

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

Material Suplementar Ambiente Marinho

Tema: Zooplâncton

RT- 46/ JUN24

RA2023 PMBA/Fest

Vitória,

Junho de 2024

EQUIPE TÉCNICA

Bianca Salvador

Gabriel Harley Costa Santos

Gustavo Martins Rocha

Laura Rodrigues da Conceição

Luiz Fernando Loureiro Fernandes

Priscila Teixeira Amaral

SUMÁRIO

1	HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL	4
2	METODOLOGIA	4
2.1	COLETA	4
2.1.1	Preparo pré-campo.....	4
2.1.2	Amostragem – Abundância, composição e biomassa	5
2.2	ANÁLISE	6
2.2.1	Procedimentos de preparo e manuseio de amostras em laboratório	6
2.2.2	Procedimentos de análise de contagem – Abundância e Composição	7
2.2.3	Procedimento para cálculo da densidade	8
2.2.4	Análise de dados e Estatística	9
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	10
3	RESULTADOS DOS INDICADORES	11
3.1	ÍNDICES DE BIODIVERSIDADE	12
3.2	ÍNDICE DE PREVALÊNCIA DE INDICADORAS (IPI)	20
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO	23
5	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS	25
6	REFERÊNCIAS	26

1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

A malha e frequência amostral do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) passou por modificações ao longo do tempo, visando seu aperfeiçoamento para atendimento aos objetivos do PMBA/Fest. Estas alterações foram aprovadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) por meio de: (1) ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019 (para o período de transição) e (2) Proposta Técnica de continuidade do monitoramento, apresentadas e aprovadas em 2022, visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest”.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) MS – Malha e Frequência amostral, onde as diferentes malhas e frequências amostrais são apresentadas nas abas “Ano 1”, “Transição”, “Novo Ciclo” e “Histórico Frequências” e 2) MS – Mapas das malhas amostrais, com a espacialização histórica referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais monitoradas entre setembro de 2018 e setembro de 2019, “Transição” às estações entre outubro de 2019 e julho de 2022 e “Novo Ciclo” referente às estações amostrais monitoradas a partir de agosto de 2022, à exceção do grupo da Ecotoxicologia, que iniciou a amostragem referente ao Novo Ciclo em janeiro de 2023

2 METODOLOGIA

A metodologia apresentada contempla o escopo em vigência no momento de entrega deste relatório, ou seja, as amostragens e análises previstas para o Novo Ciclo do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática – PMBA submetidas à Fundação Renova através do FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE PLANO DE TRABALHO em agosto de 2022 (e dezembro de 2022 para o Tema Ecotoxicologia). Após a descrição da metodologia implementada, será apresentado um breve descritivo sobre as modificações metodológicas (parâmetros, análise de parâmetros ou grupo de parâmetros, dentre outros) que ocorreram ao longo da evolução do PMBA/Fest a fim de determinar os indicadores.

2.1 COLETA

2.1.1 Preparo pré-campo

Previamente à etapa de campo, foi feito o preparo de solução preservante a partir de formaldeído (CH_2O) 37% (considerado absoluto) e bórax (tetraborato de sódio decahidratado - $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) para fixação e preservação das amostras de zooplâncton (USEPA, 2016). O procedimento foi realizado em laboratório equipado com capela, pois o formaldeído é volátil e nocivo à saúde. Foram utilizados luvas, óculos e máscara com filtro, seguindo as orientações contidas na Ficha de Informação de Segurança de Produto Químico (FISPQ) para formaldeído 37% P.A. e Tetraborato de Sódio P.A.

- Em um béquer foi adicionado aproximadamente 20 g de bórax em 1000 mL de formaldeído 37% P.A. para formar a solução estoque;

- Utilizou-se um agitador magnético para acelerar a dissolução do bórax;
- Após dissolvido, a solução foi retornada para o frasco de formaldeído, tampada e registrado que o mesmo estava tamponado utilizando uma etiqueta adesiva.

Preparo dos frascos com o preservante:

- Foram separados um número de frascos suficiente para toda a campanha com um excedente de 20% (capacidade individual de 500 mL);
- Na capela de exaustão, o frasco foi preenchido com a solução estoque;
- O volume da solução estoque foi obtido a partir da diluição de 9 partes de água para 1 parte de formaldeído (V=9:1).

2.1.2 Amostragem – Abundância, composição e biomassa

A coleta do zooplâncton foi realizada no período noturno (entre 18 horas e 6 horas), por meio de arrastos verticais estratificados, com rede do tipo WP-2 com abertura de malha de 200 μ m (HARRIS et al., 2000).

Um fluxômetro mecânico foi acoplado na abertura da boca da rede na região central, para medir o fluxo de água que passa pela rede. Esses dados são secundários e para fins de registro apenas, não sendo utilizados no cálculo de volume de água filtrada. O fechamento da rede WP-2 na profundidade desejada foi feito através do mecanismo de fechamento fixado no cabo que sustenta a rede, o qual foi liberado no cabo pela equipe de coleta. A profundidade do ponto amostral foi informada pela equipe de bordo antes de iniciar a coleta utilizando o equipamento (sonda) disponível na embarcação para determinação da profundidade dos estratos (h).

Em profundidades superiores a 5 m e inferiores a 30 m foram feitos 2 arrastos:

- 1 arrasto do fundo até metade da coluna d'água;
- 1 arrasto da metade da coluna d'água até a superfície.

Em profundidades superiores a 30 m foram feitos 3 arrastos:

- 1 arrasto do fundo até 30 m;
- 1 arrasto de 30 a 15 m da coluna d'água até a superfície;
- 1 arrasto de 15 m até a superfície.

Durante a coleta, entre cada procedimento amostral, foi feita a verificação e limpeza da rede de arrasto a fim de conferir a integridade dos equipamentos e do sistema de fechamento para que pudesse ser realizado o próximo lançamento.

Para o preparo da rede WP-2, foi utilizado o procedimento a seguir: colocou-se o copo coletor, certificando de que todas as manilhas estavam fechadas e o sistema de fechamento da rede acoplado e travado. O fluxômetro foi preso no aro da rede (diâmetro = 60 cm; raio(r) = 30 cm) com abraçadeiras de forma a ficar localizado no centro da boca da rede.

Os dados da estação e o número inicial do fluxômetro foram preenchidos a lápis, juntamente com as demais informações relevantes (pontos de coleta, hora, data, profundidade, etc.) na planilha de custódia impressa em papel vegetal para garantir que nenhuma informação anotada fosse perdida.

A rede, presa no cabo, foi colocada na água com auxílio de um guincho, sendo o primeiro estrato amostrado sempre o mais profundo. Os arrastos sempre foram iniciados 5 metros acima da profundidade local, de acordo com a medição da sonda e a metragem lançada de cabo, para evitar que a rede tocasse no fundo. Um metro antes da rede WP-2 atingir a profundidade desejada para finalizar o arrasto, o mensageiro foi lançado para fechamento da rede. Logo após recolher a rede ao deck, com o cuidado de posicionar o copo coletor em pé, anotou-se o número final do fluxômetro na planilha de custódia.

A rede foi, então, posicionada na vertical para lavagem, sempre jogando o jato de água do lado de fora da rede, para evitar contaminação da amostra. O copo coletor da rede foi desacoplado e amostra transferida para um frasco de polietileno de 500 mL contendo solução de formaldeído 4% tamponado, já com etiqueta padronizada contendo informações da amostra (código, ponto amostral, data, estrato, tipo de dado de bruto). Quando necessário, foi completado o volume do recipiente com água filtrada do local.

Após a operação de coleta, as amostras foram acondicionadas em caixas plásticas de transporte, em local protegido do sol, evitando a perda do formol por evaporação. Ao final de toda a etapa de amostragem, as amostras depositadas nas caixas plásticas de transporte foram enviadas pela equipe de logística por transporte terrestre para o LabZoo, para ser dado início à etapa de análises laboratoriais

2.2 ANÁLISE

2.2.1 Procedimentos de preparo e manuseio de amostras em laboratório

As amostras recebidas no laboratório foram registradas na matriz de rastreabilidade de amostras, onde foram conferidas as quantidades e estado dos potes, que por sua vez foram higienizados na parte externa e posteriormente acondicionados em prateleiras dentro de armário fechado com sistema de exaustão interno, até sua análise.

Devido à toxicidade do formaldeído usado para preservação das amostras, este foi substituído temporariamente por água destilada durante a identificação e contagem dos organismos. A amostra pode permanecer nesta condição por poucos dias (2 dias em temperatura ambiente ou 4 dias sob refrigeração) (USEPA, 2016).

O método de substituição do formaldeído por água consiste em filtrar diretamente a amostra em uma peneira circular com base contendo malha de náilon com abertura menor que 200 µm de modo a

impedir a passagem dos organismos. Para garantir a qualidade do preparo da amostra, procedeu-se da seguinte maneira:

- Dentro da capela de exaustão ligada, utilizando luva nitrílica, óculos de proteção, máscara com respirador, sapato fechado e jaleco, despejou-se a amostra na peneira com malha de náilon sobre um béquer, de forma que os organismos ficassem retidos na malha e a solução com formaldeído a 4% passasse para o béquer. Lavou-se a borda interna do frasco que continha a amostra com uma pisseta contendo solução de formaldeído a 4% para que todos os organismos fossem transferidos para a peneira, evitando o risco de sub quantificação e ressecamento dos organismos que possivelmente teriam ficado ali retidos;
- O formaldeído retirado da amostra foi descartado em bombona devidamente identificada para posterior recolhimento pela empresa coletora de resíduos.
- A peneira foi virada do lado avesso sobre um béquer de vidro graduado para transferência dos organismos. O procedimento foi realizado com cuidado para os organismos não caírem para fora do recipiente. Com auxílio de uma pisseta contendo água destilada, lavou-se a malha da peneira, de forma a transferir a totalidade dos organismos retidos na malha para o béquer para que pudessem ser analisados em microscópio estereoscópico;
- Após o fim da análise da amostra, reverteu-se o processo inicial onde a água foi retirada com a mesma peneira utilizada. A água ficou depositada em um béquer, a qual foi posteriormente descartada. Os organismos foram então transferidos da peneira para um vidro de boca larga devidamente etiquetado utilizando uma pisseta contendo solução de formaldeído 4% tamponado com tetraborato de sódio.

2.2.2 Procedimentos de análise de contagem – Abundância e Composição

Amostras com pequeno número de organismos (< 500 organismos) foram analisadas integralmente, enquanto as amostras que continham um número elevado de organismos, foram subamostradas (BAIRD et al., 2017).

Para garantir a qualidade do procedimento de contagem, este seguiu sempre a sequência abaixo descrita:

- O formaldeído foi retirado da amostra, transferindo-o para um béquer graduado com água (Item 2.2.1);
- A amostra contida no béquer graduado foi homogeneizada, com auxílio da Pipeta de Pasteur, em movimentos aleatórios, com cuidado para não danificar os organismos;
- Os organismos foram transferidos para o subamostrador de Folsom para homogeneizar e dividir a amostra. No subamostrador de Folsom foram feitos 40 movimentos semicirculares para completa homogeneização da amostra e posterior transferência do homogeneizado aos

recipientes do equipamento. Cada recipiente conteve metade da amostra inserida no subamostrador. Este procedimento de fracionamento foi repetido até que se alcançasse uma quantidade satisfatória de organismos (aproximadamente 500 indivíduos) (BAIRD et al., 2017). A fração final (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, ...) foi anotada para o cálculo de densidade;

- Os organismos da subamostra obtida no subamostrador de Folsom foram transferidos para a peneira com malha de náilon;
- Com auxílio de uma pisseta, lavou-se com jatos de água destilada a malha da peneira, de forma a transferir os organismos retidos na malha para um béquer graduado;
- Os organismos do béquer foram transferidos para uma câmara de Bogorov, com auxílio de pipeta de Pasteur, para análise em microscópio estereoscópico. Este procedimento se repetiu até finalização da subamostra;
- Todos os organismos do zooplâncton contidos na subamostra (alíquota) foram identificados e contados com o auxílio de bibliografia especializada (BOLTOVSKOY, 1999; BOLTOVSKOY, 1981), e os resultados anotados na ficha de análise, incluindo a fração da amostra que foi analisada.

Alguns organismos do mesozooplâncton tiveram necessidade de dissecção em microscópio estereoscópico, possibilitando que partes do corpo fossem observadas em microscópio óptico sob maiores aumentos ($\geq 100X$). Para isto, os organismos foram retirados da subamostra contida na câmara de Bogorov, com auxílio de uma pinça de ponta fina, e posicionados em uma gota de glicerina diluída com formalina 4% tamponada (proporção de 9 para 1 de formalina) em lâmina lisa ou escavada. A dissecção foi realizada utilizando agulha (Insect pins) de 0,15mm, sob observação em microscópio estereoscópico.

2.2.3 Procedimento para cálculo da densidade

Os dados obtidos foram expressos de forma quantitativa (estimativa de densidade), por meio do número de organismos por unidade de volume (ind.m^{-3}) (HARRIS et al., 2000) e serviram para alimentar a planilha de dados brutos (PDB). Esta extrapolação foi feita com base no volume de água filtrada em campo para obtenção de cada amostra, o qual foi calculado pela seguinte fórmula:

$$V = \pi \cdot r^2 \cdot h$$

Sendo que:

V = volume de água filtrado pela rede (m^3)

$$\pi = 3,14$$

r = raio da boca da rede utilizada para coleta

h = distância percorrida pela rede em arrasto vertical (m)

Com base no volume de água filtrada calculado, a densidade de organismos (ind.m³) foi então expressa segundo a fórmula a seguir:

$$N = (n_i/a)/V$$

Onde:

N = densidade da espécie no ambiente

n_i = número de indivíduos da espécie i na subamostra (ou na amostra, quando analisada na integralidade)

a = alíquota da amostra (fração correspondente)

V = volume de água filtrada pela rede (m³)

2.2.4 Análise de dados e Estatística

A densidade de organismos obtida foi utilizada para o cálculo dos índices de diversidade pertinentes: Diversidade de Shannon (H') e Equabilidade de Pielou (J), selecionados a partir de embasamento bibliográfico, considerando a sua aplicação e eficácia em estudos de diagnóstico ambiental (BENEDETTI *et al.*, 2016; CAMPOS *et al.*, 2017; UTTAH *et al.*, 2013). Esses índices buscam avaliar o impacto direto na composição da comunidade zooplancônica, bem como mudanças na dominância de espécies. Apenas os taxa identificados a nível de espécie foram considerados no cálculo dos índices de diversidade.

Com base na abundância relativa das espécies, calculada a partir da abundância total de organismos identificados, foi também calculado o Índice de Prevalência de Indicadoras (IPI), que expressa a dominância dos taxa resistentes frente às condições de maior ou menor concentração de rejeito. No presente relatório foram considerados os taxa *Paracalanus* spp. (juvenil), *Paracalanus* cf. *parvus* e *Oikopleura* spp., que mostraram grande relevância ecológica nos diferentes setores e importância na estruturação da comunidade ao longo de todo monitoramento. O índice foi calculado com base nos dados de abundância da PDB, onde: $IPI = (AR \text{ Paracalanus spp [juvenil]} - AR \text{ Paracalanus cf parvus}) + AR \text{ Oikopleura spp}$. Onde AR = Abundância Relativa Percentual. Desta forma, quanto maior o valor de IPI, maior o indicativo de impacto na comunidade, pois denota maior dominância de espécies resistentes ao impactante.

Com o objetivo de identificar variações temporais para os índices ecológicos durante o monitoramento, foram realizadas análises estatísticas em todos os setores entre os períodos seco e chuvoso, considerando todas as campanhas, bem como entre os anos dentro de cada um dos períodos sazonais. No setor Foz do Rio Doce foi feita uma subsectorização de acordo com a localização dos pontos amostrais situados ao norte, sul e transecto central, objetivando identificar a variação espacial das respostas da comunidade em relação à vazão do Rio e ao deslocamento da pluma.

O teste de variância ANOVA foi aplicado aos índices ecológicos a fim de detectar variabilidades espaciais (entre os setores) e temporais (entre os períodos e entre os anos dentro de cada setor) de acordo com a comparação entre as médias calculadas para cada variável (TURNER & THAYER, 2001). Onde foram encontradas diferenças significativas, foi aplicado também o teste Tukey a fim de localizar os momentos em que essas diferenças estavam concentradas (TUKEY, 1977). Para essas análises, a matriz de dados foi transformada através da raiz quarta com o objetivo de atender os pressupostos de normalidade e homogeneidade.

Os dados de composição e abundância zooplancônica do setor Foz do Rio Doce também foram examinados através de análises multivariadas. As espécies e grupos taxonômicos que representaram ao menos 1% de abundância relativa neste setor 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).

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). A análise canônica foi utilizada para avaliar os dados de concentração de metais totais na água e suas relações com a comunidade zooplancônica no setor Foz. Os taxa e os índices ecológicos (H' , J e IPI) que mais contribuíram para caracterização das assembleias foram identificados através de correlação múltipla entre os vetores e os eixos da análise.

Os dados de vazão do Rio Doce foram obtidos do subprojeto Bacia – Integração do PMBA/FEST. Para as análises, foram utilizados os valores médios referentes ao período de 15 dias anteriores à coleta, levando em consideração o tempo de resposta dos organismos zooplancônicos às alterações ocorridas no ambiente (HOOVER *et al.*, 2006; ROCHA *et al.*, 2022).

As análises estatísticas foram realizadas através dos softwares PRIMERv6 com o pacote complementar PERMANOVA+ adicionado (CLARKE & GORELY, 2006; ANDERSON *et al.*, 2008) e STATISTICA 12 (HILL & LEWICKI, 2007).

2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

Com o objetivo de realizar uma análise temporal mais robusta, a partir do RA2022 o fator Ano foi incluído nos testes estatísticos e nas análises descritivas dos índices ecológicos aplicados à comunidade zooplancônica. Além das análises comparativas entre os períodos seco e chuvoso, que já eram realizadas, a inclusão desse fator permite observar tendências de aumento ou diminuição dos índices frente aos impactos de rejeito no decorrer do tempo do monitoramento. Desta forma, foi possível otimizar as análises referentes à comunidade zooplancônica sem impacto financeiro.

Buscando atender às demandas do novo formato dos Relatórios Anuais e consolidar os resultados expressos pelas espécies indicadoras ao longo do monitoramento, foi realizada uma adaptação na apresentação de dois indicadores anteriormente utilizados: a dinâmica populacional entre juvenis e adultos de *Paracalanus cf parvus* e a abundância relativa do gênero *Oikopleura*. Ambos agora integram o Índice de Prevalência de Indicadoras (IPI), detalhado nas seções anteriores, visando aprimorar e categorizar os impactos através das respostas das espécies consideradas tolerantes ou sensíveis ao aporte de material do Rio Doce.

Tendo como base a observação dos efeitos dos impactos na comunidade zooplanctônica através da heterogeneidade espacial da malha amostral, a análise canônica (CAP) passou a diferenciar e incluir como fator a distância dos pontos amostrais em relação à costa, sendo estes agora agrupados em pontos internos (até a isóbata de 20 metros) e pontos externos (além da isóbata de 20 metros).

Por fim, outra adaptação importante realizada na metodologia de análise diz respeito aos taxa inclusos no cálculo dos índices de diversidade (J e H', anteriormente citados). A partir do Novo Ciclo, apenas indivíduos identificados a nível de espécie estão sendo considerados no cálculo da diversidade e da equabilidade. Essa alteração se fez necessária para atender os pressupostos da aplicação desses índices.

3 RESULTADOS DOS INDICADORES

Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest e obtidos ao longo de todo monitoramento na área ambiental. Vale ressaltar que os indicadores aqui apresentados têm como propósito clarificar e sintetizar a historicidade dos resultados, interpretação e conclusões do monitoramento, promovendo o acompanhamento espaço-temporal da qualidade ambiental e biodiversidade, além de configurarem importantes ferramentas de suporte aos gestores ambientais. A partir destes indicadores, pode-se identificar os impactos com relação direta ou indireta ao rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana (MG).

Os indicadores do PMBA/Fest vêm se consolidando ao longo do monitoramento e, seguindo a proposta estabelecida desde o Relatório Anual de 2022 (RA2022), a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue:

3.1 ÍNDICES DE BIODIVERSIDADE

Figura 1: Valores do Índice de diversidade de Shannon da comunidade zooplancônica amostrada nos setores (a) APA, (b) Foz e (c) Norte para os períodos chuvoso e seco entre as campanhas de outubro/2018 e outubro/2023. Ano 1: entre outubro de 2018 e setembro de 2019, Ano 2: outubro de 2019 e setembro de 2020, Ano 3: entre outubro de 2020 e setembro de 2021, Ano 4: entre outubro de 2021 e setembro de 2022, Ano 5: entre outubro de 2022 e setembro de 2023, Ano 6: outubro de 2023. (d) Variação temporal (por campanha) das médias do Índice de Shannon (\pm EP) nos setores APA, Foz e Norte ao longo do período de estudo. (e) Variação temporal (por campanha) das médias do Índice de Shannon (\pm EP) nos subsectores norte, central e sul do setor Foz, ao longo do período de estudo. (f) Valores médios do fluxo de vazão do Rio Doce durante os 15 dias anteriores às campanhas amostrais ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$). NA: período não amostrado devido as restrições durante a pandemia de COVID-19.

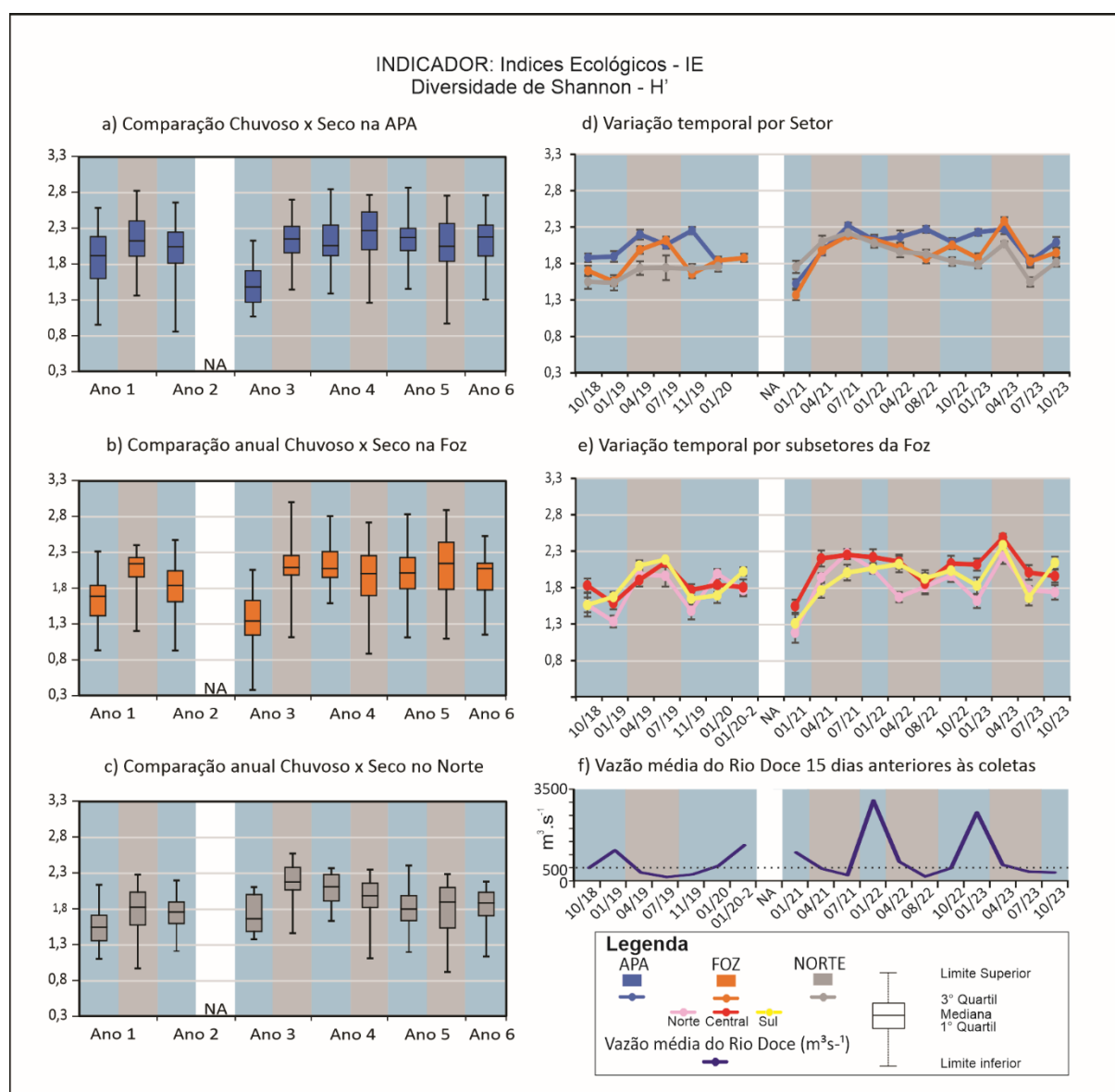


Figura 2: Valores do Índice de equabilidade de Pielou da comunidade zooplancônica amostrada nos setores (a) APA, (b) Foz e (c) Norte para os períodos chuvoso e seco entre as campanhas de outubro/2018 e outubro/2023. (d) Variação temporal (por campanha) das médias do Índice de equabilidade de Pielou (\pm EP) nos setores APA, Foz e Norte ao longo do período de estudo. (e) Variação temporal (por campanha) das médias do Índice equabilidade de Pielou (\pm EP) nos subsetores norte, central e sul do setor Foz, ao longo do período de estudo. (f) Valores médios do fluxo de vazão do Rio Doce durante os 15 dias anteriores às campanhas amostrais ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$).

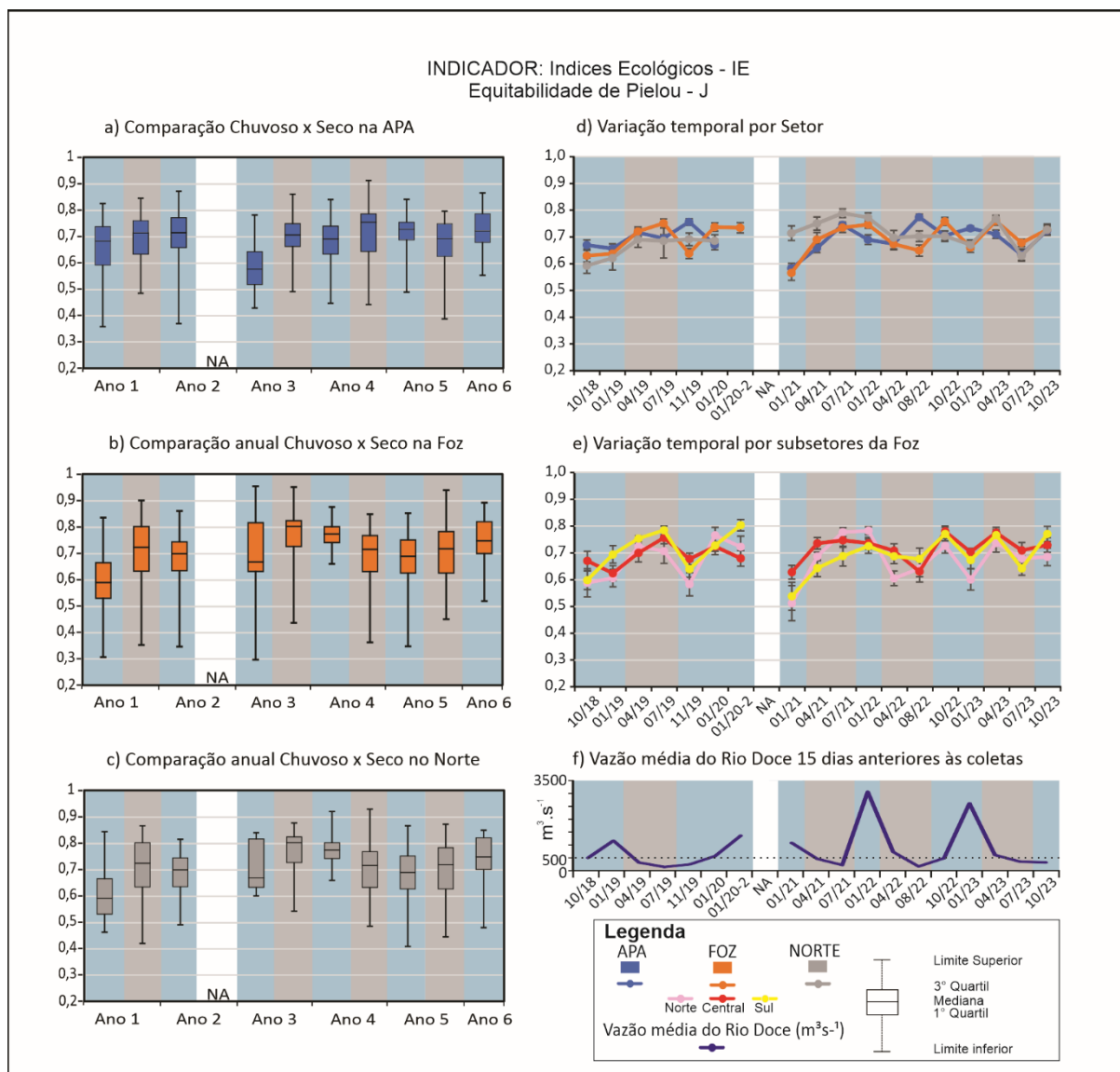


Tabela 1: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade dentro do setor APA considerando o fator Período (Seco/Chuvoso), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	p
APA	J	Intercept	1	403,90	403,90	340774,96	0,000000
		Período	1	0,00	0,00	2,67	0,102667
		Error	485	0,57	0,00		
	H'	Intercept	1	697,72	697,72	192547,86	0,000000
		Período	1	0,06	0,06	15,40	0,000100
		Error	485	1,76	0,00		
	Densidade	Intercept	1	19359,67	19359,67	9114,61	0,000000
		Período	1	4,75	4,75	2,23	0,135588
		Error	485	1030,15	2,12		

Tabela 2: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade dentro do setor Norte considerando o fator Período (Seco/Chuvoso), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	
NORTE	J	Intercept	1	232,22	232,22	181353,86	0,000000
		Período	1	0,00	0,00	1,76	0,186238
		Error	277	0,35	0,00		
	H'	Intercept	1	376,54	376,54	126999,14	0,000000
		Período	1	0,02	0,02	6,60	0,010741
		Error	277	0,82	0,00		
	Densidade	Intercept	1	10540,06	10540,06	5446,26	0,000000
		Período	1	14,03	14,03	7,25	0,007519
		Error	277	536,07	1,94		

Tabela 3: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade dentro do setor Foz e seus respectivos subsetores (Norte, Central e Sul) considerando o fator Período (Seco/Chuvoso), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	p
FOZ	J	Intercept	1	424,40	424,40	271801,87	0,000000
		Período	1	0,01	0,01	3,39	0,066008
		Error	516	0,81	0,00		
	H'	Intercept	1	707,83	707,83	179920,20	0,000000
		Período	1	0,17	0,17	43,23	0,000000
		Error	516	2,03	0,00		
	Densidade	Intercept	1	21828,41	21828,41	10395,63	0,000000
		Período	1	12,87	12,87	6,13	0,013611
		Error	516	1083,48	2,10		
FOZ NORTE	J	Intercept	1	126,12	126,12	62230,36	0,000000
		Período	1	0,01	0,01	2,63	0,106643
		Error	154	0,31	0,00		
	H'	Intercept	1	207,46	207,46	50244,60	0,000000
		Período	1	0,08	0,08	19,06	0,000023
		Error	154	0,64	0,00		
	Densidade	Intercept	1	7061,40	7061,40	3046,05	0,000000
		Período	1	20,62	20,62	8,89	0,003327
		Error	154	357,01	2,32		
FOZ CENTRAL	J	Intercept	1	164,19	164,19	156145,31	0,000000
		Período	1	0,00	0,00	1,88	0,171468
		Error	196	0,21	0,00		
	H'	Intercept	1	277,69	277,69	84808,77	0,000000
		Período	1	0,05	0,05	16,70	0,000064
		Error	196	0,64	0,00		
	Densidade	Intercept	1	7832,93	7832,93	4209,76	0,000000
		Período	1	18,18	18,18	9,77	0,002045
		Error	196	364,69	1,86		
FOZ SUL	J	Intercept	1	134,06	134,06	79443,74	0,000000
		Período	1	0,00	0,00	0,04	0,851629
		Error	162	0,27	0,00		
	H'	Intercept	1	222,67	222,67	55401,17	0,000000
		Período	1	0,04	0,04	10,40	0,001523
		Error	162	0,65	0,00		
	Densidade	Intercept	1	6937,23	6937,23	3613,15	0,000000
		Período	1	7,61	7,61	3,96	0,048199
		Error	162	311,04	1,92		

Tabela 4: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade Total dentro do setor APA considerando o fator Período-Ano (Seco/Chuvoso; Anos 1, 2, 3, 4, 5 e 6), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	p
APA	J	Intercept	1	347,86	347,86	324392,17	0,000000
		Ano-Período	9	0,07	0,01	6,89	0,000000
		Error	477	0,51	0,00		
	H'	Intercept	1	599,05	599,05	186263,13	0,000000
		Ano-Período	9	0,28	0,03	9,64	0,000000
		Error	477	1,53	0,00		
	Densidade	Intercept	1	16480,49	16480,49	7785,18	0,000000
		Ano-Período	9	25,14	2,79	1,32	0,223966
		Error	477	1009,76	2,12		

Tabela 5: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade dentro do setor Norte, considerando o fator Período-Ano (Seco/Chuvoso; Anos 1, 2, 3, 4, 5 e 6), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	p
NORTE	J	Intercept	1	188,83	188,83	163950,13	0,000000
		Ano-Período	9	0,05	0,01	4,55	0,000014
		Error	269	0,31	0,00		
	H'	Intercept	1	305,53	305,53	119411,75	0,000000
		Ano-Período	9	0,15	0,02	6,62	0,000000
		Error	269	0,69	0,00		
	Densidade	Intercept	1	8476,28	8476,28	4523,34	0,000000
		Ano-Período	9	46,03	5,11	2,73	0,004617
		Error	269	504,08	1,87		

Tabela 6: Resultados da ANOVA para os Índices Ecológicos (H' e J) e Densidade dentro do setor Foz e seus respectivos subsetores (Norte, Central e Sul), considerando o fator Período-Ano (Seco/Chuvoso; Anos 1, 2, 3, 4, 5 e 6), entre as campanhas de outubro/2018 a outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest.

ANOVA							
			Degr. of	SS	MS	F	p
FOZ	J	Intercept	1	378,06	378,06	281617,64	0,000000
		Ano-Período	9	0,13	0,01	10,68	0,000000
		Error	508	0,68	0,00		
	H'	Intercept	1	627,67	627,67	190966,16	0,000000
		Ano-Período	9	0,53	0,06	17,93	0,000000
		Error	508	1,67	0,00		
	Densidade	Intercept	1	19458,17	19458,17	11097,64	0,000000
		Ano-Período	9	205,64	22,85	13,03	0,000000
		Error	508	890,71	1,75		
FOZ NORTE	J	Intercept	1	110,1246	110,1246	67084,83	0,000000
		Ano-Período	9	0,0778	0,0086	5,26	0,000003
		Error	146	0,2397	0,0016		
	H'	Intercept	1	179,54	179,54	58749,73	0,000000
		Ano-Período	9	0,27	0,03	9,76	0,000000
		Error	146	0,45	0,00		
	Densidade	Intercept	1	6164,69	6164,69	3153,27	0,000000
		Ano-Período	9	92,19	10,24	5,24	0,000004
		Error	146	285,43	1,96		
FOZ CENTRAL	J	Intercept	1	145,70	145,70	153704,04	0,0000000
		Ano-Período	9	0,03	0,00	3,50	0,0005006
		Error	188	0,18	0,00		
	H'	Intercept	1	245,66	245,66	87298,05	0,000000
		Ano-Período	9	0,17	0,02	6,61	0,000000
		Error	188	0,53	0,00		
	Densidade	Intercept	1	6767,83	6767,83	4822,81	0,000000
		Ano-Período	9	119,05	13,23	9,43	0,000000
		Error	188	263,82	1,40		
FOZ SUL	J	Intercept	1	118,12	118,12	86366,52	0,000000
		Ano-Período	9	0,06	0,01	5,10	0,000005
		Error	154	0,21	0,00		
	H'	Intercept	1	195,75	195,75	61866,42	0,000000
		Ano-Período	9	0,21	0,02	7,22	0,000000
		Error	154	0,49	0,00		
	Densidade	Intercept	1	6278,39	6278,39	3949,84	0,000000
		Ano-Período	9	73,86	8,21	5,16	0,000004
		Error	154	244,79	1,59		

Os valores de diversidade de Shannon (H') calculados para comunidade zooplancônica apresentam variação temporal associada à sucessão de períodos secos e chuvosos, em todos os setores quando levado em conta todo o período amostral. Ao contrário, a Equitabilidade (J) não registrou diferença estatística significativa, conforme mostrou a análise de variância (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3). Levando em conta a análise descritiva dos dados, é possível observar uma elevada variação espacial, sendo possível constatar que os diferentes setores da área de estudo respondem de forma diferenciada às variações ambientais associadas ao fluxo de vazão do Rio Doce.

Todos os setores apresentaram valores de Shannon (H') significativamente menores durante as campanhas de período chuvoso, geralmente acompanhando o aumento sazonal do fluxo de vazão do Rio Doce (Figura 1, Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3). Durante o período de monitoramento correspondente aos Anos 1 e 2, os menores valores médios para este índice foram registrados nos setores Foz e Norte (Figura 1 B e Figura 1 C). Este último setor abrange pontos amostrais mais distantes da região da Foz, porém representa a resultante da sedimentação do material aportado pelo Rio Doce em resposta às condições locais da dinâmica meteoceanográfica. No ano 3, foram registrados valores médios relativamente baixos em todos os setores no período chuvoso, se elevando, também para todos os setores, durante o período seco. A partir do Ano 4, a variabilidade dos valores de diversidade entre os períodos chuvosos e secos se reduz, padrão este que se mantém com a adição da nova campanha de Outubro de 2023, relativa ao período chuvoso do Ano 6. Porém é preciso ressaltar que Outubro é apenas o início do período chuvoso deste ano, não tendo representado um aumento na vazão do Rio Doce.

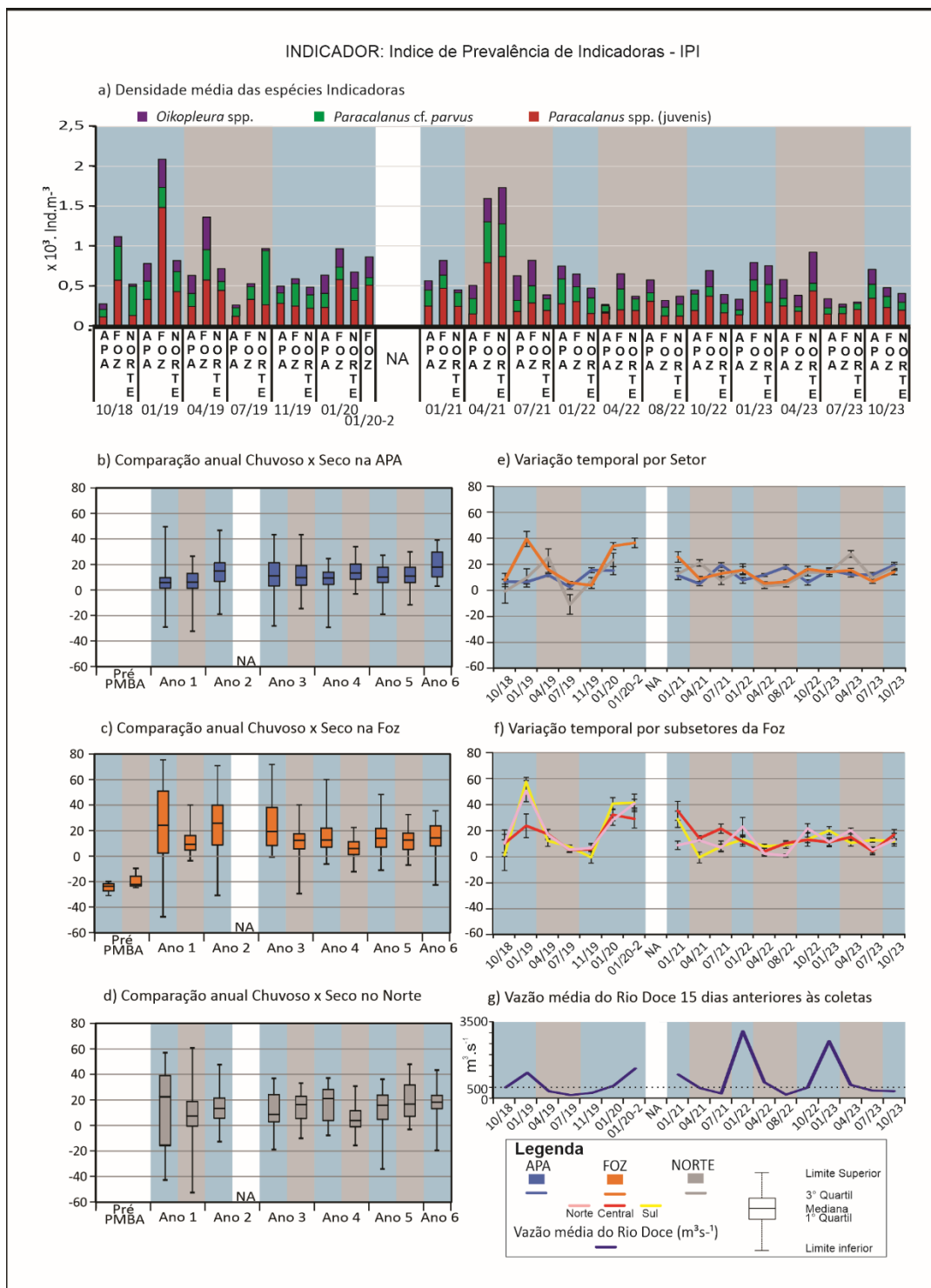
A região que recebe influência direta do Rio Doce (setor Foz) exibiu os menores valores de H' no período chuvoso do Ano 3, com mínimos observados nos subsetores norte e sul e maior valor médio no período seco do Ano 5, mostrando que o aparente padrão de estabilização dos valores de diversidade no comparativo entre os períodos secos e chuvosos pode não se manter, sendo algo circunstancial (Figura 1 B e Figura 1 E). No entanto, ainda carece de uma análise temporal mais longa, a fim de confirmar essa tendência, uma vez que poderia estar relacionada aos eventos de fluxo extremo de vazão nos períodos chuvosos no Rio Doce nos Anos 4 e 5, segundo classificação de OLIVEIRA & QUARESMA (2017). Esse aumento foi acompanhado da elevação da carga de sedimentos em suspensão, que por sua vez causou a redução da concentração de matéria orgânica particulada na água. Grande parte das células fitoplanctônicas compõem a matéria orgânica particulada e representam fonte de alimento para os consumidores primários dentro do zooplâncton, sendo uma das principais vias de incorporação de metais e consequente biomagnificação ao longo da cadeia trófica, principalmente em um local com elevada concentração de metais, como a região costeira próxima da Foz do Rio Doce. Já foi demonstrado que elevada densidade do fitoplâncton tem influência na toxicidade de metais para o zooplâncton (RODGHER & SPÍNDOLA, 2008). Por outro lado, em momentos em que a matéria particulada inorgânica tem predomínio sobre a orgânica, como observado nos últimos anos do monitoramento, os metais se tornam menos biodisponíveis para o zooplâncton.

No setor APA, a elevada variabilidade temporal observada até o período chuvoso do Ano 3 está associada à influência da pluma do Rio Doce, cujo deslocamento é predominantemente para Sul nos

momentos de alta vazão (QUARESMA *et al.*, 2015; RRDM, 2021; 2022). A partir do Ano 3, foi registrado valor médio mínimo de H' na campanha de Janeiro/2021, no período chuvoso, que foi sucedida por aumentos consecutivos de diversidade até atingir uma aparente estabilidade entre as campanhas de Julho/2021 a Abril/2023 (Figura 1 A e Figura 1 D). Assim como nos demais setores, uma queda de diversidade foi observada na campanha de Julho/2023, que retornou posteriormente à valores mais próximos das campanhas anteriores em Outubro/2023. Como apontado nos relatórios anteriores, a remobilização de sedimento de fundo pela ação de ondas e ventos compõem o grupo de fatores responsável pela queda dos valores médios de diversidade quando o fluxo do Rio Doce diminui. Para a equitabilidade de Pielou (J), apesar de não terem sido encontradas diferenças significativas em relação à sazonalidade, quando consideradas todas as campanhas do PMBA/Fest (Figura 2, Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3), é possível observar que os menores valores médios foram registrados no período chuvoso do Ano 3 apresentando valores mínimos nos setores Foz e APA, com subsequente estabilização a partir do Ano 4, assim como observado para os valores de diversidade (Figura 1). Esse padrão de variação também pode ser observado nos subsetores da Foz, que recebem influência direta do aporte de material do rio (Figura 2 E). De forma geral, os baixos valores de J refletem a dominância de espécies e instabilidade da comunidade zooplânctônica durante os momentos de impacto associados aos períodos de alta vazão do Rio Doce, quando também foram registradas as maiores concentrações de metais totais na coluna d'água (RRDM, 2022).

3.2 ÍNDICE DE PREVALÊNCIA DE INDICADORAS (IPI)

Figura 3: **(a)** Variação temporal dos valores de densidade das espécies indicadoras que compõem o Índice de Prevalência de Indicadoras (IPI) para cada um dos setores amostrados entre outubro/2018 e outubro/2023 no âmbito do PMBA/Fest **(b)** Variação dos valores do IPI entre os períodos chuvosos e secos para o Setor APA. **(c)** Variação dos valores do IPI entre os períodos chuvosos e secos para o Setor Foz. **(d)** Variação dos valores do IPI entre os períodos chuvosos e secos para o Setor Norte. **(e)** Variação temporal do valor de IPI por campanha para os Setores APA, Foz e Norte. **(f)** Variação temporal do valor de IPI por campanha para os Subsetores da Foz **(g)** Valores médios do fluxo de vazão do Rio Doce durante os 15 dias anteriores às campanhas amostrais ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$).



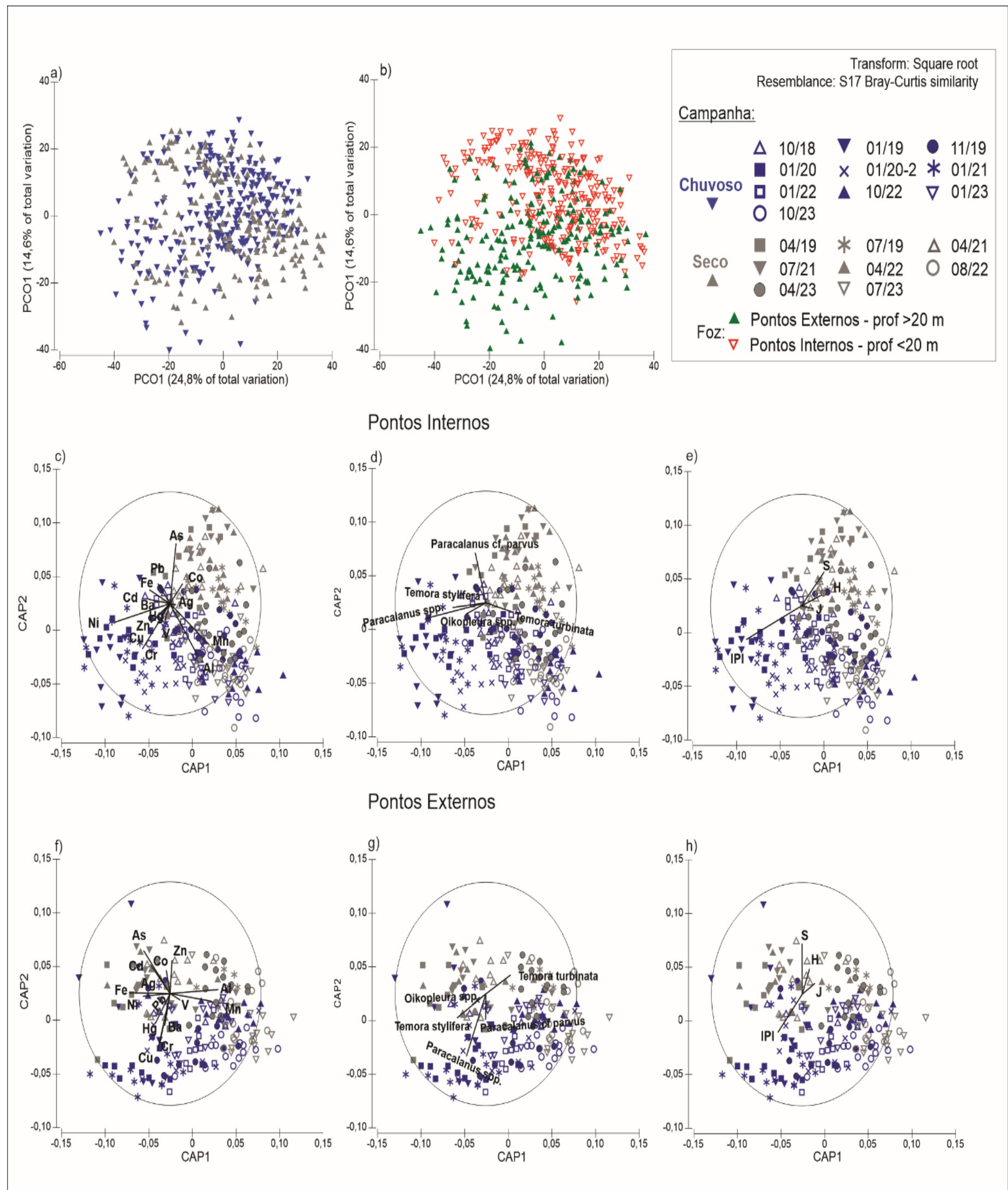
O Índice de Prevalência de Indicadoras (IPI) é composto por taxa zooplanctônicos indicadores de impacto ambiental (Figura 3 A), cujos padrões ecológicos já foram detalhados em relatórios anteriores. Quanto maior o valor de IPI, maior o indicativo de impacto ambiental na região.

Em relação aos setores APA e Norte, os valores de IPI têm tido pouca variação desde o início do monitoramento (Figura 3 B e D), sem diferenças pronunciadas entre os períodos chuvoso e seco, padrão esse que se manteve até a campanha do período chuvoso do Ano 6. A única exceção foi a campanha do período chuvoso do Ano 1 que, no setor Norte, apresentou valores elevados em comparação com as demais campanhas deste Setor, que é o local de destino da resultante de sedimentação e deposição do material aportado pelo Rio Doce (Figura 3 D).

No Setor Foz os resultados do IPI evidenciam uma comunidade mais impactada no período chuvoso, com destaque para as campanhas de janeiro, que consistentemente apresentam os maiores valores médios de IPI, principalmente nos três primeiros anos do monitoramento, indicando maior fragilidade da comunidade zooplanctônica nos períodos de maior vazão do Rio Doce (Figura 3 C e E). Em uma análise temporal, evidencia-se que a diferença entre período chuvoso e seco se reduziu a partir do Ano 4. Em análise por subsetores da Foz, também fica evidenciado o aumento dos valores do índice nos momentos de alta vazão, padrão este que também se reduz a partir do Ano 4, quando os valores se mantiveram com menor variação quando comparados aos primeiros três anos. Nitidamente isso se deu devido à redução dos valores do período chuvoso, e não ao aumento dos valores do período seco (Figura 3F). Esse padrão é o mesmo observado em relação aos valores dos índices de biodiversidade, e podem ser explicados pela vazão exagerada nos períodos chuvosos dos anos 4 e 5, resultando em uma possível menor biodisponibilização dos metais para a comunidade zooplanctônica, como explicado com mais detalhes anteriormente.

Uma novidade apresentada neste RA2023 é a incorporação do cálculo dos dados pretéritos do IPI de 2013, oriundos do projeto de Caracterização Ambiental da Bacia do Espírito Santo e porção norte da Bacia de Campos (AMBES) (Petrobras, 2015), após selecionarmos os pontos com correspondência com a malha amostral do PMBA. Isso foi possível, pois o cálculo do IPI é feito a partir das abundâncias relativas das espécies e não dos seus valores de densidade. Como a metodologia de coleta do AMBES foi diferente do PMBA/Fest, não podemos fazer comparações em relação à densidade dos organismos, mas em relação à composição da comunidade, ou seja, da abundância relativa das espécies isso não é um problema. Tais dados pretéritos deixam claro que, mesmo levando em conta a possível estabilização da comunidade a partir do Ano 4 (o que ainda carece de confirmação em condição de alta vazão “normais”), a comunidade zooplanctônica ainda está longe de atingir o patamar de conservação observado antes do rompimento da barragem de minério e chegada do material de rejeito na região costeira, o que fica evidente, pois os dados de IPI eram negativos.

Figura 4: Análises multivariadas complementares aplicadas à comunidade zooplancônica do setor Foz de acordo com período amostral e variação espacial no âmbito do PMBA/Fest: Análise de Coordenadas principais (PCO) considerando os fatores (a) período (seco/chuvoso) e (b) variação espacial (pontos internos/pontos externos). Análise Canônica de Coordenadas Principais (CAP) de acordo com a variação espacial. Pontos internos: (c) concentração de metais totais, (d) espécies representativas da comunidade e (e) índices ecológicos. Pontos externos: (f) concentração de metais totais, (g) espécies representativas da comunidade e (h) índices ecológicos.



De acordo com a análise de ordenação (PCO) a comunidade zooplancônica amostrada no setor Foz do Rio Doce apresentou baixa distinção temporal com relação aos períodos seco e chuvoso, quando levamos em conta todo o período amostral, o que reflete a aparente estabilização observada a partir do Ano 4 (Figura 4 A). Por outro lado, a variação espacial foi marcada pela distinção entre os pontos internos, localizados em isóbatas menores que 20 m, e os pontos externos, mais profundos (Figura 4 B). Assim sendo, a análise de coordenadas principais (CAP) foi realizada separadamente para os pontos internos e externos do setor Foz, e os resultados indicaram correlações significativas entre as concentrações de metais totais na coluna d'água e a variação da comunidade zooplancônica (CAP, $p < 0,05$; Figura 4 C e F). Para os pontos internos, a análise apresentou maior diferenciação da comunidade entre os períodos seco e

chuvoso, sendo que as concentrações de metais foram majoritariamente associadas às campanhas de período chuvoso, com destaque para os elementos Ni e Cr (Figura 4 C; $r > 0,3$). Os elementos Al e Mn também apresentaram elevadas correlações e foram positivamente associados a campanhas de ambos os períodos ($r > 0,3$), muito em função da forte relação observada com as campanhas que compreendem o período de Agosto de 2022 até Julho de 2023 (Anos 4 e 5), excetuando a campanha de Abril de 2023. Já o agrupamento referente ao período seco esteve associado às maiores concentrações de As e Co. Nos pontos externos, também foi possível observar uma diferenciação da comunidade zooplânctônica de acordo com período seco e chuvoso; entretanto, as concentrações de metais apresentaram distribuição mais homogênea entre os agrupamentos, com altas correlações associadas às campanhas de ambos os períodos (Figura 4 F).

A abundância relativa das espécies representativas e os índices ecológicos da comunidade também foram importantes aspectos na caracterização dos agrupamentos sazonais tanto nos pontos internos (Figura 4 D e E) quanto externos (Figura 4 G e H). Em períodos de menor vazão, é esperado que a diversidade seja maior, uma vez que a influência do material proveniente do Rio Doce é reduzida (ROCHA *et al.*, 2022; CONCEIÇÃO *et al.*, 2021).

Nos pontos internos da Foz, *Temora stylifera*, *Oikopleura* spp. e juvenis de *Paracalanus* spp. mostraram maior correlação com o período chuvoso (Figura 4 D), corroborando com os resultados obtidos por Rocha *et al.* (2022), onde os autores constataram a maior tolerância destes grupos frente a condições de maior *stress*. A maior abundância relativa de *Oikopleura* spp e dos juvenis de *Paracalanus* spp nos períodos chuvosos é refletido nos valores de IPI, que foram fortemente associados à tais campanhas, principalmente nos pontos internos (Figura 4 E e H), indicando também uma resposta do índice frente aos períodos de maior vazão do Rio Doce. Altas taxas de mortalidade de *Paracalanus* devido ao impacto ambiental antrópico e perda por predação podem ser compensadas por sua reprodução contínua e taxa de crescimento rápido em altas temperaturas, o que resulta no domínio de formas juvenis durante períodos de maior impacto (CHEW & CHONG, 2016; TURNER, 2004).

De forma geral, os padrões citados acima estão menos relacionados quando analisamos apenas os pontos externos. Os resultados sugerem que na região além da isóbata de 20 metros a distribuição da comunidade está sujeita à maior ação de forçantes oceânicas, enquanto os pontos internos sofrem influência direta da pluma do Rio Doce. Com isso, fica evidenciada a heterogeneidade da malha amostral, mesmo dentro de cada um dos setores.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO

Muitas variáveis estão envolvidas no processo de distribuição do zooplâncton em ambientes costeiros. No âmbito do PMBA/Fest, foi possível observar que mesmo considerando essa diversidade de fatores, existe uma clara relação entre a estrutura e composição da comunidade zooplânctônica e os períodos sazonais, que refletem diretamente no fluxo do Rio Doce e no aporte de material que chega à região costeira e suas adjacências. Mesmo que mudanças na distribuição dos organismos do zooplâncton

sejam naturalmente esperadas em respeito à sazonalidade, existem evidências suficientes, obtidas através dos dados analisados durante o monitoramento, desta distinção entre as mudanças naturais e as de consequência do impacto gerado pelo rompimento da barragem.

Essas evidências foram traduzidas através dos indicadores apontados pelo tema, que apresentaram respostas consistentes e concordantes em relação ao objeto de estudo do PMBA/Fest, apesar da complexidade envolvida em sumarizar a resposta dos 532 taxa encontrados durante o monitoramento frente às diferentes condições encontradas no ambiente costeiro após o rompimento da barragem de mineração e sua posterior chegada à região costeira.

Desta forma, os indicadores aplicados buscam elucidar não só respostas em nível de comunidade, como os índices de Diversidade de Shannon (H') e Equitabilidade de Pielou (J), como também em nível populacional (das espécies), a exemplo do Índice de Prevalência de Indicadoras (IPI), obtido através da análise das espécies identificadas como chave para a observação dos impactos, tanto por sua representatividade durante o monitoramento, como por suas características ecofisiológicas.

Tanto o setor APA como o setor Norte apresentaram, de um modo geral, indicadores de impacto menos intensos do que o Setor Foz. Isso é ainda mais evidente em relação ao Setor APA, que apresentou fortes indicativos de uma comunidade zooplanctônica menos impactada do que os demais setores de acordo com os resultados dos nossos indicadores. O Setor APA compreende uma Área de Proteção Ambiental e, apesar de também receber a pluma do Rio Doce, principalmente em momentos de alta vazão, aparentemente esta não causa o mesmo impacto negativo observado no Setor Foz. É preciso também discutir a importância do nível de proteção ambiental de toda a região e como isso impacta nas melhores condições da comunidade zooplanctônica no local.

Em relação ao Setor Norte, apesar de ser o destino da resultante de sedimentação do material aportado pelo Rio Doce, os efeitos sobre a comunidade zooplanctônica também são menores quando comparado com o Setor Foz, porém em algumas campanhas apresentou valores de diversidade comparáveis com os registrados no Setor Foz, o que deve ser o suficiente para levantar um alerta sobre a região. Porém, afirmações mais assertivas não seriam possíveis neste momento, com essa malha amostral, devido à heterogeneidade natural da região, que é bastante ampla, contando com muitas outras influências fluviais que não o Rio Doce, que é o objeto de monitoramento do PMBA/Fest.

Em relação ao Setor Foz, os resultados da aplicação dos indicadores mostraram uma relação direta dos impactos na estrutura da comunidade com o fluxo do Rio Doce e, principalmente, com as concentrações de metais na água. O impacto direto incidido sobre o Setor Foz reflete nos baixos valores de diversidade e altos valores de IPI, que indicam uma comunidade dominada por espécies resistentes a essas condições ambientais adversas em detrimento de espécies mais sensíveis, que tem sua população reduzida ou eliminada do ambiente.

Em análise temporal, notamos novamente que o padrão de resposta dos diferentes indicadores apresentados é concordante, indicando um início de monitoramento com diferença significativa entre os períodos chuvosos e secos até o Ano 3. Além disso, até o Ano 3, todos os indicadores também são

concordantes em apontar consistentemente que as diferenças entre períodos chuvosos e secos se devem a uma comunidade zooplancônica mais impactada durante os períodos chuvosos, quando a região costeira recebe maior aporte de metais provenientes da calha do Rio Doce, como foi demonstrada a sua relação através das análises multivariadas.

A análise de variância (ANOVA) nos mostra que para os três primeiros anos do monitoramento na Foz do Rio Doce, tanto os valores de diversidade como de Equitabilidade são significativamente diferentes entre si quando comparamos os períodos secos e chuvosos, sempre com valores menores dos índices para o período chuvoso, indicando uma comunidade mais impactada ($p=0,000$) (com ressalva para o Ano 2 que não teve coleta no período seco devido a medidas sanitárias em relação a pandemia de COVID-19). No Ano 4, a diferença se manteve significativa para Equitabilidade, mas não para diversidade e, ainda assim, a diferença significativa para Equitabilidade apontou valores maiores para o período chuvoso, que foge do padrão dos três primeiros anos. Já no Ano 5, os valores não foram significativamente diferentes para nenhum dos dois índices ($p>0,05$).

Sobre os anos 4 e 5, é preciso apontar que os momentos de alta vazão foram atípicos na intensidade da vazão do Rio Doce, estando em ambos os casos muito acima da média e dentro do que seria considerado um “evento de fluxo extremo” (OLIVEIRA & QUARESMA, 2017). Esses eventos de fluxo extremo foram acompanhados de aumento da carga de sedimentos em suspensão e redução da concentração de matéria orgânica particulada na água. Grande parte das células fitoplancônicas compõem a matéria orgânica particulada, e representam fonte de alimento para os consumidores primários dentro do zooplâncton, sendo ainda uma das principais vias de incorporação de metais e consequente biomagnificação ao longo da cadeia trófica marinha. Isso é ainda mais importante em um local com elevada concentração de metais, como a região costeira próxima da Foz do Rio Doce. Já foi demonstrado que elevada densidade do fitoplâncton tem influência na toxicidade de metais para o zooplâncton (RODGHER & SPÍNDOLA, 2008). Por outro lado, quando a matéria particulada tem predomínio da fração inorgânica sobre a orgânica, como observado nos últimos anos do monitoramento, os metais se tornam menos biodisponíveis para o zooplâncton, reduzindo o impacto na comunidade sem que necessariamente a concentração de metais tenha sido reduzida no ambiente (RODGHER & SPÍNDOLA, 2008).

Ainda na análise temporal, foi possível apresentar dados pretéritos a partir da incorporação do IPI como indicador devido ao fato do seu cálculo ser baseado em abundância relativa, e não em densidade de taxa. Essa abordagem nos permitiu constatar que, mesmo considerando a aparente estabilização dos valores dos indicadores a partir do Ano 4, e a possível manutenção desta estabilização nos anos subsequentes, ainda assim falta muito para a comunidade zooplancônica retomar o patamar de conservação que apresentava antes do rompimento da barragem.

5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

Todos os itens previstos foram cumpridos pelo Tema.

6 REFERÊNCIAS

- Anderson, M. J.; Gorley, R. N.; Clarke, K. R., 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to software and statistical methods. Plymouth: Primer-E Ltd.
- Baird, R.B.; Eaton, A.D.; Rice, E.W. (Eds.) 2017. Standard methods for the examination of water and wastewater. 23rd ed. Washington DC: APHA Press.
- Benedetti, F.; Gasparini, S.; Ayata, D., 2016. Identifying copepod functional groups from species functional traits. *Journal of Plankton Research* 38: 159-166.
- Boltovskoy, D. 1981. Atlas del zooplancton del Atlántico Sudoccidental y métodos de trabajo con el zooplancton marino.
- Boltovskoy, D. 1999 (Ed.). South Atlantic Zooplankton. Backhuys Publishers, Leiden.
- Campos, C.C.; Garcia, T.M.; Neumann-Leitão, S.; Soares, M.O., 2017. Ecological indicators and functional groups of copepod assemblages. *Ecological Indicators*, 83, 416-426.
- Chew, L. L.; Chong, V. C., 2016. Response of marine copepods to a changing tropical environment: winners, losers and implications. *PeerJ*, 4, e2052.
- Clarke, K.R.; Gorley, R.N., 2006. PRIMER v6: User Manual/Tutorial. Plymouth: PRIMER-E.
- Conceição, L.R., Demoner, L.E., Pereira, J.B., Perassoli, F., Ghisolfi, R.D., Bastos, A.C., et al., 2021. Copepod community structure after a mining dam disaster in the Southwestern Atlantic Ocean. *Estuar. Coast. Shelf Scie*, 254, 107325.
- Harris, R.; Wiebe, P.; Lenz, J.; Skjoldal, H.-R.; Huntley, M. 2000 *ICES Zooplankton Methodology Manual*; Academic Press.
- Hill, T. & Lewicki, P., 2007. STATISTICS: Methods and Applications. StatSoft, Tulsa.
- Hoover, R. S., Hoover, D., Miller, M., Landry, M. R., DeCarlo, E. H., Mackenzie, F. T. 2006. Zooplankton response to storm runoff in a tropical estuary: bottom-up and top-down controls. *Marine Ecology Progress Series*, 318, 187-201.
- Oliveira, K. S. S., & da Silva Quaresma, V. 2017. Temporal variability in the suspended sediment load and streamflow of the Doce River. *Journal of South American Earth Sciences*, 78, 101-115.
- Petrobras. 2015. Relatório Final do Projeto de Caracterização Ambiental Regional da Bacia do Espírito Santo e Parte Norte da Bacia de Campos (PCR-ES/AMBES). Anexo II.2.2-6 – Estrutura da Comunidade Zooplanctônica: Descritores espaciais e temporais.

Quaresma, V.D.S.; Catabriga, G.; Bourguignon, S.N.; Godinho, E.; Bastos, A.C., 2015. Modern sedimentary processes along the Doce river adjacent continental shelf. *Brazilian Journal of Geology*, 45(4), 635-644.

Rocha, G. M., Salvador, B., de Souza Laino, P., Santos, G. H. C., Demoner, L. E., da Conceição, L. R., ... & Fernandes, L. F. L. 2022. Responses of marine zooplankton indicators after five years of a dam rupture in the Doce River, Southeastern Brazil. *Science of The Total Environment*, 806, 151249.

Rodgher, S., & Espíndola, E. L. G. 2008. The influence of algal densities on the toxicity of chromium for *Ceriodaphnia dubia* Richard (Cladocera, Crustacea). *Brazilian Journal of Biology*, 68, 341-348.

RRDM, Rede Rio Doce Mar, Relatório Semestral de Evolução (RSE). RT-37, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. 143 pag. 2021.

RRDM, Rede Rio Doce Mar. Relatório Anual do PMBA/Fest-RRDM - Síntese integrativa entre ambientes. RT-39E, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. 150 pag. 2022.

Tukey, J. W., 1977. *Exploratory data analysis*. Reading, MA: Addison -Wesley.

Turner, J. R.; Thayer, J. F., 2001. *Introduction to analysis of variance: Design, analysis, & interpretation*. Thousand Oaks, CA: Sage Publications.

Turner, J. T., 2004. The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. *Zoological studies*, 43(2), 255-266.

USEPA (United States Environmental Protection Agency). 2016. *Standard Operating Procedure for Zooplankton Analysis*. LG403. Revision.

Uttah, E.; Ogbeche, J.; Ukpong, G.I.; Ajang, R.; Iboh, C.; Ayanda, O.I., 2013. The Taxa Structure and Composition of Zooplankton Communities of Bonny Estuary: A Bio-indication of Anthropogenic Activities. *The Pacific Journal of Science*.