

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

**RELATÓRIO ANUAL 2020 PMBA/FEST – RRDM – RA2020
MATERIAL SUPLEMENTAR A5MS2**

Anexo 5 – Manguezal

Coordenação Geral

Adalto Bianchini

Alex Cardoso Bastos

Edmilson Costa Teixeira

Eustáquio Vinícius de Castro

Vitória,

Dezembro de 2020

SUMÁRIO

SUMÁRIO

ANEXO 5 – MANGUEZAL.....	7
MATERIAL SUPLEMENTAR – A5MS	7
1 METODOLOGIA DE COLETA E ANÁLISE.....	7
1.1 CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA ESTUARINA NOS RIOS SÃO MATEUS, MARIRICU E PIRAQUÊ	7
1.2 INUNDAÇÃO FLORESTAS DE MANGUEZAL	10
1.2.1 Condições de amostragem	10
1.2.2 Análise estatística.....	10
1.3 CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA DOS SEDIMENTOS	11
1.3.1 Coleta de sedimentos	11
1.3.2 Granulometria	12
1.3.3 Matéria Orgânica Total	12
1.3.4 Carbonato de Cálcio	13
1.3.5 Metais	13
1.3.6 Difratomia de Raio-X.....	13
1.4 ANÁLISE FOLIAR DE MACRO E MICRONUTRIENTES	14
1.4.1 Coleta e processamento de amostras foliares	14
1.4.2 Análise estatística.....	15
1.5 ATIVIDADE ANTIRRADICALAR	15
1.5.1 Coleta e processamento de amostras foliares	15
1.5.2 Análises em laboratório	15
1.6 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES	18
1.6.1 Coleta de folhas	18
1.1.1 Extração dos pigmentos	18

1.1.2	Análise em HPLC (Ano 1):.....	18
1.1.3	Análise em espectrofotometria (Transição):.....	19
1.7	ANÁLISES FOTOSSÍNTÉTICAS	20
1.7.1	Material vegetal e condições de amostragem	20
1.7.2	Fluorescência da Clorofila <i>a</i>	21
1.7.3	Assimilação de CO ₂ e trocas gasosas	21
1.7.4	Análise estatística.....	21
1.8	DIAGNÓSTICO SOBRE A FAUNA DO MANGUEZAL, COMPARTIMENTO CARANGUEJOS. 22	
1.8.1	Desenho amostral.....	22
1.8.2	Procedimentos em laboratório	27
1.8.3	Análises estatísticas.....	28
1.9	MAPEAMENTO	31
1.9.1	Mapeamento Flora e localização das parcelas	31
1.9.2	Mapeamento dos habitats de <i>Ucides cordatus</i> e <i>Cardisoma guanhumi</i>	36
1.9.3	Mudanças da metodologia do ano um para o ano dois no período de transição.....	37
2	REFERÊNCIAS	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do rio São Mateus (Cricaré).....	7
Figura 2: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do rio Maricicu (Barra Nova).....	8
Figura 3: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do Piraquê-Açu-Mirim (Santa Cruz).	9
Figura 4: Paquímetro de aço da marca Digimess adaptado pela soldagem de prolongamentos em forma de espátula de 10,5 cm de comprimento, 2 cm de largura e 3 a 4 mm de espessura.	24
Figura 5: Paquímetro digital utilizado para medição dos indivíduos capturados.	24
Figura 6: Massa ovígera da fêmea de caranguejo uçá, <i>Ucides cordatus</i> (Linnaeus, 1763), presa por filamentos em formato de cacho de uva.	28
Figura 7: Descrição da forma dos Marcos geodésicos.	32
Figura 8: Implantação dos marcos geodésicos com a referência nas áreas de coleta do PMBA....	33
Figura 9: Medição dos marcos geodésicos com RTK no interior das parcelas durante o PMBA.	34
Figura 10: Levantamento de vértices das parcelas (polígonos) durante o PMBA.....	35
Figura 11: Manguezal do estuário dos rios Piraquê-Açu e Piraquê-Mirim, Aracruz.	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do rio São Mateus.	8
Tabela 2: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do rio Maricú (Barra Nova).	8
Tabela 3: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do sistema estuarino Piraquê-Açu-Mirim.	9
Tabela 4: Coordenadas geográficas das estações de coleta.	11

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Espécies amostradas nas análises fotossintéticas por área/estação ao longo do PMBA.	20
Quadro 2: Datas de amostragem dos campos nas estações para a espécie de caranguejo uçá, <i>Ucides cordatus</i> (Linnaeus, 1763), monitoradas durante o primeiro ano (outubro de 2018 a setembro de 2019) e período de transição (outubro de 2019 a março de 2020) do PMBA.	24
Quadro 3: Datas de amostragem dos campos nas estações para a espécie de caranguejo guaiamum, <i>Cardisoma guanhumi</i> (Latreille, 1825), monitoradas durante o primeiro ano (outubro de 2018 a setembro de 2019) e período de transição (outubro de 2019 a março de 2020) do PMBA.	26

ANEXO 5 – MANGUEZAL

MATERIAL SUPLEMENTAR – A5MS

1 METODOLOGIA DE COLETA E ANÁLISE

1.1 CARACTERIZAÇÃO DA DINÂMICA ESTUARINA NOS RIOS SÃO MATEUS, MARIRICU E PIRAQUÊ

Com a finalidade de caracterizar o comportamento hidrodinâmico nas regiões estuarinas dos rios São Mateus (Cricaré), Mariricu (Barra Nova) e Piraquê-Açu-Mirim (Santa Cruz), foram executados os monitoramentos descritos a seguir. As áreas de estudo do comportamento hidrodinâmico correspondem aos locais 1 (Piraquê-Açu e Mirim), 5 (Mariricu) e 6 (São Mateus).

As estações amostrais foram distribuídas de forma que uma estivesse localizada na foz do estuário e outra mais à montante, possibilitando inferências sobre a dinâmica estuarina de cada local. Nesses locais, foram monitorados os fluxos d'água, além dos parâmetros salinidade e temperatura. O acompanhamento dos níveis d'água foi feito a partir de marégrafos instalados junto às desembocaduras dos estuários. As localizações das estações amostrais estão apresentadas nas Figura 1, Figura 2 e Figura 3 e Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3.

Figura 1: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do rio São Mateus (Cricaré).

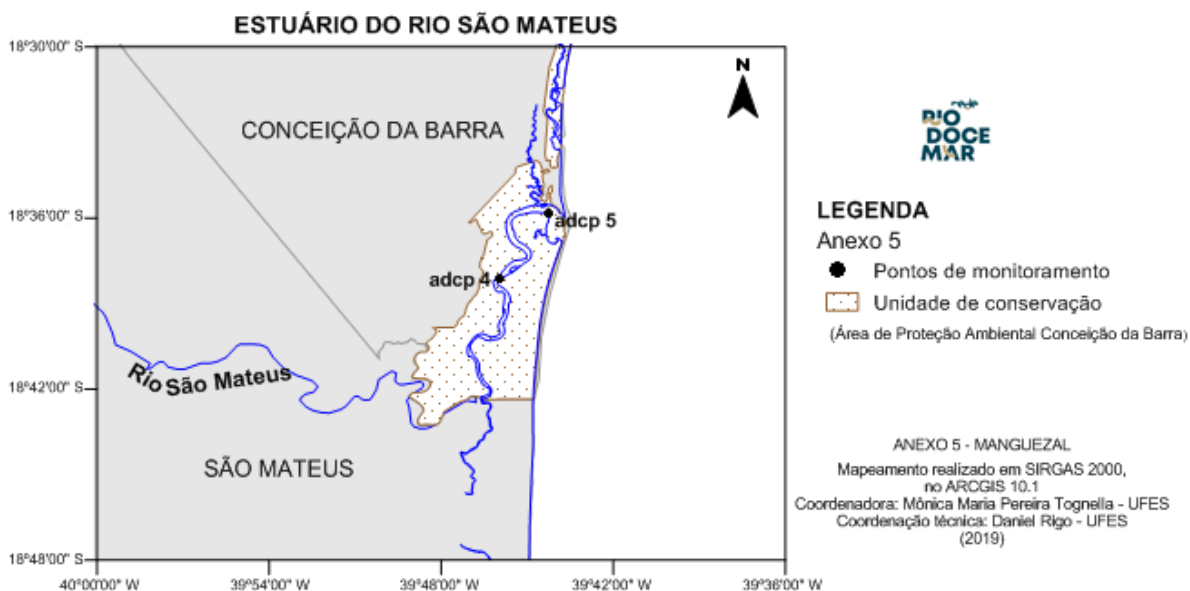


Tabela 1: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do rio São Mateus.

Ponto	Coordenadas UTM (<i>Datum SIRGAS 2000 - 24K</i>)	
	Leste	Norte
marégrafo	422.524	7.943.976
adcp5 (fz)	422.170	7.943.573
adcp4 (montante)	419.145	7.939.355

Figura 2: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do rio Mariricu (Barra Nova).

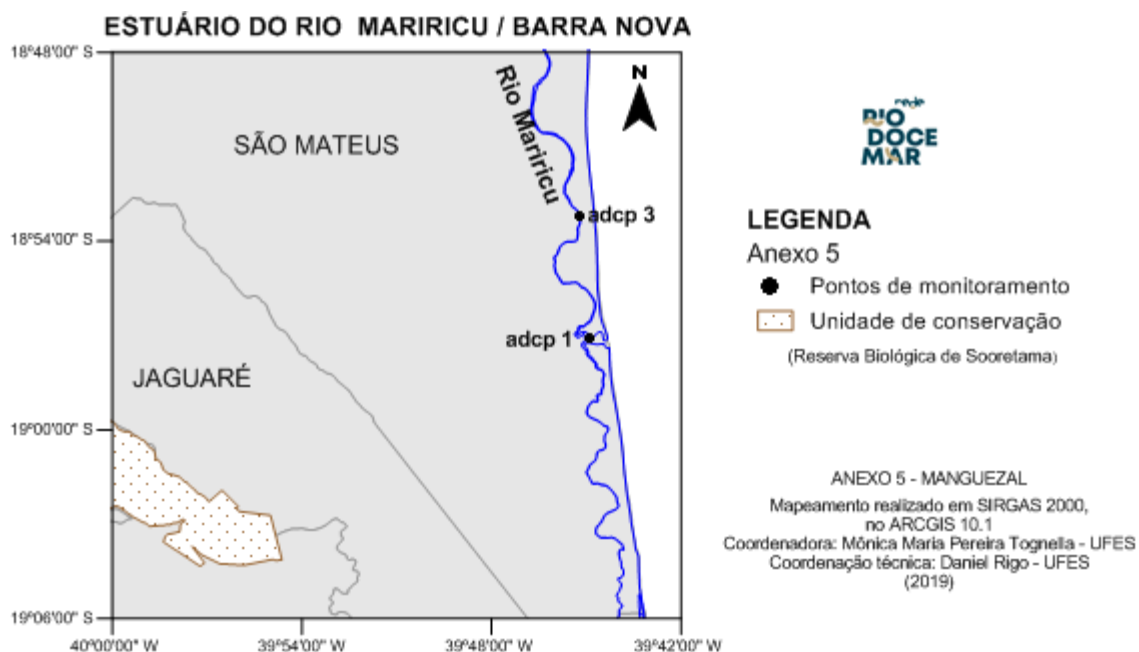


Tabela 2: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do rio Mariricu (Barra Nova).

Ponto	Coordenadas UTM (<i>Datum Sirgas 2000 - 24K</i>)	
	Leste	Norte
marégrafo	421.596	7.853.688
adcp1 (fz)	421.188	7.904.318
adcp3 (montante)	420.650	7.911.549

Figura 3: Mapa de localização dos pontos de monitoramento do PMBA, no estuário do Piraquê-Açu-Mirim (Santa Cruz).

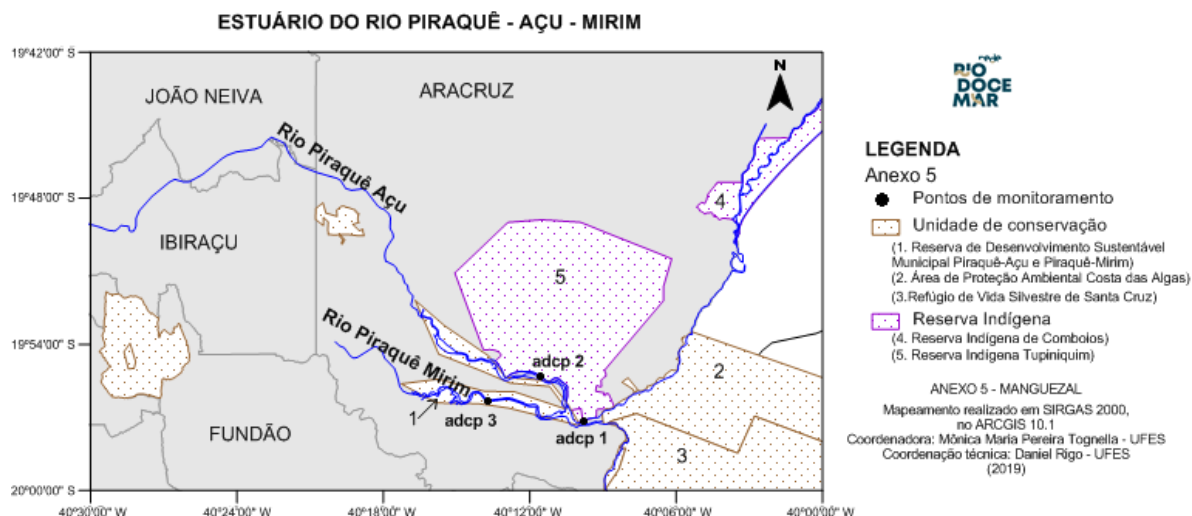


Tabela 3: Coordenadas UTM dos locais de monitoramento do PMBA, no estuário do sistema estuarino Piraquê-Açu-Mirim.

Ponto	Coordenadas UTM (<i>Datum Sirgas 2000 - 24K</i>)	
	Leste	Norte
marégrafo	377.935	7.792.976
adcp1 (foz)	378.242	7.793.376
adcp2 (Piraquê Açu)	375.194	7.796.699
adcp3 (Piraquê Mirim)	371.444	7.794.858

As medições dos fluxos d'água foram feitas com ADCP (Acoustic Doppler Current Profiler) River Ray e processados no software Winriver II da RD Instruments. As medições foram feitas durante aproximadamente 12 horas, de forma a monitorar um ciclo de maré, em campanhas mensais, abrangendo as diferentes marés e vazões nos estuários.

Os níveis d'água foram medidos com um sensor de pressão da marca HOBO. Os parâmetros temperatura e salinidade foram medidos *in situ* com sonda multiparâmetros. Nas seis primeiras campanhas esses parâmetros foram medidos com sonda Quanta, na superfície e fundo. Nas demais campanhas foi realizada perfilagem com sonda CTD.

1.2 INUNDAÇÃO FLORESTAS DE MANGUEZAL

1.2.1 Condições de amostragem

Para averiguar a condição de inundação nos diferentes tipos fisiográficos e locais no estuário, em cada área de estudo foi implantado sensor de nível da água (HOBO® U20 Titanium Water Level Logger) que coleta informações sobre a pressão absoluta local e permite a conversão dos resultados em nível de água (m).

Em função do número de equipamentos disponíveis, não houve coleta de informação para todas os locais no estuário no mesmo dia. Para processamento dos resultados registrados pelo sensor de inundação foi considerada densidade do fluido para água salobra ($1.010,000 \text{ kg/m}^3$) e como parâmetro para compensação barométrica o nível do mar. Desta foram, após o registro de dados de pressão dado pelo sensor, é possível a conversão dos dados de pressão em nível da água, mecanismo executado pelo programa Hoboware®.

Cada sensor de pressão foi instalado em locais protegidos (camuflados para evitar roubos) no interior das florestas de mangue por período de 24 horas para avaliar todo ciclo de maré.

1.2.2 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk). Os parâmetros não apresentaram normalidade e, assim, os testes não paramétrico Mann-Whitney e Kruskal-Wallis foram utilizados (ZAR, 1996). Para averiguar as diferenças entre franja e bacia no mesmo ponto e estuário foi utilizado o teste Mann-Whitney. Já para verificar diferenças dos tipos fisiográficos (franjas ou bacias) entre pontos (1, 2 e 3) e margens estuários (direita e esquerda), dentro de cada estuário, foi utilizado o teste Kruskal-Wallis. Nas análises estatísticas empregou-se Excel ou o pacote de tratamento estatístico Statistica (STATSOFT®).

Considerou-se como nível de significância estatística o α igual a 0,05.

1.3 CARACTERIZAÇÃO MINERALÓGICA DOS SEDIMENTOS

1.3.1 Coleta de sedimentos

As amostras de sedimento foram coletadas semestralmente nas zonas intertidais dentro dos manguezais nos períodos de outubro/2018 (chuvoso 2018/2019), junho e julho/2019 (seco 2019), outubro/2019 (chuvoso 2019/2020) e janeiro e fevereiro/2020 (chuvoso 2020). Apenas na época de janeiro e fevereiro de 2020 foram coletadas amostras somente na profundidade de 0-5 cm para análise de metais. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos previamente identificados, mantidos em temperatura controlada e levados para o laboratório e armazenados sob refrigeração a 10° C negativos.

As amostras de sedimentos foram coletadas em todos os pontos propostos (Tabela 4). A saber:

Aracruz (Rio Piraquê-Açu e Rio Piraquê-Mirim); Barra do Riacho; Regência; Urussuquara; Barra Nova; São Mateus, Conceição da Barra e Caravelas. Em todos os pontos de amostragem foram coletados sedimentos, na margem esquerda e direita (quando havia), na parte de franja e bacia (quando havia) em três pontos e duas profundidades, totalizando 128 amostras em cada período de amostragem. Exceto na época de janeiro e fevereiro de 2020 que foram coletas 64 amostras somente na profundidade de 0-5 cm para análise de metais.

Tabela 4: Coordenadas geográficas das estações de coleta.

Nome da estação	Código da estação amostral	Número de amostras	Localidade	S	W
Rio Piraquê-Açu	- PA	24	Aracruz-ES	19°57'45"S	40°08'48"W
Rio Piraquê-Mirim	- PM	24	Aracruz-ES	19°57'45"S	40°08'48"W
Barra do Riacho	- BR	6	Barra do Riacho	19°49'46"S	40°03'49"W
Regência	- RE	6	Regência	19°38'42"S	39°49'19"W
Urussuquara	- UR	8	Urussuquara	19°07'37"S	39°43'20"W
Barra Nova	- BN	12	Barra Nova	18°57'03"S	39°44'23"W
Meleiras	- SM	12	São Mateus-ES	18°37'01"S	39°45'30"W
Conc. da Barra	- CB	12	Conc.da Barra-ES	18°37'06"S	39°48'53"W
Caravelas	- CV	24	Caravelas-BA	17°45'17"S	39°16'58"W

1.3.2 Granulometria

Em laboratório foram separados cerca de 50 gramas da amostra bruta para a análise granulométrica. Primeiramente, foi feita a lavagem da amostra com água para a retirada dos sais por meio da técnica de decantação em Becker de 1 L por três vezes. Posteriormente, foi feita a separação das frações grossa (areia + cascalho) e fina (silte + argila), na qual procede-se colocando a amostra lavada em peneira com abertura igual a 63 µm sob água corrente.

O Becker contendo a fração fina foi deixado em repouso até completa deposição do sedimento em suspensão. Após a decantação, o excesso de água foi drenado cuidadosamente com uma mangueira e a amostra seguiu para remoção da matéria orgânica total por queima com peróxido de hidrogênio (H_2O_2) à 30%. Em capela de exaustão de gases, posicionou-se o Becker contendo a fração fina sobre uma chapa aquecedora (à 70°C) e adicionou-se delicadamente (reação forte) o H_2O_2 à amostra com o auxílio de piseta até que ocorresse a reação. Após adição do H_2O_2 , deixou-se o Becker sobre a chapa aquecedora ligada por, no mínimo, 6h para digestão completa. Terminadas as 6h, foi checado se o sedimento ainda estava reagindo (borbulhar) com a adição de mais H_2O_2 . O procedimento de queima continuou até que não houve mais reação (borbulhamento) com a adição de mais H_2O_2 ao sedimento. Terminada a queima, a amostra foi lavada três vezes no próprio Becker seguindo o mesmo procedimento descrito para a remoção de sal (lavagem seguida de decantação). Nestas amostras, a fração lama foi analisada empregando-se o granulômetro a laser, Mastersizer 2000 da Malvern Instruments de acordo com a metodologia adaptada de Dias (2004).

O Becker contendo a fração grossa (após a água ser drenada) foi levado à estufa a 40°C para secagem da amostra. Após seco, o sedimento foi pesado e seguiu para o fracionamento via seca. A fração areia foi passada pelo peneiramento a seco, que consiste em utilizar conjunto de peneiras com telas de malhas de 2 mm a 0,063 mm colocadas em um agitador mecânico durante 15 minutos. Após peneiramento cada porção do sedimento de acordo com sua granulometria foi pesado e planilhado. A escala granulométrica utilizada foi a de Wentworth (1922), em que as frações maiores que 0,063 mm são classificadas como areias/grânulos e as menores, como silte/argila (SUGUIO, 1973).

1.3.3 Matéria Orgânica Total

O teor de matéria orgânica total (MOT) presente nos sedimentos foi mensurado por meio do método de calcinação, que consiste na queima da MO em altas temperaturas. Para isso, foram pesadas 2 g de cada amostra de sedimento. Essas amostras pesadas foram colocadas em cadinhos de porcelana e submetidas à temperatura de 450 °C na mufla, durante 4 horas. A massa de MOT é definida pelo peso do sedimento antes da queima na mufla subtraído do peso após a queima na mufla segundo método Walkley-Black modificado (EMBRAPA, 2011). O teor é a conversão deste valor em

porcentagem, podendo-se encontrar a concentração de MOT presente nas amostras por meio do cálculo:

$$MOT = \frac{Pf \times 100}{Pi}$$

Onde Pf é o peso final e Pi é o peso inicial das amostras.

1.3.4 Carbonato de Cálcio

Cerca de 20 g da amostra bruta liofilizada foi pesada e transferida para um Becker previamente pesado. Após, o Becker contendo o sedimento seco e já pesado foi colocado em uma capela de exaustão de gases para a adição lenta e gradual de HCl (30%) com o auxílio de pisseta. O procedimento continua até que a adição de HCl não provoque mais reação (borbulhamento). Terminada a queima do carbonato, o sedimento foi lavado três vezes com água e seco em estufa à 40°C. Após seco, o Becker com o sedimento foi novamente pesado e o teor de carbonato de cálcio é o sedimento pré-queima subtraído do sedimento pós-queima corrigido para porcentagem, conforme método primeiramente reportado por Gross (1971).

1.3.5 Metais

A análise de metais em sedimentos foi realizado segundo método US EPA 3051A (USEPA, 2013), que preconiza a digestão de cerca de 0,50 g de solo, seco e homogeneizado, em 10 mL de HNO_3 em tubos de Teflon com o uso do forno micro-ondas (CEM, MARX X-PRESS) seguindo os seguintes parâmetros: 1ª rampa de temperatura 25°C a 175°C em 5:30min. e a 2ª rampa de 25°C a 175°C em 4:30min., ambas em potência de 1600 W. A solução foi então resfriada e filtrada utilizando o filtro Whatman nº 1 e diluída para 100 ml num balão volumétrico e as soluções analisadas pelo ICP -MS (Espectrometria de massa de plasma indutivamente acoplada; Agilent, CX7500). Os elementos analisados pelo ICP-MS foram: Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Ni, Pb, V e Zn. Material de referência (SS-2, Enviro MATTM) foi analisado para certificação do método e porcentagens de recuperação desses elementos.

1.3.6 Difratometria de Raio-X

A análise de difratometria de raio-X foi realizada nos pontos 1 (P1), franja (F), direita (D) de cada estuário, quando havia, apenas na profundidade de 0-5 cm. A identificação dos componentes do sedimento de manguezal foi realizada por difratometria de raios X (DRX), em aparelho RIGAKU 6000 com radiação $\text{CuK}\alpha$, operado a 40 kV e 15 mA, com varredura de 4 a 70 °2θ e passo de 0,02 °2θ/s. As amostras foram montadas em lâminas escavadas (montagem em pó – não orientadas). Para a distinção dos argilominerais 2:1 e confirmação da presença de clorita foi necessário a realização de pré-tratamento de saturação catiônica (K e Mg), solvatação com etilenoglicol e aquecimento (550°C) necessários para a diferenciação/confirmação dos filossilicatos,

sobretudo, aqueles inerentes aos picos de baixo ângulo além do aquecimento das amostras para análise do comportamento expansivo e resistência ao aquecimento desses minerais. O conjunto foi montado em suporte de vidro, após pressão suave da amostra sobre papel rugoso, de forma a minimizar a orientação preferencial das partículas. As irradiações variaram de 4 a 70 °2 θ , com intervalo de 0,02 °2 θ para cada segundo. Foi mantido o mesmo suporte para todas as amostras analisadas, a fim de evitar possíveis alterações dos espectros (largura ou intensidade de picos) relacionadas com a mudança da porta-amostra.

1.4 ANÁLISE FOLIAR DE MACRO E MICRONUTRIENTES

1.4.1 Coleta e processamento de amostras foliares

Foram realizadas coletas de amostras de folhas de 4 espécies vegetais: *Avicennia schaueriana* (Av); *Laguncularia racemosa* (Lg); *Rhizophora mangle* (Rh) *Talipariti pernambucense* (Tp), de acordo com sua ocorrência nos manguezais de 9 localidades: São Mateus (SM), Piraquê Açú (PA), Piraquê Mirim (PM), Costa das Algas (CA), Barra do Riacho (BR), Rio Doce (RD), Urussuquara (UR), Barra Nova (BN) e Caravelas (CR), nos estados do Espírito Santo e Bahia. Foram coletados em bosques do tipo franja e bacia nas margens esquerda e direita dos estuários. O período de amostragem foi entre outubro/2019 e fevereiro/2020.

A amostragem seguiu o seguinte protocolo: realizar a coleta manualmente com as mãos limpas, sem necessidade de luvas; retirar 20 folhas maduras completamente expandidas de cada indivíduo amostrando cerca de cinco plantas por estação para obtenção de amostras compostas com aproximadamente 40 g.

Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel identificados de acordo com cada estação amostral. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada a 65°C até peso constante. Em seguida as folhas foram moídas em moinho tipo Wiley (Marca Tecnal; modelo TE-650/1) com peneiras de malha 20 e enviadas para a análise química para determinação de macro e micronutrientes. Para a análise foliar foram considerados os seguintes nutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), sódio (Na), ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn), cobre (Co) e boro (B). Também foram analisados os elementos chumbo (Pb) e alumínio (Al).

O N-total foi determinado pelo método Kjeldahl, descrito por Bremner (1965). Os demais elementos foram analisados após mineralização pela digestão nítrico-perclórica. O B foi determinado colorimetricamente pelo método da Azometina H (Wolf, 1974), após a mineralização por via seca em mufla a 550° C. O P foi dosado colorimetricamente pelo método de redução do fosfomolibdato pela vitamina C, de acordo com Braga & Defelipo (1974); o K, por fotometria de emissão de chama; o Ca,

Mg, Fe, Mn, Zn e Cu, por espectrofotometria de absorção atômica; e o S determinado por turbidimetria do sulfato (Blanchar et al., 1965).

1.4.2 Análise estatística

Os dados de concentrações de macro e micronutrientes foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett). Os dados apresentaram distribuição não-paramétrica. Logo, as comparações entre os estuários, entre as espécies e entre os períodos (seco e chuvoso) foram determinadas pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis, seguido do teste de comparações múltiplas *a posteriori* (Teste de Dunn) (ZAR, 1996). Os programas Excel e o pacote de tratamento estatístico Statistica (STATSOFT®) foram utilizados nas análises supracitadas.

1.5 ATIVIDADE ANTIRRADICALAR

1.5.1 Coleta e processamento de amostras foliares

Amostragem em campo (mesmos pontos de coleta para análise foliar de macro e micronutriente)

A amostragem seguiu o seguinte protocolo: realizar a coleta manualmente com as mãos limpas, sem necessidade de luvas; retirar 20 folhas maduras completamente expandidas de cada indivíduo amostrando cerca de cinco plantas por estação para obtenção de amostras compostas com aproximadamente 40 g.

Após a coleta, as folhas foram acondicionadas em sacos de papel identificados de acordo com cada estação amostral. As amostras foram secas em estufa de circulação forçada a 65°C até peso constante. Em seguida as folhas foram moídas em moinho tipo Wiley (Marca Tecnal; modelo TE-650/1) com peneiras de malha 20 e enviadas para a análise química para determinação da atividade antirradicalar. O período de amostragem foi entre outubro/2019 e fevereiro/2020.

1.5.2 Análises em laboratório

1.5.2.1 DPPH

As amostras de folhas secas e moídas foram pesadas ($\pm 0,5000$ ou $\pm 1,0000$ g cada) em balança analítica (BIOPRECISA, modelo Fa2104n, acurácia de 4 casas decimais) utilizando papel de pesagem e transferidas individualmente para tubos Falcon de 15 mL previamente identificados. Após, foram adicionados 5 mL de metanol (HPLC PAI-ACS, marca Panreac) em cada tubo Falcon utilizando uma pipeta automática (NAVELAB). Os tubos Falcon foram fechados e colocados em banho ultrassônico (SANDERS, modelo Soniclean 2) a 40 KHz por 160 minutos para extração. A cada 40 minutos os tubos Falcon eram retirados do banho e agitados durante 30 segundos em um agitador de tubos. Em seguida, os tubos Falcon foram colocados em uma centrífuga de bancada (NOVA INSTRUMENTS, modelo NI1811-A) e centrifugados a 3400 rpm durante 20 minutos. O

extrato sobrenadante dos tubos Falcon centrifugados foram transferidos para tubos de ensaio de 15 mL previamente identificados e de massa conhecida. A seguir, os tubos de ensaio foram postos em estufa de secagem (DELEO, modelo A5SE) a 50°C até evaporação total do solvente metanol e até apresentação de massa constante de extrato seco na pesagem. Os tubos de ensaio com o extrato seco foram pesados novamente e então adicionados 5 ou 10 mL de metanol (dependendo da massa inicial) utilizando uma pipeta automática. Os tubos com o extrato seco foram colocados em banho ultrassônico por 5 minutos até total dissolução do extrato no solvente.

Para os testes de atividade antioxidante com DPPH todas as soluções metanoicas dos extratos secos foram diluídas em metanol (duas, cinco, dez ou vinte vezes), para que a absorbância medida se mantenha dentro da faixa de trabalho. As soluções já diluídas foram denominadas como soluções de trabalho (ST). Os ensaios foram realizados adicionando alíquotas de 15 µL, 25 µL e 35 µL de cada ST, em cubetas contendo 3,0 mL de solução metanoica de DPPH 0,2 mmol.L⁻¹ e a reação foi mantida ao abrigo da luz durante 60 minutos antes das medidas espectrofotométricas. Todas os ensaios foram realizados em triplicata. As medidas foram realizadas em espectrofotômetro Lambda 16 da marca Perkin Elmer, monitorando a absorbância das amostras em 517 nm. Os brancos consistem em 3,0 mL de metanol contendo 15 µL, 25 µL ou 35 µL da respectiva ST. O controle negativo foi uma solução contendo apenas DPPH 0,2 mmol.L⁻¹ em metanol.

O cálculo da porcentagem de inibição do radical DPPH foi realizado de acordo com a seguinte equação:

$$\% \text{ inibida} = \left(1 - \frac{[A(a) - A(b)]}{[A(c) - A(b)]} \right) \times 100 \text{ (Equação 1)}$$

Onde A(a) é a absorbância da amostra, A(b) é a absorbância do branco, e A(c) é a absorbância do controle negativo.

A partir das porcentagens inibidas para cada concentração, foram determinados os valores de IC₅₀ (concentração necessária para inibir 50% do radical DPPH), por meio de regressão linear. Como todas as análises foram realizadas em triplicata, foram utilizados a média e o desvio padrão para representar o IC₅₀ de cada amostra (Apêndice).

1.1.1.1 RADICAS SUPERÓXIDO, PEROXIL E HIDROXILA

A avaliação da capacidade de sequestrar radicais livres em relação ao radical superóxido foi baseada na geração do radical O₂•⁻ através do sistema enzimático pela reação da hipoxantina catalisada pela enzima xantina oxidase. Foram adicionados 100 µL de amostra à solução de reação, que consistiu em 100µL de uma solução de EDTA 30 mM; 100µL de uma solução 3 mM de hipoxantina e 200 µL de uma solução 1,42 mM de Nitro Blue Tetrazolium (NBT). Após a mistura foi mantida a temperatura ambiente por três minutos e, em seguida, adicionado 100 µL de uma solução de xantina oxidase com concentração 0,75 U.mL⁻¹ completando-se o volume até 3mL com tampão fosfato 0,05 M (pH

7,4). A solução final foi então incubada em temperatura ambiente por 40 minutos e a absorbância medida em espectrofotômetro em 560 nm. A atividade de sequestro do radical superóxido foi calculada utilizando a equação 2:

$$O_2^{\cdot-} \text{ atividade antioxidante (\%)} = \left[1 - \frac{(S - S_B)}{(C - C_B)} \right] \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde S, SB, C e CB são as absorbâncias da amostra, do branco da amostra, do controle e do branco do controle, respectivamente.

1.1.1.2 MÉTODO DO RADICAL ÂNION SUPERÓXIDO ($O_2^{\cdot-}$)

A atividade antirradicalar das amostras em estudo e dos padrões analíticos em diferentes concentrações frente ao radical hidroxila foi avaliada utilizando o método da 2-desoxi-D-ribose. O $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ e ácido ascórbico foram preparados em água mili-Q antes do uso. Em um tubo, onde foi efetuada a reação adicionou-se 100 μ L do extrato, 100 μ L de EDTA 1 mM, 100 μ L de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 1 mM, 100 μ L de 2-desoxi-d-ribose 36 mM, 100 μ L de H_2O_2 10 mM, e 100 μ L de de ácido L-ascórbico 1 mM em tampão fosfato 25 mM (pH 7,4), após o volume foi completado até 1,0 ml com tampão fosfato. Em seguida, a solução foi incubada a 37 ° C durante 1 h, sendo a reação interrompida pela adição de 1,0 mL de TCA a 10% (m.v-1) e 1,0 mL de 1,0% de TBA (m.v⁻¹) em tampão fosfato (pH 7,4). A mistura foi aquecida a 37°C durante 15 min. Após, as amostras foram resfriadas e o volume final ajustado para 5,0 ml com água deionizada e a absorbância medida em espectrofotômetro em 532 nm. A atividade antioxidante das amostras foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$AA_{OH} = \left(1 - \frac{(S - S_B)}{(C - C_B)} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde S, SB, C e CB são as absorbâncias da amostra, do branco da amostra, do controle e do branco do controle, respectivamente.

1.1.1.3 MÉTODO DO RADICAL PEROXILA ($ROO\cdot$)

A avaliação da atividade antirradicalar das amostras frente ao $ROO\cdot$ foi realizada pelo método fluorimétrico, sendo utilizado diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH₂-DA) como substrato. A atividade antirradicalar contra o radical peroxil ($AAROO\cdot$) das amostras foi determinada com base na medida referente ao tempo de 30 minutos de reação e calculada conforme equação abaixo:

$$AA_{ROO\cdot} = \left(1 - \frac{(F_A - F_{AB})}{(F_S - F_{SB})} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 4})$$

Onde FA é a absorbância da amostra, com ABAP, FAB é a absorbância do branco da amostra, sem ABAP, FS é a absorbância do solvente utilizado nas amostras, com ABAP, e FSB é a absorbância do branco do solvente, sem ABAP.

1.6 PIGMENTOS FOTOSSINTETIZANTES

1.6.1 Coleta de folhas

A coleta das folhas foi realizada nos diferentes estuários (Piraquê Açu, Piraquê Mirim, Costa das Algas, Rio Doce, Barra do Riacho, Urussuquara, Barra Nova, São Mateus e Caravelas) com as seguintes espécies: *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa*, *Avicennia schaueriana* e *Talipariti pernambucense*. As amostras coletadas foram colocadas em sacos de papel kraft, previamente identificados, e armazenadas em gelo até a chegada ao Laboratório de Ecologia de Manguezais. Todo o material foi imediatamente armazenado em freezer à -30°C até o momento da extração. O período de amostragem foi entre outubro/2019 e fevereiro/2020 (mesmos pontos de coleta para análise foliar de macro e micronutriente).

1.1.1 Extração dos pigmentos

Amostras de 5 g de massa fresca congeladas à -30°C foram trituradas em nitrogênio líquido (N₂) até formar um pó fino, o qual foi transferido para tubos de ensaio. A este pó foi adicionado 15 mL de solução de acetona 90% + de 0,5 g.L⁻¹ de carbonato de cálcio (CaCO₃). Imediatamente após esse processo, os tubos de ensaio foram acondicionados em temperatura de 2°C por 24h para extração completa dos pigmentos (modificado de Arar, 1997). A partir daí as amostras foram filtradas e o sobrenadante armazenado em frascos âmbar à -30°C até a análise por espectrofotometria.

O procedimento de extração foi realizado de forma que os efeitos da luz, da temperatura e da ação enzimática sobre a degradação da clorofila fossem minimizados. As vidrarias contendo as amostras foram protegidas contra a luz e os solventes de extração foram utilizados gelados. O tempo de extração foi mantido ao seu mínimo possível, diminuindo assim a possibilidade de degradação dos pigmentos analisados. Os tubos de ensaio foram vedados com papel alumínio e mantidos em gelo.

1.1.2 Análise em HPLC (Ano 1):

Uma alíquota do sobrenadante foi clarificada em filtro de seringa 0,45 µm e injetada em uma coluna de fase-reversa. A separação dos pigmentos (modificado de Arar, 1997) foi realizada por cromatografia líquida de alta pressão em equipamento Waters “e2695 Alliance”, detector espectrofotométrico de fotodiodos Waters “2998 Photodiode Array Detector” (PDA 2998), coluna Waters “XBridge C18” (3,5 µm, 4,6mm x 50mm) e uma coluna guarda Waters “Symetry C18” (3,5 µm, 3,9 mm x 5 mm). O sistema de análise de dados cromatográficos foi o software Waters Empower 3.

A fase móvel foi composta por um gradiente linear de Metanol (eluente A), Acetato de amônio 0,5M (eluente B) e Acetona (eluente C) com o seguinte gradiente: 0 min (80:20:0 v/v/v), 2 min (80:20:0), 15 min (80:0:20), 17,5 min (80:0:20), 22 min (0:0:100), 25 min (80:20:0), 30 min (80:20:0). O fluxo da fase móvel foi constante a 1 mL/min⁻¹ e a temperatura da coluna ajustada para 25°C. O volume de

injeção foi de 50µL. O espectro de absorção da clorofila foi ajustado entre 380 a 750 nm com comprimento de onda de 440nm.

As marcas dos reagentes e materiais utilizados foram: Sigma-Aldrich, grau HPLC, ≥ 99.9% de pureza (acetona), Merck-LiChrosolv Reag. Ph Eur, grau HPLC, 99.9% de pureza (metanol), Sigma, para biologia molecular, ≥ 98% de pureza (acetato de amônio) e Sigma-Aldrich, BioXtra, ≥ 99.0% de pureza (carbonato de cálcio). A água foi filtrada em sistema Purelab Option-Q, Elga-Veolia. As filtrações foram realizadas com papel filtro 12,5 cm Unifil e com filtro de seringa 25 mm 0,45 µm PTFE Whatman. As seringas utilizadas foram de 3 ou 5 mL Luer-Lock SR.

Os pigmentos isolados foram identificados comparando seus espectros de absorbância e tempos de retenção com os de padrões de clorofila a (Sigma C5753, Sigma Chemicals Co. St. Louis, MO, USA) e clorofila b (Sigma C5878, Sigma Chemicals Co. St. Louis, MO, USA). Esses padrões são provenientes do espinafre e tem um grau de pureza de 99,99 %.

As curvas padrão para clorofila a e b foram preparadas entre 0,4 - 400 µg.L⁻¹. Com as concentrações aplicadas e as áreas obtidas para cada pico, efetuou-se uma análise de regressão linear, obtendo-se assim as curvas padrão. As áreas dos picos encontrados nos extratos das amostras foram interpoladas nas curvas padrão para quantificar a concentração dos pigmentos existentes nas amostras analisadas. Em seguida, o teor do pigmento na amostra foi calculado levando em consideração todas as diluições feitas ao longo do procedimento. A unidade final dos cálculos foi dada em µg.g⁻¹ de massa fresca. Os dados de carotenoides foram calculados de acordo com Arnon (1949) e foram expressos em µg.g⁻¹ de massa fresca.

1.1.3 Análise em espectrofotometria (Transição):

O procedimento de extração dos pigmentos ocorreu como descrito acima (análise em HPLC – ano 1). Posteriormente, foram determinadas as leituras da densidade ótica em espectrofotômetro (Genesys 10S UV-Vis, Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) a 470nm, 645nm e 663nm. As determinações das concentrações dos pigmentos fotossintéticos foram realizadas de acordo com as equações propostas por Wellburn (1994) e expressas em mg mL⁻¹ de massa fresca:

$$\text{Clorofila a} = (12,25 \times A_{663} - 2,79 \times A_{645})$$

$$\text{Clorofila b} = (21,5 \times A_{645} - 5,1 \times A_{663})$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 \times A_{470} - 1,82 \times \text{Clor a} - 85,02 \text{ Clor b})/198$$

Onde: A470 = absorbância em 470 nm; A645 = absorbância em 645 nm; A663 = absorbância em 663 nm

1.7 ANÁLISES FOTOSSÍNÉTICAS

1.7.1 Material vegetal e condições de amostragem

Para as medições da produtividade primária (fluorescência da clorofila *a*, assimilação de CO₂ e trocas gasosas), definiu-se um padrão de amostragem, consistindo na aquisição dos dados em 6 folhas consideradas jovens e completamente expandidas, sem indícios de senescência. Para atender a este padrão, foram amostradas as folhas do 2º par a partir do ápice para a base do ramo. Estas réplicas foram obtidas de 5 indivíduos jovens (amostras) de *Rhizophora mangle* com até 2 metros de altura. Entretanto, quando da ausência dessa espécie na parcela, foi selecionada aquela dominante (*Laguncularia racemosa*, *Avicennia schaueriana* e *Talipariti pernambucense*), seguindo o mesmo padrão de amostragem (Quadro 1). Estes indivíduos receberam um lacre de identificação, o que possibilitou monitorar a produção primária dos mesmos bimestralmente (Ano 1) e trimestralmente (Transição). A aquisição dos dados foi feita sempre pela manhã, no mesmo intervalo de tempo (entre 7 e 12 horas) em todas as parcelas.

Quadro 1: Espécies amostradas nas análises fotossintéticas por área/estação ao longo do PMBA.

Área	Estações	Espécie
Piraquê-Açu	Todas	<i>R. mangle</i>
Piraquê-Mirim	Todas	<i>R. mangle</i>
Costa das Algas	CA1	<i>A. schaueriana</i>
Costa das Algas	CA2	<i>R. mangle</i>
Barra do Riacho	Todas	<i>R. mangle</i>
Rio Doce	Todas	<i>T. pernambucense</i>
Urussuquara	UR1FE	<i>R. mangle</i>
Urussuquara	UR2FD, UR3FE e UR3BE	<i>L. racemosa</i>
Barra Nova	BN1FE, BN1BE, BN2FD, BN2BD, BN3BD	<i>R. mangle</i>
Barra Nova	BN3FD	<i>L. racemosa</i>
São Mateus	SM1FD, SM1BD, SM2FD, SM1FE, SM1BE, SM2FE, SM2BE, SM3FE, SM3BE	<i>R. mangle</i>
São Mateus	SM3FE, SM3BE	<i>L. racemosa</i>
Caravelas	CR1FD, CR1BD, CR2FD, CR3BD, CR1FE, CR1BE, CR2FE, CR2BE, CR3FE	<i>R. mangle</i>
Caravelas	CR2BD, CR3BE	<i>L. racemosa</i>
Caravelas	CR3FD	<i>A. schaueriana</i>

1.7.2 Fluorescência da Clorofila *a*

As medidas da fluorescência da clorofila *a* foram realizadas utilizando-se um fluorômetro portátil Handy-PEA (Hanstech Instruments Ltd., King's Lynn, Norkfolk, UK). As folhas foram previamente adaptadas ao escuro por 30 minutos (FALQUETO et al., 2008) utilizando-se cliques foliares (Hansatech Instruments, UK) para a oxidação completa da cadeia de transporte de elétrons. A intensidade de fluorescência em 50 μ (considerado como F0), 100 μ s, 300 μ s, 2 ms (FJ), 30 ms (FI) e a fluorescência máxima (Fm) foram registradas e utilizadas para os cálculos dos parâmetros do teste JIP de acordo com Strasser et al. (2004) e Stirbet e Govindjee (2011). O parâmetro indicador utilizado no relatório foi PI_{total} – índice de conservação de energia dos fótons absorvidos pelo fotossistema II (FSII) para a redução dos aceptores finais do fotossistema I (FSI), uma vez que é considerado um dos parâmetros mais sensíveis para medir a eficiência quântica do FSII (SMIT et al., 2009).

1.7.3 Assimilação de CO₂ e trocas gasosas

Para as medidas da assimilação de CO₂ e dos parâmetros de trocas gasosas utilizou-se um medidor portátil de fotossíntese (Infrared gas analyzer, IRGA) modelos LCi, LCi T e Lcpro T (ADC, Bio Scientific Ltd. Hoddesdon, England). Os seguintes parâmetros foram analisados como indicadores neste relatório: assimilação de CO₂ (A - μ mol m⁻² s⁻¹) e eficiência do uso da água (EUA - μ mol CO₂ mmol H₂O), calculada e determinada como: eficiência intrínseca no uso da água (EUA - A/gs) (SOBRADO, 2005).

1.7.4 Análise estatística

Todos os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade (Bartlett). Os parâmetros fisiológicos não apresentaram normalidade e, assim, o teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para as comparações entre os estuários, entre as espécies e entre os períodos (seco e chuvoso), seguido do teste de comparações múltiplas *a posteriori* (Teste de Dunn) (ZAR, 1996). A região onde estão inseridas as áreas de estudo, região tropical, é caracterizada por um período seco (abril a setembro) e período chuvoso (outubro a março) (NOBREGA et al 2010; RRDM, 2019 RT 21, Anexo 5 Manguezal). Nas análises estatísticas básicas empregou-se Excel ou o pacote de tratamento estatístico Statistica (STATSOFT®).

Análise de Componentes Principais (ACP) foi obtida por período (chuvoso 2018/2019, seco 2019 e chuvoso 2019/2020) a fim de verificar padrões de sazonalidade entre os estuários e espécies, para da região norte do Espírito Santo e sul da Bahia, sendo construída por meio de matriz de correlação dos dados (LEGENDRE e LEGENDRE, 1994), para isto empregou-se o programa R (R CORE TEAM, 2019).

Considerou-se como nível de significância estatística o α igual a 0,05 para todos os testes.

1.8 DIAGNÓSTICO SOBRE A FAUNA DO MANGUEZAL, COMPARTIMENTO CARANGUEJOS.

1.8.1 Desenho amostral

Em cada área de estudo parcelas fixas, denominadas estações, com aproximadamente 75 m² foram delimitadas ao longo do gradiente estuarino: estuário inferior (Setor 1), médio (Setor 2) e superior (Setor 3) (Figura x). Em cada setor do estuário as estações foram demarcadas próximo às margens direita e esquerda dos canais mais representativos. Para *Ucides cordatus*, em cada margem, estações foram demarcadas em um bosque de manguezal de franja e em outro de bacia. Em relação ao *Cardisoma guanhumi*, quando a área era larga o suficiente, foram demarcadas em cada margem uma estação em zona de transição de manguezal para restinga e uma estação em zona de restinga arbórea. As estações foram marcadas nos seus extremos com lacres plásticos numerados, georreferenciadas utilizando o GPS Trimble Juno SA e fotografadas (etapa metodológica descrita no item Cartografia). O número de estações variou em função dos estuários e das espécies, *U. cordatus* e *C. guanhumi*. Esta variabilidade no número de estações amostradas em relação ao número de planejadas, propostas no Termo de Referência, foi justificada pelo fato do ecossistema manguezal nos estuários do rio Riacho (Barra do Riacho) e Ipiranga (Urussuquara) apresentarem extensão estreita na zona intertidal, não sendo possível o estabelecimento das parcelas fixas em bosques de bacia. A diferença no número de estações entre as espécies justifica-se pela condição natural de distribuição de *C. guanhumi* na faixa supratidal e pelo fato da espécie estar ameaçada de extinção por perda de habitat e sobreexploração, dificultando a demarcação de estações amostrais nos estuários monitorados no norte do Espírito Santo. Além da baixa densidade populacional desta espécie, a dificuldade de encontrar áreas com habitat propício que sejam contínuas e extensas também limitou o desenho amostral. Isso se deve ao habitat naturalmente fragmentado, agravado pela supressão de vegetação, bem como ao fato da faixa de planície sujeita à inundação pelas marés de sizígia mais extremas necessária para o recrutamento da espécie ser relativamente estreita.

Em cada estação, pelo menos 3 quadrados de 5 x 5 metros foram demarcados, dentro dos quais as seguintes atividades foram realizadas: contagem das galerias diferenciando-as em abertas, fechadas (indicativo de ecdise) e vazias, identificadas pela ausência de atividades biogênicas (marcas de rastros, dejetos ou movimentação de substrato), para estimativa da densidade de indivíduos (indivíduos m⁻²); e medição do diâmetro (menor e maior) da abertura de cada galeria, uma vez que estas são elípticas, para auxiliar na avaliação da estrutura populacional. As medições dos diâmetros das galerias foram realizadas com o auxílio de paquímetro de aço (marca Digimess), com precisão de aproximadamente 0,03 mm, adaptado pela soldagem de prolongamentos em forma de espátula de 10,5 cm de comprimento, 2 cm de largura e 3 a 4 mm de espessura (Figura 4), com base no método descrito por Schmidt et al. (2008). A contagem das galerias permitiu a estimativa da densidade populacional (indivíduos m⁻²), uma vez que cada galeria, aberta ou fechada, é habitada por um indivíduo (SCHMIDT, 2006).

As amostragens foram acompanhadas por catadores profissionais para a captura de indivíduos de *U. cordatus*, realizada por meio da coleta manual, técnica conhecida como braceamento e recomendada pelos órgãos ambientais. Apenas em Caravelas não foram coletados espécimes de *U. cordatus*, pois para este manguezal já existe uma longa série de dados, o que permitiu, de imediato, a elaboração de uma regressão linear robusta o suficiente para transformar os valores de diâmetro de abertura de galeria em tamanho de cefalotórax (carapaça). Entretanto, até a obtenção de uma equação adequada às populações da espécie para o Espírito Santo, serão utilizadas aquelas descritas para o litoral sul da Bahia (SCHMIDT et al., 2008).

Armadilhas do tipo ratoeiras foram posicionadas na entrada das galerias para a captura de *C. guanhumi*. Os espécimes coletados tiveram o sexo identificado por dimorfismo sexual externo (formato do abdômen) (MELO, 1996) e o comprimento e largura do cefalotórax foram medidos com paquímetro digital (sem adaptação) da marca Digimess, com precisão de aproximadamente 0,03 mm (Figura 5), posicionado sobre a superfície dorsal da carapaça. Os indivíduos foram liberados no próprio local de captura logo após as medições.

Fêmeas ovígeras de *U. cordatus* foram coletadas nos estuários Piraquê-Açu, Piraquê-Mirim, Ipiranga (Urussuquara), São Mateus e Caravelas para estimar a fecundidade, enquanto fêmeas de *C. guanhumi* foram coletadas apenas na foz do Rio Doce por se tratar de uma espécie ameaçada de extinção. Tais fêmeas foram transportadas em sacos de estopa até o laboratório de Ecologia do Ecossistema Manguezal, localizado na Universidade Federal do Espírito Santo – Campus São Mateus, para posteriores análises e tombamento das espécies no acervo do projeto.

As amostragens foram bimestrais estendendo-se de outubro de 2018 a setembro de 2019, totalizando 6 períodos de coleta de dados (Campo 1 ao 6) no primeiro ano do PMBA e no período de transição (outubro de 2019 a março de 2020), as amostragens foram trimestrais como apresentado nos Quadro 2 e Quadro 3 para *U. cordatus* e *C. guanhumi*, respectivamente. As células preenchidas com a sigla AI (Amostras impossibilitadas de coleta por condições ambientais) indicam a ausência de coleta de dados. As amostragens de *C. guanhumi* no Espírito Santo começaram efetivamente em novembro de 2018, pois no primeiro campo (Campo 1) a equipe dedicou-se a conhecer as áreas de ocorrência da espécie, uma vez que não há qualquer estudo relacionado a esta espécie no norte do Espírito Santo, sendo a sua escala espacial de distribuição no ecótono manguezal/restinga desconhecida. O campo 1, em Caravelas, teve início em novembro de 2018 e, portanto, a última coleta de dados ocorreu em setembro de 2019.

Figura 4: Paquímetro de aço da marca Digimess adaptado pela soldagem de prolongamentos em forma de espátula de 10,5 cm de comprimento, 2 cm de largura e 3 a 4 mm de espessura.



Figura 5: Paquímetro digital utilizado para medição dos indivíduos capturados.



Quadro 2: Datas de amostragem dos campos nas estações para a espécie de caranguejo uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), monitoradas durante o primeiro ano (outubro de 2018 a setembro de 2019) e período de transição (outubro de 2019 a março de 2020) do PMBA.

Estuário	Estação	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8
Piraquê-Açu	PA1FD	28-out-18	29-nov-18	25-fev-19	11-abr-19	22-mai-19	17-jul-19	31-out-19	16-jan-20
Piraquê-Açu	PA1BD	28-out-18	28-nov-18	25-fev-19	8-abr-19	17-mai-19	17-jul-19	31-out-19	16-jan-20
Piraquê-Açu	PA2FD	23-out-18	23-nov-18	22-fev-19	9-abr-19	15-mai-19	16-jul-19	30-out-19	23-jan-20
Piraquê-Açu	PA2BD	23-out-18	23-nov-18	22-fev-19	9-abr-19	15-mai-19	16-jul-19	30-out-19	23-jan-20
Piraquê-Açu	PA3FD	22-out-18	23-nov-18	21-fev-19	10-abr-19	14-mai-19	16-jul-19	30-out-19	15-jan-20
Piraquê-Açu	PA3BD	22-out-18	29-nov-18	21-fev-19	10-abr-19	14-mai-19	16-jul-19	30-out-19	15-jan-20
Piraquê-Açu	PA1FE	24-out-18	27-nov-18	22-fev-19	11-abr-19	16-mai-19	17-jul-19	31-out-19	16-jan-20
Piraquê-Açu	PA1BE	24-out-18	27-nov-18	22-fev-19	11-abr-19	16-mai-19	17-jul-19	31-out-19	16-jan-20

Piraquê-Açu	PA2FE	24-out-18	27-nov-18	22-fev-19	9-abr-19	16-mai-19	17-jul-19	31-out-19	17-jan-20
Piraquê-Açu	PA2BE	24-out-18	27-nov-18	22-fev-19	9-abr-19	16-mai-19	17-jul-19	31-out-19	23-jan-20
Piraquê-Açu	PA3FE	22-out-18	23-nov-18	21-fev-19	10-abr-19	15-mai-19	16-jul-19	30-out-19	15-jan-20
Piraquê-Açu	PA3BE	29-out-18	23-nov-18	21-fev-19	10-abr-19	15-mai-19	16-jul-19	30-out-19	15-jan-20
Piraquê-Mirim	PM1FD	28-out-19	25-nov-18	25-fev-19	12-abr-19	17-mai-19	25-jul-19	7-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM1BD	28-out-18	24-nov-18	25-fev-19	12-abr-19	17-mai-19	25-jul-19	7-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2FD	26-out-18	25-nov-18	26-fev-19	17-abr-19	21-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2BD	27-out-18	25-nov-18	26-fev-19	17-abr-19	21-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	17-jan-20
Piraquê-Mirim	PM3FD	27-out-18	26-nov-18	27-fev-19	16-abr-19	21-mai-19	24-jul-19	5-nov-19	21-jan-20
Piraquê-Mirim	PM3BD	27-out-18	26-nov-18	27-fev-19	16-abr-19	21-mai-19	24-jul-19	5-nov-19	21-jan-20
Piraquê-Mirim	PM1FE	28-out-18	25-nov-18	26-fev-19	18-abr-19	22-mai-19	25-jul-19	7-nov-19	23-jan-20
Piraquê-Mirim	PM1BE	28-out-18	24-nov-18	26-fev-19	18-abr-19	22-mai-19	25-jul-19	7-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2FE	27-out-18	25-nov-18	26-fev-19	17-abr-19	22-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2BE	27-out-18	26-nov-18	26-fev-19	17-abr-19	22-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	17-jan-20
Piraquê-Mirim	PM3FE	27-out-18	26-nov-18	27-fev-19	16-abr-19	21-mai-19	23-jul-19	5-nov-19	21-jan-20
Piraquê-Mirim	PM3BE	27-out-18	26-nov-18	27-fev-19	16-abr-19	21-mai-19	23-jul-19	5-nov-19	21-jan-20
Costa das Algas	CA 1	AI	AI	23-fev-19	8-abr-19	24-mai-19	19-jul-19	8-nov-19	24-jan-20
Costa das Algas	CA2	AI	AI	23-fev-19	8-abr-19	24-mai-19	19-jul-19	8-nov-19	24-jan-20
Barra do Riacho	BR1FD	30-out-18	28-nov-18	20-fev-19	5-abr-19	23-mai-19	AI	28-out-19	14-jan-20
Barra do Riacho	BR2FD	31-out-19	28-nov-18	20-fev-19	5-abr-19	23-mai-19	AI	28-out-19	14-jan-20
Barra do Riacho	BR3FD	30-out-19	28-nov-18	20-fev-19	5-abr-19	23-mai-19	AI	28-out-19	14-jan-20
Urussuquara	UR1FE	8-nov-18	5-dez-18	14-fev-19	2-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Urussuquara	UR2FD	7-nov-18	4-dez-18	13-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	2-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Urussuquara	UR3FE	7-nov-18	4-dez-18	13-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Urussuquara	UR3BE	8-nov-18	4-dez-18	13-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	18-nov-19	30-jan-20
Barra nova	BN1FE	21-nov-18	6-dez-18	24-jan-19	27-mar-19	3-jun-19	14-ago-19	19-nov-19	3-fev-20
Barra nova	BN1BE	21-nov-18	6-dez-18	24-jan-19	27-mar-19	3-jun-19	5-ago-19	19-nov-19	3-fev-20
Barra nova	BN2FD	21-nov-18	6-dez-18	24-jan-19	26-mar-19	3-jun-19	6-ago-19	19-nov-19	3-fev-20
Barra nova	Bn2BD	21-nov-18	6-dez-18	24-jan-19	26-mar-19	3-jun-19	5-ago-19	19-nov-19	3-fev-20
Barra nova	BN3FD	12-nov-18	7-dez-18	28-jan-19	28-mar-19	5-jun-19	7-ago-19	18-nov-19	5-fev-20
Barra nova	BN3BD	12-nov-18	7-dez-18	28-jan-19	28-mar-19	5-jun-19	7-ago-19	18-nov-19	AI
São Mateus	SM1FD	13-nov-18	11-dez-18	29-jan-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM1BD	13-nov-18	11-dez-18	29-jan-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM2FD	AI	AI	AI	AI	6-jun-19	9-ago-19	22-nov-19	7-fev-20
São Mateus	SM3FD	14-nov-18	10-dez-18	30-jan-19	20-mar-19	6-jun-19	9-ago-19	22-nov-19	6-fev-20

São Mateus	SM3B D	14-nov-18	10-dez-18	30-jan-19	20-mar-19	6-jun-19	9-ago-19	22-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM1FE	21-nov-18	12-dez-18	4-fev-19	21-mar-19	11-jun-19	12-ago-19	25-nov-19	10-fev-20
São Mateus	SM1B E	21-nov-18	12-dez-18	4-fev-19	21-mar-19	10-jun-19	12-ago-19	25-nov-19	10-fev-20
São Mateus	SM2FE	13-nov-19	11-dez-18	29-jan-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM2B E	19-nov-19	14-dez-18	30-jan-19	20-mar-19	11-jun-19	13-ago-19	25-nov-19	11-fev-20
São Mateus	SM3FE	19-nov-18	13-dez-18	5-fev-19	25-mar-19	11-jun-19	13-ago-19	26-nov-19	11-fev-20
São Mateus	SM3B E	19-nov-18	13-dez-18	5-fev-19	25-mar-19	11-jun-19	12-ago-19	26-nov-19	11-fev-20
Caravelas	CR1FD	17-nov-18	1-fev-19	12-mar-19	31-mai-19	29-jul-19	4-set-19	30-nov-19	3-jan-20
Caravelas	CR1B D	14-nov-18	1-fev-19	13-mar-19	31-mai-19	29-jul-19	4-set-19	30-nov-19	3-jan-20
Caravelas	CR2FD	16-nov-18	29-jan-19	29-mar-19	3-jun-19	24-jul-19	10-set-19	12-dez-19	8-jan-20
Caravelas	CR2B D	12-nov-18	29-jan-19	29-mar-19	6-jun-19	24-jul-19	10-set-19	12-dez-19	8-jan-20
Caravelas	CR3FD	15-nov-18	28-jan-19	13-mar-19	27-mai-19	3-jul-19	6-set-19	9-dez-19	5-jan-20
Caravelas	CR3B D	13-nov-18	28-jan-19	13-mar-19	27-mai-19	8-jul-19	6-set-19	9-dez-19	5-jan-20
Caravelas	CR1FE	17-nov-18	2-fev-19	15-mar-19	1-jun-19	3-jul-19	5-set-19	1-dez-19	4-jan-20
Caravelas	CR1BE	14-nov-18	2-fev-19	15-mar-19	1-jun-19	3-jul-19	5-set-19	1-dez-19	4-jan-20
Caravelas	CR2FE	16-nov-18	30-jan-19	16-mar-19	25-mai-19	20-jul-19	9-set-19	10-dez-19	6-jan-20
Caravelas	CR2BE	12-nov-18	30-jan-19	16-mar-19	25-mai-19	20-jul-19	9-set-19	10-dez-19	6-jan-20
Caravelas	CR3FE	15-nov-18	31-jan-19	30-mar-19	29-mai-19	31-jul-19	7-set-19	11-dez-19	7-jan-20
Caravelas	CR3BE	13-nov-18	31-jan-19	30-mar-19	29-mai-19	31-jul-19	7-set-19	11-dez-19	7-jan-20

Quadro 3: Datas de amostragem dos campos nas estações para a espécie de caranguejo guaiamum, *Cardisoma guanhumi* (Latreille, 1825), monitoradas durante o primeiro ano (outubro de 2018 a setembro de 2019) e período de transição (outubro de 2019 a março de 2020) do PMBA.

Estuário	Estação	Campo 1	Campo 2	Campo 3	Campo 4	Campo 5	Campo 6	Campo 7	Campo 8
Piraquê-Açu	PA1E		27-nov-18	25-fev-19	11-abr-19	17-mai-19	25-jul-19	31-out-19	16-jan-20
Piraquê-Açu	PA1D		28-nov-18	25-fev-19	11-abr-19	14-mai-19	26-jul-19	1-nov-19	16-jan-20
Piraquê-Mirim	PM1E		29-nov-18	26-fev-19	18-abr-19	22-mai-19	25-jul-19	7-nov-19	22-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2E		25-nov-18	26-fev-19	17-abr-19	22-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	17-jan-20
Piraquê-Mirim	PM3E		26-nov-18	27-fev-19	16-abr-19	21-mai-19	23-jul-19	5-nov-19	21-jan-20
Piraquê-Mirim	PM2D			27-fev-19	17-abr-19	22-mai-19	24-jul-19	6-nov-19	17-jan-20
Costa das Algas	CA1		30-nov-18	23-fev-19	8-abr-19	24-mai-19	19-jul-19	8-nov-19	24-jan-20
Costa das Algas	CA2		30-nov-18	23-fev-19	8-abr-19	24-mai-19	19-jul-19	8-nov-19	24-jan-20
Barra do Riacho	BR1D		28-nov-18	20-fev-19	5-abr-19	23-mai-19	18-jul-19	29-out-19	14-jan-20
Barra do Riacho	BR2E			28-fev-19	5-abr-19	23-mai-19	18-jul-19	29-out-19	14-jan-20
Rio Doce	RD1E		1-dez-18	18-fev-19	3-abr-19	28-mai-19	30-jul-19	12-nov-19	19-jan-20
Rio Doce	RD2D		1-dez-18	18-fev-19	3-abr-19	28-mai-19	30-jul-19	12-nov-19	19-jan-20

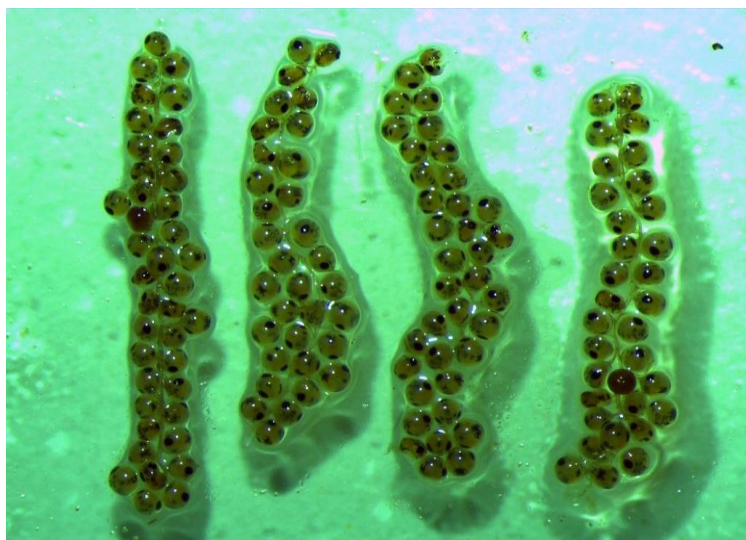
Rio Doce	RD3D			18-fev-19	3-abr-19	28-mai-19	30-jul-19	12-nov-19	20-jan-20
Urussuquara	UR1E		AI	14-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Urussuquara	UR2D		AI	14-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Urussuquara	UR3E		AI	14-fev-19	1-abr-19	30-mai-19	1-ago-19	14-nov-19	30-jan-20
Barra Nova	BN1E		AI	25-jan-19	26-mar-19	4-jun-19	5-ago-19	19-nov-19	4-fev-20
Barra Nova	BN2D		AI	25-jan-19	26-mar-19	4-jun-19	5-ago-19	19-nov-19	4-fev-20
Barra Nova	BN3D		7-dez-18	25-jan-19	28-mar-19	5-jun-19	7-ago-19	18-nov-19	5-fev-20
São Mateus	SM1E		11-dez-18	29-jan-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM2E		12-dez-18	4-fev-19	21-mar-19	10-jun-19	12-ago-19	25-nov-19	10-fev-20
São Mateus	SM3E		12-dez-18	4-fev-19	21-mar-19	10-jun-19	12-ago-19	25-nov-19	10-fev-20
São Mateus	SM4E		14-dez-18	15-fev-19	28-mar-19	11-jun-19	12-ago-19	26-nov-19	11-fev-20
São Mateus	SM1D			7-fev-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
São Mateus	SM2D			7-fev-19	18-mar-19	7-jun-19	8-ago-19	21-nov-19	6-fev-20
Caravelas	G1d-api	21-dez-18	5-fev-19	8-mar-19	7-mai-19	14-jul-19	2-set-19	16-nov-19	6-fev-20
Caravelas	G1d-mat	21-dez-18	5-fev-19	8-mar-19	7-mai-19	14-jul-19	2-set-19	17-nov-19	6-fev-20
Caravelas	G2d-api	8-nov-18	6-fev-19	7-mar-19	4-mai-19	1-jul-19	3-set-19	17-nov-19	10-fev-20
Caravelas	G2d-mat	26-out-18	6-fev-19	7-mar-19	4-mai-19	1-jul-19	3-set-19	17-nov-19	10-fev-20
Caravelas	G2e-api	20-nov-18	14-fev-19	18-mar-19	11-mai-19	2-jul-19	11-set-19	23-nov-19	13-jan-20
Caravelas	G2e-mat	6-nov-18	14-fev-19	19-mar-19	11-mai-19	2-jul-19	11-set-19	23-nov-19	13-jan-20
Caravelas	G3d-api	9-nov-18	12-fev-19	20-mar-19	10-mai-19	16-jul-19	14-set-19	24-dez-19	15-jan-20
Caravelas	G3d-mat	9-nov-18	12-fev-19	20-mar-19	10-mai-19	16-jul-19	14-set-19	24-dez-19	15-jan-20
Caravelas	G3e-api	6-nov-18	15-fev-19	21-mar-19	8-mai-19	17-jul-19	12-set-19	27-dez-19	17-jan-20
Caravelas	G3e-mat	6-nov-18	15-fev-19	21-mar-19	8-mai-19	17-jul-19	12-set-19	27-dez-19	17-jan-20
Caravelas	G4e-api	23-nov-18	11-fev-19	11-mar-19	9-mai-19	6-jul-19	13-set-19	26-dez-19	18-jan-20
Caravelas	G4e-mat	20-nov-18	11-fev-19	11-mar-19	9-mai-19	6-jul-19	13-set-19	26-dez-19	18-jan-20

1.8.2 Procedimentos em laboratório

As fêmeas ovígeras foram lavadas para retirar o excesso de sedimento e, em seguida, as medições biométricas (comprimento e largura do cefalotórax) foram realizadas. O peso do indivíduo com seus ovos foi obtido em balança de alta precisão (modelo AL500C da marca Marte) com precisão de 0,001 g. Após este processo, as fêmeas foram preservadas em solução diluída contendo 90% de água destilada e 10% formol. Posteriormente, a raspagem da massa ovígera presa nos pleópodes foi realizada, e as seguintes informações foram obtidas: (1) peso total (g); (2) peso da subamostra em gramas (g) obtidos a partir de balança de alta precisão; e (3) contagem de ovos, por unidade, da massa ovígera de cada fêmea. Para estimar o número de ovos por fêmea, adotou-se o seguinte

procedimento: para cada indivíduo uma subamostra de $2,5 \text{ g ml}^{-1}$ de massa ovígera foi retirada. Esse volume foi determinado por meio do preenchimento total de um *ependorf* com massa ovígera. Após este procedimento, o material foi colocado em placa de Petri, pesado e separado com o auxílio de duas pinças para a total separação dos ovos presos aos filamentos (Figura 6).

Figura 6: Massa ovígera da fêmea de caranguejo uçá, *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763), presa por filamentos em formato de cacho de uva.



A separação e a análise do número de ovos por massa ovígera foram feitas utilizando-se o estereoscópio óptico (marca Nikon, modelo Leica M80). Após a separação, a massa foi fotografada com câmera digital (modelo LEICA EZ câmera 2.6.0). A escala das fotografias foi determinada pelo programa de aquisição de imagens LAS EZ 3.0.0, instalado em computador acoplado ao estereoscópio. O ajuste da escala foi realizado de acordo com o aumento empregado pela objetiva selecionada para a visualização da imagem no estereoscópio. Para cada fêmea analisada, uma alíquota de $2,5 \text{ g ml}^{-1}$ de massa ovígera foi retirada e gerou entre 40 a 60 fotos, compreendendo todo o volume amostral. As imagens digitais adquiridas foram transferidas para o programa Paint (Microsoft©) para facilitar a contagem dos ovos da amostra. Posteriormente, o número de ovos foi extrapolado para determinar o número total por fêmea, de acordo com o volume total de ovos avaliados por indivíduo. Todos os exemplares foram devidamente etiquetados com as seguintes informações: espécie coletada; local de captura; data da coleta; tipo de maré; fase lunar; e nome do catador. Os exemplares foram armazenados em frascos e conservados no freezer (marca Electrolux, modelo H500) até o posterior tombamento no acervo do projeto.

1.8.3 Análises estatísticas

1.8.3.1 Densidade populacional, largura de cefalotórax e variáveis ambientais

Os valores de densidade populacional (indivíduos m^{-2}) em cada unidade amostral ($n = 3$) foram obtidos considerando-se as contagens de galerias habitadas (tapadas e abertas) registradas. O

menor diâmetro das galerias foi empregado para estimar o tamanho dos indivíduos de *U. cordatus*, uma vez que este possui melhor correlação com o comprimento do cefalotórax do caranguejo, devido ao hábito da espécie entrar de lado na galeria (SCHMIDT et al., 2008). A estimativa foi obtida pela conversão do valor do menor diâmetro da galeria em comprimento de cefalotórax (Equação 1) e, posteriormente, em largura (Equação 2), por meio das equações lineares propostas por Schmidt et al. (2008), sendo elas:

Abertura da galeria

$$\text{Diâmetro menor} = 0,36 + 1,04 * CC \text{ (Equação 1)}$$

Comprimento do cefalotórax

$$LC = -0,05 + 1,30 * CC \text{ (Equação 2)}$$

Onde, CC (mm) corresponde ao comprimento e LC (mm), a largura do cefalotórax, ambos em unidade de milímetros.

A normalidade dos resíduos foi avaliada através do teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram transformados ($\log + 1$) quando não apresentaram distribuição normal. A ANOVA bifatorial foi aplicada para verificar diferenças entre a densidade populacional de *U. cordatus*, variável dependente, em bosques de *Rhizophora mangle* e *Laguncularia racemosa*. Tipo de bosque, considerando a espécie vegetal dominante, e estuário foram os fatores. A largura do cefalotórax (mm) também foi avaliada através da ANOVA bifatorial. Além desta análise, a ANOVA bifatorial também foi utilizada para verificar diferença entre os tipos de bosques e períodos (chuvoso 2018/2019 ano 1, seco 2019 ano 1 e chuvoso 2019/2020 período de transição) em cada estuário. O período chuvoso do primeiro ano de monitoramento correspondeu aos meses entre outubro de 2018 a março de 2019, o período seco aos meses entre abril e setembro de 2019, e chuvoso período de transição, aos meses entre outubro de 2019 a março de 2020. As mesmas análises foram aplicadas para a variável dependente largura do cefalotórax (mm). ANOVA unifatorial foi realizada para identificar diferenças na densidade e largura do cefalotórax em função dos períodos (seco e chuvoso) nas áreas que apresentaram relativamente número de estações reduzidas (Costa das Algas, Barra do Riacho, Urussuquara e Barra Nova). Quando os dados não apresentaram distribuição normal mesmo após a transformação, o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis e o *pós hoc* de Comparações Múltiplas de Dunn foram utilizados. As referências utilizadas nestas análises foram Gotelli e Ellison (2013) e Zar (2010). Para *C. guanhumi*, anova unifatorial foi aplicada para avaliar a diferença da densidade de indivíduos entre os estuários em cada período (chuvoso 2018/2019, seco 2019 e chuvoso 2019/2020) e entre os períodos em cada estuário. A análise de normalidade dos resíduos também foi realizada utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Os dados foram transformados ($\log + 1$) quando não atenderam as premissas para aplicar ANOVA paramétrica (Teste F), e o teste de Tukey para comparações múltiplas. Após a transformação, utilizou-se o teste não-paramétrico Kruskal-Wallis e o teste de comparações múltiplas de Dunn ao não atenderem novamente as premissas.

Histogramas da distribuição de frequência nas classes de tamanho (mm) para *U. cordatus*, por período chuvoso e seco, foram elaborados a partir das estimativas do tamanho dos indivíduos ocupando cada galeria para cada estuário. Para *C. guanhumi*, os histogramas foram elaborados com base nos valores de largura do cefalotórax dos indivíduos capturados e medidos em campo.

A razão sexual foi estimada para as duas espécies, em cada estuário, nas estações primavera/verão e outono/inverno, e o teste do Qui-quadrado (X^2) aplicado para avaliar diferenças significativas na frequência de distribuição de machos e fêmeas em relação ao esperado (1:1). Para fins de inferência, adotou-se nível de significância de 5% (ZAR, 2010).

Para a realização das análises multivariadas de componentes principais (PCA = Principal Component Analysis), utilizou-se o procedimento segundo Gotelli e Ellison (2013) com representação gráfica biplot (HOTELLING, 1933; CRUZ e CARNEIRO, 2006). A PCA foi empregada para cada período (chuvoso e seco) considerando os parâmetros populacionais (densidade e largura do cefalotórax) e as variáveis abióticas de cada estuário. As variáveis abióticas foram: micronutrientes foliar (alumínio – Al, cobre – Cu, ferro – Fe, manganês – Mn, chumbo – Pb, e zinco – Zn em mg kg^{-1}); concentração de metais no sedimento (Al, Cr, Cu, Fe, Mn, Pb, e Zn em mg kg^{-1}); salinidade; granulometria (frações areia, lama e silte em %); teor de matéria orgânica no sedimento (%); teor de carbonato de cálcio CaCO_3 (%) no sedimento; amplitude de inundação máxima (m) no interior das florestas. Os dados de cada característica foram inicialmente padronizados pela equação $Z = (Y_i - \bar{Y})/s$ em que Z representa o valor padronizado adimensional, Y_i corresponde ao valor da amostra i para a variável original Y, e \bar{Y} e s representam sua média e desvio padrão respectivamente. A Distância Euclidiana foi usada como medida de dissimilaridade. A representação da variabilidade foi feita em gráfico bidimensional com base nos dois primeiros componentes principais. Adicionalmente, para valorização da variabilidade explicada pelos primeiros componentes principais, que deve ser de no mínimo 80% (RENCHE, 2002; JOHNSON e WICHERN, 2007), foi feita, em cada gráfico, nos eixos x e y, a representação da % de explicação da variabilidade por cada um dos dois componentes, no eixo x o primeiro componente principal e no eixo y o segundo componente principal. Esta e as demais análises foram realizadas usando o programa R (R CORE TEAM, 2019) e com o auxílio dos pacotes *ds* (ARNHOLD, 2014) e *ExpDes.pt* (FERREIRA et al., 2018).

Regressão linear simples para o diâmetro de abertura de galeria (mm) em função do comprimento de cefalotórax (mm) foi realizada com os dados biométricos de *C. guanhumi* coletados e de suas respectivas aberturas de galeria ao longo do período de amostragem. A mesma análise estatística foi empregada para o comprimento de cefalotórax em função da largura do cefalotórax (e vice-versa). Esta análise foi realizada com o objetivo de ajustar a equação da reta aos dados para avaliar a possibilidade de estimar o tamanho dos indivíduos, com base nas medidas das suas galerias.

1.8.3.2 Fecundidade

A fecundidade foi estimada por meio da expressão proposta por Ogawa e Rocha (1976) descrita abaixo:

$$F = N \cdot (P/PS) \text{ (Equação 3)}$$

onde: F = fecundidade individual; N = número de ovos da subamostra; P = peso total da massa de ovos (g); e PS = peso da subamostra (g).

Análises sobre as relações entre F , LC e P por meio da correlação linear de Pearson com nível de significância de 5% foram realizadas para cada estuário. Análises de regressão foram realizadas para averiguar a relação de dependência entre as variáveis LC , variável independente, e peso da massa ovígera (PMO) e F , consideradas variáveis dependentes. Para fins de inferência, adotou-se nível de significância de 5%. Quando o valor da correlação (r) for entre 0,7 e 1 a correlação é forte; $r = 0,4$ até 0,6 define-se como moderada; $r = 0,1$ até 0,3 como fraca (DANCEY; REIDY, 2006).

A análise de Variância 1 fator (Anova) e o teste de Tukey foram realizados para comparar a fecundidade de *U. cordatus* entre os estuários (ZAR, 2010) e entre os anos (2019 e 2020). A normalidade dos dados foi testada por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Quando a hipótese de normalidade não foi aceita, análise de variância não paramétrica, teste de Kruskal-Wallis, e o pós-teste de comparações múltiplas de Dunn foram utilizados (ZAR, 2010). Os resultados (PMO , F , LC e P) do estuário do rio São Mateus, no presente monitoramento, foram comparados com aqueles encontrados por Porto (2016), em 2015 e 2016, pelo teste de Kruskal-Wallis, uma vez que não alcançaram os pressupostos para análise paramétrica.

1.9 MAPEAMENTO

1.9.1 Mapeamento Flora e localização das parcelas

Para o cumprimento do mapeamento da estrutura foi necessário o tratamento das imagens de satélite obtidas por meio de tecnologia SIG das áreas de estudo no litoral norte capixaba. Imagens de alta resolução de todas as áreas de estudo foram solicitadas. A empresa contratada para isto teve grande dificuldade em obter rapidamente imagens com baixa cobertura de nuvens dos locais escolhidos, por conta das características climáticas do estado de Espírito Santo e do extremo sul da Bahia. Desta forma, houve o fornecimento preliminar de imagens provenientes do satélite Planet com resolução espacial de 3 metros, para realização do planejamento das saídas de campo.

As imagens de satélite permitiram o cumprimento do objetivo que tinha como finalidade a delimitação, com base em SIG, das áreas de estudo no litoral norte capixaba. Para realização do mapeamento, as imagens foram tratadas para realizar um mosaico isto teve como finalidade homogeneizar as composições coloridas, facilitando as interpretações (ESPINOZA, 2008). Numa

primeira remessa, foram recebidas as imagens para cada uma das áreas sem ser realizado o mosaico das mesmas. Cada área possuía em média 15 imagens, fato este que gerou um mapeamento heterogêneo, e apareciam os recortes confundindo a interpretação, mesmo sendo realizada a ortoreificação e georreferência apropriada, esses problemas foram observados nas áreas de transição entre as imagens. Para solucionar o referido problema, os mosaicos foram realizados e para a composição final foram utilizadas, em média, 3 imagens para cada área, permitindo assim as delimitações com base no mapeamento de cada estuário e, com isto, produziu-se mapas temáticos individuais.

Como as imagens do satélite SKYSAT de alta resolução só chegaram no final do mês de março, ocorreu um atraso na execução de uma parte importante do cronograma proposto, mesmo assim as metas estabelecidas foram cumpridas no prazo para 100% das áreas.

Primeiro foram realizadas três campanhas (saídas de campo), onde os equipamentos para levantamentos topográficos Trimble R4 (RTK) e o GPS pós-processado Juno foram utilizados. Para o uso do equipamento Trimble R4 foi estabelecida rotina de Procedimento Operacional Padrão (POP) de forma que todos os integrantes da equipe tivessem uniformidade na utilização do equipamento. Para que a delimitação das áreas contasse com a máxima acurácia, o trabalho de campo iniciou-se com a instalação, distribuição e medição de marcos geodésicos para todas as áreas. Estes marcos foram confeccionados com tubos de policloreto de vinil (PVC) com 50 cm de comprimento cujo interior foi preenchido com cimento com uma placa de identificação do projeto de marco geodésico (Figura 7). Estes marcos foram fixados em locais estratégicos no interior das parcelas de estrutura e correspondem ao local com coordenadas geográficas de alta precisão das áreas mapeadas (Figura 8), os “marcos geodésicos” tem um erro na horizontal de 10 mm + 1 ppm EMQ.

Figura 7: Descrição da forma dos Marcos geodésicos.



Figura 8: Implantação dos marcos geodésicos com a referência nas áreas de coleta do PMBA.



É possível classificar os dados geográficos segundo o conjunto de técnicas e métodos empregados no seu levantamento, em três categorias: planialtimétricos, ambientais e cadastrais (MOREIRA, 2011). No caso dos marcos do anexo manguezal no PMBA, os dados utilizados para caracterizá-los pertencem as três categorias acima. Como resultado deste primeiro procedimento há monografias para todos os pontos geodésicos. Este procedimento de instauração de marcos geodésicos serviu também para estabelecer a referência necessária no caso do mapeamento da fauna decápode, principalmente para a espécie *C. guanhumi* que nem sempre ocorre associada a vegetação do manguezal.

Para conferir qualidade aos dados de georreferência no anexo, treinamentos de duas equipes foram realizados para que todos que estão em campo estivessem aptos na utilização do equipamento sendo elaborado *checklist* junto ao POP. Estas equipes acompanharam os trabalhos nas saídas de campo durante visita a duas áreas, assim em caso de a primeira equipe não conseguir se deslocar para todas as áreas por conta da logística, a segunda ajudaria a fazer levantamentos específicos, por exemplo, como ocorreu na região de Regência onde uma das equipes treinadas conseguiu fazer o levantamento dos pontos amostrais de sedimentos com o Trimble R4, sistema RTK em 100 pontos contíguos.

É importante ressaltar que um grande esforço para cobrir a maior quantidade de áreas nestas duas saídas de campo foi realizado e a terceira saída que foi realizada para cobrir as áreas que antes não foram levantadas, sendo que a permanência de cada uma das equipes em cada área fazendo as medições e levantamentos chegou a ultrapassar 6 horas de trabalho na maioria dos casos. Isto para o bom aproveitamento da maré e das boas condições do tempo (a tábua de maré e a meteorologia

nos dias que antecediam e durante o campo eram consultadas), os equipamentos Trimble R4 e GPS JUNO não podem trabalhar em condições de chuva e tormenta elétrica (Figura 9).

Figura 9: Medição dos marcos geodésicos com RTK no interior das parcelas durante o PMBA.



Para o uso do GPS Juno também foi elaborado um POP., Cabe salientar que este equipamento, de menor precisão em relação ao Trimble R4, permitiu o mapeamento de todos os locais de entrada das parcelas ao longo dos estuários em todas as áreas visitadas. Ainda com este equipamento, todos os vértices das parcelas visitadas foram levantadas com erro médio de 2 a 5 metros para construção de polígonos. Nos dois campos realizados, sendo o primeiro em outubro de 2018 e segundo em fevereiro de 2019, executou-se o levantamento dos pontos que sinalizaram a localização das parcelas (Figura 10) tanto nas florestas de franja quanto de bacia. Com estes pontos foi possível executar o mapeamento preliminar das áreas de estudo no litoral capixaba e litoral do extremo sul da Bahia.

Figura 10: Levantamento de vértices das parcelas (polígonos) durante o PMBA.



Num segundo momento, procedeu-se com o mapeamento das áreas, para isto, foram separados e criados os arquivos de pontos, linhas e polígonos que deram origem aos mapas temáticos (CÂMARA e MEDEIROS, 1996). Após a realização dos mapeamentos correspondentes à localização das parcelas em todos os estuários a partir de simbologia pontual, o mapeamento geral dos estuários também foi realizado (Relatório de Integração: Anexo 5 Manguezal, 2019).

1.9.2 Mapeamento dos habitats de *Ucides cordatus* e *Cardisoma guanhumi*

Para delimitar a distribuição dos habitats das espécies *C. guanhumi* e *U. cordatus*, com base na utilização do Sistema de Informação Geográfica (SIG) no litoral norte capixaba, foi necessário estabelecer procedimento padrão na utilização do GPS pós-processado Juno (Trimble).

Os dados registrados em cada vértice das parcelas fixas foram desenhados na imagem de satélite e o ponto de localização final para cada estação amostral da espécie corresponde ao centro geométrico de cada parcela. Os dados fornecidos pelo GPS-Juno foram conferidos para a maioria das áreas amostradas. As maiores dificuldades foram a depredação das desmarcações das parcelas fixas que levaram a erros no levantamento e repetição das medidas. Também foram encontrados erros devido a falhas no equipamento, mas corrigido posteriormente em campo pela equipe.

Os marcos geodésicos são importantes no processo de mapeamento, pois fornecem precisões apuradas e permitem voltar as áreas com exatidão, é possível determinar a localização das parcelas em função da distância aos marcos instalados nas áreas. Na construção do mapeamento da distribuição em função das densidades (indivíduos m⁻²) em cada estuário foi utilizada metodologia para elaboração de cartografia temática estabelecendo intervalos de densidade em função do valor médio, mínimo e máximo encontrado para todas as áreas amostradas.

Foram mapeadas 99% das áreas de decápodes no município de Caravelas pela equipe de trabalho, devido à dificuldade de instalação do marco nas áreas de ocorrência de *C. guanhumi*, as mesmas estão em locais muito diferentes das áreas estabelecidas nas florestas, por isto que não foi possível colocar marco geodésico nem medir com o equipamento Trimble R4 (RTK) e com o GPS pós-processado Juno. Tendo em vista a dificuldade da logística e tempo da equipe de cartografia em campo, as posições dessas áreas foram obtidas junto aos pesquisadores locais que utilizaram GPS de navegação. No presente momento, estes dados foram utilizados para elaboração dos mapas temáticos, em novas oportunidades estas coordenadas serão obtidas pelo equipamento com maior acurácia. Destaca-se que os manguezais de Caravelas são particulares em relação aqueles na costa do Espírito Santo, o clima local define a formação de extensas áreas desprovidas de vegetação, compondo os apicuns que são fisionomias dos manguezais comuns em regiões com baixa precipitação e alta temperatura ambiental.

Para a produção dos mapas temáticos, utilizou-se as densidades dos indivíduos obtidas em campo nas mais diferentes campanhas e a distribuição das espécies por estuário. Estas densidades foram divididas em intervalos que foram representadas por tamanhos diferenciados no desenho escolhido como simbologia. Mapas temáticos precisam de símbolos e cores para representar as informações de forma mais ilustrativa.

1.9.3 Mudanças da metodologia do ano um para o ano dois no período de transição

A metodologia de mapeamento em forma geral não mudou em termos da apresentação por mapas temáticos da Flora. Os dados das campanhas do período de transição foram adicionados, além de outras variáveis (PI total, assimilação fotossintética, teor de clorofila *a* e *b*, dentre outras) mapeadas diferenciadamente por espécies contemplando todas as campanhas e respectivos períodos climáticos (chuvoso 2018/2019, seco 2019 e chuvoso 2019/2020). No mapeamento da Fauna também não mudou a apresentação por meio de mapas temáticos, mas teve o mapeamento de outras variáveis como a largura da carapaça (mm) e proporção sexual para ambas espécies de decápodes em cada período climático (chuvoso 2018/2019 e 2019/2020) e seco (seco 2019).

Em relação a interpretação das imagens de satélite, a digitalização das manchas de vegetação do ecossistema manguezal para cada estuário foi realizada, as áreas de transição também foram identificadas. Para o melhor entendimento e interpretação das áreas foi realizado o detalhamento da hidrografia. Maior escala de trabalho para fazer a interpretação visual das imagens e assim conservar o detalhe geográfico foi utilizada (MOREIRA, 2011).

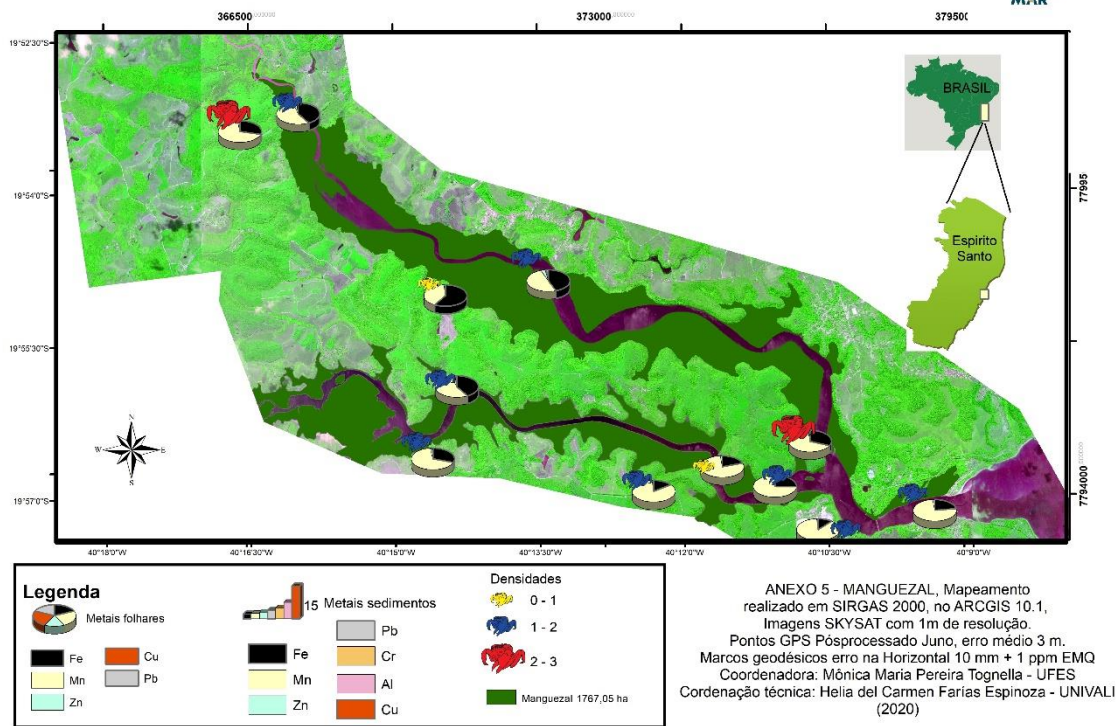
O georreferenciamento de imagens pretéritas da região da foz do Rio Doce para realizar a análise temporal do cordão arenoso na foz desta área foi necessário. Este procedimento foi realizado no SIG ARCGIS através de ferramenta específica para 7 imagens, utilizando imagem de 2019 como referência.

Foi escolhida a área piloto do Piraquê-Açu e Mirim para elaboração de alguns mapas por pontos de coleta e assim obter um entendimento mais apurado de cada estuário separadamente (Figura 11). Entendendo os dados em forma de área na tentativa de obter zonas de risco e com isto analisar a conectividade do ecossistema de manguezal. Os valores da concentração de metais no sedimento, nas folhas, salinidade, médias da densidade e largura do cefalotórax das espécies da fauna estudadas também foram plotados.

O avanço do mapeamento e sua metodologia é um processo natural da interpretação dos dados. Novas simbologias de apresentação foram escolhidas e foi observada a capacidade de interpretação dos mapas por pessoas leigas.

Figura 11: Manguezal do estuário dos rios Piraquê-Açu e Piraquê-Mirim, Aracruz.

PIRAQUÊ AÇU E PIRAQUÊ MIRIM METAIS NAS FOLHAS E SEDIMENTOS DA FRANJA (Chuvoso 2018/2019)



2 REFERÊNCIAS

- ARAR, E. J. Method 447.0 - Determination of Chlorophylls a and b and Identification of Other Pigments of Interest in Marine and Freshwater Algae Using High Performance Liquid Chromatography with Visible Wavelength Detection. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC, 1997.
- ARNHOLD, E. Pacote em ambiente R para automatizar estatísticas descritivas. **Sigmae**, v. 3, n. 1, p. 36-42, 2014.
- ARNON, D.I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, p. 1–15, 1949.
- BLANCHAR, R.W.; REHM, G.; CALDWELL, A.C. Sulfur in plant material by digestion with nitric and perchloric acid. **Proceedings Soil Science Society of America**, v.29. p. 71-72, 1965.
- BLANCHAR, R.W.; REHM, G.; CALDWELL, A.C. Sulfur in plant material digestion with nitric and perchloric acids. **Soil Science Society of America Proceedings, Madison**, v.29, n.1, p.71-72, 1965.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. **Revista do Ceres**, v. 21, p. 73-85, 1974.
- BRAGA, J.M.; DEFELIPO, B.V. Determinação espectrofotométrica de fósforo em extratos de solo e material vegetal. **R. Ceres**, 21:73-85, 1974.
- BREMNER J.M. Total Nitrogen. Methods of soil analysis Part 2- Chemical and Microbiological Properties, number 9 in the series **Agronomy**. American Society of Agronomy, Inc., Publisher USA, p.1149-1178, 1965.
- BREMNER, J. M. Total Nitrogen. Methods of soil analysis Part 2- Chemical and Microbiological Properties, number 9 in the series Agronomy. **American Society of Agronomy**, Inc., Publisher USA, p.1149-1178, 1965.
- CÂMARA, G.; DAVIS, C.; CASANOVA, M.A.;QUEIROZ, G.R. (Eds.) Banco de Dados Geográficos. Curitiba : Editora MundoGEO, 2005.
- CÂMARA, G.; MEDEIROS J.S. Geoprocessamento para projetos ambientais. São José dos Campos, SP: INPE, 1996.
- CRUZ, C. D.; SOUZA CARNEIRO, P. C. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Revista, Viçosa: UFV, 2 ed., v. 2, p. 585, 2006.
- DAL PRÁ, V. et al. Supercritical CO₂ extraction, chemical characterization and antioxidant potential of Brassica oleracea var. capitata against HO[•], O₂^{•-} and ROO. **Food Chemistry**, v.141, n. 4, p. 3954-3959, 2013.

DANCEY, C.; REIDY, J. Estatística Sem Matemática para Psicologia: Usando SPSS para Windows. Porto Alegre, **Artmed**, 2006.

DIAS, J. A. Análise textural. In: DIAS, J. A. **A análise sedimentar e o conhecimento dos sistemas marinhos**. Ed. preliminar. Algarve, 2004.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Manual de métodos de análises de solo**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura e do Abastecimento. 225 p. 2011.

ESPINOZA, H.C.F. Evolução Temporal da Cobertura Vegetal do Maguezal do rio Tavares (Florianópolis-SC) empregando Sensoriamento Remoto e SIG. 2. Dissertação do curso de Mestrado de Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI): Itajaí, 2008, 124p.

FALQUETO, A.R.; SILVA, D.M.; FONTES, R.V. Photosynthetic performance of mangroves *Rhizophora mangle* and *Laguncularia racemosa* under field conditions. **Revista Árvore**, v. 32, n. 3, 577-582, 2008.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **Package 'ExpDes'**. Pacote Experimental Designs (Portuguese). R package version 1.2.0, 2018. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes.pt>>.

GOTELLI, N.J.; ELLISON, A.M. A primer of ecological statistics. 2nd ed. Sunderland: **Sinauer Associates**, 2013. 579p.

GROSS, M. G. Carbon determination. In: CARVER, R. E. (ed.) **Procedure in sedimentary petrology**. New York: Wiley-Interscience. Cap.25, p.573-596, 1971.

LEGENDRE, P.; LEGENDRE, L. (1994) **Numerical ecology**. Elsevier, Amsterdam

MELO, G. A. S. **Manual de Identificação dos Brachyura (Caranguejos e Siris) do Litoral Brasileiro**. Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 1996.

MOREIRA, M. A. Fundamentos do Sensoriamento Remoto e metodologias de aplicação, 4 edição .atual e ampl. -Viçosa, MG: Editora UFV ISBN:9788572693813, 422p, 2011.

NÓBREGA, N.E.F., SILVA, J.G.F., RAMOS, H.E.A., PAGUNG, A.F.S., 2008. Balanço Hídrico Climatológico e Classificação Climática de Thornthwaite e Köppen para o Município de São Mateus – ES. In: Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem, 18., 2018, São Mateus. O Equilíbrio do fluxo hídrico para a agricultura irrigada sustentável: anais. São Mateus: ABID, 2008. Disponível em: <https://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/bitstream/item/248/1/1569-sao-mateus.pdf>.

OGAWA, E. F; ROCHA, C. A. S. Sobre a fecundidade de crustáceos decápodos marinhos do Estado do Ceará, Brasil. **Arquivos de Ciências do Mar**, v. 16, n. 2, p. 101-104, 1976.

PORTO, L. A. **Estrutura Populacional do *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea: Decapoda: Brachyura)**: Subsídios para a gestão da espécie. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Espírito Santo, 2016.

R CORE TEAM. **R: A Language and an Environment for Statistical Computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>. 2018. Disponível em: [<https://www.R-project.org/>](https://www.R-project.org/). Acesso em: 10 Jun. 2019.

RENCHE, A.C. **Methods of Multivariate Analysis**. Wiley, New York. 2002.

SCHMIDT, A. J.; OLIVEIRA, M. A.; MAY, M.; ARAUJO, S. M. B.; FERREIRA, H.; M.; SOUZA, E. P. **Plano de Ação para o Caranguejo-uçá na Reserva Extrativista de Canavieiras. Produto Final do Projeto Ambientes Litorâneos da Mata Atlântica – ALMA**, Instituto de Conservação de Ambientes Litorâneos da Mata Atlântica – Ecotuba, Critical Ecosystem Partnership Fund – CEPF. Canavieiras/BA, p. 90, 2006.

SCHMIDT, A. J.; OLIVEIRA, M. A.; SOUZA, E. P.; MAY, M.; ARAUJO, S. M. B. Relação entre abertura de galeria e comprimento de cefalotórax do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (LINNAEUS, 1763) (CRUSTACEA-DECAPODA-BRACHYURA). **Boletim Técnico Científico CEPENE**, v. 16, n. 1, p. 56-58, 2008.

SMIT, M.F.; VAN HEERDEN, P.D.R.; PIENAAR, J.J.; WEISSFLOG, L.; STRASSER, R.J.; KRÜGER, G.H.J. Effect of trifluoroacetate, a persistent degradation product of fluorinated hydrocarbons, on *Phaseolus vulgaris* and *Zea mays*. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, 623-634, 2009.

SOBRADO, M.A. Leaf characteristics and gas exchange of the mangrove *Laguncularia racemosa* as affected by salinity. **Photosynthetica**, v. 43, n. 2, 217-221, 2005.

STIRBET, A.; GOVINDJEE. 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and Photosystem II: Basics and applications of the OJIP fluorescence transient. **Journal of Photochemistry and PhotoBiology**, v. [104, n. 1-2](#), jul-ago, 2011.

STRASSER, R.J.; TSIMILLI-MICHAEL M.; SRIVASTAVA A. Analysis of the Chlorophyll a Fluorescence Transient. – In: Papageorgiou GC, Govindjee (ed.) **Chlorophyll a Fluorescence. Advances in Photosynthesis and Respiration**. Springer, Dordrecht, pp 321-362, 2004.

SUGUIO, K. **Introdução à sedimentologia**. São Paulo: Edgard Blücher, EDUSP, 318 p. 1973.

USEPA - UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, soils and Oils**. (Technical Resource Document, EPA SW-846/3052). 2013.

WELLBURN, A.R. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, as well as Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. **Journal of Plant Physiology**, 144:307-313, 1994.

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

WOLF, B. Improvements in the azomethine-H method for determination of boron. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, v. 5, p. 39-44, 1974.

WOLF, B. Improvements in the azomethine-H method for determination of boron. *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 5:39-44, 1974.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 5th., Upper Saddle River: Pearson, 944p, 2010.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, 3 ed., University of Michigan, 662 pp., 1996.