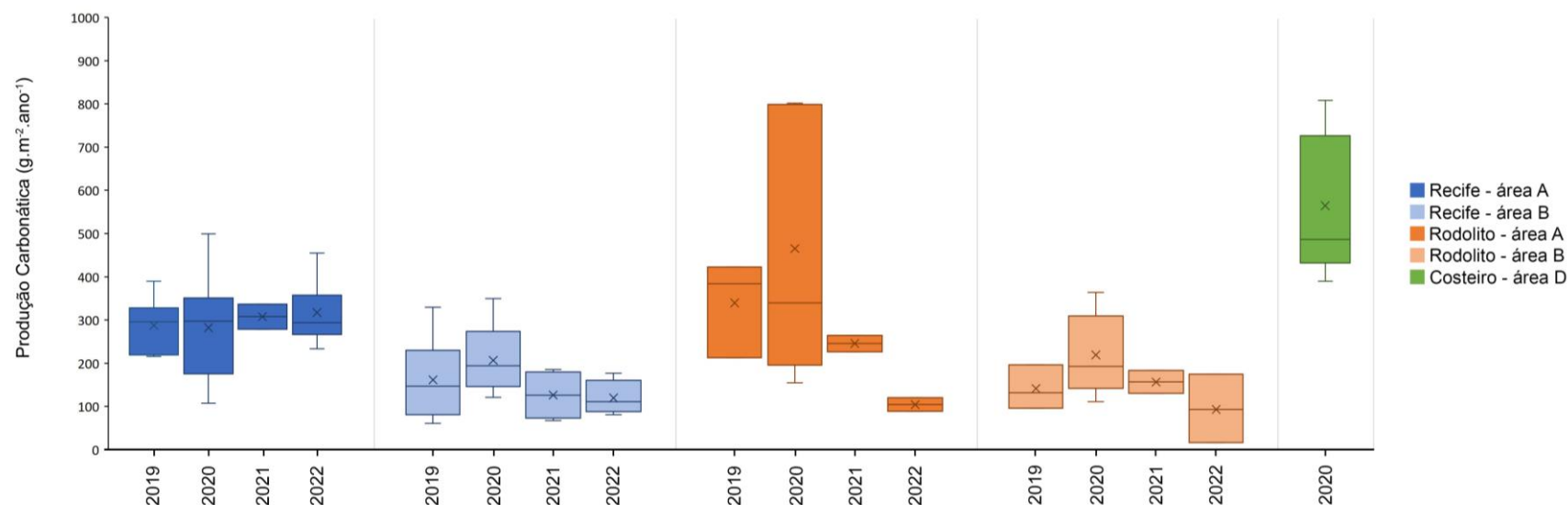


Figura 47: Percentual médio de cobertura dos organismos construtores e não construtores e área não colonizada nos diferentes períodos de submersão (duração de um ano cada) após 2018.



A composição da cobertura das CAUs recuperadas a partir de 2018 está apresentada na Figura 46. Em bancos de rodolitos, as placas da Área A apresentaram maior abundância de macroalgas e turf, com participação expressiva de briozoários e esponjas, ao passo que as da Área B tiveram participação mais importante de moluscos, cirripédios e ascídias. A variação espaço-temporal na estrutura das comunidades assentadas nas placas recuperadas após 2018, bem como sua associação com variáveis ambientais (e.g. distância da costa/turbidez, temperatura), foi explorada em relatórios anteriores (RRDM 2021; RRDM 2022) e não será repetida. Organismos construtores e não construtores apresentaram maiores e menores coberturas nos sítios em recifes (A1, A3, B2 e B4) e bancos de rodolitos (A5 e B1), respectivamente (Figura 47). A razão entre construtores e não construtores também foi maior em recifes ( $1,27 \pm 0,79$ ) do que em bancos de rodolitos ( $0,27 \pm 0,05$ ).

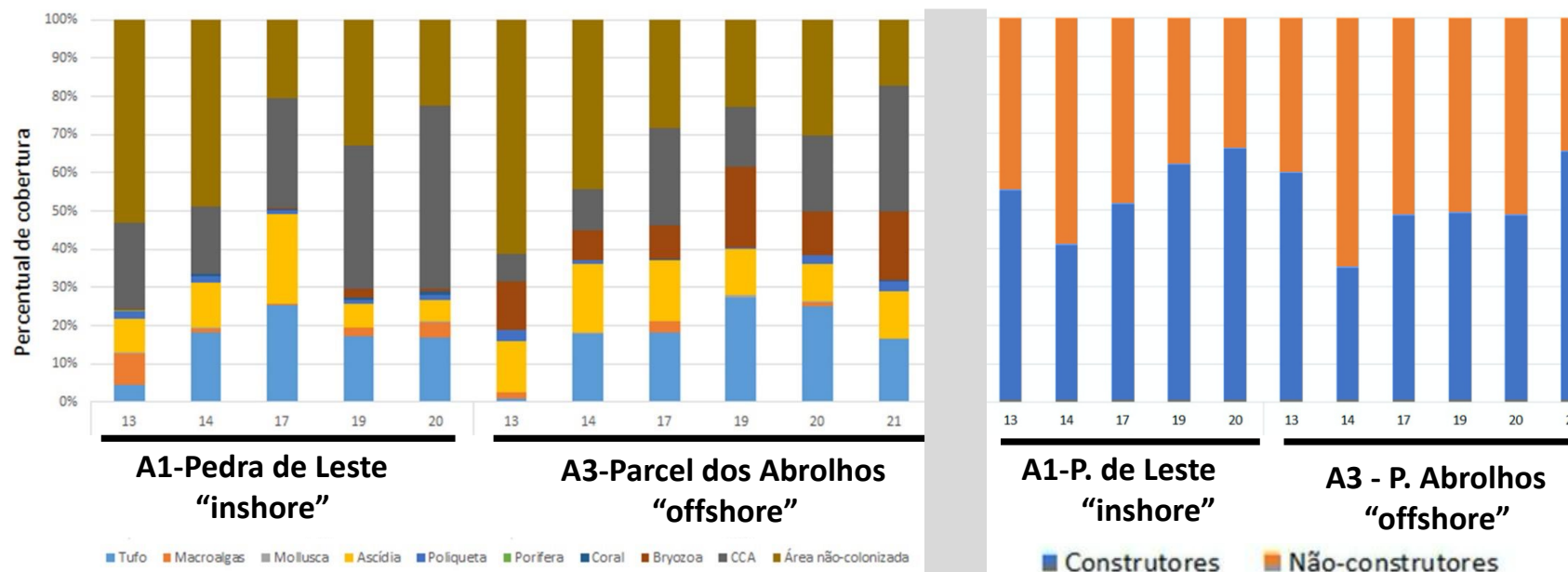
Figura 48: **Produção de massa carbonática ( $\text{g.m}^{-2}.\text{a}^{-1}$ ) em recifes, bancos de rodolitos e recifes adjacentes ao litoral nas 3 áreas de estudo (A - Abrolhos e adjacências, B – Recifes Esquecidos e D – Recifes adjacentes ao litoral da APA Costa das Algas) ao longo dos quatro ciclos de experimentação com placas de colonização (CAUs). As datas se referem ao ano da remoção, após um ano de submersão. As barras horizontais no interior das caixas se referem às medianas.**



Ainda considerando apenas as placas recuperadas a partir de 2018, a produção média de  $\text{CaCO}_3$  nas placas da Área A (PARNAM Abrolhos) e B (Recifes Esquecidos) foi de  $299 \pm 17$  e  $166 \pm 38 \text{ g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$ , respectivamente. Nos bancos de rodolitos, a produção foi de  $296 \pm 147$  e  $165 \pm 50 \text{ g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$  nas áreas A e B, respectivamente. Nos recifes costeiros adjacentes ao litoral (Área D), cujas placas foram recuperadas em 2020 (submersas entre 2019-220), a produção foi de  $562 \pm 155 \text{ g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$ .

Nos quatro ciclos de experimentos de colonização realizados após a implementação do PMBA/Fest (2018-2019, 2019-2020, 2020-2021, 2021-2022), os maiores valores absolutos de produção de massa carbonática ocorreram no período 2019-2020, nos bancos de rodolitos da Área A e nos recifes adjacentes ao litoral da Área D, seguidos pelos recifes da Área A, recifes da Área B e banco de rodolitos da Área B (Figura 48). Quanto à massa não-carbonática, os maiores valores também foram observados em 2019, nos recifes adjacentes ao litoral da Área D ( $504 \pm 230 \text{ g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$ ).

Figura 49: Contribuição relativa (%) dos grupos de organismos (esquerda) e de organismos construtores e não construtores em relação a massa total (direita), nos dois sítios com placas instaladas e removidas antes e depois do rompimento da barragem (Pedra de Leste – A1 e Parcel dos Abrolhos – A3). As placas ficaram submersas por um ano, entre 2012-2021. Os valores do eixo horizontal correspondem aos dois últimos dígitos do ano da remoção.



São aqui apresentadas análises comparativas baseadas em CAUs instaladas antes (submersão entre 2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após o rompimento da barragem (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos), abrangendo os sítios A1 (Pedra de Leste) e A3 (Parcel dos Abrolhos). Os dados antecedentes ao PMBA/Fest foram obtidos no âmbito do programa PELD/CNPq e outros projetos.

Os organismos registrados nas placas abrangem 10 grandes grupos taxonômicos, incluindo algas calcárias incrustantes (CCA), briozoários, corais, moluscos, poliquetas, poríferos e crustáceos (organismos construtores), bem como tufos (= *turf*), ascídias e macroalgas (não construtores) (Figura 49). A cobertura total (média  $\pm$  desvio padrão) por organismos foi de  $64,2 \pm 1,3$ , sendo  $34,3 \pm 0,5$  para construtores e  $29,6 \pm 3,9$  para não construtores (Figura 49). Em A1 os construtores majoritários foram CCA ( $23,4 \pm 3,7$ ) e Peyssonneliales ( $7,5 \pm 8,8$ ), enquanto que em A3 foram CCA ( $14,2 \pm 4,7$ ), briozoários ( $13,3 \pm 5,4$ ) e Peyssonneliales ( $4,5 \pm 5,7$ ). Em relação aos não construtores, tanto em A1 quanto A3, predominaram tufos ( $15,1 \pm 6,3$  e  $17,7 \pm 9,3$ , respectivamente) e ascídias ( $9,1 \pm 3,4$  e  $13,6 \pm 2,9$  respectivamente) (Figura 49).

Figura 50 : Ordenação (nMDS) com os dados de cobertura das placas de colonização (CAUS) obtidos antes (2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após o rompimento da barragem (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos) nos sítios Pedra de Leste (“inshore”) e Parcel dos Abrolhos – B3 (“offshore”), Área A (Abrolhos e adjacências). As correlações mostradas abrangem as variáveis mais influentes (Pearson  $r > 0,7$ ).

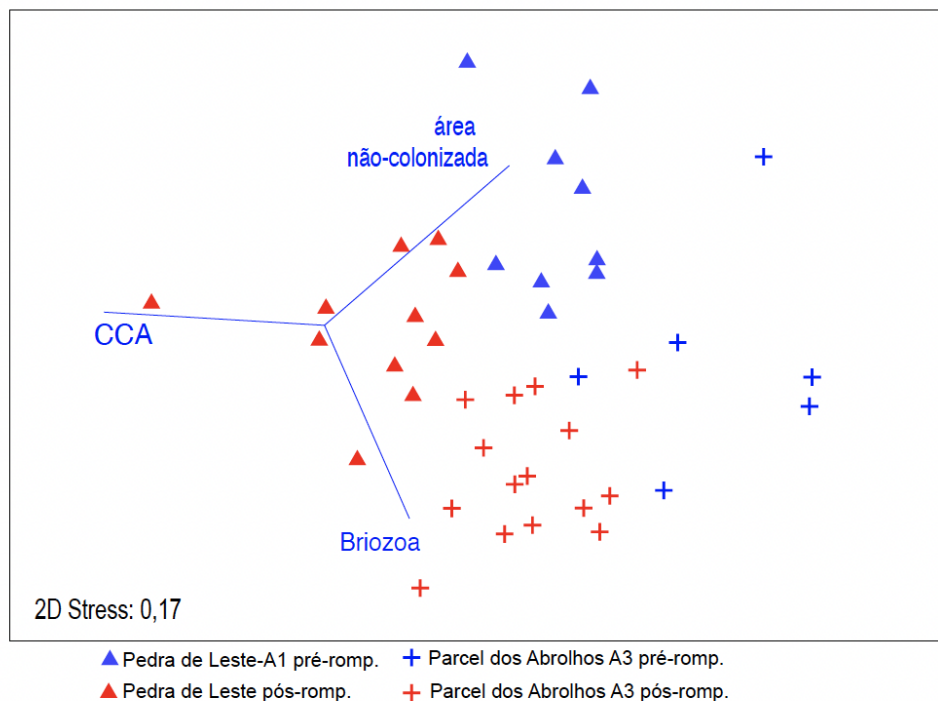


Tabela 5 : Resultado da PERMANOVA com dados de cobertura percentual das placas de colonização (CAUS) obtidos antes (2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos) o rompimento da barragem, nos sítios Pedra de Leste (“inshore”) e Parcel dos Abrolhos – B3 (“offshore”), na Área A (Abrolhos e adjacências). Mesmos dados das figuras Figura 49 e Figura 50.

	GL	SQ	Pseudo-F	P(perm)	P(MC)
1 - Sítio	1	3567,7	10.501	0,0004	<b>0,0001</b>
2 – Barragem (pré e pós rompimento)	1	10255	30.184	0,0001	<b>0,0001</b>
1*2	1	260,23	0,76599	0,4838	0,4834
Resíduos	37	12570			

Ainda sobre as análises comparativas baseadas em CAUs instaladas antes (submersão entre 2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após o rompimento da barragem (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos), abrangendo os sítios A1 (Pedra de Leste) e A3 (Parcel dos Abrolhos), a ordenação (nMDS) com dados de cobertura (Figura 50), acompanhada por PERMANOVAs (Tabela 5), discrimina significativamente os sítios e o efeito da barragem, sem destacar interação. De maneira geral, houve diminuição na área não colonizada e aumento na colonização por CCA após o rompimento, nos dois sítios.



Figura 51 : **Massa calcária e não calcária nas placas (CAUS) antes (2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após o rompimento da barragem (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos) nos sítios Pedra de Leste ("inshore") e Parcel dos Abrolhos – B3 ("offshore"), na Área A (Abrolhos e adjacências).** **Painel A:** Ordenação (nMDS) com os dados de massa calcária e não calcária das placas (correlações de Pearson mostradas em azul abrangendo as duas variáveis). Os números ao lado dos símbolos indicam os anos das coletas das placas. **Painel B:** Massa calcária (g) nas placas. As linhas representam as medianas. Azul= pré-rompimento; Vermelho = pós-rompimento.

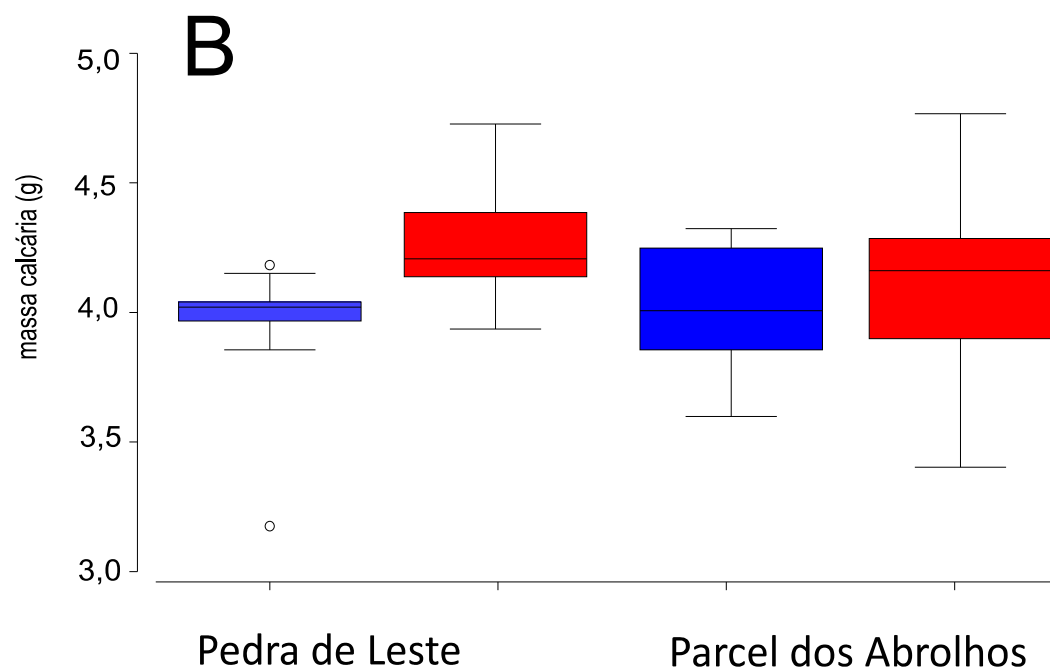
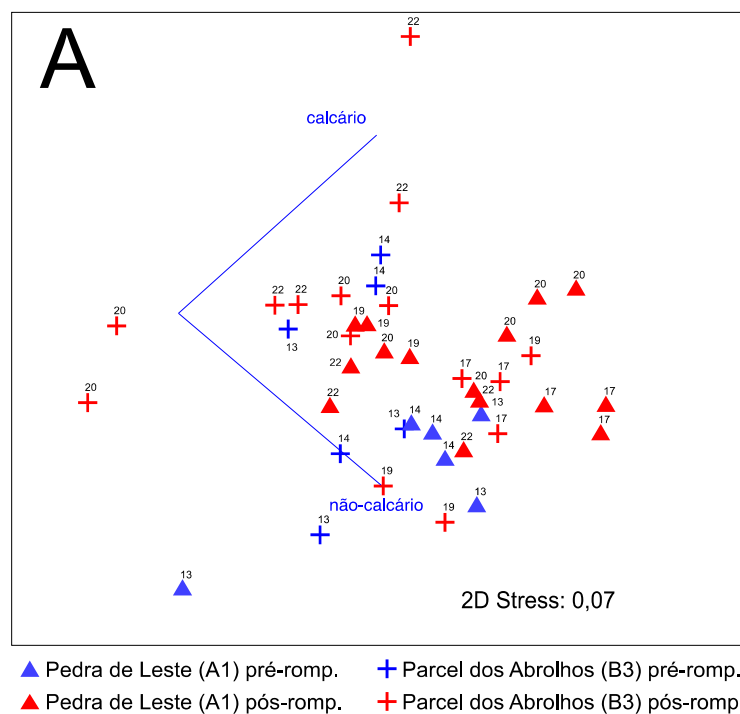


Tabela 6 : **Resultado da PERMANOVA com dados de massa calcária das placas de colonização (CAUS) obtidos antes (2012-2013 e 2013-2014; dois ciclos) e após (2016-2017, 2018-2019, 2019-2020, 2021-2022; 4 ciclos) o rompimento da barragem, nos sítios Pedra de Leste (“inshore”) e Parcel dos Abrolhos – B3 (“offshore”), na Área A (Abrolhos e adjacências). Mesmos dados da Figura 51 B.**

	GL	SQ	Pseudo-F	P(perm)	P(MC)
1 - Sítio	1	0,058	0,673	0,421	0,420
2 – Barragem (pré e pós rompimento)	1	0,474	5,531	0,023	<b>0,025</b>
1*2	1	0,135	1, 578	0,217	0,218
Resíduos	38	3,261			

Entre 2012 e 2022 a produção média de  $\text{CaCO}_3$  e de massa não calcária foi de  $306 \pm 68$  e  $51 \pm 24 \text{ g.m}^{-2}.\text{ano}^{-1}$ , respectivamente. Uma segunda ordenação (nMDS) utilizando os valores de massa calcária e não calcária das placas mostrou aumento na massa calcária após o rompimento (Figura 51), principalmente no sítio “*inshore*” Pedra de Leste (A1) (Figura 51B), a qual esteve associada às maiores coberturas por CCA após o rompimento (veja Figura 50). Uma PERMANOVA com as massas calcárias das placas antes e depois do rompimento (sítios considerados como fatores fixos) mostra efeito significativo do evento (Tabela 6).

Estes resultados revelam uma associação entre o rompimento da barragem e alterações em processos de colonização dos recifes na Área A, os quais tendem a se propagar no nível do ecossistema em escalas temporais mais dilatadas. O aumento na massa calcária, que poderia indicar uma intensificação no crescimento recifal como um todo, deve ser interpretado cautelosamente e em conjunto com os demais resultados. Por exemplo, a cobertura de corais longevos e de crescimento lento, endêmicos (veja 3.1), foi reduzida após o rompimento (grupo funcional MUSSISMILLIAS), mas foi acompanhada de aumento na cobertura de corais de crescimento rápido e vida curta (grupo funcional AGARICIAS), associados aos estágios iniciais de sucessão ecológica. Assim, o aumento na massa calcária nas placas de colonização, que ficam submersas por apenas um ano, foi associado à cobertura de CCA, que são organismos de sucessão primária. Os resultados dos experimentos com as placas (CAUS), portanto, corroboram alterações associadas ao rompimento e que abrangem todo o ecossistema recifal.

#### 4 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS, JUSTIFICATIVAS

Além das interrupções nos trabalhos de campo por conta da pandemia de COVID-2019, algumas poucas estações amostrais não foram realizadas quando houve restrições climáticas ou quebra/descalibração de instrumentos. As amostras de água e organismos para a análise de concentração de metais, além das amostras referentes à fotobiologia foram coletadas e estão em processo de análise. Esses pequenos hiatos nas grandes massas de dados geradas pelo tema/projeto não trazem qualquer implicação quanto aos resultados e conclusões aqui apresentados.

## 5 REFERÊNCIAS

- AL-HORANI, F.A.; AL-MOGHRABI, S.M.; DE BEER, D. Microsensor study of photosynthesis and calcification in the scleractinian coral, *Galaxea fascicularis*: active internal carbon cycle. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, v. 288, n. 1, p. 1-15, 2003.
- ALI, A.; IDRIS, A.M.; EBRAHIM, A.M., et al. Brown algae (Phaeophyta) for monitoring heavy metals at the Sudanese Red Sea coast. *Applied Water Science*, v. 7, p. 3817–3824, 2017.
- AMADO-FILHO, G.M.; KAREZ, C.S.; PFEIFFER, W.C.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y & FARINA, M. Accumulation, effects on growth, and localization of zinc in *Padina gymnospora* (Dictyotales, Phaeophyceae). *Hydrobiologia*, 327, p. 451-456, 1996.
- AMADO-FILHO, G.M.; KAREZ, C.S.; ANDRADE, L.R.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y. *et al.* Effects on growth and accumulation of zinc in six seaweed species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37, n. 3, p. 223-228, 1997.
- AMADO-FILHO, G.M.; ANDRADE, L.R.; KAREZ, C.S.; FARINA, M. *et al.* Brown algae species as biomonitors of Zn and Cd at Sepetiba Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Environmental Research*, 48, n. 3, p. 213-224, 1999.
- AMADO-FILHO, G.M. *et al.* Rhodolith beds are major CaCO<sub>3</sub> bio-factories in the tropical South West Atlantic. *PLoS ONE* v. 7(4), e35171, 2012.
- AMADO-FILHO, G.M. *et al.* Accumulation, effects on growth, and localization of zinc in *Padina gymnospora* (Dictyotales, Phaeophyceae). *Hydrobiologia*, 327, p. 451-456, 1996.
- AMADO-FILHO, G.M.; CREED, J.C.; ANDRADE, L.R.; PFEIFFER, W.C. Metal accumulation by *Halodule wrightii* populations. *Aquatic Botany*, 80, n. 4, p. 241-251, 2004.
- AMADO-FILHO, G.M.; MANEVELDT, G.W.; PEREIRA, G.H.; MANSO, R.C.C. *et al.* Seaweed diversity associated with a Brazilian tropical rhodolith bed. *Ciencias Marinas*, 36, n. 4, p. 371-391, 2010.
- AMBARSARI, I., et al. Fluctuations in algal chlorophyll and carotenoid pigments during solar bleaching in the coral *Goniastrea aspera* at Phuket, Thailand. *Marine Ecology Progress Series*, 1997, vol. 159, p. 303-307.
- ANDERSON, M.J. *Permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA)*. Wiley, 2014, p. 1-15.
- ANDRADE, L.R.; FARINA, M.; AMADO FILHO, G.M. Role of *Padina gymnospora* (Dictyotales, Phaeophyceae) cell walls in cadmium accumulation. *Phycologia*, 41, n. 1, p. 39-48, 2002.
- ANDRADE, L.R.; LEAL, R.N.; NOSEDA, M.; DUARTE, M. E. R.; PEREIRA, M.S.; MOURÃO, P.A.S.; FARINA, M & AMADO-FILHO, G.M. Brown algae overproduce cell wall polysaccharides as a protection mechanism against the heavy metal toxicity. *Marine Pollution Bulletin*, 60, n. 9, p. 1482-1488, 2010.

ANTHONY, K.; BAY, L.; CONSTANZA, R.; FIRN, J.; GUNN, J.; HARRISON, P.; HEYWARD, A. et al. New interventions are needed to save coral reefs. *Nature Ecology & Evolution*, v. 1, n. 10, p. 1420-1422, 2017.

ANTHONY, K.; RIDD, P.V.; ORPIN, A.R.; LARCOMBE, P. & LOUGH, J. Temporal variation of light availability in coastal benthic habitats: Effects of clouds, turbidity, and tides. *Limnology and Oceanography*, 49, n. 6, p. 2201-2211, 2014.

BOLGER, A.M.; LOHSE, M.; USADEL, B. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*, v. 30, n. 15, p. 2114-2120, 2014.

BRASILEIRO, P.S. et al. Macroalgal composition and community structure of the largest rhodolith beds in the world. *Marine Biodiversity*, v. 46, n. 2, p. 407-420, 2016.

BRINKHUIS, B.H.; CHUNG, I.K. The effects of copper on the fine structure of the kelp *Laminaria saccharina* (L) Lamour. *Marine Environmental Research*, 19, n. 3, p. 205-223, 1986.

BRUCE, T. et al. Abrolhos Bank reef health evaluated by means of water quality, microbial diversity, benthic cover, and fish biomass data. *PloS one*, v. 7, n. 6, p. e36687, 2012.

BURNS, J.H.R. et al. Integrating structure-from-motion photogrammetry with geospatial software as a novel technique for quantifying 3D ecological characteristics of coral reefs. *PeerJ*, v. 3, p. e1077, 2015.

CARDOSO, G.O.; FALSARELLA, L.N.; CHIROQUE-SOLANO, P.M. et al. Coral growth bands recorded trace elements associated with the Fundao dam collapse. *Science of the Total Environment*, v. 807, p. 150880, 2022.

CHENNU, A. et al. A diver-operated hyperspectral imaging and topographic surveying system for automated mapping of benthic habitats. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 7122, 2017.

CLARKE, K.R.; WARWICK, R.M. Change in marine communities. An approach to statistical analysis and interpretation, v. 2, p. 1-68, 2001.

COELHO, A.L.N. Alterações hidrogeomorfológicas no médio-baixo rio Doce/ES. 2007. 227 (Doutorado). Instituto de Geociências, Universidade Federal Fluminense, Niterói.

COSGROVE, J.; BOROWITZKA, M.A. Chlorophyll fluorescence terminology: An introduction. *Chlorophyll a fluorescence in aquatic sciences: Methods and applications*, 2010, p. 1-17.

DECHNIK, B.; BASTOS, A.C.; VIEIRA L.S.; WEBSTER, J.M.; FALLON, S; YOKOYAMA, Y; NOTHDURFT L.; SANBORN, K.; BATISTA, J.; MOURA, R.L. & AMADO-FILHO, G.M. Holocene reef growth in the tropical southwestern Atlantic: Evidence for sea level and climate instability. *Quaternary Science Reviews*, v. 218, p. 365-377, 2019.

DUARTE, G.A.S., et al. Heat waves are a major threat to turbid coral reefs in Brazil. *Frontiers in Marine Science* 7: 179, 2020

EDGAR, R.C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, v. 26, n. 19, p. 2460-2461, 2010.

FIGUEIRA, W.; FERRARI, R.; WEATHERBY, E.; PORTER, A. *et al.* Accuracy and precision of habitat structural complexity metrics derived from underwater photogrammetry. *Remote Sensing*, 7, n. 12, p. 16883-16900, 2015.

FRANCINI-FILHO, R.B.; CORDEIRO, M.C.; OMACHI, C.Y.; ROCHA, A.M. *et al.* Remote sensing, isotopic composition and metagenomics analyses revealed Doce River ore plume reached the southern Abrolhos Bank Reefs. *Science of The Total Environment*, 697, p. 1-10, 2019.

FRASER, M.W. *et al.* Effects of dredging on critical ecological processes for marine invertebrates, seagrasses and macroalgae, and the potential for management with environmental windows using Western Australia as a case study. *Ecological Indicators*, v. 78, p. 229-242, 2017.

FUKAMI, T. Assembly history interacts with ecosystem size to influence species diversity. *Ecology*, 2004, vol. 85, no 12, p. 3234-3242.

GABRIEL, F.A.; FERREIRA, A.D.; QUEIROZ, H.M.; VASCONCELOS, A.L.S. *et al.* Long-term contamination of the Rio Doce estuary as a result of Brazil's largest environmental disaster. *Perspectives in Ecology and Conservation*, 19, n. 4, p. 417-428, 2021.

GOLDBERG, W.M. The biology of reefs and reef organisms. University of Chicago Press, 2013.

GOLDER. Rompimento da Barragem de Rejeitos de Fundão, Avaliação do estado de conservação dos bancos de macroalgas e rodólitos adjacentes à Foz do rio Doce. Submetido à Samarco Mineração S/A. 2016.

GREEN, R.H. Sampling design and statistical methods for environmental biologists. Wiley & Sons, 1979.

HOLZ, V.L.; BAHIA, R.G.; KAREZ, C.S.; VIEIRA, F.V.; MORAES, F.C.; VALE, N.F.; SUDATTI, D.B.; SALGADO, L.T.; MOURA, R.L.; AMADO-FILHO, G.M.; BASTOS, A.C. Structure of rhodolith beds and surrounding habitats at the Doce River Shelf (Brazil). *Diversity*, 75, 12, 2020.

HUME, B. C. C. *et al.* SymPortal: A novel analytical framework and platform for coral algal symbiont next-generation sequencing ITS2 profiling. *Molecular Ecology Resources*, v. 19, n. 4, p. 1063-1080, 2019

HUME, B. C. C., *et al.* An improved primer set and amplification protocol with increased specificity and sensitivity targeting the *Symbiodinium* ITS2 region. *PeerJ*, 2018, vol. 6, p. e4816.

ILUZ, D.; DUBINSKY, Z. Coral photobiology: New light on old views. *Zoology*, 2015, vol. 118, no 2, p. 71-78.

JACOB, C.; VAN BOCHOVE, J.W., LIVINGSTONE, S., WHITE, T., PILGRIM, J.; BENNUN, L. Marine biodiversity offsets: Pragmatic approaches toward better conservation outcomes. *Conservation Letters*, 2020, 13(3), e12711.

KAWAMATA, S.; YOSHIMITSU, S.; TANAKA, T.; IGARI, T. *et al.* Importance of sedimentation for survival of canopy-forming fucoid algae in urchin barrens. *Journal of Sea Research*, 66, n. 2, p. 76-86, 2011.

KAWAMATA, S.; YOSHIMITSU, S.; TOKUNAGA, S.; KUBO, S. *et al.* Sediment tolerance of *Sargassum* algae inhabiting sediment-covered rocky reefs. *Marine Biology*, 159, n. 4, p. 723-733, 2012.

KLEPPPEL, G.S.; DODGE, R.E.; REESE, C.J. Changes in pigmentation associated with the bleaching of stony corals. *Limnology and Oceanography*, 1989, vol. 34, no 7, p. 1331-1335.

KLINDWORTH, A. *et al.* Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, v. 41, n. 1, p. e1-e1, 2013.

KOHLER, K.E.; GILL, S.M. Coral Point Count with Excel extensions (CPCe): A Visual Basic program for the determination of coral and substrate coverage using random point count methodology. *Computers & Geosciences*, 2006, vol. 32, no 9, p. 1259-1269.

KRITZER, J. P.; SALE, P. F. *Marine metapopulations*. Elsevier, 2010.

KUMAR, R., *et al.* A high-throughput method for Illumina RNA-Seq library preparation. *Frontiers in Plant Science*, 2012, vol. 3, p. 202.

LANGE, I.D.; PERRY, C.T.; ALVAREZ-FILIP, L. Carbonate budgets as indicators of functional reef health: A critical review of data underpinning census-based methods and current knowledge gaps. *Ecological Indicators*, v. 110, p. 105857, 2020.

LEBRATO, M.; ANDERSSON, A. J.; RIES, J. B.; ARONSON, R. B. M.; LAMARE, M. D.; KOEVE, W.; OSCHLIES, A *et al.* Benthic marine calcifiers coexist with CaCO<sub>3</sub>-undersaturated seawater worldwide. *Global Biogeochemical Cycles*, 30, n. 7, p. 1038-1053, 2016.

MARTA-ALMEIDA, M.; MENDES, R.; AMORIM, F. N.; CIRANO, M.; DIAS, J. M. Fundão Dam collapse: Oceanic dispersion of River Doce after the greatest Brazilian environmental accident. *Marine Pollution Bulletin*, v. 112, n. 1-2, p. 359-364, 2016.

MAZZEI, E.; BERTONCINI, A.; PINHEIRO, H.; MACHADO, L. *et al.* Newly discovered reefs in the southern Abrolhos Bank, Brazil: anthropogenic impacts and urgent conservation needs. *Marine Pollution Bulletin*, 114, n. 1, p. 123-133, 2017.

MOURA, R.L. *et al.* Spatial patterns of benthic megahabitats and conservation planning in the Abrolhos Bank. *Continental Shelf Research*, v. 70, p. 109-117, 2013.

MOURA, R.L., ABIERI, M.L., CASTRO, G.M. *et al.* Tropical rhodolith beds are a major and belittled reef fish habitat. *Scientific Reports*, v 11, p. 794, 2021.

MULLEN, Andrew D. *et al.* Underwater microscopy for in situ studies of benthic ecosystems. *Nature Communications*, v. 7, n. 1, p. 12093, 2016.



- NEVEUX, J.; LANTOINE, F. Spectrofluorometric assay of chlorophylls and phaeopigments using the least squares approximation technique. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 1993, vol. 40, no 9, p. 1747-1765.
- NEVEUX, J.; PANOUSE, M. Spectrofluorometric determination of chlorophylls and pheophytins. *Archiv für Hydrobiologie*, 1987, p. 567-581.
- OKSANEN, J., et al. Package 'vegan3d'. R package version, 2018, p. 1-0.
- PARK, C. S.; HWANG, E. K. An investigation of the relationship between sediment particles size and the development of green algal mats (*Ulva prolifera*) on the intertidal flats of Muan, Korea. *Journal of Applied Phycology*, 23, n. 3, p. 515-522, 2011.
- PRICE, N. N.; MARTZ, T.R.; BRAINARD, R. E. & SMITH, J. E. Diel variability in seawater pH relates to calcification and benthic community structure on coral reefs. *PLoS ONE*, 7: e43843.
- QUEIROZ, H. M. et al. The Samarco mine tailing disaster: a possible time-bomb for heavy metals contamination? *Science of the Total Environment*, v. 637, p. 498-506, 2018.
- R CORE DEVELOPMENT TEAM (2018). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. <https://www.R-project.org>
- RALPH, P.J.; ROLF G. Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquatic Botany* 82.3 (2005): 222-237.
- REIS, V. M.; KAREZ, C. S.; MARIATH, R.; DE MORAES, F. C.; CARVALHO, R. T.; BRASILEIRO, P. S.; BAHIA, R. G.; LOTUFO, T. M. C.; RAMALHO, L. V.; MOURA, R. L. et al. Carbonate production by benthic communities on shallow coralgall reefs of Abrolhos Bank, Brazil. *Plos One*, 11, n. 4, p. 21, 2016.
- RIBEIRO, F.V. et al. Long-term effects of competition and environmental drivers on the growth of the endangered coral *Mussismilia braziliensis* (Verrill, 1867). *PeerJ*, 6:e5419, 2018.
- RIBEIRO, F.V. et al. Benthic cyanobacterial diversity and antagonistic interactions in Abrolhos Bank: Allelopathy, susceptibility to herbivory, and toxicity. *Frontiers in Marine Science*, p. 1887, 2022.
- RRDM, Rede Rio Doce Mar. Relatório Anual – Anexo 3 Marinho – Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. 2020.
- RRDM, Rede Rio Doce Mar. Relatório Anual – Anexo 3 Marinho – Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. 2021.
- RRDM, Rede Rio Doce Mar. Relatório Anual – Anexo 3 Marinho – Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. 2022.
- RUDORFF, N.; RUDORFF, C. M.; KAMPEL, M.; ORTIZ, G. Remote sensing monitoring of the impact of a major mining wastewater disaster on the turbidity of the Doce River plume off the eastern Brazilian coast. *Isprs Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 145, p. 349-361, 2018.

- SHAVER, E. et al. A manager's guide to coral reef restoration planning and design. NOAA Coral Reef Conservation Program. NOAA Technical Memorandum CRCP 36, p.128. 2020.
- SCHERNER, F.; HORTA, P. A.; DE OLIVEIRA, E. C.; SIMONASSI, J. C. et al. Coastal urbanization leads to remarkable seaweed species loss and community shifts along the SW Atlantic. *Marine Pollution Bulletin*, 76, n. 1-2, p. 106-115, 2013.
- SCHMITT, R. J.; OSENBURG, C. W. Detecting Ecological Impacts: Concepts and Applications in Coastal Habitats. 1. Elsevier, 1996.
- SFRISO, A.; MARCOMINI, A. Decline of *Ulva* growth in the lagoon of Venice. *Bioresource Technology*, 58, n. 3, p. 299-307, 1996.
- SHEPPARD, C.R.C.; DAVY, S.K.; PILLING, G.M.; GRAHAM, N.A.J. The biology of coral reefs. Oxford Academic, 2009.
- STEWART-OATEN, A. Goals in environmental monitoring. In: (Ed.). Detecting ecological impacts: Concepts and Applications in Coastal Habitats: Elsevier, chap. 2, p.17-27, 1996.
- SUN, J.; LIU, D. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. *Journal of Plankton Research*, 2003, vol. 25, no 11, p. 1331-1346.
- SUTER, G.W. Ecological Risk Assessment. CRC Press, 2006.
- SZCZUCIŃSKI, W.; NIEDZIELSKI, P.; KOZAK, L.; FRANKOWSKI, M.; ZIOŁA, A. & LORENC, S. Effects of rainy season on mobilization of contaminants from tsunami deposits left in a coastal zone of Thailand by the 26 December 2004 tsunami. *Environmental Geology*, 53, p. 253–264, 2007.
- SZMYTKIEWICZ, A.; ZALEWSKA, T. Sediment deposition and accumulation rates determined by sediment trap and 210Pb isotope methods in the Outer Puck Bay (Baltic Sea). *Oceanologia*, v. 56, n. 1, p. 85-106, 2014.
- TEAGUE, J. et al. Hyperspectral imaging as a tool for assessing coral health utilising natural fluorescence. *Journal of Spectral Imaging*, v. 8, 2019.
- TEIXEIRA, C.; LEITÃO, R.; RIBEIRO, F.V.; MORAES, F. et al. Sustained mass coral bleaching (2016-2017) in Brazilian turbid-zone reefs: taxonomic, cross-shelf and habitat-related trends. *Coral Reefs*, 38, p. 801-813, 2019.
- TEIXEIRA, C. D.; CHIROQUE-SOLANO, P. M.; RIBEIRO, F.V.; CARLOS-JÚNIOR, L.A. et al. Decadal (2006-2018) dynamics of Southwestern Atlantic's largest turbid zone reefs. *PLoS ONE*, v. 16, e0247111. 2021.
- TENÓRIO, M.M.B., et al. The impact of terrigenous inputs on the Bay of Ouinné (New Caledonia) phytoplankton communities: a spectrofluorometric and microscopic approach. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2005, vol. 64, no 2-3, p. 531-545.
- THOMPSON, J.R.; POLZ, M. F. Dynamics of *Vibrio* populations and their role in environmental nutrient cycling. *The biology of vibrios*, p. 190-203, 2006.

TITSCHACK, J.R.; GOETZ-NEUNHOEFFER, F.; NEUBAUER, J.R. Magnesium quantification in calcites [(Ca, Mg) CO<sub>3</sub>] by Rietveld-based XRD analysis: revisiting a well-established method. *American Mineralogist*, v. 96, n. 7, p. 1028-1038, 2011.

VARGAS-ANGEL, B.; RICHARDS, C. L.; VROOM, P. S.; PRICE, N. N. et al. Baseline assessment of net calcium carbonate accretion rates on US Pacific reefs. *Plos One*, 10, n. 12, p. 25, 2015.

VENN, Alexander A., et al. The impact of coral bleaching on the pigment profile of the symbiotic alga, *Symbiodinium*. *Plant, Cell & Environment*, 2006, vol. 29, no 12, p. 2133-2142.

VAN OPPEN, M.; LASTRA, M.A. Coral reef conservation and restoration in the omics age. Springer, 2022.

VOOLSTRA, C.R.; PEIXOTO, R.S.; FERRIER-PAGÈS, C. Mitigating the ecological collapse of coral reef ecosystems: Effective strategies to preserve coral reef ecosystems. *EMBO reports*, p. e56826, 2023.

WENTWORTH, C.K. A scale of grade and class terms for clastic sediments. *Journal of Geology*, v. 30, p. 377–392, 1922.

WOODARD, H.H. The geology and paragenesis of the Lord Hill pegmatite, Stoneham, Maine. *American Mineralogist: Journal of Earth and Planetary Materials*, v. 36, n. 11-12, p. 869-883, 1951.

ŻTTKOWICZ, R. Sedimentation processes of organic matter in the Puck Lagoon. *Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa*, p. 23-33, 1994.