

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

A3DLS1 – Material Suplementar 1

Anexo 3 – Dulcícola/Limnologia

RT-39 RRDM/FEV 22

RA2021 PMBA/Fest-RRDM

Vitória,

Fevereiro de 2022

SUB-PROJETO: Limnologia – Caracterização dos Ecossistemas Aquáticos da Calha do Rio Doce, Lagos e Estuário: parâmetros físico-químicos, nutrientes e poluentes

1 METODOLOGIA

A Figura 1 apresenta a malha de estações amostrais do Anexo 3 dulcícola no Baixo Rio Doce, composta por doze estações, sendo quatro localizadas na calha do Rio Doce (EA0, EA21, EA22 e EA26), uma no rio tributário (Rio Guandu, EA17) e sete estações em seis sistemas lacustres, os Lagos do Limão (E18), Lago Nova (EA19) e o Lago Juparanã (EA20), e as lagoas Areal (EA23), Areão (EA24) e a Lagoa Monsarás (EA25 e EA25a) (Tabela 1). Os lagos constituem ecossistemas lacustres profundos ($Z_{\text{méd}} > 3,0$ m) com propensão para estratificação térmica, química e hidrobiológica. Já, as Lagoas são consideradas sistemas lacustres rasos ($Z_{\text{méd}} < 3,0$ m) com propensão a mistura da coluna d'água (Scheffer, 1998; Padisák & Reynolds, 2003). A gênese geomorfológica do Baixo Rio Doce reconhece os lagos profundos como aqueles formados nos interflúvios dos tabuleiros da Formação Barreiras, enquanto as lagoas são características da planície costeira (Bozelli et al., 1992; Martin et al., 1996).

Figura 1: Estações amostrais do Anexo 3 dulcícola no Baixo Rio Doce (ES).

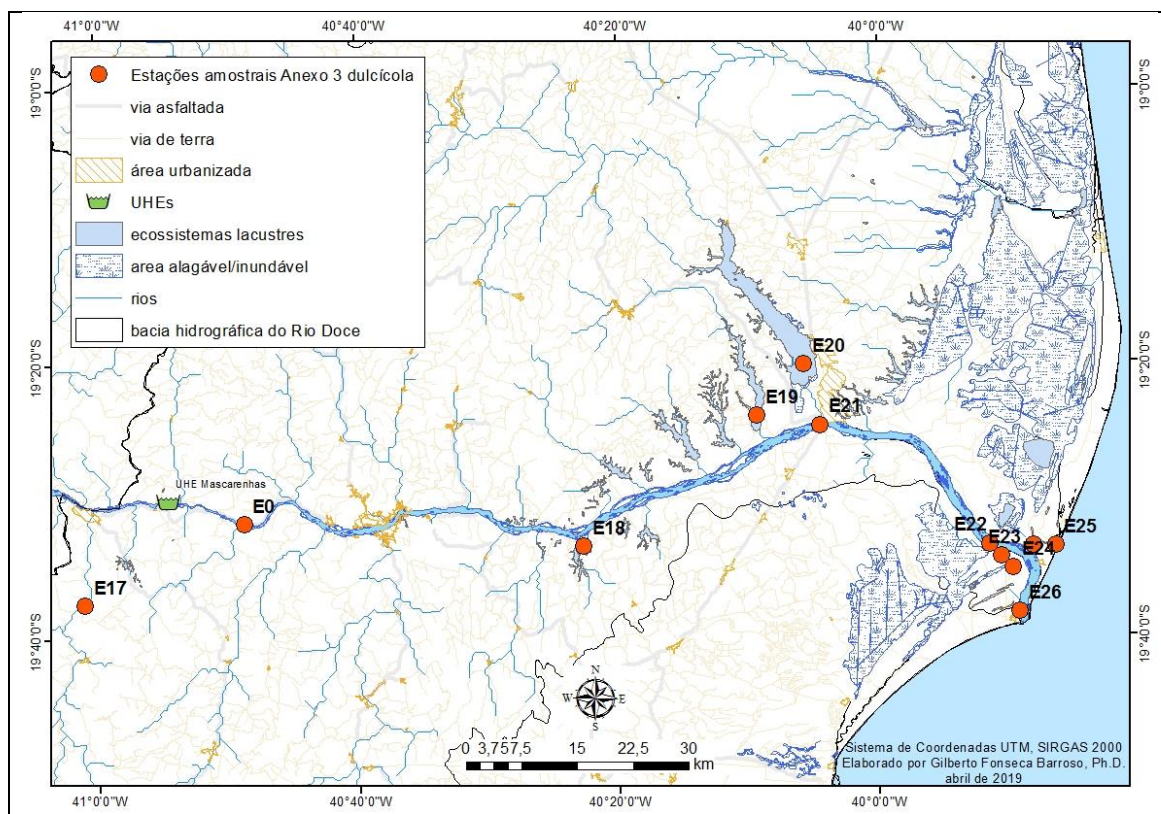


Tabela 1: Coordenadas das estações amostrais do Anexo 3 dulcícola no Baixo Rio Doce (ES).

Nome da estação	Código da estação amostral	Localidade	Northing	Easting
Rio Guandu	EA17	Baixo Guandu	7828800,21	288391,72
Jusante da UHE Mascarenhas	EA0	Itapina	7839784,07	309812,02
Lagoa do Limão	EA18	Colatina	7836909,17	355432,10
Lagoa Nova	EA19	Linhares	7854566,84	378711,07
Lagoa Juparanã	EA20	Linhares	7861435,44	384935,41
Rio Doce	EA21	Linhares	7853303,85	387184,71
Rio Doce	EA22	Linhares	7837362,97	410065,52
Lagoa do Areão	EA23	Linhares	7835704,36	411560,58
Lagoa do Areal	EA24	Linhares	7834124,45	413143,12
Lagoa Monsarás	EA25	Linhares	7837160,79	415913,62
Lagoa Monsarás	EA25a	Linhares	7837139,22	418868,44
Foz do Rio Doce	EA26	Linhares	7828233,84	414080,55

1.1 COLUNA D'ÁGUA

1.1.1 Amostragem em campo

A frequência amostral para as matrizes coluna d'água e sedimentos superficiais foi mensal com início em outubro de 2018 e resultados até setembro de 2021. Para coleta de água foi utilizada uma garrafa de Niskin reversível (2,8 L), sendo utilizada na posição vertical nos ecossistemas lacustres e horizontal nos ecossistemas fluviais. As coletas de água na calha dos rios Doce e Guandu foram realizadas na subsuperfície (15 cm) devido ao efeito de turbulência da correnteza fluvial. Nos lagos costeiras ($Z_{\text{méd}} < 3,0\text{m}$), devido à mistura da coluna d'água pela turbulência do vento, as coletas de águas foram realizadas em meia profundidade. Já, nos lagos profundos ($Z_{\text{méd}} > 3,0\text{m}$) as amostragens foram realizadas em subsuperfície (15 cm), na profundidade de 1% de radiação fotossintética ativa e no fundo (~50 cm acima do fundo). Os dados morfométricos dos ecossistemas lacustres são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Parâmetros morfométricos dos ecossistemas lacustres

Ecossistema lacustre	Perímetro (km)	Área (km ²)	IDM [#]	Volume (km ³)	Z _{méd} (m)	Z _{máx} (m)	Z _{EstAmo} (m)
Lagoa do Areal	1,4	0,06	2,3	-	-	-	
Lagoa Areão	3,5	0,65	1,8	-	-	-	
Lagoa Monsarás	42,1	1,52	13,4	-	-	-	
Lago do Limão	33,8	4,01	6,6	-	-	-	12,0
Lago Nova	62,9	15,54	6,2	0,23*	14,7*	33,9*	30,0
Lago Juparanã	109,9	62,06	5,5	-	-	-	12,0

[#]índice de desenvolvimento de margem; *dados conforme Gonçalves et al., (2016).

Nas estações amostrais da calha fluvial foram feitas amostragens de água em sub-superfície (15 cm). A amostra foi transferida cuidadosamente, sem a formação de bolhas de ar, para um balde, para mensuração *in situ* de parâmetros físicos e físico-químicos com uso da sonda multiparâmetro YSI Horiba U-53 ou Exo2.

Nos lagos foi realizada perfilagem com a sonda multiparâmetros a cada metro de profundidade para determinação dos parâmetros físicos e físico-químicos. A coleta de água para análises hidroquímicas foi feita na subsuperfície, na profundidade de 1% da radiação fotossintética ativa (zona eufótica) e próximo ao fundo (~ 50 cm acima do fundo).

Parâmetros físicos

- Temperatura, turbidez, material particulado em suspensão, transparência e estrutura térmica da coluna d'água lacustre

Os parâmetros físicos temperatura (°C), turbidez (UNT) e sólidos totais dissolvidos (mg/L) foram determinados por meio de mensuração *in situ* com uso da sonda multiparâmetro YSI Horiba U-53 ou Exo2.

- Parâmetros físico-químicos
- Condutividade elétrica, pH, oxigênio dissolvido e potencial de oxirredução

Os parâmetros físico-químicos condutividade elétrica ($\mu\text{S}/\text{cm}$), pH, oxigênio dissolvido (mg/L) e potencial de oxirredução (mV) foram mensurados *in situ* com sonda multiparâmetros YSI do tipo Horiba U-53 ou Exo2.

Parâmetros hidroquímicos

- Nutrientes totais e dissolvidos

As amostras para determinação dos nutrientes totais (N e P), nutrientes inorgânicos dissolvidos (nitrato, nitrito, amônio, fosfato e silicato) foram coletadas com garrafa de Niskin e acondicionadas em frascos de polipropileno (1L), sendo mantidas refrigeradas para transporte ao laboratório.

- Matéria orgânica dissolvida cromófora

As amostras para determinação da matéria orgânica dissolvida cromófora foram coletadas com garrafa de Niskin e acondicionadas em frascos de vidro ambar (150 ml) e mantidas refrigeradas para transporte ao laboratório.

1.1.2 Análises laboratoriais

Parâmetros hidroquímicos

As amostras de N e P total foram digeridas com solução de persulfato de potássio e reduzidas simultaneamente a nitrato e fosfato, respectivamente para posterior determinação das formas iônicas (Valderrama, 1981).

A separação da fração dos nutrientes inorgânicos dissolvidos foi feita com filtração à vácuo em membranas de acetato de celulose de 47 mm e porosidade nominal de 0,45 µm. Para determinação dos íons nitrato, nitrito, amônio, fosfato e silicato foi utilizada a análise de fluxo contínuo ("Continuous Flow Analysis" - CFA), com o uso de um Seal Autoanalyzer (AA3), o qual possui métodos certificados pela USEPA.

A determinação de nitrato foi feita com a redução em coluna de cádmio para nitrito e reação com sulfanilamida, seguida de leitura em célula de 10mm e a absorbância medida a 520nm. O fosfato foi determinado com por meio de reação com ácido ascórbico. O silicato foi determinado por meio de reação ácida de molibdato seguida de redução pelo ácido ascórbico para formar o azul de molibdênio e medição da absorbância a 660nm. O íon amônio foi determinado pelo método do azul de indofenol.

Carbono orgânico dissolvido

As amostras de água foram previamente filtradas em membrana de acetato de celulose de 0,45 µm para a separação da fração dissolvida. A determinação da concentração de carbono orgânico dissolvido foi realizada através de um analisador TOC (Shimadzu). O equipamento primeiramente determina a concentração do carbono orgânico total, seguido do carbono inorgânico, para, então, ser determinado o carbono orgânico através da diferença entre esses resultados. Para a análise do carbono inorgânico, é adicionado às amostras HCL 1M. Todas as análises foram feitas em 3 réplicas e foram realizadas análises de brancos para controle de qualidade do processo. Previamente à análise das amostras, foram realizadas curvas de calibração que, ao apresentar boa regressão ($r^2 \geq 0,99$), foram utilizadas na quantificação da MOD.

Clorofila a

A análise de clorofila a foi realizada através do método fluorimétrico de Strickland & Parsons (1972) adaptado por Barroso e Littlepage (1998). Os pigmentos presentes na amostra foram extraídos a frio pela imersão do filtro em solução de acetona 90% em um período de 24 horas. Após esse processo, a amostra foi, novamente, filtrada a fim de retirar possíveis fibras do filtro e resíduos celulares. No fluorímetro Turner Designs TD700, o extrato de clorofila foi excitado a 460 nm e a fluorescência medida em 670 nm. O valor da leitura, o volume da amostra filtrada e o volume do extrato foram utilizados para o cálculo da concentração de clorofila a em µg/L.

Alcalinidade

Alcalinidade foi determinada por titulação com base em APHA (2005), por meio do cálculo abaixo:

$$\text{mg CaCO}_3/\text{L} = N \text{ HCl} \times \text{VT-HCL} \times 50.000 / \text{volume da amostra}$$

sendo, N: normalidade do HCl; VT: volume titulado de HCl (mL); e volume da amostra (mL).

Fluxos de nutrientes

Os fluxos de nutrientes para estação EA21 foram determinados pelo produto entre a concentração do nutriente ($\mu\text{g/L}$) pela vazão (m^3/s) sendo convertido em fluxo diário (t/d). A média dos fluxos diários foi utilizada para estimativa da produção anual (t/a) e a produção específica normalizada pela área de drenagem à montante da estação EA21 ($81.933.49 \text{ km}^2$).

1.2 SEDIMENTO

1.2.1 Amostragem em campo

Parâmetros físico-químicos

Foram determinados *in situ* nas amostras por meio de medidor portátil Hanna (HI98191) para determinação do pH e medidor portátil Hach para a condutividade elétrica da água intersticial.

Parâmetros hidroquímicos

A coleta de amostras de sedimento foi feita em cada estação amostral por meio de coletor de sedimentos superficiais do tipo Ekman em aço inox. As amostras de sedimento foram abertas na própria embarcação em bandejas plásticas para coleta de alíquotas de sedimento para análises físicas e químicas.

1.2.2 Análises laboratoriais

Parâmetros físicos

- Densidade

As amostras de sedimento foram coletadas em tubo Eppendorf de volume conhecido, previamente pesados e identificados. Os Eppendorfs foram pesados com sedimento úmido em balança analítica (0,1 mg), sendo, em seguida, colocados semiabertos em estufa à 40°C por 48 horas. Terminadas as 48 horas, as amostras foram resfriadas em dessecador, sendo posteriormente pesadas. Os pesos antes e após a secagem foram registrados em planilha e calculadas as densidades seca e úmida.

$$\text{Densidade do sedimento úmido (kg/m}^3\text{)} = \text{peso sedimento molhado/volume do Eppendorf}$$

$$\text{Densidade do sedimento seco (kg/m}^3\text{)} = \text{peso sedimento seco/volume do Eppendorf}$$

- Granulometria

O sedimento foi colocado para secar em estufa a 40°C para completa remoção de água. Após o sedimento seco, o mesmo foi pesado e peneirado via úmida em peneira de 63µm para separação da fração de areia. O procedimento de secagem da fração arenosa foi repetido, sendo realizada nova pesagem em balança analítica (0,1 mg) para determinação dos teores de lama e areia. A granulometria da fração areia foi determinada por peneiramento de 0,5 em 0,5 Fi e a fração lama foi levada ao granulômetro a laser Malvern, após queima de matéria orgânica por peróxido de hidrogênio. Os valores dos teores foram determinados a partir da diferença entre o peso total e o peso da fração areia, chegando-se assim ao peso da fração de lama.

Parâmetros químicos

- Matéria orgânica

Cerca de 2g de peso úmido de sedimento bruto foi acondicionado em cadinho de porcelana seco em estufa a 40°C por 24h. Após 24h, o sedimento seco foi pesado em balança analítica (0,1mg), sendo posteriormente queimado em mufla a 450°C por 4h. Terminadas as 4h, foi feita a pesagem do sedimento.

A massa de matéria orgânica total corresponde ao peso do sedimento antes de ser levado à mufla, subtraído do peso do cadinho de porcelana e do sedimento após queima.

$$\text{MOT} = \text{sedimento pré-queima} - \text{sedimento pós-queima} - \text{cadinho de porcelana.}$$

O teor é a conversão deste valor em porcentagem.

Teor de MOT (%) = $100 * [\text{peso inicial da amostra (g)} - (\text{peso final da amostra c/ cadinho (g)} - \text{peso do cadinho (g)})] / \text{peso inicial da amostra (g)}.$

- Mineralogia

A determinação da mineralogia foi realizada com a fração fina e pulverizada do sedimento, sendo injetada em um difratômetro de raios-x configurado com radiação Cu K-alpha (40 kV, 20 mA), counter de cintilação e monocromador de grafite. Os padrões de difração foram gravados em modo stepscan em intervalos de dois segundos por passo, em passos de 0.02°. As configurações dos slits de divergência, recebimento e espalhamento foram de 0.5°, 0.3 mm e 0.5°, respectivamente. Os padrões de difração foram gravados de 4° a 120°.

- Fósforo

A especiação de fósforo no sedimento foi baseada no método descrito por Anschutz & Deborde (2016) que consiste na extração sequencial para a mensuração das frações P-trocável, P-ligado a ferro, P associado a apatita biogênica, P associado a apatita autigênica e carbonato, P associado a apatita detrital e formas inorgânicas, além de P orgânico. Os extratos foram lidos em espectrofotômetro a 885nm.

Para o fósforo em água intersticial, uma alíquota 50 mL de sedimento fresco foi coletada e acondicionada em tubos Falcon. Em laboratório as amostras foram centrifugadas e o sobrenadante

filtrado em membrana de 0,45 μm sendo lidas em espectrofotômetro em 885 nm (Anschutz & Deborde, 2016).

1.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS DADOS

Os dados foram tratados para avaliar a tendência central e dispersão por meio de estatística descritiva considerando as estações amostrais individualmente e agrupadas por ambiente fluvial e lacustre (i.e., lagos e lagoas). O agrupamento por ambiente considerou os sistemas fluviais com as estações amostrais da calha do Rio Doce (E0, E21, E22 e E26) e a estação do Rio Guandú (EA17), tributário do Rio Doce. Os lagos (E18, E19 e E20) foram agrupados em ecossistemas lacustres profundos ($Z_{\text{méd}} > 3,0 \text{ m}$) considerando a propensão para estratificação térmica, química e hidrobiológica. Já, as lagoas (E23, E24 e E25 e E25a) são considerados sistemas lacustres rasos ($Z_{\text{méd}} < 3,0 \text{ m}$) com propensão a mistura da coluna d'água (Scheffer, 1998; Padisák & Reynolds, 2003).

1.3.1 Estatística descritiva

A análise estatística descritiva foi baseada no N amostral, e valores mínimos, máximos, médios, medianas, desvio padrão e coeficiente de variação.

1.3.2 Variabilidade espacial e temporal

Para avaliação da variação entre estações de um dado ambiente foi aplicada a análise de Kruskal-Wallis com comparações múltiplas entre os valores de Z' e $p < 0,05$. Para avaliação da relação da descarga fluvial com as propriedades físico-químicas e hidroquímicas da coluna d'água, foram aplicadas regressões lineares entre a vazão fluvial na estação EA21, no momento da amostragem em campo, e alguns dados hidroquímicos.