

**ALTERAÇÕES ECOLÓGICAS NA DINÂMICA DOS MANGUEZAIS E VEGETAÇÃO DE
RESTINGA SOB INFLUÊNCIA DOS SEDIMENTOS PROVENIENTES DO RIO DOCE
(ANEXO 5)**

SUB-PROJETO: MANGUEZAL

1. EQUIPÉTICA

Nome	Função	Instituição
Mônica Maria Pereira Tognella	Coordenação Geral	UFES
Antelmo Ralf Falqueto	Sub coordenação Fisiologia Vegetal	UFES
Adriano Alves Fernandes	Cultivo ex situ e nutrição vegetal <i>in situ</i> e <i>ex situ</i>	UFES
Anders Schmidt	Dinâmica da Fauna Monitoramento Caravelas	UFESB
Andreia Barcellos Passos Lima Gontijo	Cultivo <i>ex situ</i> e análise de metais vegetação	UFES
Filipe Chaves	Estrutura de Florestas Monitoramento Caravelas	UERJ
Helia Del Carmen Espinoza Farias	Cartografia e Mapeamento de habitats	UNIVALI
Ivoney Gontijo	Mapeamento sedimentos Intertidal Foz do Rio Doce Análise dos sedimentos	UFES
Marcelo Barcellos da Rosa	Avaliação dos efeitos tóxicos sobre o metabolismo primário das florestas de manguezal	UFESM
Mário Luis Gomes Soares	Dinâmica das Florestas Monitoramento Caravelas	UERJ
Simone Rabelo Cunha	Análises Estatísticas	UFPE
Vander Calmon Tosta	Análises Estatísticas e Fauna	UFES
Profissional Mestre II	Pesquisador	UFES
Profissional Mestre II	Pesquisador	UFES
Profissional Mestre I	Pesquisador	UFES
Profissional Mestre II	Pesquisador	UFES
Pós-Doutorado	Pesquisador	UFES
Profissional Mestre II	Pesquisador	UFES
Profissional Júnior	Pesquisador	UERJ
Profissional Júnior	Pesquisador	UERJ
Profissional Júnior	Pesquisador	UFES
Pós-Doutorado	Pesquisador	UFES
Técnico de Nível Médio	Pesquisador	UFES
Técnico de Nível Médio	Pesquisador	UFESB
Técnico de Nível Médio	Pesquisador	UNIVALI
Iniciação Científica	Pesquisador	UFES

Iniciação Científica	Pesquisador	UERJ
Iniciação Científica	Pesquisador	UERJ
Iniciação Científica	Pesquisador	UFPE
Iniciação Científica	Pesquisador	UFSB

2. ESCOPO

Este anexo envolve o monitoramento e avaliação dos manguezais distribuídos ao longo da costa norte do litoral capixaba até o litoral sul da Bahia. Como pontos focais foram selecionadas as seguintes áreas de estudo: Estuário do Rio Piraquê, bosques de franja nos arrecifes e Estuário do Rio Riacho (Aracruz); Foz do Rio Doce e Estuário do Rio Uruçuquara (Linhares); Estuário do Rio Mariricu (Barra Nova) e Estuário do São Mateus (São Mateus e Conceição da Barra); e Estuário do Rio Caravelas (Caravelas - BA). Além dos aspectos de monitoramento ambiental envolvendo as florestas de manguezal nas áreas, serão realizados estudos de análise da dinâmica estuarina para avaliação do processo de dispersão dos contaminantes (se houver) e dos propágulos de áreas fontes por ventura contaminadas. Esta caracterização que irá envolver análise da entrada de ondas nos estuários e vazão dos rios permitirá modelar a estratigrafia do estuário em relação a salinidade que por sua vez contribui para o entendimento da dispersão dos contaminantes nas áreas de estudo.

Esforços serão concentrados na análise da produção primária das florestas e na avaliação da presença/concentração de metais nos compartimentos vegetais e no sedimento. Subsequente, cultivos *ex situ* serão realizados inicialmente com o contaminante Fe para diagnóstico da concentração tóxica e avaliação de alterações morfológicas e fisiológicas que possam ocorrer.

Em relação a fauna, haverá concentração sobre as espécies chave no ecossistema manguezal e que são de importância econômica ou que se encontrem em risco de extinção. Os caranguejos *U. cordatus* e *C. guahumii* terão suas populações avaliadas e monitoradas nos pontos focais. *U. cordatus*, por sua importância econômica para as comunidades tradicionais, terá sua fertilidade monitorada.

3. OBJETIVO

Avaliar as áreas de manguezal no litoral norte capixaba e extremo sul da Bahia para monitoramento da dispersão dos contaminantes provenientes do rompimento da barragem de contenção de material da mineradora SAMARCO e suas consequências sobre a biota e qualidade ambiental destas florestas.

4. METAS E JUSTIFICATIVAS

As coordenadas especificadas na TR são pontos com as coordenadas geográficas de latitude e longitude aproximadas da região da foz dos seguintes rios: Rios Piraquê-Açu e Mirim (377123.22 m E, 7793841.94 m S), Rio Urussuquara (424260.44 m E, 7888200.89 m S), Rio Mariricu (422327.64 m E, 7904144.61 m S) e Rio São Mateus (422676.94 m E, 7943585.45 m S), Caravelas (422676.94 m E, 7943585.45 m S).

Meta 1- Impactos na flora do Rio Doce

- 1.1. Estrutura da vegetação halófitas na planície lamosa do estuário do Rio Doce.
- 1.2. Determinação da produção primária por meio de técnica de assimilação de carbono. Estimativa dos dados de fotossíntese, da concentração dos pigmentos fotossintéticos, da respiração e de uso efetivo da água.

Justificativa da Meta 1: Etapa proposta de monitoramento por meio de obtenção de dados de fisiologia vegetal que identifiquem estresse ambiental ou perda de qualidade da floresta e correlacionar com os dados abióticos de dispersão e concentração dos contaminantes no corpo hídrico e sedimento, se pertinente. Em longo prazo será possível identificar se há sinergismo das concentrações dos contaminantes com os tensores naturais do ambiente e suas consequências para a resiliência do ecossistema e sua conservação com qualidade.

Meta 2- Estrutura e Funcionamento dos Manguezais de São Mateus, Mariricu (Barra Nova e Nativo), Barra Seca (Urussuquara), Aracruz (Barra do Riacho, Santa Cruz e Piraquê-Açu, Mirim) e Caravelas.

- 2.1. Estrutura da Floresta nas porções baixo, médio e alto estuário com estabelecimento de parcelas fixas nos bosques de franja e bacia.
- 2.2. Aquisição de dados de produção primária (fotossíntese, fluorescência, pigmentos).
- 2.3. Amostragem de material para coleta de contaminantes.

Justificativa da Meta 2: Etapa proposta de monitoramento por meio de obtenção de dados de fisiologia vegetal que identifiquem estresse ambiental ou perda de qualidade da floresta e correlacionar com os dados abióticos de dispersão e concentração dos contaminantes no corpo hídrico e sedimento, se pertinente. Em longo prazo será possível identificar se há sinergismo das concentrações dos contaminantes com os tensores naturais do ambiente e suas consequências para a resiliência do ecossistema e sua conservação com qualidade. Os pontos focais selecionados são estuários que estiveram sob influência da pluma de sedimentos que se dispersou e se depositou ao longo destes litorais. O monitoramento em longo prazo se faz necessário, uma vez que este material poderá ser fonte constante de contaminação.

Meta 3- Diagnóstico sobre a fauna do manguezal, compartimento caranguejos.

3.1. Avaliação da estrutura populacional dos decápodes da espécie *Ucides cordatus* e *Cardisoma guahumii* nos estuários dos Rios Piraquê (Açú e Mirin), Rio Riacho, Barra Seca, Mariricu, São Mateus e Caravelas e espécies de decápodes do manguezal de franja do RVS de Santa Cruz.

3.2. Mapeamento dos habitats das espécies de *Ucides cordatus* e *Cardisoma guahumii* nos estuários dos Rios Piraquê (Açú e Mirin), Rio Riacho, Barra Seca, Mariricu, São Mateus e Caravelas e espécies de decápodes do manguezal de franja do RVS de Santa Cruz.

Justificativa da Meta 3: Etapa necessária uma vez que as áreas costeiras, que estão sob influência da pluma de sedimentos originada pelo rompimento da barragem de contenção de minérios da SAMARCO, são habitats para as espécies *U. cordatus* e *C. guahumii*. Sendo ambas importantes ecologicamente como engenheiras do ecossistema e economicamente como recursos naturais que sustentam uma gama de comunidades tradicionais com base no extrativismo. A segunda espécie é considerada em extinção no litoral capixaba o que torna mais significativo seu monitoramento, uma vez que sua captura foi proibida visando a conservação destas populações. Existem vários estudos que comprovam os danos letais que os metais provocam nestas espécies tanto por sua ação tóxica aguda quanto pela bioacumulação. Reforça-se a necessidade de monitoramento em longo prazo e por isto está sendo realizado o acompanhamento da fertilidade. Ressalta-se que o recurso econômico *U. cordatus* já esteve sob pressão nestes estuários durante o evento da Doença do Caranguejo Letárgico (DCL) e que se encontrava em recuperação. Portanto, os metais poderão agravar este processo.

Meta 4- Diagnóstico de contaminação da vegetação do manguezal por metais nas áreas de estudo.

4.1. Experimentos *insitu*.

4.2. Experimentos *in situ* de Variabilidade Espacial.

4.3. Experimentos *ex situ*.

4.4 Variabilidade espacial e correlação de metais pesados em sedimentos e vegetação de mangue na região atingida pelos rejeitos de mineração na foz do Rio Doce.

Justificativa da Meta 4: Esta etapa juntamente com a etapa 2 e a etapa 5 vão contribuir para o diagnóstico da contaminação das florestas de manguezais nos pontos focais. Com os dados da etapa 2 e os objetivos desta meta será possível avaliar o impacto que o aumento dos metais tóxicos e não tóxicos podem ter sobre o desenvolvimento e a manutenção da qualidade ambiental destas florestas. A meta 5 permitirá, juntamente com o monitoramento da contaminação da área costeira, dispersão e depósito dos contaminantes estabelecer onexo causal do dano, uma vez que não existem dados pretéritos, salvo raríssimas situações, nos pontos focais que comprovem a contaminação. Por outro lado, salvo melhor juízo, não houve obtenção destes dados uma vez que se comprovou a dispersão da pluma de sedimentos para estas regiões.

Meta 5- Caracterização da dinâmica estuarina nos Rios São Mateus, Mariricu e Piraquê.

5.1. Caracterização da cunha salina nas áreas de estudo com monitoramento em ciclo de maré no alto e baixo estuário.

Justificativa da Meta 5: Etapa extremamente importante uma vez que contribuirá para entender os padrões de inundação dos estuários e conseqüentemente realizar um macrodiagnóstico da probabilidade de dispersão dos contaminantes em cada sistema. Este estudo associado aos demais realizados na zona costeira vai contribuir para determinar potencialidade de contaminação ou não dos estuários. Seu monitoramento em longo prazo trará maiores contribuições para o entendimento dos processos de contaminação e tempo de resiliência dos sedimentos e contaminantes na região costeira estuarina.

5. PRODUTOS

<p align="center">5.1. DADOS BRUTOS <i>(Listar os dados que serão entregues como produto, segundo o TR4, tanto os coletados in situ como os processados no laboratório)</i></p>	<p align="center">RESPONSÁVEL <i>(Pessoal Vinculado)</i></p>
<p>Meta 1</p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 parcelas fixas realizadas - Coletas de dados trimestrais de fluorescência e fotossíntese - Coleta, processamento e análises semi dados - Analise dos dados de produção primária 	<p align="center">Mônica Tognella Antelmo Falqueto</p>
<p>Meta 2</p> <ul style="list-style-type: none"> - 3 a 12 parcelas fixas por ponto focal realizadas no litoral capixaba - Coleta e análise de dados bimensais de fluorescência e fotossíntese no litoral capixaba - Coleta e análises semestrais de pigmentos - Coleta e processamento de amostras semestrais de folhas para análise de metais - Coleta e processamento de sedimentos semestrais para análise de metais e granulometria - Planejamento estatístico para coleta de dados e interpretação dos resultados - 12 parcelas fixas em Caravelas. - Coleta semestrais de folhas e sedimentos em Caravelas para análise de metais. - Análise dos dados de estrutura Caravelas e litoral capixaba. - Processamento das amostras de metais em material vegetal. - Processamento das amostras de metais no sedimento - Coleta de dados bimensais de fluorescência, pigmentos e fotossíntese em Caravelas. 	<p align="center">Mônica Tognella Antelmo Falqueto Adriano Alves Ivoney Gontijo Filipe Chaves Mário Soares Maria Teresa* Renato Neto*</p>

<p align="center">5.2. ANÁLISE DE DADOS <i>(Relacionar as análises que serão feitas e entregues até o 15º mês de vigência do Projeto)</i></p>	<p align="center">RESPONSÁVEL <i>(Pessoal Vinculado)</i></p>
<p>Meta 1</p> <ul style="list-style-type: none"> - Análise espaço-temporal da produção primária na vegetação halófitas do Rio Doce. - Discussão dos dados de produção primária considerando sua integração a variabilidade espacial dos sedimentos e metais na foz do Rio Doce. - Discussão dos dados de produção primária considerando a dinâmica do estuário na foz do Rio Doce. 	<p align="center">Antelmo Ralf Falqueto, Andreia Gontijo Mônica Tognella. Ivoney Gontijo, Adriano Alves Valéria Quaresma* Renato Neto.</p>
<p>Meta 2</p> <ul style="list-style-type: none"> - Análise espacial da estrutura das florestas de manguezal nos estuários. - Análise espaço-temporal dos dados de produção primária nos pontos focais. - Análise espaço-temporal dos dados de metais no sedimento e na vegetação. - Correlação entre a distribuição espacial da estrutura espaço-temporal da produção primária e dos metais com os dados de dinâmica nos estuários. 	<p align="center">Mônica Tognella Mário Soares Filipe Chaves. Antelmo Falqueto Simone Cunha. Adriano Alves Ivoney Gontijo Andreia Gontijo. Valéria Quaresma*</p>

<p>Meta 3</p> <ul style="list-style-type: none"> - Análise espaço-temporal da estrutura dos caranguejos <i>U. cordatus</i> e <i>C. guahumii</i>. - Análise da fertilidade de <i>U. cordatus</i>. - Mapeamento dos habitats para <i>U. cordatus</i> nas áreas de estudo do litoral capixaba de acordo com imagens disponíveis. - Mapeamento dos habitats para <i>C. guahumii</i> nas áreas de estudo do litoral capixaba de acordo com imagens disponíveis. 	<p>Anders Schmidt Vander Tosta Mônica Tognella. Helia Farias</p>
<p>Meta 4</p> <ul style="list-style-type: none"> - Análise da toxicidade do Fe para a espécie <i>R. mangle</i> em cultivos <i>ex situ</i>. - Determinação da taxa de mortalidade nos experimentos e taxa decrescimento. - Correlação entre mortalidade e toxicidade, bem como potencialidade com relação aos dados de metais obtidos em campo. - Análise do estresse causado pelo efeito tóxico do Fe na produção primária. - Análise da atividade antioxidante e radicular e sua correlação com os contaminantes. - Correlação entre os efeitos tóxicos obtidos nos experimentos e os dados coletados em campo. 	<p>Andreia Gontijo Adriano Alves Antelmo Falqueto Mônica Tognella. Mário Soares Marcelo da Rosa Simone Rabelo Ivoney Gontijo</p>
<p>Meta 5</p> <ul style="list-style-type: none"> - Avaliação do comportamento hidrodinâmico dos estuários estudados. - Correlação entre ciclo de maré e contaminantes na coluna d'água. - Correlação entre ciclo de maré e contaminantes nas florestas de manguezal. 	<p>Daniel Rigo* Renato Neto Valéria Quaresma Mônica Tognella. Andreia Gontijo Adriano Alves Antelmo Falqueto Mário Soares Marcelo da Rosa Simone Rabelo Ivoney Gontijo</p>

*Professores integrantes do projeto geral, mas listados em equipes técnicas de outros sub-projetos.
Os dados produzidos serão ainda comparados e analisados com dados pretéritos existentes

6. METODOLOGIA

6.1 - Impactos na flora do Rio Doce.

A - Monitorar a fitossociologia da vegetação paludal na foz do Rio Doce.

6.1.1. Definição da atual estrutura e descrição das espécies halófitas facultativas. Acompanhamento do desenvolvimento em biomassa das espécies arbustivas e arbóreas.

Nesta meta serão realizadas saídas de campo para estimar a fitossociologia da vegetação paludal e halófitas facultativas que vão compor a comunidade vegetal nas margens situadas na foz do Rio Doce.

Para isto serão realizadas cinco parcelas fixas, com dimensões variáveis de acordo com a estrutura da vegetação. Estas parcelas terão sua delimitação definida geograficamente com emprego de RTK (Trimble R4Base) que permite a obtenção de dados de latitude e longitude em tempo real e precisão de milímetros.

Dados da estrutura da comunidade serão obtidos como: diâmetro e altura das árvores e arbusto. Para isto serão empregados trenas calibradas em $\square\square$ e telêmetro (Tognella De Rosa, 2000). Dados de biomassa quando possível, isto é, vegetação herbácea será coletada em áreas pré-definidas e levadas ao laboratório para tomada de peso seco, por espécie (Cunha *et al.* 2006). Cada espécie de porte arbóreo será marcada

com lacre numerado para que as parcelas fixas sejam monitoradas anualmente ao longo de um período de cinco anos.

Os dados obtidos em campo serão analisados de acordo com os parâmetros da população para avaliação da densidade, composição, biomassa, abundância e índice de importância da espécie em cada parcela. Estes parâmetros serão acompanhados nas avaliações anuais e tratados estatisticamente, de acordo com análises não paramétricas, para avaliar comparar se estão acontecendo modificações significativas na estrutura da comunidade (Zar, 1998).

Para efeitos de diagnóstico dos impactos que possam ser oriundos dos sedimentos depositados e de origem do dano provocado pelo rompimento da represa de contenção de dejetos da mineração, há necessidade de coletas de sedimentos em cada parcela, anualmente, para que sejam avaliados o grau de contaminação de metais, análise granulométrica, teor de matéria orgânica entre outros parâmetros. A metodologia de coleta e de análise dos parâmetros definidos anteriormente serão descritas nos projetos relativos as linhas de pesquisa de sedimentologia e de geoquímica (buscando a padronização das coletas com os demais anexos para que os dados tenham os mesmos procedimentos metodológicos)

6.1.2. Determinação da produção primária por meio de técnica de assimilação de carbono. Estimativa dos dados de fotossíntese, da concentração dos pigmentos fotossintéticos, da respiração e de uso efetivo da água.

Na comunidade vegetal de *Talipariti pernambucensi* (Arruda (Bovini 2010)) serão obtidos parâmetros de fluorescência e trocas gasosas em folhas de 2º par das espécies de porte arbóreo dentro das parcelas fixas, sendo selecionados 3 indivíduos por espécie. Estas folhas serão selecionadas dentro daquelas avaliadas como intactas e completamente expandidas (n = 6). A fluorescência será obtida utilizando o fluorômetro portátil Hand-PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, King's Lynn, Norfolk, UK) e trocas gasosas empregando o sistema portátil ADC, modelo LCi (ADC, Bio Scientific Ltd. Hoddesdon, England), mais detalhes a respeito dos parâmetros e técnicas utilizadas encontram-se descritos em Pascoalini (2014).

Em visitas prévias a esta área de estudo, tendo em vista os fragmentos da vegetação e algumas distribuições pontuais, assumimos que o quantitativo de cinco parcelas definidas na TR seriam excessiva e, por isso, remanejamos o número de parcelas para 3 parcelas permanentes. Na vistoria definitiva se a equipe entender que se faz necessário a inclusão de mais áreas isto será realizado sem ônus para o planejamento amostral.

As folhas serão coletadas para análise posterior de pigmentos fotossintéticos, compondo uma amostra para as três parcelas. Além dos pigmentos serão avaliados em campo os aspectos morfológicos das folhas com obtenção *in situ* de dados de área foliar (comprimento e largura) bem como o índice de cobertura vegetal. Para isto será necessário a obtenção de um avaliador digital de área foliar e um equipamento digital para dimensionar o índice de cobertura foliar. Estes parâmetros monitorados em longo prazo vão contribuir para entendimento das alterações fisiológicas induzidas pelos contaminantes.

Os dados de campo serão coletados pelos técnicos em estrutura, fotossíntese e fluorescência, bem como, respectivos bolsistas.

O monitoramento dos parâmetros que vão identificar a produção primária da vegetação e que podem indicar tensões sobre o desenvolvimento da comunidade serão obtidos nas estações de seca e de chuva ao longo de cinco anos. Estes dados serão analisados empregando-se técnicas de estatística básica (média, desvio padrão), análises paramétricas (ANOVA e teste de Student) para comparação da variabilidade dos resultados e das médias obtidas por amostra e análises não paramétricas (Kruskal Wallis, ACP) quando necessária e de acordo com o tipo de parâmetro coletado (Zar, 1998). Sempre que necessário, os dados obtidos em campo serão normalizados (Gotelli e Ellison, 2012).

A concentração de pigmentos fotossintéticos (clorofilas a e b e pigmentos carotenoides) será obtida conforme descrito em Pascoalini (2014). Folhas maduras e intactas do segundo par serão coletadas ao acaso e representando os diferentes níveis do bosque até se obter 30 amostras que serão tratadas de forma composta, e em laboratório será obtido peso fresco e seco, comprimento, largura e área foliar específica. A concentração de pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenoides) será obtida conforme descrito em Pascoalini (2014) e Santana (2014).

Parte destes dados já estão sendo obtidos para o rio São Mateus com o desenvolvimento da tese de doutorado de Dielle Santana, sendo a metodologia já descrita no projeto de tese.

Nesta etapa serão realizadas análises em HPLC (Waters) e comparadas com aquelas obtidas em campo de avaliação do índice de clorofila por método não invasivo. Em campo serão obtidos índices de área foliar (IAF) para determinar a cobertura do dossel ao longo do período de monitoramento deste programa. Estes parâmetros de IAF serão obtidos trimestralmente. O tratamento estatístico será similar ao descrito para as variáveis de fotossíntese.

O acompanhamento desta etapa consiste na avaliação da pressão que possa ocorrer sobre esta comunidade vegetal em decorrência dos sedimentos contaminados, do grau de contaminação (tipo e

concentração), da frequência e intensidade dos distúrbios. A avaliação em longo prazo da produção primária da comunidade vegetal permitirá eliminar o efeito ambiental sobre a variabilidade de produção e aferir o comprometimento causado pelos contaminantes. Para melhor qualificar esta etapa, procedimentos similar de análise de produtividade primária serão desenvolvidos na comunidade de *Talipariti pernambucensis* que ocorre no Rio Itaúnas para efeitos de controle e eliminação da variabilidade resultante das influências climáticas.

6.2. Estrutura e Funcionamento dos Manguezais de São Mateus, Mariricu (Barra Nova e Nativo), Barra Seca (Urussuquara), Aracruz (Barra do Riacho, Santa Cruz e Piraquê-Açú, Mirim) e Caravelas. Acompanhamento de dados pretéritos.

A estrutura da vegetação será realizada seguindo metodologia proposta por Schaeffer-Novelli e Cintrón (1986), sendo adotado o método de parcelas (com 3 réplicas por área) cujo tamanho varia conforme o número de indivíduos, isto é, será considerado um mínimo de 30. Os parâmetros coletados serão a altura e o diâmetro na altura do peito (DAP) ou igual 1,30 m. Em laboratório, serão calculados os parâmetros de área basal, diâmetro e altura média e densidade e dominância relativa das espécies no bosque. Estes dados de estrutura quando acompanhados em longo prazo permite identificar alterações na dinâmica populacional. Desta forma, serão avaliadas florestas de franja e de bacia e dentro de cada parcela cinco árvores, caracterizando a distribuição de frequência dos diâmetros de todas as árvores que ocorrem na amostra, terão seu incremento em diâmetro monitorados pela utilização de dendrômetros.

Da mesma forma que no item de levantamento da vegetação da foz do Rio Doce, esta etapa consiste na avaliação e acompanhamento da estrutura dos manguezais que se encontram sob influência indireta dos sedimentos provenientes da represa de contenção da Samarco.

As parcelas fixas serão realizadas em locais onde já existem dados pretéritos de análise da estrutura das florestas de mangue nos Rios São Mateus, Mariricu, Corrego de Barra Nova, Urussuquara, Barra do Riacho, Santa Cruz, Piraquê-Açú e Piraquê-Mirin e em Caravelas (BA). Esta última localidade será de responsabilidade da equipe de especialistas da UERJ que já possuem dados pretéritos na região. A delimitação das parcelas vai contribuir para o entendimento dos processos de inundação, permitindo avaliar o potencial impacto dos sedimentos sobre as florestas de manguezal caracterizadas como de franja e de bacia (Schaeffer-Novelli *et al.* 2000).

Em cada rio serão instaladas parcelas na foz, na parte intermediária do estuário e na porção superior do mesmo. Desta forma, serão 3 regiões amostrais com parcelas definidas para as florestas de franja e bacia, totalizando 12 parcelas por rio. O número de parcelas será distinto para as áreas de Mariricu (9), Urussuquara (3), Barra do Riacho (6) e Santa Cruz (6) Já existem dados coletados sobre a estrutura dos manguezais no rio São Mateus, diferentes bosques e regiões, bem como parcelas pontuais estabelecidas no Rio Mariricu e Córrego Barra Seca. Além de parcelas estabelecidas nos Rios Piraquê-Açú e Mirin. O número de parcelas por área decorre da extensão dos manguezais nos diferentes estuários, considerando sempre que cada região escolhida terá triplicatas.

Cada parcela será georeferenciada com emprego de RTK, Marca Trimble modelo R4Base, que tem precisão de 3,5 mm de erro horizontal. Permitindo com isto controle inclusive sobre o ingresso de novos indivíduos em longo prazo. Quando não adequado o emprego do RTK, será utilizado GPS de mão sem maior precisão de coleta de dados.

Estas parcelas serão monitoradas anualmente para avaliar a qualidade do bosque e nestas oportunidades serão quantificados no número de plântulas que ingressou na parcela. Esta avaliação é importante para determinação da taxa de crescimento do bosque, para estimativa de manutenção da composição de indivíduos adultos. Nestas ocasiões serão monitorados os dendrômetros instalados nas árvores.

A etapa de estrutura em Caravelas será realizada pelos técnicos contratos para este fim, sob a responsabilidade dos Drs. Mário Soares e Filipe Chaves, ambos da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, uma vez que os mesmos já possuem dados pretéritos da região.

6.2.2 Aquisição de dados de produção primária (fotossíntese, fluorescência, pigmentos).

Serão obtidos parâmetros de fluorescência e trocas gasosas em folhas de 2° par das espécies de porte arbóreo dentro das parcelas fixas, sendo selecionados 10 indivíduos por espécie. Estas folhas serão selecionadas dentro daquelas avaliadas como intactas e completamente expandidas (n=6). A fluorescência será obtida utilizando o fluorômetro portátil Hand-PEA (Plant Efficiency Analyser, Hansatech, King's Lynn, Norfolk, UK) e trocas gasosas empregando o sistema portátil ADC, modelo LCi (ADC, Bio Scientific Ltd. Hoddesdon, England), mais detalhes a respeito dos parâmetros e técnicas utilizadas encontram-se descritos em Pascoalini (2014). As folhas serão coletadas para análise posterior de pigmentos fotossintéticos.

O monitoramento dos parâmetros que vão identificar a produção primária da vegetação e que podem indicar tensores sobre o desenvolvimento da comunidade serão obtidos nas estações de seca e de chuva ao longo de cinco anos. Estes dados serão analisados empregando-se técnicas de estatística básica (média, desvio padrão), análises paramétricas (ANOVA e teste de Student) para comparação da variabilidade dos resultados e das médias obtidas por amostra, e análises não paramétricas (Kruskal Wallis, ACP) quando necessária e de acordo com o tipo de parâmetro coletado (Zar, 1998). Sempre que necessário, os dados obtidos em campo serão normalizados (Gotelli e Ellison, 2012).

A concentração de pigmentos fotossintéticos (clorofilas a e b e pigmentos carotenoides) será obtida conforme descrito em Pascoalini (2014). Folhas maduras e intactas do segundo par serão coletadas ao acaso e representando os diferentes níveis do bosque até se obter 30 amostras, e em laboratório será obtido peso fresco e seco, comprimento, largura e área foliar específica. A concentração de pigmentos fotossintéticos (clorofila e carotenoides) será obtida conforme descrito em Pascoalini (2014) e Santana (2014).

Em campo serão obtidos dados de área foliar (várias amostras e locais por área) e do índice de área foliar para acompanhamento das variações que podem vir a ocorrer em situação de contaminação crônica. Quando possível será utilizado o RTK para posicionamento geográfico da amostra, não havendo condições de transmissão de sinal por adensamento de copa será utilizado GPS que apesar de ter menor precisão, não perde o sinal quando ocorrem obstáculos como o RTK mais sensível aos acidentes geográficos para equiparação de dados em temporal.

Esta etapa será desenvolvida pelos técnicos de fotossíntese, fluorescência e pigmentos, bem como os demais bolsistas envolvidos. As parcelas serão monitoradas anualmente.

6.2.3. Amostragem de material para coleta de contaminantes.

As amostras serão coletadas aleatoriamente para compor uma amostra composta por estuário. Este item será descrito na meta 4.

6.3. Diagnóstico sobre a fauna do manguezal, compartimento caranguejos.

6.3.1. Avaliar da estrutura populacional dos decápodes da espécie *Ucides cordatus* e *Cardisoma guahumii* nos estuários dos Rios Piraquê (Açú e Mirin), Rio Riacho, Barra Seca, Mariricu, São Mateus e Caravelas e espécies de decápodes do manguezal de franja do RVS de Santa Cruz.

Delimitação de 12 parcelas fixas contendo 25 m², delimitadas com trena de 50 m e marcadas nos seus extremos com lacres, georeferenciadas e fotografadas. As parcelas serão situadas no estuário inferior, médio e superior para bosques de franja e bacia localizadas contíguas as parcelas fixas para que não haja interferência entre os dois estudos por excesso de manipulação da área amostral.

Nas parcelas serão realizadas as seguintes atividades em frequência bimensal: contagem das tocas diferenciando-as em abertas, fechadas (mortas e em muda), comprimento e largura das tocas e densidade de machos e fêmeas. A metodologia de amostragem baseia-se em Branco (1993). Os dados serão trabalhados em laboratório para produzir os seguintes resultados: densidade por metro quadrado da espécie, tamanho médio da população, proporção entre machos e fêmeas, densidade de indivíduos mortos.

Na área da RVS de Santa Cruz serão realizadas coletas aleatórias para levantamento dos crustáceos decapodas associados as franjas de manguezal. As espécies serão identificadas e terão sua abundância avaliada sempre que possível. Alguns exemplares serão encaminhados para a equipe responsável pela ecotoxicologia. Os procedimentos para as espécies de interesse econômico *U. cordatus* e *C. guahumii* serão similares as demais áreas com demarcação de parcelas. As amostragens vão ocorrer nas comunidades de manguezal para não haver sobreposição com as coletas de organismos no inframaré realizado por outros anexos.

Duas vezes ao ano (inverno e verão) serão coletados aleatoriamente ao longo dos estuários 100 exemplares de caranguejos para aferição da estrutura da população e para que estes dados sejam comparados com os dados de estrutura obtidos por técnica indireta de avaliação, reportada acima. A técnica empregada nesta etapa será de captura e solta. Estes exemplares serão coletados por catadores profissionais e terão seu comprimento e largura aferidos por meio de paquímetro digital. Cada exemplar terá seu sexo e condição de vida anotado para determinação da razão sexual e para avaliação do período de reprodução. A metodologia aplicada nesta etapa está sendo desenvolvida na dissertação de mestrado de Vanessa Spinasse, sob orientação desta coordenação e realizada nos Rios Piraquê-Açú e Mirin.

Nos rios Piraquê-Açú e Piraquê-Mirin terão suas parcelas definidas em áreas onde já ocorrem levantamentos sobre a estrutura da população de *Ucides cordatus*. Conseqüentemente, serão utilizados estes dados pretéritos para diagnóstico do impacto atual sobre a estrutura da população da espécie nesta bacia hidrográfica. Em relação ao rio São Mateus já existem dados coletados continuamente desde 2012

por ocasião do trabalho de conclusão de curso de Jormara Affonso Mesquita e que foram continuados e ampliados com a orientação de iniciação científica de Laís Altoé Porto, ambas sob nossa orientação. Anualmente, 10 fêmeas ovadas de *Ucides cordatus* e de *Cardisoma guahumii* serão capturadas aleatoriamente nas parcelas para que seja realizado a contagem do número de ovos. Estas fêmeas serão transportadas para o laboratório onde os ovos serão retirados dos pleiópodos para determinação da densidade empregando-se lupa estereoscópica e câmara clara. Esta metodologia está sendo desenvolvida no trabalho de conclusão de curso de Laís Altoé Porto no rio São Mateus.

Após estas análises preliminares será realizado tratamento estatístico empregando-se o programa Statistica (StaSoft) para avaliar os dados médios obtidos, diferenciados quanto aos parâmetros obtidos para fêmeas e machos por parcela, por bosque e por área de distribuição no estuário. Estas médias serão comparadas aplicando-se Teste de Tukey e realizaremos análise de cluster para avaliar o grau de similaridade entre os bosques e em relação a sua distribuição no estuário (Zar, 1998).

Durante as campanhas será necessário a contratação de pessoal capacitado para realizar a captura dos caranguejos para avaliação do tamanho e para a coleta de fêmeas ovadas.

Em relação as amostragens para avaliação da espécie *Cardisoma guahumii* será utilizadas 10 armadilhas, tipo ratoeira, posicionada na toca e o animal apreendido terá seu tamanho de carapaça e sexo aferido. Esta etapa será executada por catador de caranguejo e acompanhada por técnico de fauna. Serão realizadas duas campanhas anuais por área de estudo.

Será necessário a contratação de análises de toxicologia para determinação da contaminação das populações de *U. cordatus*.

A etapa deste item desenvolvida em Caravelas contará com a coordenação do pesquisador Anders lotado na Universidade Federal do Sul da Bahia com auxílio de um técnico e de um bolsista. O pesquisador irá colaborar na análise dos dados das demais áreas.

6.3.2. Mapeamento dos habitats das espécies de *Ucides cordatus* e *Cardisoma guahumii* nos estuários dos Rios Piraquê (Açu e Mirim), Rio Riacho, Barra Seca, Mariricu, São Mateus e Caravelas e espécies de decápodes do manguezal de franja do RVS de SantaCruz.

Esta etapa metodológica está sendo proposta para atender o componente da TR que trata especificamente da distribuição e extensão dos habitats das duas espécies alvo. As comunidades locais que vivem próximas aos manguezais e dependem dos recursos oriundos deste ecossistema desenvolveram um amplo conhecimento dos componentes bióticos e abióticos que o integram (Alves e Nishida, 2002).

Por outra parte os impactos causados na zona costeira sempre despertaram o interesse dos pesquisadores, principalmente quando são desenvolvidas em áreas ecologicamente frágeis. Nesse contexto, a análise que pretende ser apresentada neste trabalho integra informações obtidas através de imagens de resolução média e de alta resolução de sensoriamento remoto numa perspectiva multitemporal, diagnosticando os padrões de uso e ocupação, avaliando os principais impactos da área, juntamente com a fisiografia da região. A utilização de imagens de alta resolução permitirá a geração de uma cartografia mais precisa com ajuda da comunidade local, facilitando a quantificação da evolução da paisagem e consequentemente a tomada de decisões.

O sensoriamento remoto e as diferentes técnicas de Geoprocessamento têm sido extensivamente empregados como ferramentas auxiliares na caracterização e monitoramento da variabilidade de ambientes terrestres, como consequência de sua ampla capacidade de cobertura geográfica, análise sinóptica e alto poder de resolução espacial (Pinheiro *et al*, 2007).

Cada parcela terá quatro (4) coordenadas geográficas no mínimo obtidas através de um GPS Trimble de pós-processamento. Com essas coordenadas, estimamos a distância entre parcelas e a distância das parcelas ao ponto mais próximo geodésico (levantamento preciso por RTK).

Imagens de Satélite das áreas de estudo em formato digital (CD-ROM), imagens Landsat TM, para identificação das áreas a serem mapeadas em contexto geral (imagens Landsat TM, gratuitas vão permitir gerar uma base em escala média para visualização de todas as áreas simultaneamente). Imagens de alta resolução (uma imagem ao ano para cada área de estudo), correspondentes às bandas multiespectrais (1 a 3), e infravermelho próximo (4) geo-referenciados e corrigidas geometricamente pelo algoritmo de interpolação de filtragem convolução cúbica (ortoretificada e georreferenciada), pela própria empresa que fornece (ao total 40 imagens em 5 anos). Para verificar a precisão desse georreferenciamento, uma base de contornos vetoriais de área de estudo no formato shapefile (*.shp) vai ser sobreposta a uma das bandas adquiridas. Vão ser gerados arquivos shapefile a partir da utilização de GPS pós-processado da Trimble, por caminhamento (linhas, pontos e áreas).

Vai ser utilizado a seguir o Sistema de Informações Geográficas SPRING® (INPE) para manipulação e tratamento das imagens, empregando diferentes algoritmos de composição, suavização, tratamento de contraste, filtragem, mosaicagem e demais processamentos complementares de imagem e segmentação.

Inicialmente vai ser realizada a segmentação da imagem, empregando-se os algoritmos de classificação por regiões. Depois de avaliar os resultados, se iniciará o processo de classificação supervisionada por pixel, para efeito comparativo.

Os arquivos resultantes das etapas de processamento vão ser incorporados ao SIG ArcGIS® (ESRI), para a representação final do processo de classificação supervisionada dos ambientes vegetacionais e geração das grades que poderiam representar de modo filigranado a variabilidade de ambientes frequentados pela fauna estudada.

O mapeamento das unidades da paisagem vai ser realizado no SIG ArcGIS® (ESRI).

O Banco de Dados Georreferenciado vai ser também implementado no SIG ArcGIS® (ESRI). A leitura das regiões será realizada por meio da grade de pontos de coleta amostrados durante o projeto (tabela de dados em formato MS Excel® convertida para um arquivo em formato shapefile).

A produção de mapas temáticos vai incorporar os dados tabulares de pontos amostrais e respectivos valores de parâmetros ambientais e densidade, juntamente com as imagens em formato GeoTIFF.

No primeiro ano serão realizadas 7 campanhas (três dias de duração) com repetição semestral em cada uma das áreas para determinação da posição geográfica em tempo real para a determinação do habitat das espécies avaliadas neste item. Para perfeito ajuste das coordenadas serão realizadas expedições em busca do nível geodésico de referência mais próximo, quando possível.

Quando não possível serão realizadas campanhas de 04 horas com a implantação da base e do rover do RTK para obtenção de dados precisos que serão ajustados por triangulação com as estações de referência mais próximas (Vitória, Viçosa e Teixeira de Freitas). Após estes cuidados serão realizadas as campanhas para determinação da distribuição do habitat das espécies.

Estes dados serão transferidos para o banco de dados e monitorados ao longo dos cinco anos para elaboração dos mapas temáticos anuais para cada uma das áreas. Para isto será necessário a aquisição de imagens de alta precisão já georreferenciadas para que sejam utilizadas de base e complementares as imagens de Landsat de distribuição gratuita.

Os resultados esperados são:

1. Quantificação da evolução da paisagem, unidades de paisagens serão identificadas e delineadas.
2. Definição de áreas de uso, áreas de conservação e áreas de preservação; parâmetros, estes, inseridos no conceito de Potencialidades.
3. Mudanças no estoque e distribuição da espécie.
4. Mapeamento temático preciso da localização e ocorrência das espécies das áreas de estudo ao longo dos anos.
5. Diagnóstico geoambiental, matrizes e mapas que auxiliarão de maneira racional, simples, rápida e barata o gerenciamento da fauna estudada.
6. As informações obtidas no decorrer da pesquisa vão ser armazenadas em um Banco de Dados Ambientais Georreferenciados, construído sob a ótica dos Sistemas de Informações Geográficas (SIG's), que facilitam sobremaneira a gestão ambiental, no sentido de as informações poderem ser acessadas de forma rápida e racional.

Esta etapa está sendo desenvolvida em parceria com a Universidade do Vale de Itajaí. Para as atividades em campo há necessidade de um técnico em cartografia e para as atividades em laboratório, realizadas em Itajaí, será necessário outro técnico e um bolsista ITI.

A equipe responsável pelo mapeamento fará a delimitação do habitat em campanhas semestrais com duração de 2 a 3 dias nas áreas de estudos localizadas no Espírito Santo. A primeira ocorrerá no início do processo de monitoramento produzindo dados prévios de localização das parcelas e de alguns pontos amostrais, dados estes que irão compor os mapas temáticos. Após esta campanha prévia, os integrantes da fauna e flora ficarão responsáveis, após treinamento, para a obtenção dos dados de posicionamento das parcelas nas saídas bimensais, alimentando o banco de dados. Nova campanha para realizar verdade de campo após 6 meses de execução do levantamento e servirão para o término dos mapas de distribuição dos habitats de *U. cordatus* e *C. guahumii*.

6.4. Diagnóstico de contaminação da vegetação do manguezal por metais nas áreas de estudo.

Material Vegetal e condições de Amostragem - será avaliada inicialmente a espécie *Rhizophora mangle* que já se detem o protocolo de cultivo hidropônico e mais abundante nos manguezais do estado do Espírito Santo. Para esta etapa será necessário a contratação de técnico para as análises de estresse oxidativos que serão executadas na Universidade Federal de Santa Maria. Os técnicos de sedimento,

cultivo, produção primária do cultivo e anatomia vão realizar as etapas descritas abaixo. Os responsáveis técnicos deste item também serão contemplados com bolsistas ITI.

Descrição dos Experimentos

1- Experimentos in situ: A coleta de amostras vegetais será feita em oito áreas de mangue potenciais de contaminação e os resultados obtidos serão confrontados com aqueles obtidos em área de manguezal não contaminada (Itaunas). As áreas serão divididas em 12 parcelas de 10 x 10m (100m²), sendo 6 parcelas em cada margem do rio. Serão coletadas 10 amostras em cada parcela. Estas amostras serão homogeneizadas para a retirada da amostra composta representativa de cada parcela. Como serão realizadas amostras de folhas e raízes de duas espécies e determinou-se 12 parcelas por área, teremos 48 amostras/parcela. Incluindo a área testemunhas serão 9 áreas x 48 amostras, totalizando 432 amostras/ano.

2- Experimentos in situ de Variabilidade Espacial: O experimento será conduzido em área de mangue no norte do Espírito Santo e sul da Bahia. Após monitoramento realizado no primeiro ano, no qual se verificará quais das 8 (oito) áreas de manguezal há teores de metais pesados acima do limite estabelecido como adequado. Será instalada em umas das áreas, uma malha quadrangular de 140x144m (20.160m²) com 100 pontos, com distância mínima de 5 m, em cada ponto amostral serão coletadas amostras de sedimentos e folhas de plantas da espécie *Rhizophoramangle*.

Em cada um dos 100 pontos de amostragem, serão coletadas uma amostra de sedimento e uma amostra foliar da planta indicadora. As amostras deverão ser coletadas em caixas plásticas, buscando-se gerar um mínimo de perturbação na superfície do sedimento. As amostras deverão ser fotografadas imediatamente após a coleta, a fim de registrar as características visuais do sedimento. Para a análise de metais, as amostras deverão ser coletadas com o auxílio de espátula de plástico, raspando-se apenas os primeiros centímetros (0-5 cm) da amostra de sedimento, obtendo-se assim apenas o sedimento superficial. Para cada amostra, deverão ser coletados aproximadamente 50 g de sedimentos, os quais serão armazenados em pote plástico e mantidos congelados até o momento das análises. Serão coletadas quatro folhas recém maduras e completamente desenvolvidas, as mesmas serão levadas ao laboratório, onde serão lavadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% e, logo após, em água corrente e água destilada. Em seguida as folhas serão secas em estufa de circulação forçada a 65°C até massa constante, moídas em moinho tipo Wiley, passadas em peneira de malha de 0,841mm e, então enviadas para análise. Em todas as amostras de sedimento e folhas serão analisados os seguintes metais: Arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg) e zinco (Zn).

Para caracterização dos ambientes sedimentares e de possíveis fatores de influência sobre a distribuição espacial dos metais, a quantificação do conteúdo de matéria orgânica (MO) será realizada de acordo com o método da perda por ignição (450 °C por 5h), enquanto o conteúdo de sedimentos finos (argila e silte) será determinado após peneiramento em malha de 63 micrômetros, com posterior secagem das amostras (50 °C por 72h).

3- Experimentos ex situ: serão realizados em estufas agrícolas para o cultivo em hidroponia do Centro Universitário Norte do Espírito Santo da Universidade Federal do Espírito Santo – CEUNES – UFES, em São Mateus, Espírito Santo, latitude de 18°40'32"S, longitude de 80 39°51'39"W e altitude de 37,7m acima do mar. O clima da região, segundo a classificação de Köppen, é seco sub-úmido, com temperaturas variando de (25° a 30° no verão) e (19° a 21° no inverno) e precipitação média anual de 1400 e 1500mm.

Será cultivada a espécie *Rhizophora mangle* outra em função da ocorrência predominante na área e adaptação ao cultivo em hidroponia. Os experimentos serão em delineamento inteiramente casualizados com 05 tratamentos (doses crescentes dos metais) e mínimo de 4 repetições, sendo de 2 a 10 propágulos por parcela. Os tratamentos serão compostos pelos metais encontrados no diagnóstico e serão avaliados de forma isolada ou em interações. Será preparada solução nutritiva apropriada ao cultivo da espécie. Os propágulos serão cultivados nestas condições durante 3 meses. No primeiro mês, visando a aclimatação das plantas, será fornecida apenas a solução nutritiva sem os contaminantes e, em sequência, serão aplicados os tratamentos. Após dois meses, serão realizadas as coletas dos dados.

Análises

1-Biometria dos propágulos e análise de metaiscontaminantes

Serão avaliadas as seguintes variáveis: comprimento total inicial e final, comprimento do epicótilo inicial e final, volume de raiz, massa da matéria fresca e seca totais, massa da matéria seca por compartimento: raiz

(MSR), hipocótilo (MSH) e parte aérea (MSA), epicótilo e folhas (quando presentes). Ao final do experimento todos os componentes serão secos em estufa a 60°C até peso constante.

Após avaliação e obtenção da massa da matéria seca serão realizados cálculos da taxa de crescimento relativo (RGR) calculada pela fórmula $RGR = [\ln(\text{biomassa total}) - \ln(\text{biomassa inicial do propágulo})] / (\text{tempo do tratamento (semanas)})$ retirada de Pattinson *et al.* (1998) e utilizada em propágulos de *R. mangle* por Krauss e Allen (2003).

Para o cálculo da biomassa inicial dos propágulos, será realizada correlação entre comprimento total do propágulo e sua biomassa seca total. Será calculado o incremento de biomassa até o início dos tratamentos (peso inicial de coleta – peso início do tratamento) e incremento de biomassa final (peso final dos tratamentos – peso início dos tratamentos).

Para a análise da concentração dos metais contaminantes, as amostras secas serão enviadas para análise em laboratório credenciado.

Os dados serão submetidos à análise de variância e ao teste Tukey ou regressão conforme avaliação qualitativa ou quantitativa, respectivamente.

2-Análises fisiológicas

2.1. Pigmentos fotossintéticos

Os teores de clorofila *a*, *b*, total e de pigmentos carotenóides serão determinados pelo método de HPLC e expressos em $\mu\text{mol g matéria fresca}^{-1}$ (ARNON, 1949; LICHTENTHALER, 1987).

2.2. Fluorescência transiente da clorofila *a* (O-J-I-P)

A fluorescência da clorofila *a* será medida utilizando-se um fluorômetro portátil (Handy-PEA, Hanstech, King's Lynn, Norfolk, UK). Todas as medidas serão realizadas no período da manhã em folhas jovens totalmente expandidas (3ª ou 4ª folha a partir do ápice), previamente adaptadas ao escuro por um período suficiente para a oxidação completa do sistema fotossintético de transporte de elétrons. A fluorescência transiente OJIP será analisada conforme o teste JIP com base na Teoria de Fluxo de Energia em Biomembranas (STRASSER & STRASSER, 1995). Todas as medições ocorrerão sempre entre 7 e 10 h.

2.3. Assimilação de carbono e fluorescência modulada da clorofila *a*

A taxa de assimilação líquida do CO₂ (*A*), os parâmetros de trocas gasosas (*g*, *C_i*, *C_i/C_a*), a taxa de transpiração (*T_r*) e parâmetros da fluorescência modulada da clorofila *a* serão determinadas em folhas jovens completamente desenvolvidas, utilizando-se um analisador de gás no infravermelho IRGA (Ciras 2, PP Systems). Todas as medições ocorrerão sempre entre 8 e 10 h, com radiação saturante, na temperatura e umidade ambiente.

3- Atividade antioxidante/antirradicalar

A atividade antirradicalar será avaliada nos compostos majoritários (fenólicos e derivados, terpenos e alcaloides) isolados dos extratos e nos padrões analíticos em diferentes concentrações. Para fins de comparação, será determinada a atividade antioxidante dos extratos para analisar o efeito da matriz.

3.1. Método do radical ânion superóxido (O₂⁻)

A avaliação da capacidade de seqüestrar radicais livres em relação ao radical superóxido, será baseada na geração do radical O₂⁻ através do sistema enzimático pela reação da hipoxantina catalisada pela enzima xantina oxidase proposto por Zhao *et al.* (2006). Serão adicionados 100 μL de amostra à solução de reação, que consistirá em 100 μL de uma solução de EDTA 30 mM; 100 μL de uma solução 3 mM de hipoxantina e 200 μL de uma solução 1,42 mM de Nitro Blue Tetrazolium (NBT). Após a mistura será pré-incubada a temperatura ambiente por três minutos, será adicionado 100 μL de uma solução de xantina oxidase com concentração 0,75 U/mL e o volume será completado até 3mL com tampão fosfato 0,05 M (pH 7,4). A solução final será então incubada em temperatura ambiente por 40 minutos e a absorbância será medida em 560 nm. A atividade de seqüestro do radical superóxido será calculada utilizando a equação:

$$O_2^- \text{ atividade antioxidante (\%)} = \left[1 - \frac{(S - S_B)}{(C - C_B)} \right] \times 100$$

Onde *S*, *S_B*, *C* e *C_B* são as absorvâncias da amostra, do branco da amostra, do controle e do branco do controler respectivamente.

3.2. Método do radical hidroxila (HO)

A atividade antirradicalar das amostras em estudos, e dos padrões analíticos em diferentes concentrações frente ao radical hidroxila será avaliada utilizando o método da 2-desoxi-D-ribose proposta por Zhao *et al.* (2006), com algumas modificações. FeCl₃•6H₂O e ácido ascórbico serão preparados em água mili-Q antes

do uso. Em um tubo, onde será efetuada a reação, será adicionado 100 µL do extrato, 100 µL de EDTA 1 mM, 100 µL de FeCl₃ • 6H₂O 1 mM, 100 µL de 2-desoxi-d-ribose 36 mM, 100 µL de H₂O₂ 10 mM, e 100µL de ácido L-ascórbico 1 mM em tampão fosfato 25 mM (pH 7,4), após o volume será completado até 1,0 ml com tampão fosfato. Em seguida, será incubado a 37 ° C durante 1 h, a reação será interrompida pela adição de 1,0 mL de TCA a 10% (m /v) e 1,0 mL de 1,0% de TBA (m/v) em tampão fosfato (pH 7,4). A mistura será aquecida em num banho a 37°C durante 15 min. Após amostras serão resfriadas, e o volume final ajustado para 5,0 ml com água deionizada e a absorvância será lida a 532 nm. A atividade antioxidante das amostras será calculada de acordo com a equação abaixo:

$$AA_{OH} = \left(1 - \frac{(S - S_B)}{(C - C_B)} \right) \times 100$$

Onde S, S_B, C e C_B são as absorvâncias da amostra, do branco da amostra, do controle e do branco do controlerespectivamente.

3.3. Método do radical peroxila (ROO•)

A avaliação da atividade antirradicalar das amostras frente ao ROO•, será realizada pelo método fluorimétrico, no qual emprega-se o diacetato de 2,7-diclorofluoresceína (DCFH₂-DA) como substrato (AMADO *et al.*, 2009). Para a montagem da placa de análise contendo 96 poças, a mesma será dividida em duas regiões, sendo que a região 1 (branco das medidas) corresponde as linhas A, B, C e D, e a região 2 corresponde as linhas E, F, G e H. As 3 primeiras poças, tanto na região 1 quanto na 2, são reservadas para o solvente, em que será adicionado 10 µl do solvente utilizado nas amostras. No restante da placa, será adicionado 10 µL de amostra em triplicata (3 poças) na região 1 e na região 2. Após será adicionado o tampão de reação (127,5 µL), em todas as poças da placa. Por fim, adiciona-se 7,5 µL de água ultrapurana região 1 e 7,5 µL da solução de ABAP (4 mmol • L⁻¹) na região 2. Imediatamente antes da análise da placa, no fluorímetro, será adicionado 10 µL de DCFH₂-DA (16 µmol • L⁻¹), previamente desacetilado. O fluorímetro será programado para manter a temperatura a 37°C e medir a fluorescência nos comprimentos de onda de 485 nm (excitação) e 520 nm (emissão) a cada 5 minutos, num intervalo total de 30 minutos. O tampão de reação utilizado nesta determinação será composto de HEPES (30 mmol • L⁻¹), KCl (200 mmol • L⁻¹) e MgCl₂ (1 mmol • L⁻¹). A desacetilação química do DCFH₂-DA, gerando o composto DCFH₂, será realizada com a adição de 2,0 mL de NaOH (0,01 mol • L⁻¹) em uma solução etanólica de (5 mmol • L⁻¹) de DCFH₂-DA, em temperatura ambiente e ao abrigo de luz. Após 30 minutos, será adicionado 10 mL de tampão fosfato 25 mmol L⁻¹ (pH 7,4), composto de fosfato mono e dibásico, armazenando-se a solução em gelo até o momento do uso. A atividade antirradicalar contra o radical peroxil (AAROO•) das amostras será determinada com base na medida referente ao tempo de 30 minutos de reação, e calculada conforme equação abaixo:

$$AA_{ROO\bullet} = \left(1 - \frac{(F_A - F_{AB})}{(F_S - F_{SB})} \right) \times 100$$

Onde FA é a fluorescência da amostra, com ABAP, FAB é a fluorescência do branco da amostra, sem ABAP, FS é a fluorescência do solvente utilizado nas amostras, com ABAP, e FSB é a fluorescência do branco do solvente, sem ABAP.

3.4. Método do radical DPPH

A atividade antioxidante das amostras será avaliada da seguinte forma: 1500 µL da amostra será adicionada a 1480 µL da solução de DPPH e 20 µL da solução de trabalho. Paralelamente será conduzido um branco para cada amostra contendo 1500 µL da amostra e 1500 µL de solução de trabalho. Será necessário conduzir um branco para o DPPH para o cálculo da atividade antioxidante, dessa forma 1480 µL de DPPH serão adicionados a 1520 µL de solução de trabalho. Após 30 minutos de reação sob abrigo da luz as absorvâncias serão medidas em 522 nm. A porcentagem da atividade antioxidante frente ao radical DPPH será calculada conforme equação.

$$AA_{DPPH} = \left(\frac{A_{DPPH} - (A - A_B)}{A_{DPPH}} \right) \times 100$$

Onde A_{DPPH} é a absorvância da solução de DPPH, A e A_B são as absorvâncias da amostra e branco, respectivamente.

4- Análises Anatômicas

Para as caracterizações anatômicas, os tecidos coletados de todos os tratamentos serão fixados em solução de F.A.A. (formaldeído, ácido acético e etanol 50% na proporção de 0,5:0,5:9) por 48 horas, seguido de conservação em etanol 70% (JOHANSEN, 1940). Serão realizadas secções transversais e parâdermicas das amostras, sendo estas posteriormente clarificadas com hipoclorito de sódio 3% e coradas com safranina (1%), sendo utilizada água destilada para montagem das lâminas (BUKATSCH, 1972). As secções serão observadas em microscópio óptico e fotodocumentadas para posterior medição das características anatômicas: espessuras da epiderme, parênquima clorofiliano, parênquima aquífero e determinação do número de estômatos.

O material vegetal será obtido dos experimentos *ex situ* onde cada tratamento irá compor amostras compostas para análise da anatomia interna das folhas e de raízes. Material fresco de áreas não contaminadas em território capixaba serão coletadas para servirem de material de referência aos experimentos de contaminação por metais.

4.4 Variabilidade espacial e correlação de metais pesados em sedimentos e vegetação de mangue na região atingida pelos rejeitos de mineração na foz do RioDoce.

O experimento será conduzido em áreas de manguezal no norte do Espírito Santo e sul da Bahia. O monitoramento do teor de metais pesados será realizado em 8 (oito) áreas de manguezal durante 5 (cinco) anos. Serão coletadas anualmente 27 amostras de sedimentos em cada uma das áreas, durante os 5 anos de trabalho. Assim, serão amostradas 216 amostras por ano, totalizando 1.080 amostras de sedimentos durante todo o trabalho. No segundo ano de trabalho, após verificação de qual das 8 áreas apresenta teores de metais pesados considerados prejudiciais ao desenvolvimento da fauna e da flora, nesta área escolhida, será instalada uma malha quadrangular de 140 x 144 m (20.160 m²) com 100 pontos, com distância mínima de 5 m, em cada ponto amostral serão coletadas amostras de sedimentos e folhas de plantas da espécie *Rhizophora mangle* em cada ponto amostral.

Em cada um dos 100 pontos de amostragem, serão coletadas uma amostra de sedimento e uma amostra foliar da planta indicadora. As amostras deverão ser coletadas em caixas plásticas, buscando-se gerar um mínimo de perturbação na superfície do sedimento. As amostras deverão ser fotografadas imediatamente após a coleta, a fim de registrar as características visuais do sedimento. Para a análise de metais, as amostras deverão ser coletadas com o auxílio de espátula de plástico, raspando-se apenas os primeiros centímetros (0-5 cm) da amostra de sedimento, obtendo-se assim apenas o sedimento superficial. Para cada amostra, deverão ser coletados aproximadamente 50 g de sedimentos, os quais serão armazenados em pote plástico e mantidos congelados até o momento das análises. Serão coletadas quatro folhas recém maduras e completamente desenvolvidas, as mesmas serão levadas ao laboratório, onde serão lavadas em solução de hipoclorito de sódio a 1% e, logo após, em água corrente e água destilada. Em seguida as folhas serão secas em estufa de circulação forçada a 65°C até massa constante, moídas em moinho tipo Wiley, passadas em peneira de malha de 0,841 mm e, então enviadas para análise. Em todas as amostras de sedimento e folhas serão analisados os seguintes metais: Arsênio (As), cádmio (Cd), chumbo (Pb), cobre (Cu), cromo (Cr), ferro (Fe), manganês (Mn), mercúrio (Hg) e zinco (Zn).

Para caracterização dos ambientes sedimentares e de possíveis fatores de influência sobre a distribuição espacial dos metais, a quantificação do conteúdo de matéria orgânica (MO) será realizada de acordo com o método da perda por ignição (450 °C por 5h), enquanto o conteúdo de sedimentos finos (argila e silte) será determinado após peneiramento em malha de 63 micrômetros, com posterior secagem das amostras (50 °C por 72h). Serão ainda analisados os teores de Ca e de carbonato em cada ponto amostral. O cálcio será extraído utilizando solução de KCl 1 molar e a sua determinação será realizada por espectrofotometria de absorção atômica. A análise de carbonato total será realizada em 1g da amostra seca, colocada em tubos de polietileno com tampa em rosca de 50mL. Após esta etapa será adicionado 20mL de HCl 1M, sendo a amostra homogeneizada e permanecendo em descanso por 12 horas, seguindo a metodologia adaptada de Morozova & Smith (2003). Posteriormente, a amostra será centrifugada para separação e retirada do sobrenadante e uma nova adição do mesmo volume de HCl 1M será realizada repetindo-se o mesmo procedimento. Após esta etapa será adicionado de 20mL de H₂O ultrapura. A amostra será novamente homogeneizada e centrifugada, retirando-se o sobrenadante e levando-se à estufa a uma temperatura de 80°C por ~72h. Por fim, será pesado o tubo e a parte sedimentada, onde a partir da diferença entre o peso inicial e final será obtido a massa decarbonato.

Teoria da Geoestatística

A amostragem clássica não leva em consideração a estrutura de dependência espacial, quando ela está presente na característica avaliada.

A estatística clássica vem a ser limitada, por isso torna-se necessário o uso de uma ferramenta que consiga detectar o grau de dependência entre as amostras, levando em consideração as coordenadas geográficas de cada ponto. A teoria da geoestatística pode ser empregada nesse caso, para descrever o padrão da variabilidade espacial e temporal do atributo medido.

Vieira *et al.* (1996) utilizaram conceitos de estabilidade temporal e escalonamento de semivariograma e analisaram simultaneamente, através de semivariogramas tridimensionais, a variabilidade espacial e temporal de alguns atributos de plantas.

Semivariograma

O semivariograma é uma das ferramentas da geoestatística, utilizada para determinar a variabilidade espacial de atributos das plantas de uma lavoura, expressando o grau de dependência espacial entre amostras, por meio de seus parâmetros. Os semivariogramas exigem que apenas a hipótese intrínseca seja satisfeita sendo, portanto menos restritiva, diferente do autocorrelograma que exige estacionaridade de segunda ordem (Berndtsson *et al.*, 1993). Por esse motivo o semivariograma pode ser usado em um maior número de situações.

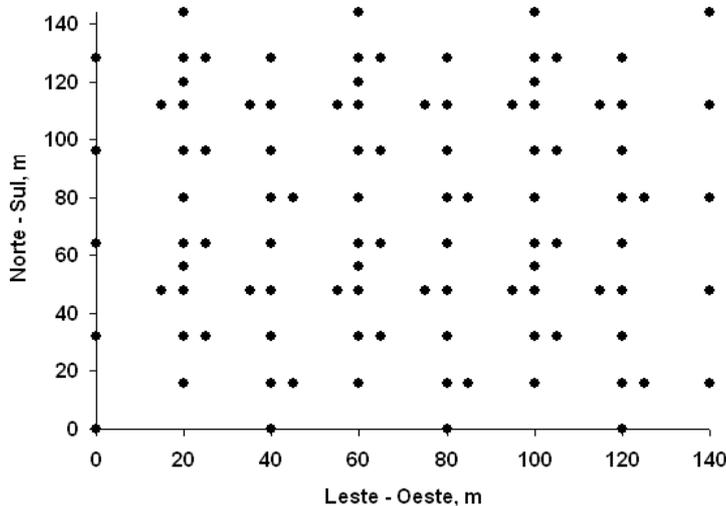


Figura 1. Representação esquemática da malha amostral na área em estudo.

O semivariograma é um gráfico que representa a semivariância dos dados $\gamma(h)$ em relação à distância correspondente que os separa (h), podendo ser definido como (Vieira *et al.*, 1983):

$$\gamma(h) = (1/2)E\{[Z(x_i) - Z(x_i + h)]^2\}$$

O qual pode se estimado por:

$$\hat{\gamma}(h) = \frac{\sum_{i=1}^{n(h)} [z(x_i + h) - z(x_i)]^2}{2n(h)}$$

Sendo $n(h)$ número de pares amostrais $[z(x_i); z(x_i + h)]$ separados pelo vetor h , sendo $z(x_i)$ e $z(x_i + h)$, valores numéricos observados do atributo analisado, para dois pontos x_i e $x_i + h$ separados pelo vetor h .

Normalmente, o conjunto de pontos amostrais se comporta como, intuitivamente, se deve esperar de dados de campo, ou seja, que as diferenças $[z(x_i) - z(x_i + h)]$ aumentem à medida que h , a distância que os separa, aumente.

Os componentes, efeito pepita (C_0) e patamar ($C_0 + C$) são utilizados para determinar o grau de dependência espacial (GD) conforme equação (Cambardella *et al.*, 1994):

$$GD = \frac{100}{Co Co + C}$$

Semivariogramas que apresentam grau de dependência espacial menor ou igual a 25% têm forte dependência espacial. A dependência é moderada quando esta relação variar de 25 a 75% e fraca quando esse valor for superior a 75%.

O semivariograma é uma função do vetor h e, portanto, depende de sua direção e magnitude. Dependendo do comportamento do gráfico do semivariograma em diferentes direções ele pode ser chamado de isotrópico ou anisotrópico (Vieira, 2000).

Para obtenção dos mapas tridimensionais de relevo e dos atributos estudados será utilizado o programa SURFER (Golden Software, 1997), e os dados serão interpolados por meio da técnica da krigagem, a qual utiliza os parâmetros do semivariograma.

Para o ajuste dos modelos matemáticos aos semivariogramas será utilizado o método de validação "Jack-knifing", no qual serão analisados os valores de média e variância dos erros reduzidos (Souza, *et al.*, 1997), os quais serão considerados os modelos: esférico, exponencial, linear e gaussiano.

Os pontos demarcados servirão de base para a coleta de dados de folhas e produtividade. Para georreferenciamento da área, será utilizado um par de receptores GPS TechGeo®, modelo GTR G² geodésico. Os dados após serem processados pela Rede Brasileira de Monitoramento Contínuo (RBMC) do IBGE apresentarão precisão de 10 mm+ 1ppm.

Este projeto contribuirá para o conhecimento do comportamento espacial dos metais pesados em sedimentos em na planta indicadora, possibilitando conhecer melhor o comportamento em termos de distribuição espacial de metais pesados no ambiente de manguezal. O projeto proporcionará um treinamento em pesquisa de alunos vinculados, bem como dos alunos que se destacam pelo desempenho acadêmico do curso de Biologia, qualificando-os para futuros programas de pós-graduação.

6.5. Caracterização da dinâmica estuarina nos Rios São Mateus, Mariricu e Piraquê.

Comportamento hidrodinâmico

Monitoramentos de fluxos d'água nos estuários dos rios São Mateus, Mariricu e Piraquê: Serão realizadas 12 campanhas de monitoramento com ADCP, com periodicidade mensal, em duas seções nos locais especificados. As medições serão realizadas durante 12 horas, para acompanhar o ciclo de maré. Próximos aos locais de medição serão instalados marégrafos, para acompanhamento da variação do nível d'água. Os resultados obtidos serão utilizados para caracterização do ambiente e no estudo de modelagem numérica. Os parâmetros Temperatura e Salinidade serão monitorados nas seções onde serão feitas as medições de fluxo d'água, seguindo a mesma logística de deslocamento.

Os dados de fluxos d'água serão avaliados segundo sua sazonalidade e variação semi-diurna (maré).

Níveis d'água serão medidos com sensor de pressão e armazenados em datalogger. Esses dados serão tabelados e comparados com variações de maré.

Coleta de amostras de sedimento para análise de metais pesados

Serão feitas coletas de sedimentos de fundo nas mesmas datas das campanhas de dinâmica, nos mesmos locais das medições de fluxo d'água, sendo uma amostra em cada estuário. As amostras serão analisadas pelas equipes do Anexo 3.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albuquerque, J. A.; Reinert, D.J.; Firorin, J.E. Variabilidade de solo e planta em Podzólico Vermelho-amarelo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 20:151-157,1996.
- Alves RRN, Nishida AK (2002) A ecdise do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* L. (Decapoda, Brachyura) na visão dos caranguejeiros. *Interciência* 27:110-117.
- AGÊNCIA NACIONAL DAS ÁGUAS (ANA). **Espírito Santo**. 58 p. s.d. Documento obtido na internet. BERTOLANI, F. C.; VIEIRA, S. R. Variabilidade espacial da taxa de infiltração de água e espessura do horizonte A, em um Argissolo Vermelho-Amarelo, sob diferentes usos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:987-995,2001.

- BRANCO, Joaquim Olinto. Aspectos bioecológicos do caranguejo *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda) do manguezal do Itacorubi, Santa Catarina, BR. *Arq. Biol. Tecnol.*, v. 36, n. 1, p. 133-148, 1993.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente, dos Recursos Hídricos e da Amazônia Legal. **Os Ecossistemas Brasileiros e os Principais Macro-vetores de Desenvolvimento. Subsídios ao Planejamento da Gestão Ambiental.** Brasília,1996.
- Bouillon, S.; Mohan, P. C., Sreenivas, N, Dehairs, F. 2000. Sources of suspended organic matter and selective feeding by zooplankton in an estuarine mangrove ecosystem as traced by stable isotopes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*208:79-92.
- Bovini, M.G. 2010. A new combination in the genus *Talipariti* (Malvaceae). *Rodriguésia* 61 (suplemento): 19-21.
- Burton, G. A. 1992. Sedimentary toxicity assessment. Lewis Publishers. Chelsea, MI, p.457.
- Cambardella, C. A.; Moorman, T. B.; Novak, J. M.; Parkin, T. B.; Karlen, D. L.; Turco, R. F.; Konopka, A. E. Field-scale variability of soil properties in central Iowa soils. **Soil Science Society of America Journal**, 58:1501-1511,1994
- Carvalho, F.L.; Souza, E.A. & Couto, E.C.G. 2007. Composição e Distribuição dos Braquiúros Crustacea, Decapoda) no Manguezal do Acuípe (UNA, Bahia). *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu, MG.
- Costa-Boddeker, S.; Hoelzmann, P.; Thuyên, L. X.; Huy, H. D.; Nguyen, H. A.; Richter, O.; Schwalb, A. Ecological risk assessment of a coastal zone in Southern Vietnam: Spatial distribution and content of heavy metals in water and surface sediments of the Thi Vai Estuary and Can Gio Mangrove Forest. **Marine Pollution Bulletin**, xxx:xxx-xxx,2016
- Cunha, S.R., Tognella-De-Rosa, M.M.P., Costa, C.S.B. Salinity and flooding frequency as determinant of mangrove forest structure in Babitonga Bay, Santa Catarina State, Southern Brazil. *Journal of Coastal Research*. 39:1175 - 1180.2004.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes.** Brasília, DF: Embrapa Solos/Embrapa Informática Agropecuária/Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, p. 370,1999.
- Fidalski, J.; Tormena, C. A.; Scapim, C. A. Espacialização vertical e horizontal dos indicadores de qualidade para um Latossolo Vermelho cultivado com citros. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 31:9-19,2007.
- Fisher, R. A. **Statistical methods and scientific inference.** Edinburg, Oliver & Boyd, 1956.175p.
- GOLDEN SOFTWARE, INC. Surfer for Windows-User guide. Golden: **Golden Software**, Colorado, 1997. 340 p.
- Fry, B.; Smith, T. J. III 2002. Stable isotopes studies of red mangrove and filters feeds from Shark river estuary, Florida. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 70:871-890.
- Gotelli, N. J. e Ellison, A. M. **Princípios de Estatística em Ecologia.** Porto Alegre, Artmed, 320p.2012.
- Granek, E. F., Compton, J. E. Phillips, D. E. 2009. Mangrove exported nutrient incorporation by sessile coral reef invertebrates. *Ecosystems* 12:462-472.
- Heald, E.J.; Odum, W.E. 1970. The contribution of mangrove swamps to Florida fisheries. *Proc. Gulf. Carib. Fish. Inst.* 22:730-35.
- Herz, R. 1991. **Manguezais do Brasil.** São Paulo, IOUSP.

- McKee, K.L. 2004. Global Change Impacts on Mangrove Ecosystems. *USGS, Fact sheet* 2004-3125. 3 p. Universidade Autônoma de Barcelona(2015)
- Pascoalini, S. S. Eficiência Fotossintética de Manguezais na Baía de Vitória, ES. Dissertação de Mestrado, Programa de Oceanografia Ambiental. 61 p.2014.
- Pinheiro, M.A.A.; Rollo, M.M., Jr.; Hattori, G.Y. 2007. Identificação de habitats potenciais para o caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) na ilha da coroa do sapo, iguape (SP), Brasil, utilizando imagens IKONOS® II. Anais do XII Congresso Latino-Americano de Ciências do Mar - XII COLACMARFlorianópolis.
- Rosa FR, Lopes IR, Sanches VQA, Rezende EK. Distribuição de caranguejos Trichodactylidae (Crustacea, Brachyura) em alagados do Pantanal Mato-Grossense (Brasil) e sua correlação com a proximidade do rio Cuiabá e cobertura vegetal. *Pap. Avulsos Zool. (São Paulo)* [online]. 2009, vol.49, n.24, pp.311-317. ISSN 0031-1049.<http://dx.doi.org/10.1590/S0031-10492009002400001>.
- Saenger, P.; Heagerl, E.J.; Davie, J.D.S. 1983. Global status of mangrove ecosystems. *Environmentalist*, 3(supl. 3):1-88.
- Schaeffer-Novelli, Y., Cintron, G. **Guia para estudo de áreas de manguezal, estrutura, função e flora.** Caribbean Ecological Research, São Paulo, 1986.150p.
- Schaeffer-Novelli, Y., Cintrón-Molero, G., Soares, M.L.G., Tognella-De-Rosa, M.M.P. Brazilian mangroves. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, v.3, p.561-570, 2000.
- Silva, M. S. C. **Indicadores de qualidade do solo em sistemas agroflorestais em Paraty, RJ.** Seropédica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2006. 54 p. (Dissertação de Mestrado).
- Souza, L. S.; Cogo, N. P.; Vieira, S. R. Variabilidade de propriedades físicas e químicas do solo em um pomar cítrico. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 21:367-372,1997.
- Stone, L. F.; Silveira, P. M. Efeitos do sistema de preparo e da rotação de culturas na porosidade e densidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 25:395-401,2001.
- Sundaramanickam, A.; Shanmugam, N.; Cholan, S.; Kumaresan, S.; Madeswaran, P. Balasubramanian, T. Spatial variability of heavy metals in estuarine, mangrove and coastal ecosystems along Parangipettai, Southeast coast of India. **Environmental Pollution**, 218:186-195,2016.
- Spalding, M. D.; Kainuma, M.; Collins, L. 2010. **World Atlas of Mangroves.** ITTO,ISME.
- Spalding MD, Fox HE, Allen GR, Davidson N, Ferdaña ZA, Finlayson M, Halpern BS, Jorge MA, Lombana A.,Lourie SA, Martin KD, McManus E, Molnar J, Recchia CAE, Robertson J. Marine Ecoregion of the World: a Bioregionalization of Coastal and Shelf Regions. *Bioscience* 57 (7): 573-83.2007.
- Sheaves, M. & Molony, B. 2000. Short-circuiting in the mangrove food chain. *Mar. Prog. Ecol. Ser.* 199:97-109.
- Tognella-De-Rosa MMP. **Manguezais Catarinenses, Baía da Babitonga e Rio Tavares: uma abordagem ecológica e econômica.** Tese de Doutorado, Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo. 2000. 216 +anexos.
- Zar JH. **Biostatistical Analysis.** Ed. Prentice Hall, New Jersey. 1996

**ALTERAÇÕES ECOLÓGICAS NA DINÂMICA DOS MANGUEZAIS E VEGETAÇÃO DE
RESTINGA SOB INFLUÊNCIA DOS SEDIMENTOS PROVENIENTES DO RIO DOCE
(ANEXO 5)**

SUB-PROJETO: RESTINGA

EQUIPE TÉCNICA

Nome	Função	Instituição
Diolina Moura Silva (coord)	Coordenação da equipe de Restinga Avaliações da atividade fotossintética e produção de biomassa	UFES
Luis Fernando Tavares de Menezes	Distribuição florística e fitossociológica; Dinâmica da vegetação; Interrelação com os padrões morfo-sedimentológicos	UFES
Valquiria Ferreira Dutra	Escolha e confirmação das áreas amostrais; Inventário taxonômico; Depósito em acervo de herbários	UFES
Elisa Mitsuko Aoyama	Avaliação da distribuição anatomo-florística e fitossociológica; Dinâmica da vegetação.	UFES
Geraldo Rogério Fautini Cuzzuol	Metabolismo dos carboidratos Produção de biomassa	UFES
Silvia Tamie Matsumoto	Impacto cito-genético, florístico e fitossociológico; Efeitos ecotoxicológicos na dinâmica da vegetação.	UFES
Viviana Borges Corte	Monitoramento da capacidade de recuperação; Sistema anti-oxidantes	UFES
Oberdan José Pereira	Inventário da estrutura vegetal das áreas amostrais Avaliação da distribuição florística e fitossociológica; Dinâmica da vegetação	UFES
Andréa Moura Bittencourt	Microbiota do solo (biocontrole e promotores de crescimento)	UFPeI
Marcos Antonio Bacarin	Trocas gasosas; Fluorescência transiente da clorofila; Teores de pigmentos fotossintéticos	UFPeI
Flávia Cristina Pinto Garcia	Identificação do material vegetal; Taxonomia de fanerógamas.	UFV
Adriano Nunes-Nesi	Componentes estruturais; compostos secundários; Produção de biomassa; Perfil metabólico da comunidade vegetal	UFV
Wagner Luiz Araújo	Compostos secundários e produção de biomassa; Sistemas anti-oxidantes; Perfil metabólico da comunidade vegetal.	UFV
Marcelo da Costa Souza	Distribuição florística e fitossociológica; Dinâmica da vegetação.	UFRRJ
Pós Doutor	Membro de Equipe	UFES
Iniciação Científica	Membro de Equipe	UFES

Iniciação Científica	Membro de Equipe	UFES
Iniciação Científica	Membro de Equipe	UFES
Iniciação Científica	Membro de Equipe	UFES
Profissional Mestre I	Membro de Equipe	UFES
Profissional Mestre I	Membro de Equipe	UFES
Profissional Mestre I	Membro de Equipe	UFES
Técnico Nível Médio	Membro de Equipe	UFES
Técnico Nível Médio	Membro de Equipe	UFES
Técnico Nível Médio	Membro de Equipe	UFES
Técnico Nível Médio	Membro de Equipe	UFES

2. ESCOPO

Serão amostradas áreas atingidas pelos “sprays” das ondas do mar, a vegetação rasteira com sedimentos e o solo florestal visando obter um inventário da estrutura e parâmetros fitossociológicos de oito áreas da formação Restinga. A investigação se estenderá às diferentes formas de respostas ao impacto ocorrido. Estas respostas deverão ser investigadas temporal e espacialmente ao longo dos 12 meses de estudo. Medidas de assimetria fluante de espécies da comunidade vegetal serão utilizadas como um indicativo de estresse ambiental. Para isso a variação da assimetria fluante será avaliada nas oito áreas. Ainda, de maneira observacional, será investigado como diferentes gradientes de poluição alteraram a qualidade foliar e as taxas de herbivoria. Aspectos pontuais como taxa de mortalidade de jovens e adultos (citado no item 6 do Anexo 5) deverão ser comparados com os registros anteriores que a equipe possui (artigos, teses, material depositado nos herbários) esclarecendo a evolução dos estágios sucessionais da comunidade vegetal da Restinga. Em conjunto com o inventário da estrutura e das análises fitossociológicas serão realizadas as avaliações de campo da atividade fotossintética (trocas gasosas, fluorescência da clorofila, teores de pigmentos fotossintéticos e nível de tolerância aos resíduos no solo e na água) dos indivíduos.

3. OBJETIVO

Avaliar o estado de conservação das espécies da biota impactada (Restinga).

3.1 Objetivos específicos

- Inventariar a flora da formação arbustiva-herbácea e arbórea de oito áreas da formação Restinga (Meta 1);
- Sugerir o ingresso de novas espécies da Restinga no rol de ameaçadas (Meta 1);
- Analisar os efeitos dos rejeitos, ainda contidos no solo, na sobrevivência da vegetação jovem e adulta da vegetação da Restinga (Meta 2);
- Avaliar a estrutura da vegetação e a dinâmica temporal da comunidade vegetal das oito áreas amostrais (Meta 2);
- Avaliar a atividade fotossintética (trocas gasosas, fluorescência da clorofila, teores de pigmentos fotossintéticos) da vegetação (halófila-psamofila, arbustiva-herbácea e arbórea) identificada e coletada no inventário taxonômico e fitossociológico nas oito estações da formação Restinga (Meta 3);

4. METAS E JUSTIFICATIVAS

Meta 1- Inventário de 50% da estrutura (halófila-psamofila, arbustiva-herbácea e arbórea) de oito áreas da formação Restinga

Justificativa - Inventário da estrutura halófila-psamofila, arbustiva-herbácea e arbórea das **oito estações [descritas na Tabela 2, página 17, item 6 da TR4 Anexo 5, corrigida no Plano de Trabalho de 26/10/2017 para Coordenadas UTM (datum SIRGAS2000), Quadro 12]**¹ ao longo do ambiente impactado. O material vegetal será identificado e registrado mensalmente durante os 12 meses de monitoramento do projeto, acompanhado do depósito no acervo de Herbários com registros fotográficos.

¹ No Cronograma Operacional foi programada, no mês 2, expedição de reconhecimento para confirmação ou alteração da(s) área(s) pré-determinada(s) no item 6, Anexo 5 da TR nº 4.

Meta 2- Inventário e análises dos parâmetros fitossociológicos nas oito áreas de diferentes fitofisionomias da formação Restinga

Justificativa - Análises dos parâmetros fitossociológicos nas oito áreas de diferentes fitofisionomias da formação Restinga visando monitorar a dinâmica da vegetação, medindo-se características funcionais e sua variação espacial e temporal trimestralmente durante os 12 meses do projeto. O estudo de fitossociologia não será mensal, mas foi prevista uma possível ida mensal a campo considerando o tamanho da equipe e as várias atividades que serão desenvolvidas em cada restinga a ser estudada. Existe uma frequência trimestral de análise e coleta de material para monitorar o possível impacto (conforme consta do Anexo 5, TR4).

Meta 3- Atividade fotossintética da vegetação identificada e coletada no inventário taxonômico e fitossociológico nas oito estações da formação Restinga

Justificativa - Pretende-se avaliar as trocas gasosas e a fluorescência da clorofila *a* (transiente e modulada) nas espécies das oito estações amostrais da Restinga visando obter informações detalhadas sobre os eventos do metabolismo primário da comunidade vegetal. A utilização prática da fluorescência transiente da clorofila *a* tem demonstrado, claramente, que pode explicar e prever o desempenho de amostras fotossintéticas sob várias condições, especialmente quando é utilizado em paralelo com as técnicas de fluorescência modulada por imagens, trocas gasosas e, como em condições de alta luminosidade e temperatura as plantas precisam enfrentar excesso de energia de excitação da luz e os danos do calor que provocam o estresse oxidativo e fotoinibição, análises da atividade do sistema antioxidante e o conteúdo e natureza dos carotenoides também serão avaliados.

5. PRODUTOS

5.1. DADOS BRUTOS <i>(Listar os dados que serão entregues como produto, segundo o TR4, tanto os coletados in situ como os processados no laboratório)</i>	RESPONSÁVEL <i>(Pessoal Vinculado)</i>
Reconhecimento e marcação das áreas amostrais Listagem das espécies coletadas Identificação das espécies Inventário taxonômico Registro fotográfico Depósito em acervos dos herbários	Valquíria F. Dutra Flavia C. P. Garcia
Coleta e envio dos sedimentos para análise química Coleta e envio de espécimes (folhas, ramos e/ou raízes) para análise química Coleta de sementes Testes de viabilidade Testes citotóxicológicos Identificação dos promotores na microbiota do solo	Viviana Borges Corte Sílvia T. Matsumoto Andrea M Bittencourt
Dados estruturais da vegetação Quantificação de área basal Dados de frequência absoluta e relativa Banco de dados específico das formações vegetais sob análise Amostras de material dissecado depositados em herbário para identificação botânica e avaliação do status de conservação	Luis Fernando T. Menezes Oberdan José Pereira Marcelo C. Souza
Das espécies identificadas serão disponibilizados dados da Fotossíntese líquida Transpiração Respiração no escuro Eficiência de carboxilação Eficiência do uso da água Eficiência fotoquímica do fotossistema II Eficiência fotoquímica do fotossistema I Fotoinibição Teores de clorofila e antocianinas nas folhas e frutos avaliados <i>in situ</i>	Diolina Moura Silva Marcos Antonio Bacarin

Teores de pigmentos: clorofila a, Clorofila b, Carotenóides (carotenos e xantofilas), antocianinas;	
Lâminas histológicas para análise da anatomia foliar das espécies identificadas;	Elisa Mitsuko Aoyam
Atividade enzimática e concentração de componentes dos sistemas antioxidantes;	Viviana Borges Corte
Concentração de celulose, hemicelulose e ligninas Concentração de carboidratos solúveis e insolúveis;	Geraldo Rogério F. Cuzzuol
Concentração dos principais compostos primários e secundários do metabolismo vegetal.	Adriano Nunes-Nesi Wagner Luiz Araújo

5.2. ANÁLISE DE DADOS <i>(Relacionar as análises que serão feitas e entregues até o 15º mês de vigência do Projeto)</i>	RESPONSÁVEL <i>(Pessoal Vinculado)</i>
Análise e processamento dos dados que constituirão o inventário da estrutura da comunidade da formação Restinga	Valquiria F. Dutra
Análise e processamento dos dados que constituirão a fenologia de espécies da formação Restinga	Valquiria F. Dutra Flavia C. P. Garcia
Análise, identificação, processamento do registro fotográfico	Valquiria F. Dutra Flavia C. P. Garcia
Identificação das espécies Envio a especialistas	Valquiria F. Dutra Flavia C. P. Garcia
Análise e processamento dos dados sedimentológicos	Andrea M Bittencourt Viviana Borges Corte Sílvia T. Matsumoto
Envio das exsicatas para os acervos dos Herbários	Valquiria Ferreira Dutra
Identificação de espécies com maior valor de importância a partir dos dados estruturais	Luis F. T. Menezes Oberdan José Pereira
Identificação de espécies - Avaliações comparativas. Indicação de espécies chave para recuperação ambiental de formações vegetais específicas	Luis F. T. Menezes Oberdan José Pereira Marcelo C. Souza
Avaliação do grau de ameaça das espécies ocorrentes nas áreas inventariadas.	Luis F. T. Menezes Oberdan José Pereira
Processamento, análise e interpretações dos dados das trocas gasosas, fluorescência de clorofila e pigmentos foliares	Diolina Moura Silva Marcos. Bacarin Wagner Luis Araujo
Cálculos e confecção de planilhas contendo teores dos pigmentos, carboidratos, componentes estruturais, teores de metais e semi-metais nas raízes, caule e folhas, cálculos da atividade do sistema anti-oxidante; análises das lâminas histológicas.	Elisa Mitsuko Aoyama Viviana Borges Corte
Cálculos e confecção de planilhas contendo os teores de carboidratos estruturais	Adriano Nunes-Nesi Geraldo R. F. Cuzzuol Wagner Luiz Araújo
Construção do perfil metabólico e produção de biomassa	Adriano Nunes-Nesi Wagner Luiz Araújo

As análises finais irão comparar os resultados obtidos durante o monitoramento com dados pretéritos existentes.

6. METODOLOGIA

Meta 1- Inventário de 50% da estrutura (halófila-psamofila, arbustiva-herbácea e arbórea) de oito áreas da formação Restinga

As coletas serão realizadas por meio de caminhamento aleatório na região das oito estações [descritas na Tabela 2, página 17, item 6 da TR4 Anexo 5, corrigida no Plano de Trabalho de 26/10/2017 para Coordenadas UTM (*datum* SIRGAS2000), Quadro 12] da Restinga, cobrindo toda a área, onde serão

coletados apenas os indivíduos férteis encontrados, utilizando os métodos usuais de trabalhos de campo e de herborização (Fidalgo e Bononi, 1989). Serão feitos registros fotográficos e coletados dados referentes às cotas altitudinais e coordenadas geográficas com uso GPS. Amostras em sílica gel serão coletadas para futuros trabalhos moleculares. Após identificação, os espécimes coletados serão depositados no acervo dos Herbários VIES, SAMES e VIC.

O sedimento de cada uma das oito estações será amostrado para análises granulométricas, química de rotina e matéria orgânica. Serão também amostrados material vegetal (folha e raízes) para medição das concentrações de metais.

Meta 2- Inventário e análises dos parâmetros fitossociológicos nas oito áreas de diferentes fitofisionomias da formação Restinga

Nesse período de 12 meses será realizado o levantamento florístico das formações vegetais da restinga, nos diferentes pontos de amostragem.

Especialmente, para a área da formação halófitas, será realizado o levantamento estrutural da vegetação, com finalidade de se entender se há variação nos padrões de densidade e riqueza das espécies de acordo com o distanciamento da foz do rio do Doce. Nossa hipótese é de que, a estruturação da comunidade tenha se alterado de acordo com o acúmulo de rejeitos provenientes do salgueiro e acumulado nas plantas. Em cada ponto serão instaladas 25 parcelas permanentes (o número de parcelas será definido de acordo com o perfil da praia)² e acompanhado mensalmente a dinâmica da vegetação. Cada parcela terá 1m quadrado. Os trechos onde há vegetação arbustiva / arbórea terá seu inventário florístico e estrutural iniciado ou reavaliado, já que a equipe de trabalho possui áreas de estudo próximas aos pontos de amostragem.

Na vegetação arbustiva/arbórea será realizado o levantamento em 0,1 ha da vegetação em cada área. Serão alocadas três parcelas contíguas de 10 x 10m (Mueller-Dombois & Ellenberg, 1974), distribuídas em 1 faixas paralelas ao mar. Serão incluídos no censo todos os indivíduos arbustivos ou arbóreos com 2,5cm ou mais de diâmetro do tronco à altura do peito (DAP)³ que corresponde a aproximadamente a 1,5cm de diâmetro do tronco à altura do solo (DAS), inclusive lianas. Considerando-se que árvores mortas e em pé constituem indicativo da dinâmica sucessional da floresta, esses indivíduos serão também amostrados. Cada indivíduo amostrado receberá uma plaqueta numerada e seu DAP medido. Indivíduos perfilhados só foram marcados e medidos quando um dos ramos possuía DAP igual ou superior a 2,5cm. Árvores com sapopemas, cujo alargamento das raízes se iniciava a 1,30m ou mais acima do solo tirão seus diâmetros medidos a 20cm acima do alargamento, conforme empregado em levantamentos deste tipo. Simultaneamente, serão coletadas amostras para herborização, de acordo com técnicas usuais.

Meta 3- Atividade fotossintética (Trocas Gasosas, Fluorescência da Clorofila a e Pigmentos Fotossintéticos)

Cinco indivíduos de cada espécie identificadas no inventário da formação Restinga (formação halófila-psamófila e seus interiores) serão selecionados para avaliação da Cinética de Emissão da Fluorescência Rápida e da Fluorescência modulada da clorofila a (Li et al., 2014; Strasser et al., 2010, Bacarin et al., 2016, Chen et al., 2016).

As trocas gasosas serão avaliadas utilizando-se um analisador de gás no infravermelho, portátil, (IRGA, modelo LCi SD, ADC BioScientific Ltd., England) obtendo-se a taxa líquida de assimilação do CO₂ (A), a condutância estomática ao vapor de água (gs) a transpiração (E), e a concentração intercelular de CO₂ (Ci). A condutância estomática será usada para quantificar a eficiência do uso da água durante as estações seca e chuvosa (Lavinsky et al., 2016).

O teor relativo de clorofila será estimado com o uso de um clorofilômetro portátil (SPAD-502, Konica Minolta Optics, Inc.) e expresso como índice SPAD. Serão realizadas medidas em campo, nas mesmas folhas utilizadas na análise da fluorescência da clorofila a e trocas gasosas (Faria-Silva., 2017). Amostra das folhas utilizadas para a análise dos teores de clorofilas totais serão utilizadas em laboratório para análises espectrofotométricas com extração em DMSO (Lichtenthaler e Buschmann, 2001). As concentrações foliares

² Se estabelece o número máximo de parcelas, mas o quantitativo de parcelas pode ser menor, devido a ação do mar neste tipo de formação, acarretando o seu estreitamento.

³ O valor, para este parâmetro, não é correto! Não se mede troncos a altura do solo em 1,5 para vegetação arbustiva arbórea. Inadequado para avaliações em restinga!

de xantofilas (neoxantina, violaxantina, anteraxantina, luteína e zeaxantina) e carotenos (α -caroteno e β -caroteno) serão ensaiadas em cromatógrafo líquido de alto desempenho (Matos et al., 2009).

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bacarin, M. A., Martinazzo, E. G., Cassol, D., Falqueto, A. R., Silva, D. M. 2016. Daytime variations of chlorophyll a fluorescence in pau d'alto seedlings. *Revista Árvore*, v.40, n.6, p.1023-1030.
- Chen, Y. E., Cui, J. M., Li, G. X., Yuan, M., Zhang, Z. W., Yuan, S., Zhang, H. Y. 2016. Effect of salicylic acid on the antioxidant system and photosystem II in wheat seedlings. *Biologia Plantarum*, v.60, p.139-147.
- Faria-Silva L, Gallon CZ, Purgatto E, Silva DM (2017) Photochemical metabolism and fruit quality of Ubá mango tree exposed to combined light and heat stress in the field. *Acta Physiol Plant* 39:238 . doi: 10.1007/s11738-017-2533-3
- Fernie AR, Roscher A, Ratcliffe RG, Kruger NJ (2001) Fructose 2, 6-bisphosphate activates pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase and increases triose phosphate to hexose phosphate cycling in heterotrophic cells. *Planta* 212: 250-263
- Fidalgo, O., Bononi, V.L. R. Técnicas de coleta, preservação e herborização do material botânico. São Paulo: Instituto de Botânica. 1989.
- Gibon Y, Blaessing OE, Hannemann J, Carillo P, Höhne M, Hendriks JH, Palacios N, Cross J, Selbig J, Stitt M (2004) A robot-based platform to measure multiple enzyme activities in Arabidopsis using a set of cycling assays: comparison of changes of enzyme activities and transcript levels during diurnal cycles and in prolonged darkness. *The Plant Cell Online* 16: 3304-3325
- Laloo, R., Ramchuran, S., Ramduth, D., Görgens, J., Gardiner, N. 2007. Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish. *Journal of Applied Microbiology*, v.103, p.1471–1479.
- Lavinsky, A. O., Detmann, K. C., Reis, J. V., Ávila, R. T., Sanglard, M. L., Pereira, L. F., Sanglard, L. < V. P., Rodrigues, F. A., Araújo, W. L., DaMatta, F. M. Silicon improves rice grain yield and photosynthesis specifically when supplied during the reproductive growth stage. *Journal of Plant Physiology*, v.206, p.125-132, 2016.
- Lichtenthaler HK, Buschmann C (2001) Chlorophylls and Carotenoids: Measurement and Characterization by UV-VIS. *Curr Protoc Food Anal Chem* F4.3:1–8. doi: 10.1002/0471142913
- Mesa, J., Rodríguez-Llorente, I. D., Pajuelo, E., Piedras, J. M. B., Caviedes, M. A., Redondo-Gómez, S., Mateos-Naranjo, E. 2016. Moving closer towards restoration of contaminated estuaries: Bioaugmentation with autochthonous rhizobacteria improves metalrhizoaccumulation in native *Spartina maritima*. *Journal of Hazardous Materials*, v.300, p.263–271.
- Nunes-Nesi A, Carrari F, Gibon Y, Sulpice R, Lytovchenko A, Fisahn J, Graham J, Ratcliffe RG, Sweetlove LJ, Fernie AR (2007) Deficiency of mitochondrial fumarase activity in tomato plants impairs photosynthesis via an effect on stomatal function. *The Plant Journal* 50: 1093-1106
- Reed, M.L.E., Glick, B. R. 2005. Growth of canola (*Brassica napus*) in the presence of plant growth-promoting bacteria and either copper or polycyclic aromatic hydrocarbons. *Can. J. Microbiol.*, v.51, p.1061-1069.
- Singh, N.P.; McCoy, M.T.; Tice, R.R.; Schneider, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*, New York, v.175, n.1, p.184-191, 1988.
- Strasser, R. J.; Tsimilli-Michael, M.; Qiang, S.; Goltsev, V., 2010. Simultaneous in vivo recording of prompt and delayed fluorescence and 820 nm reflection changes during drying and after rehydration of the resurrection plant *Haberlea rhodopensis*. *Biochim. Biophys. Acta (BBA) – Bioenerg.* 1797, 1313-1326.