

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

**A3MZS1 – Material Suplementar 1**

**Anexo 3 Marinho - Zooplâncton**

**RT-39 RRDM/FEV 22**

**RA2021 PMBA/Fest-RRDM**

Vitória,

Fevereiro de 2022

## 1 METODOLOGIA

### 1.1 METODOLOGIA DE COLETA

As amostras de zooplâncton para o parâmetro qualitativo-quantitativo foram coletadas nas campanhas semestrais e trimestrais entre Novembro de 2019 e Julho de 2021, nos setores Abrolhos, Norte, Foz e APA - Costa das Algas, e também na Campanha Emergencial na Foz em Janeiro de 2020. Para a biomassa zooplancônica, as coletas foram realizadas mensalmente, entre Novembro de 2018 e Setembro de 2021, somente no setor Foz. Todas as amostragens (quali-quantitativo e biomassa) foram realizadas no período noturno, em arrastos verticais estratificados com rede de fechamento WP-2, com malha de 200 µm e abertura de boca rede de 0,6 m de diâmetro com fluxômetro mecânico acoplado. Nas profundidades entre 5 – 30 metros, o arrasto foi feito do fundo (descontando 4m de comprimento da rede) até metade da profundidade e, seguidamente, da metade até a superfície. Em profundidades superiores a 30 metros o arrasto foi feito do fundo (descontando 4m de comprimento da rede) até 30m e depois seguiu o padrão supracitado. As amostras foram acondicionadas em frascos de polietileno e fixadas em campo com solução de formaldeído (4%) tamponada com tetraborato de sódio.

Durante o Período de Transição ocorreram mudanças estruturais na malha amostral em relação ao Ano 01. Foram adicionados 04 pontos no Setor Foz (SDS 19, SDS 35, SDN 12 e SDN 29), 03 pontos no Setor Norte (BS 01, BS 02 e CB 01) e 02 pontos no Setor Abrolhos (MUC 01 e MUC 02), e retirados das coletas 04 pontos no Setor APA – Costa das Algas (CA 10, CA 11, CA 12 e CA 14) e 01 ponto no Setor Abrolhos (ABR 02).

### 1.2 METODOLOGIA DE ANÁLISE

#### 1.2.1 Qualitativa – quantitativa

Em laboratório, as amostras foram fracionadas utilizando um subamostrador de *Folsom* até a obtenção de aproximadamente 500 indivíduos e transferidas para uma placa de Bogorov onde foi feita a identificação ao menor nível taxonômico possível utilizando bibliografia especializada (BOLTOVSKOY, 1999; BOLTOVSKOY, 1981). A nomenclatura dos taxa foi checada junto ao banco de dados do *World Register of Marine Species* (<http://www.marinespecies.org/>).

As espécies bioindicadoras analisadas foram selecionadas de acordo com sua relevância ecológica nos diferentes setores e importância na estruturação da comunidade, definidas após a identificação das amostras do Ano 01 e do Período de Transição. Foram selecionados os Copepoda *Paracalanus* cf *parvus*, *Paracalanus* spp., o Tunicata *Oikopleura longicauda* e o Cladocera *Penilia avirostris*. Os organismos classificados como *Paracalanus* spp. representaram majoritariamente indivíduos juvenis (copepoditos) da espécie *Paracalanus* cf *parvus* e foram considerados como tais nas análises descritivas.

### 1.2.2 Biomassa

Em laboratório, filtros de malha de náilon de 160 µm foram pré-pesados em balança com precisão de 0,1 mg. Em seguida, as amostras foram acumuladas nos filtros e colocadas em dessecador com sistema de bomba a vácuo para retirar o excesso de água. Após esta etapa, as amostras foram pesadas e a biomassa foi estimada através do peso úmido ( $\text{g.m}^{-3}$ ), obtido pela fórmula:

$$B = \frac{N}{VAF}$$

Onde:

N é o peso da amostra final obtido pela fórmula  $p_2 - p_1$  ( $p_1$  = peso do filtro;  $p_2$  = peso da amostra com filtro)

VAF = volume de água filtrada obtido pela fórmula  $\pi \times r^2 \times h$ , onde  $r$  é o raio da boca (0,3 m) da rede e  $h$  é a altura da coluna d'água.

## 1.3 TRATAMENTO ESTATÍSTICO

O teste de variância ANOVA unifatorial foi aplicado sobre a abundância total do zooplâncton e aos índices ecológicos a fim de detectar variabilidade temporal entre as médias das campanhas para esses parâmetros (TURNER & THAYER, 2001). Para esta análise, a matriz de dados foi transformada através da raiz quarta com o objetivo de atender os pressupostos de normalidade e homogeneidade.

A análise de porcentagens *SIMPER* foi aplicada sobre a matriz de dados de zooplâncton através da dissimilaridade de Bray-Curtis para verificar a contribuição percentual dos principais taxa encontrados em cada uma das campanhas por setor (CLARKE, 1993).

Os dados de composição e abundância zooplancônica também foram examinados através de análises multivariadas. As espécies e grupos taxonômicos que representaram ao menos 1% de abundância relativa foram selecionados para análise e todos os procedimentos realizados com índice de dissimilaridade de Bray-Curtis. A dinâmica espaço-temporal da comunidade foi avaliada através da Análise de Coordenadas Principais (PCO), cujo procedimento de ordenação fornece uma projeção direta dos pontos no espaço definido pelas dissimilaridades entre amostras (ANDERSON et al., 2008).

Para testar a significância das diferenças observadas na comunidade, foi aplicada a análise de variância PERMANOVA entre as diferentes vazões classificadas (alta/baixa) e os estratos da coluna d'água amostrados (superfície e fundo). Esta análise é um método não-paramétrico baseado na equivalente multivariada da razão F de Fisher (pseudo-F), sendo que os p-valores são obtidos através de permutações ( $\alpha = 0,05$ ;  $N = 9999$ ; ANDERSON, 2001). Comparações pareadas foram realizadas a posteriori em caso de diferenças significativas entre grupos (versão multivariada da estatística t de

Student). A análise PERMDISP, equivalente ao teste de Levene para homogeneidade das variâncias, também foi aplicada para testar efeitos significativos de dispersão entre os grupos (ANDERSON, 2006).

As relações entre a comunidade zooplancônica e as variáveis ambientais obtidas foram investigadas através da Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP). Este procedimento combina duas técnicas multivariadas (PCO e análise canônica) e identifica os eixos da análise que apresentam correlações com o outro conjunto de variáveis (ANDERSON et al., 2008). No setor Foz, os parâmetros ambientais utilizados foram: material particulado em suspensão (MPS, mg/L), Clorofila-*a* (µg/L), vazão do Rio Doce (médias para 3 e 15 dias anteriores à coleta, em m³/s) e altura de onda (médias para 3 e 15 dias anteriores à coleta, em metros). A análise canônica também foi utilizada para avaliar os dados de concentração de metais totais na água (Vanádio, Cobalto, Níquel, Cobre, Arsênio, Argônio, Cádmio, Bário, Chumbo, Cromo, Ferro, Alumínio, Manganês e Zinco) e suas relações com a comunidade zooplancônica em todos os setores. Os táxons que mais contribuíram para caracterização das assembleias foram identificados através de correlação (Spearman rank) entre as abundâncias relativas e os eixos da análise.

A classificação das campanhas de alta/baixa vazão do Rio Doce foi realizada de acordo com os dados obtidos do subprojeto de Mapeamento de Habitats do PMBA/FEST-RRDM. Foi calculada uma média dos valores de vazão para a campanha no período de 15 dias anteriores à coleta, levando em consideração o tempo de resposta dos organismos zooplancônicos às alterações ocorridas no ambiente. Valores médios de vazão superiores a 552 m³/s foram considerados de alta vazão e inferiores de baixa vazão, com base na classificação utilizada pelo Mapeamento de Habitats do PMBA/FEST-RRDM.

Os dados de biomassa obtidos durante o monitoramento do ano 1 ao 3 em mg.m<sup>-3</sup>, foram inicialmente transformados em raiz quarta para realização da análise multivariada, produzindo uma matriz de similaridade através da média de Bray-Curtis (LEGENDRE & LEGENDRE, 2012). A análise de variância multivariada (PERMANOVA com 999 permutações) foi conduzida para testar os fatores campanha (11/18 a 09/21), setor (Sul, Central e Norte) e estrato (superfície e fundo) sobre os dados de biomassa. Posteriormente, foi aplicado o teste *pair wise* para determinar quais grupos de dados foram significativamente diferentes entre si (UNDERWOOD, 2006; ANDERSON et al., 2008).

Para avaliar a possível influência das variáveis ambientais (temperatura e salinidade), MPS e concentrações de metais totais (Vanádio, Cobre, Cádmio, Chumbo, Ferro e Alumínio), assim como, a concentração de fitoplâncton total e Clorofila-*a* sobre a distribuição da biomassa zooplancônica entre as campanhas 11/18 a 01/21, foi aplicado o teste RELATE (Rank Correlation Method: Spearman; number of permutation: 9999). Em seguida, a rotina DistLM (Distance-based Linear Model) foi usado para averiguar quais dos potenciais preditores explicaram a maior parte da variabilidade observada nos padrões de distribuição da biomassa. O procedimento DistLM foi realizado por seleção direta das variáveis ambientais (temperatura e salinidade), MPS, concentração de metais totais, fitoplâncton total e Clorofila-*a*, usando o R<sup>2</sup> como critério de seleção, permitindo a realização de testes marginais (ANDERSON et al., 2008). Para visualizar o modelo proposto, foi realizada uma Análise de

Redundância à Distância (dbRDA), resultando em um gráfico de ordenação restrito com eixos linearmente relacionados aos valores ajustados e às variáveis preditoras.

As análises estatísticas foram realizadas através do programa PRIMERV6 com o software complementar PERMANOVA+ adicionado (CLARKE & GORELY, 2006; ANDERSON et al., 2008).

## 2 REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M. J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral Ecology**, v. 26, p. 32-46, 2001.
- ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. **PERMANOVA+ for PRIMER**: Guide to software and statistical methods. Plymouth: Primer-E Ltd., 2008.
- ANDERSON, M. J. Distance-Based Test for Homogeneity of Multivariate Dispersions. **Biometrics**, v. 62, p. 245-253, 2006.
- BOLTOVSKOY, D. (Ed.). **Atlas del zooplankton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con zooplancton marino**. Mar del Plata: Instituto Nacional de Investigacion y Desarrollo Pesquero, 1981
- BOLTOVSKOY, D. (Ed.) **South Atlantic Zooplankton**. Leiden: Backhuys Publishers, 1999.
- CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, p. 117–143, 1993.
- CLARKE, K.R.; GORLEY, R.N. **PRIMER v6**: User Manual/Tutorial. Plymouth: PRIMER-E, 2006.
- LEGENDRE P.; LEGENDRE L. **Numerical Ecology**. Amsterdam: Elsevier, 2006.
- TUKEY, J. W. **Exploratory data analysis**. Reading, MA: Addison -Wesley, 1977.
- TURNER, J. R.; THAYER, J. F. **Introduction to analysis of variance**: Design, analysis, & interpretation. Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2001.
- UNDERWOOD A. J. **Experiments in Ecology**: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance. Cambridge: University Press, 2006.