

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

A3DZS2 – Material Suplementar 2

Anexo 3 – Dulcícola/Zooplâncton

RT-39 RRDM/FEV 22

RA2021 PMBA/Fest-RRDM

Vitória,

Fevereiro de 2022

MATERIAL SUPLEMENTAR 2 (A3DZS2)

Anexo 3 Dulcícola – Subprojeto Zooplâncton

METODOLOGIA

As campanhas compreendidas no RA2021 foram realizadas entre outubro de 2018 a setembro 2021, durante o ano de 2020 as coletas foram interrompidas entre os meses de março/2020 e novembro/2020, sendo retomadas em dezembro/2020 em função da pandemia do COVID-19. Em março/2021 não houve coleta novamente em função da pandemia do COVID-19, sendo retomadas em abril/2021.

Nos demais aspectos, a coleta, processamento das amostras e variáveis analisadas são os mesmos apresentados no relatório do Ano 1 e Ano 2.

Para análise quantitativa do zooplâncton, a contagem dos organismos foi realizada por subamostragem, a partir da retirada de 3 sub-amostras (1 mL) para cada amostra analisada, visando estimar a densidade, biomassa e a riqueza dos organismos. O zooplâncton foi contado em câmara de Sedgwick-Rafter em microscópio Zeiss (Stemi 508) e câmera acoplada (Axiocam 105). As contagens foram realizadas até obtenção de coeficiente de variação inferior a 20% (Bottrell et al., 1976). Para a obtenção da densidade do zooplâncton (ind.L^{-1}), o número total de organismos contados na análise da amostra foi multiplicado pelo fator de diluição utilizado na contagem da amostra e dividido pelo volume de água filtrado no momento da obtenção da amostra, em campo (50 L). Para a estimativa do recrutamento (ind.L^{-1}), foi considerada a densidade de copépodes nos estágios de náuplio e copepodito.

A riqueza (diversidade alfa) foi mensurada através da contagem do número total de espécies que ocorreram em cada amostra (S). A diversidade foi expressa através da função entre o número de espécies e a equitabilidade dos valores de importância da mesma. Para tanto, foi utilizado o índice de Shannon & Wiener (1949), o qual utiliza dos valores de riqueza e equitabilidade:

$$H' = - \sum p_i (\log p_i)$$

Em que: p_i é o valor importância e log será calculado na base 2, ou 10 ou neperiano. A diversidade H' é adimensional.

A biomassa total do zooplâncton foi obtida através das medidas de dimensões lineares de 50-100 indivíduos de cada espécie. Os indivíduos foram fotografados para obtenção das medidas lineares (μm), que foram posteriormente utilizadas em equações alométricas, seguindo as recomendações de Bottrell et al. (1976) e Ruttner-Kolisko (1977) e Pinto-Coelho (2004). As fotografias foram obtidas com o uso do estereomicroscópio Zeiss (Stemi 508) e câmera acoplada (Axiocam 105), na interface do software Zen.

Análises estatísticas

As concentrações de metais foram calculadas para todos os ambientes estudados para cada período (seco e chuvoso) durante o monitoramento. O diagrama de Sankey foi calculado para analisar graficamente a ocorrência dos metais e abundância do zooplâncton por ambiente, ao longo dos 3 anos de estudo.

A densidade total do zooplâncton, o recrutamento, a biomassa total, a riqueza (número total de taxa), a diversidade (Shannon) e equitabilidade (Pielou) do zooplâncton foram avaliadas quanto à variação espacial (estações de amostragem), temporal (meses de amostragem) e sazonal (período chuvoso: C1 – dezembro/2018 a março/2019; C2 – novembro/2019 a março/2020; C3 – dezembro/2020 a fevereiro/2021 e período seco: S1 – abril a setembro/2019; S3 - abril a agosto/2021).

A densidade, recrutamento, biomassa, riqueza, diversidade e equitabilidade do zooplâncton foi testada em relação aos ambientes estudados (Lago, Lagoa, Rio Guandu e Rio Doce) com o teste Kruskal-Wallis e Mann-Whitney à posteriori.

A curva de acumulação de espécies foi aplicada para avaliar a estabilidade na riqueza das amostras para os ambientes estudados ao longo dos 3 anos, pois registra o número acumulativo de espécies detectadas em cada ambiente específico. A curva de acumulação é uma ferramenta imprescindível na avaliação da eficiência amostral.

As tendências temporais na riqueza (taxonômica e funcional), densidade e biomassa foram testadas usando modelos aditivos de efeitos mistos generalizados (GAMM; função "gam4"). A curva com a tendência temporal foi obtida pelo método de suavização LOESS (Locally-Weighted Scatterplot Smoother) (função "plotGAMM").

A diversidade beta pode ser definida como a variação na composição das espécies (abordagem taxonômica) ou dos traços (abordagem funcional, que considera as funções que as espécies desempenham no ambiente) ao longo do espaço ou do tempo. Essas duas abordagens são importantes em estudos de conservação uma vez que podem dar indícios das condições ambientais.

Para calcular a diversidade beta taxonômica e funcional entre os anos, tipos de ambientes e períodos hidrológicos foi utilizada uma análise permutacional de dispersões multivariadas (PERMDISP, função "betadisper"). Este teste é baseado na dissimilaridade média de cada unidade amostral ao centróide daquele grupo no espaço multivariado, através de uma matriz de distância. Além disso, também foi utilizada uma PERMANOVA (função "adonis") para testar possíveis diferenças na composição das espécies e dos traços funcionais entre os anos, tipos de ambientes e períodos hidrológicos.

Uma regressão linear foi utilizada para os índices de diversidade funcionais, calculados com a finalidade de avaliar a influência dos metais na riqueza e equitabilidade funcional.

As espécies registradas foram classificadas em diferentes grupos funcionais, baseando-se nos seguintes traços funcionais do zooplâncton: longevidade (curta e longa, até 30 dias e maior que 30 dias de vida, respectivamente), capacidade de escape (ausente, intermediário e longo), tamanho (pequeno e grande, < 450 μm e > 450 μm , respectivamente) e estratégias de alimentação (rotíferos filtradores e suspensívoros, cladóceros raspadores, copépodes filtradores, rotíferos filtradores, cladóceros filtradores e copépodes raptorais).

Análises de redundância (RDA) foram realizadas com os dados de abundância dos grupos zooplanctônicos (variáveis resposta), tendo como possíveis variáveis explicativas as variáveis limnológicas (clorofila-a, turbidez e fósforo total) e as concentrações de metais na sua fração total (alumínio, ferro, zinco, bário e manganês). Posteriormente, a análise de variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar a possível associação das variáveis resposta e explicativas consideradas na RDA.

A análise de partição da variância (pRDA) avalia o percentual de contribuição de grupos de variáveis preditoras sobre um conjunto de variáveis resposta. Para avaliação da variação da estrutura da comunidade zooplanctônica da Bacia do Baixo Rio Doce, foram utilizadas o conjunto de variáveis que representam as características ambientais (turbidez, salinidade, fósforo total, alcalinidade total, oxigênio dissolvido e clorofila-a) e conjunto de metais pesados (alumínio, bário, ferro, manganês e zinco). Além de um conjunto de variáveis espaciais (distância entre os ambientes) que foram derivadas das coordenadas geográficas dos locais pelo método das coordenadas da matriz principal (PCNM), onde os eixos (autovetores) são usados como explicativos variáveis do modelo espacial. São passíveis de teste de significância apenas os chamados efeitos puros, ou seja, aqueles efeitos de um dado conjunto de variáveis já desconsiderando os efeitos com interação dos dois outros conjuntos de variáveis.

Todas as análises estatísticas consideraram um nível de significância menor que 0.05 e foram realizadas no programa R (R Core Team, 2019).

Referências

- BOTTRELL, H.H., DUNCAN, A., GLIWICZ, Z.M., GRYGIEREK, E., HERZIG, A., HILLBRICHT-ILLKOWSKA, A., WEGLENSKA, T. A review of some problems in zooplankton production studies. **Norwegian Journal of Zoology**, 24, 419–456. 1976.
- PINTO-COELHO, R.M. **Métodos de Coleta, Preservação, Contagem e Determinação de Biomassa em Zooplâncton de Águas Epicontinentais**. pp 149-166. In: Bicudo, CEM & Bicudo, D. Amostragem em Limnologia. São Carlos, Ed. Rima.351p. 2004.
- RUTTNER-KOLISKO, A. Suggestions for biomass calculations of planktonic rotifers. **Archiv fur Hydrobiologie Beihefte**, 21, 71-76. 1977.