

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

A3DFS2 – Material Suplementar 2

Anexo 3 – Dulcícola/Fitoplâncton

RT-39 RRDM/FEV 22

RA2021 PMBA/Fest-RRDM

Vitória,

Fevereiro de 2022

MATERIAL SUPLEMENTAR (A3DFS2) – ANEXO 3 DULCÍCOLA

METODOLOGIA

Subprojeto Fitoplâncton

As amostragens da comunidade fitoplanctônica ocorreram mensalmente entre o período de outubro de 2018 a março de 2020, com exceção de outubro de 2019. Houve a suspensão das coletas em abril a novembro de 2020 devido a pandemia de COVID-19, sendo retomadas no mês de dezembro de 2020 a setembro de 2021 exceto em março de 2021 devido ao elevado risco de contaminação.

As coletas foram realizadas ao longo do Rio Doce (região do estado do Espírito Santo), Rio Guandú e ecossistemas lacustres adjacentes, totalizando 26 amostragens mensais. A malha amostral do sistema aquático dulcícola (rios e lagos) e estuarino é composta por 12 estações de amostragem, sendo quatro na calha fluvial do Rio Doce (E0 - Itapina, E21 – Porto de Linhares, E22 - Povoação e E26 – Foz do Rio do Doce), uma em um rio tributário (E17 – Rio Guandú), quatro em ecossistemas lacustres rasos (E23 - Areão, E24 - Areal, E25 – Monsarás mais ao interior e E25a – Monsarás mais próximo à costa) e três em lagos (E18 - Limão, E19 - Nova e E20 - Juparanã). Nestas últimas, foram realizadas amostragens na subsuperfície e no ponto de compensação (PC), região onde incide aproximadamente 1% da radiação solar incidente na superfície.

Na coleta para análise qualitativa do fitoplâncton na calha dos rios e nos ecossistemas lacustres, foi utilizado o método do arrasto superficial com rede de plâncton de abertura de malha de 20 μ m, na subsuperfície (aproximadamente 20 cm de profundidade), sendo uma amostra por ponto amostral. A amostra coletada em cada ponto foi dividida em duas partes, acondicionadas em frascos de polietileno (100 ml), sendo uma das partes fixada com formol 4%, enquanto a outra foi mantida sem fixador (viva). As amostras foram acondicionadas em caixa térmica com gelo permanente, para análise do material vivo em laboratório. As espécies foram analisadas em microscópio óptico Motic Panthera, equipado com câmera e aplicativo de imagens. A identificação foi realizada ao menor nível taxonômico possível usando bibliografias específicas. Para o estudo quantitativo do fitoplâncton na calha do Rio Doce e Rio Guandú, foram coletadas amostras de 100 mL de água em cada estação amostral, submergindo o frasco a 20 cm de profundidade. Nos ambientes lacustres, amostras de 100 mL de água foram coletadas na subsuperfície e na profundidade de 1% da radiação solar incidente na superfície (PC), com garrafa de Van Dorn. Todas as amostras quantitativas foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar (100 mL) e fixadas com solução de lugol acético 5%.

A densidade do fitoplâncton foi estimada pelo método de Utermöhl (1958), em microscópio invertido Motic AE2000 em aumento de 400x, usando tempo de sedimentação de pelo menos 3 horas para cada centímetro de altura da câmara (MARGALEF, 1983). O volume sedimentado por amostra variou entre 2 a 25 mL, de acordo com as condições de cada amostra. A partir dos dados qualitativos e quantitativos foram determinadas: a riqueza de espécies, a densidade total de indivíduos (ind/mL), densidade de células de cianobactérias (cel/mL), a diversidade da comunidade fitoplanctônica através dos índices de diversidade de Shannon-Weaver (1949), equitabilidade segundo Pielou (1975) e dominância através

do índice de Simpson (1949). A biomassa foi calculada a partir da concentração de clorofila-a, segundo método de Strickland e Parsons (1972) adaptado por Barroso e Littlepage (1998), conforme descrito no subprojeto “A3D - limnologia (água)”. O biovolume de cada táxon presente na comunidade ($\mu\text{m}^3.\text{ml}^{-1}$) foi determinado pela multiplicação dos valores de densidade específica e biovolume específico (μm^3), calculado a partir das formas geométricas, segundo Hillebrand et. al. (1999) e Sun & Liu (2003). A determinação das cianobactérias com maior potencial de produção de toxinas foi feita a partir do registro de cepas comprovadamente tóxicas para outros ecossistemas brasileiros, segundo Sant’Anna et al. (2008).

Também foram avaliados o esforço amostral na determinação do levantamento da biodiversidade de algas fitoplanctônicas, com uso da curva de rarefação de espécies (MAGURRAN, 2011), a diversidade beta e seus componentes de substituição de espécies (turnover) e aninhamento (nestedness), segundo Baselga (2010). A ordenação das estações amostrais de acordo com sua composição de espécies foi avaliada utilizando a análise de escalonamento multidimensional não métrico (nMDS; LEGENDRE & LEGENDRE; 2012). A riqueza funcional foi estabelecida a partir dos grupos funcionais (sing.sp) formados utilizando a função dbFD do pacote FD, com base em cinco traços funcionais: forma (unicelular, colonial, cenobial ou filamentosa), fração da comunidade em relação ao tamanho (pico, nano, micro ou mesoplâncton), motilidade (imóvel, aerótopo ou flagelo), demanda por sílica e presença de heterócito. As tendências temporais na riqueza (taxonômica e funcional) da comunidade fitoplanctônica, foram testadas usando modelos aditivos de efeitos mistos generalizados (GAMM; função "gamm4"). A curva com a tendência temporal foi obtida pelo método de suavização LOESS (Locally-Weighted Scatterplot Smoother) (função "plotGAMM").

Mapas de Vetores Assimétricos (Asymmetric Eigenvector Maps - AEM; Blanchet, Legendre & Borcard, 2008; 2009) foram utilizados para modelar a variação espacial da região do baixo rio Doce. A partir deste modelo espacial foram criadas novas variáveis que levam em consideração a direção dos fluxos de água e a conectividade entre as estações amostrais. O coeficiente I de Moran foi utilizado para a análise dos autovetores gerados e foram utilizados aqueles com autocorrelação espacial positiva e significativas ($p \leq 0.05$; Blanchet et al., 2011; Bertolo et al., 2012). Os vetores espaciais foram utilizados juntamente com o conjunto de variáveis ambientais (temperatura da água, material particulado em suspensão, condutividade elétrica, fósforo total, nitrogênio total e silicato) e metais (alumínio total, bário total, cromo total, ferro total e manganês total) como conjuntos de variáveis preditoras na análise de particionamento da variância, com o intuito de avaliar os efeitos, puros e compartilhados, das variáveis abióticas sobre a variabilidade da comunidade fitoplanctônica. Os efeitos puros de cada conjunto de variáveis foram testados a partir da análise de variância ANOVA ($p \leq 0.05$).

Todas as análises foram realizadas no programa R (versão 4.0.3; R CORE TEAM, 2020).

REFERÊNCIAS

- BARROSO, G. F.; LITTLEPAGE, J. **Protocolo para análise de clorofila - a e feopigmentos pelo método fluorimétrico (Fluorímetro TD700)**. Programa Brasileiro de Intercâmbio em Maricultura (BMPL) e Programa de Monitoramento Ambiental, 1998.
- BERTOLO A.; BLANCHET F.G.; MAGNAN P.; BRODEUR P.; MINGELBIER M.; LEGENDRE P. Inferring processes from spatial patterns: the role of directional and non-directional forces in shaping fish larvae distribution in a freshwater lake system. **PloS one**, v.7, e50239, 2012.
- BLANCHET, F.G.; LEGENDRE, P.; BORCARD, D. Modelling directional spatial processes in ecological data. **Ecological Modelling**. V. 215, p. 325-336, 2008.
- BLANCHET, F.G.; LEGENDRE P.; BORCARD, D. Erratum to "Modelling directional spatial processes in ecological data" [Ecological Modelling 215 (2008): 325-336]. **Ecological Modelling**, v.220, p.82-83, 2009.
- BLANCHET F.G.; LEGENDRE P.; MARANGER R.; MONTI D.; PEPIN P. Modelling the effect of directional spatial ecological processes at different scales. **Oecologia**, v.166, p.357-368, 2011.
- HILLEBRAND H.; DÜRSELEN, C. D.; KIRSCHTEL, D.; POLLINGHER, U.; ZOHARY, T. Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. **J Phycol**, **35**, 403-424, 1999.
- LEGENDRE P.; LEGENDRE L. **Numerical Ecology**. Elsevier Science Publication: London, p. 1006. 2012
- MAGURRAN, A. E. **Medindo a diversidade biológica**. Editora UFPR: Curitiba, p.262, 2011.
- MARGALEF, R. **Limnologia**. Barcelona: Ediciones Omega, 1983.
- PIELOU, E. C. **Ecological diversity**. New York: Wiley, 1975.
- R Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2015.
- SANT'ANNA, C.L. et. al. Review of toxic species of Cyanobacteria in Brazil. **Algological studies**, v. 126, p. 251-265, 2008.
- SHANNON, C.E.; WEAVER, W. **The Mathematical Theory of Communication**. University of Illinois, Urbana, Illinois, 1949.
- SIMPSON, E. H. Measurement of diversity. **Nature**, v. 163, p. 688, 1949.
- STRICKLAND, J.D.H.; PARSONS, T.R. **A practical handbook of seawater analysis**. Fisheries Research Board of Canada, Ottawa, 310p., 1972.
- SUN, J.; LIU, D. Geometric models for calculating cell biovolume and surface area for phytoplankton. **J Plankton Res**, 25, 1331-1346, 2003.

UTERMÖHL, H. Zur **Vervollkommen der quantitativen phytoplankton- methodik**. Mitteilungen Internationale Vereinigung Theoretische Angewandte Limnologie, v. 9, p. 1-38, 1958.