

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

**A3MBS1 – Material Suplementar 1**

**Anexo 3 Marinho - Bentos**

**RT-39 RRDM/FEV 22**

**RA2021 PMBA/Fest-RRDM**

Vitória,

Fevereiro de 2022

## ANEXO 3 MARINHO – BENTOS DE SEDIMENTO INCONSOLIDADO

### 1 METODOLOGIA

#### 1.1 COLETA E TRATAMENTO DE AMOSTRAS

Foram realizadas nove campanhas pelo subprojeto Bentos Marinho de Substrato Inconsolidado. As campanhas são designadas como trimestrais, compreendendo os setores APA, Foz e Norte, com 43 estações amostrais (Campanhas: janeiro/2019; julho/2019, outubro/2019, abril/2021), e semestrais, que incluem, além dos mesmos setores das campanhas trimestrais, as estações de Mucuri (MUC 01 e MUC 02) e todo o setor Abrolhos, totalizando 50 estações (Campanhas: setembro/2018, abril/2019, janeiro/2020, janeiro/2021, julho/2021). Dessa forma, o monitoramento envolveu 50 estações amostrais distribuídas em cinco setores (Figura S1). Nas duas primeiras campanhas não houve recuperação de sedimento pelo buscador de fundo para o ponto CA9, devido à constituição do substrato de laterita ou lama fortemente sedimentada. A partir do Ano 2 as estações do Setor Sul (GUA e VIX) foram substituídas por novas estações do Setor Norte (BS, CB e MUC) (Figura S1, Tabela S1).

As coletas das amostras foram realizadas em substrato inconsolidado por meio do lançamento de amostrador tradicional van Veen, apropriado para este ambiente, com volume de 25 litros. Cada amostra recebeu uma etiqueta com o código do local de coleta, data, profundidade, número sequencial correspondente, observação sobre local/condição de coleta, código da expedição (coletor), seguindo o padrão estabelecido para o projeto RRDM.

No momento da chegada do amostrador a bordo, para cada pegada, foi apoiado no interior das bandejas plásticas e retirada as alíquotas para as análises de geoquímica, densidade e granulometria dos subprojetos de Hidrogeoquímica e Sedimentologia. Na sequência, as amostras para a análise de bentos foram transferidas para sacolas plásticas dispostas uma dentro da outra (duplas) com a etiqueta colocada entre elas. Foi então adicionado às sacolas um volume de formalina 4% suficiente para cobrir o sedimento coletado e fechadas com elástico (de dinheiro). Estas amostras foram mantidas em bombonas e transportadas para os laboratórios da Labinmar na UFES Alegre, ES e Labmacro na UFRB, Cruz das Almas, BA.

Em laboratório, estas amostras tiveram o volume total medido, separado em 3 alíquotas e lavadas em peneiras granulométricas de 0,5 mm e 0,63 µm para separação da fauna bentônica. Para cada alíquota foi triado um volume de 100ml, totalizando 300 ml de material analisado em cada amostra. Os organismos foram então separados, quantificados e identificados em grandes grupos taxonômicos (Filo, Classe ou Ordem). Os grupos mais abundantes, Mollusca, Polychaeta e Crustacea foram enviados para taxonomistas para identificação até a menor categoria taxonômica possível, ao menos até o nível de Família.

Figura S1: Mapa amostral do subprojeto Bentos de Substrato Inconsolidado.

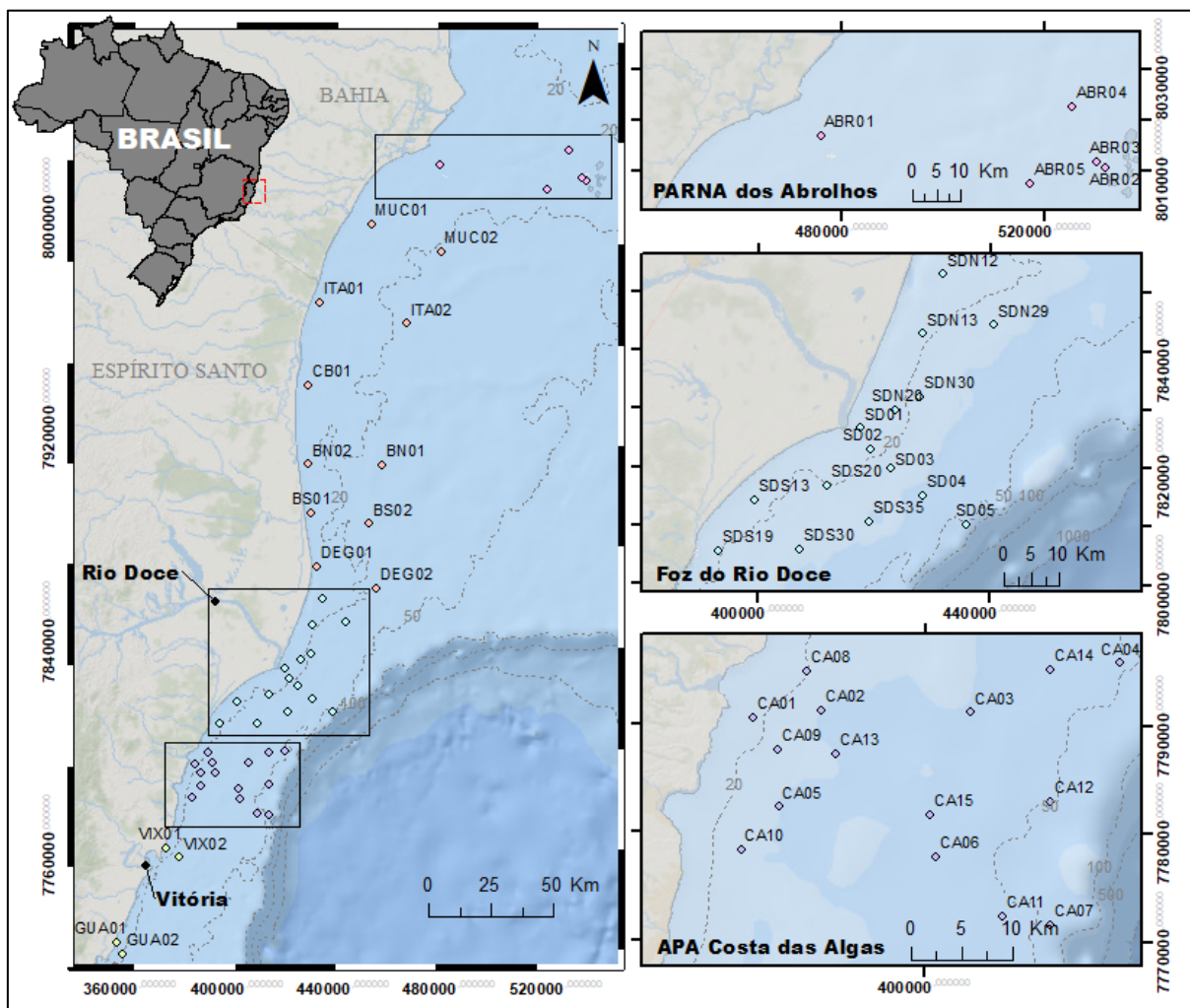


Tabela S1: Identificação das estações amostrais por setor e referências geográficas de cada estação, em Graus Decimais.

SETOR	CÓDIGO DA ESTAÇÃO	LATITUDE	LONGITUDE
Costa das algas	CA01	-19,97758	-40,10831
	CA02	-19,97219	-40,04811
	CA03	-19,97383	-39,91531
	CA04	-19,93261	-39,78258
	CA05	-20,0525	-40,086248
	CA06	-20,09384	-39,94634
	CA07	-20,15107	-39,84459
	CA08	-19,93917	-40,06083
	CA09	-20,005	-40,08694
	CA10	-20,08822	-40,10188
	CA11	-20,1436	-39,8866
	CA12	-20,0482	-39,8447
	CA13	-20,0082	-40,0349
	CA14	-19,9379	-39,844
	CA15	-20,0592	-39,9518
Foz do Rio Doce	SDN13	-19,50706	-39,68361
	SDN20	-19,62458	-39,72928
	SDN30	-19,60542	-39,68925
	SD01	-19,65317	-39,78639
	SD02	-19,68639	-39,76906
	SD03	-19,71456	-39,73697
	SD04	-19,75786	-39,68278
	SD05	-19,82333	-39,59333
	SDS13	-19,76472	-39,95969
	SDS20	-19,74233	-39,84103
	SDS30	-19,84053	-39,88614
Norte	DEG01	-19,30858	-39,67196
	DEG02	-19,383	-39,45741
	BS01	-19,12345	-39,6876
	BS02	-19,159	-39,48581
	BN01	-18,95867	-39,7015
	BN02	-18,96185	-39,4344
	CB01	-18,69022	-39,70328
	ITA01	-18,408	-39,6585
	ITA02	-18,47849	-39,34523
	MUC01	-18,13886	-39,47154
	MUC02	-18,23369	-39,22198
Abrolhos	ABR01	-17,93486	-39,22722
	ABR02	-17,99172	-38,69711

SETOR	CÓDIGO DA ESTAÇÃO	LATITUDE	LONGITUDE
	ABR03	-17,98172	-38,71508
	ABR04	-17,88414	-38,75972
	ABR05	-18,02028	-38,83772
Sul	VIX01	-20,26219	-40,21249
	VIX02	-20,29367	-40,16805
	GUA01	-20,58044	-40,38972
	GUA02	-20,61911	-40,36861

## 1.2 SELEÇÃO DAS VARIÁVEIS ABIÓTICAS E COMPOSIÇÃO DAS MATRIZES AMBIENTAL, DE CONTAMINANTES ORGÂNICOS E METAIS E MATRIZ DE VARIÁVEIS ESPACIAIS.

Para monitorar e entender de forma mais refinada os processos que ocorrem nas comunidades bentônicas em toda a extensão da malha do PMBA, torna-se necessário integrar os dados bióticos das comunidades e os dados abióticos do meio. As variáveis abióticas avaliadas dizem respeito ao monitoramento dos subprojetos de Hidrogeoquímica e Sedimentologia, ambos do Anexo 3. Para que esta integração seja possível, o delineamento da malha amostral, a metodologia de coleta, incluindo o próprio amostrador e a amostra recuperada, são os mesmos para os subprojetos Bentos de Substrato Inconsolidado, Hidrogeoquímica e Sedimentologia, nas campanhas trimestrais e semestrais. Entretanto, por motivos operacionais, nem todos os dados para todas as estações amostrais puderam ser gerados pelos três subprojetos, de forma que apenas aqueles pontos com todas as informações foram incluídos nas análises de integração.

Alguns compostos contaminantes orgânicos não foram incluídos a priori nas análises por não apresentarem variação ao longo do tempo e do espaço. Entre os dez compostos de Pesticidas, cinco foram excluídos a priori: DeltaHCH, GamaHCH (Lindano), Endrin, Alfaclordano, Gamaclordano. E entre os Esteróis: Estigmastanol e Colestenol. O conjunto de variáveis referentes aos Contaminantes Emergentes (e. g. Ibuprofeno etc.), Aminas e Fenóis também foram analisados e por não apresentarem variações não foram incluídos nas análises.

Em seguida foram avaliadas as correlações entre as diferentes variáveis dentro do mesmo grupo de compostos: Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (PHAs), Pesticidas e Esteróis e PCBs. Quando encontrada correlação acima de 80% a variável de menor significância biológica (baseado na literatura) foi removida. Desta forma, reduzimos o montante de variáveis sem perder informação substancial. Dos HPAs, foram removidas cinco variáveis: Acenaftaleno, Fenantreno, Pireno, Criseno, Bz(k)fluoranteno. Já para os Esteróis também foram removidas cinco variáveis: Epicoprostanol, Coprostanona, Campesterol, Lanosterol e Estigmasterol. Ao final, compõem a matriz de contaminantes orgânicos 20 variáveis, das quais três são referentes aos Pesticidas, oito aos esteróis e nove aos PHAs, além dos Hidrocarbonetos totais e PCBs totais.

Para compor a matriz de contaminantes metais foram utilizados doze metais como variáveis em análises, todos pertencentes à fração parcial no sedimento: Cobalto (Co), Níquel (Ni), Cobre (Cu),

Ársênio (As), Prata (Ag), Cádmio (Cd), Bário (Ba), Chumbo (Pb), Crômio (Cr), Ferro (Fe), Alumínio (Al) e Manganês (Mn).

A matriz ambiental foi constituída principalmente de variáveis sedimentológicas: Matéria orgânica (MO), Nitrogênio Total e Carbono Orgânico Total, percentuais de Silte-Argila e carbonato de cálcio (CaCO<sub>3</sub>). Adicionalmente, variáveis granulométricas como tamanho médio do grão e grau de seleção também compuseram a matriz ambiental, ambos em escala métrica.

A matriz espacial foi formada a partir dos Mapas de Autovetores de Moran (Moran Eigenvector Maps, MEMs) (LEGENDRE; LEGENDRE 2012). MEMs são variáveis lineares que representam todas as configurações possíveis de autocorrelação espacial, sendo extraídos de uma matriz de vizinhança gerada com as coordenadas geográficas de cada estação do projeto.

### 1.3 ANÁLISE DE DADOS

#### 1.3.1 Indicadores univariados da comunidade

Para estas análises foi observado como diferentes métricas da comunidade variaram ao longo do período do monitoramento e como as variáveis abióticas influenciaram nesta variação. As métricas utilizadas neste estudo foram a Riqueza – número de táxons em determinada amostra – e índice de Diversidade – calculada através dos índices de diversidade de Shannon-Weaver para as análises das comunidades identificadas em nível específico e de Simpson para as comunidades em grandes grupos, que captura melhor as variações relativas a dominância. Mollusca e Polychaeta foram definidos como grupos indicadores por serem encontrados em altas abundâncias em diversas estações amostrais, além de serem táxons consagrados como bioindicadores da condição do meio ambiente (WARWICK; CLARKE, 1993; RYU et al., 2011; ZALMON et al., 2015).

Além do foco nestes dois táxons, Mollusca foi analisado utilizando dois critérios distintos para o registro da comunidade biológica: utilizando apenas vestígios de espécies como informação da diversidade local e utilizando apenas exemplares em que foi possível observar tecido mole, ou seja, organismos que estavam vivos no momento da coleta. Os critérios adotados para considerar estes vestígios como informação da biota local, e não como parte do sedimento biodetrítico, estão baseados no estado de conservação das estruturas. Apesar de serem frágeis, observando-se o estado de conservação dos exemplares (vestígios completos, ainda com brilho e sem avarias e marcas de rolamento e transporte), é possível inferir que aquele organismo era residente no ponto amostral e que não foi trazido de outro local, podendo, assim auxiliar na compreensão da dinâmica da comunidade (KIDWELL, 2007, 2008; ALBANO; SABELLI, 2011; KIDWELL; TOMASOVYCH, 2013).

Para analisar a estrutura da Riqueza e Diversidade dos grupos zoológicos, foram ajustados modelos lineares e lineares generalizados usando as distribuições adequadas para cada caso, buscando contemplar seus pressupostos. Foi verificada a significância da variação dos indicadores ecológicos entre os diversos setores, campanhas e profundidades. Utilizamos modelos de regressão *Random Forest* através de árvores de decisão, para investigar a influência das variáveis abióticas sobre a

riqueza e diversidade de cada grupo. A escolha deste método é bastante adequada para lidar com o grande número de variáveis abióticas preditoras, evitando saturação e modelando as relações não-lineares, esperadas para uma escala espacial extensa como a do PMBA. Para tanto, os dados foram aleatoriamente divididos em dois conjuntos: de treino (70%) e de teste (30%). As variáveis preditoras mais importantes foram avaliadas pela perda de acurácia do modelo relativa à permutação de cada variável. Os modelos foram avaliados pela percentagem de explicação, e pela sua acurácia ao correlacionar os valores preditos com os observados para a riqueza e diversidade.

Uma vez que a variação entre os setores foi mais informativa em todos os resultados, buscou-se verificar como se distribuem as espécies nesses setores e se a composição de espécies se diferenciava entre as estações em cada setor. Para tanto, foi registrado o número de espécies exclusivas de cada estação bem como o número de espécies compartilhadas ocorrendo em duas ou mais estações do mesmo setor, gerando gráficos de compartilhamento de espécies entre as estações. Dessa forma foi possível verificar se a variação significativa observada entre os setores estava relacionada com o comportamento de estações específicas ou se esta variação representava uma característica intrínseca do setor amostral.

### 1.3.2 Análises multivariadas

Para verificar como a composição das comunidades bentônicas esteve estruturada entre os setores, profundidade e ao longo do tempo, foram realizadas análises de permutação multivariada (PERMANOVA) e para correlacionar a composição das comunidades com as variáveis abióticas foram realizadas análises de redundância (RDA). As variáveis abióticas preditoras foram organizadas em três partições. As partições delimitadas dizem respeito aos diferentes tipos de variáveis abióticas, ou seja, matrizes ambiental, espacial, além de contaminantes metais (metal-IMS) e não-metals (orgânicos). Para cada partição uma rotina de análise foi estabelecida com a verificação de colinearidade (com  $vif < 6$ ) e seleção de variáveis por *forward selection*. Posteriormente, as partições foram unidas e a RDA realizada. Também foi calculado a influência de cada partição na estrutura. Dessa forma, foi possível verificar, além da estruturação da comunidade, a relação desta estrutura com variáveis de diferentes naturezas, atribuindo a presença ou não de causalidade com contaminantes relacionados ao rejeito e permitindo o teste das hipóteses levantadas no começo da sessão de Bentos Marinho de Substrato Inconsolidado.



## 2 REFERÊNCIAS

ALBANO, P. G.; SABELLI, B. Comparison between death and living molluscs assemblages in a Mediterranean infralittoral off-shore reef. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 310, n. 3–4, p. 206–215, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.palaeo.2011.07.012>>.

KIDWELL, S. M. Ecological fidelity of open marine molluscan death assemblages: Effects of post-mortem transportation, shelf health, and taphonomic inertia. **Lethaia**, v. 41, n. 3, p. 199–217, 2008.

KIDWELL, S. M.; TOMASOVYCH, A. Implications of time-averaged death assemblages for ecology and conservation biology. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 44, p. 539–563, 2013.

KIDWELL, S.M. Discordance between living and death assemblages as evidence for anthropogenic ecological change. **Proceedings da Academia Nacional de Ciências Nov 2007**, 104 (45): 17701–17706. DOI:10.1073 / pnas.0707194104. 2007.

LEGENDRE, P., AND LEGENDRE, L. **Numerical ecology**. Third edition. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 2012.

RYU, J. et al. The impact of heavy metal pollution gradients in sediments on benthic macrofauna at population and community levels. **Environmental Pollution**, v. 159, n. 10, p. 2622–2629, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2011.05.034>>.

WARWICK, R.M.; CLARKE, K. R. Comparing the severity of disturbance; a meta-analysis of marine macrobenthic community data. **Marine Ecology Progress Series**, v. 92, n. 3, p. 221–231, 1993.

ZALMON, I.R. et al. Influence of estuarine dynamics on macrobenthos spatial variability along the southeast continental shelf of Brazil. **Scientia Marina**, v. 79, n. 3, p. 379–391, 2015.