

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**STEFFANY KATHERINE BAUDISCH**

**APLICABILIDADE DO MÉTODO ABC (ABUNDANCE/BIOMASS CURVES) PARA  
AVALIAR A CONTAMINAÇÃO ORGÂNICA EM UM ESTUÁRIO SUBTROPICAL**

**PONTAL DO SUL**

**2014**

**STEFFANY KATHERINE BAUDISCH**

**APLICABILIDADE DO MÉTODO ABC (ABUNDANCE/BIOMASS CURVES) PARA  
AVALIAR A CONTAMINAÇÃO ORGÂNICA EM UM ESTUÁRIO SUBTROPICAL**

Monografia apresentada à disciplina de Estágio Supervisionado, como requisito parcial à conclusão do curso de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

**Orientador:** Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana

**Co-orientadora:** MSc. Kalina Manabe Brauko

**PONTAL DO SUL**

**2014**

**Aplicabilidade do método ABC (Abundance/Biomass Curves) para avaliar a  
contaminação orgânica em um estuário subtropical**

Baudisch, S. K., Brauko, K. M., Lana, P. C.

Revista pretendida: Marine Pollution Bulletin

ISSN: 0025-326X    ESTRATO: QUALIS A1    FATOR DE IMPACTO: 2,531

Steffany Katherine Baudisch<sup>a</sup> , Kalina Manabe Bruako<sup>a</sup> , Paulo da Cunha  
Lana<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Av. Beira Mar  
s/n, CEP 83255-976, PO Box 61, Pontal do Paraná, Paraná, Brasil*

email addresses: steffany.bau@gmail.com; kalinabio@gmail.com;

lana@ufpr.br

CATALOGAÇÃO NA FONTE:  
UFPR / SIBI - Biblioteca do Centro de Estudos do Mar

Baudisch, Steffany Katherine  
B338a Aplicabilidade do método ABC (Abundance/Biomass Curves) para avaliar a contaminação orgânica em um estuário subtropical. / Steffany Katherine Baudisch. – Pontal do Paraná, 2014.  
36 f.; 29 cm.

Orientador: Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana.  
Co-orientadora: MSc. Kalina Manabe Brauko.

Monografia (graduação) - Curso de Oceanografia, Centro de Estudos do Mar, Setor de Ciências da Terra, Universidade Federal do Paraná.

1. Macrofauna bêntica. 2. Método ABC. 3. Contaminação orgânica. 4. Baixios entre-marés. 5. *k* e *r*-estrategistas. I. Título. II. Lana, Paulo da Cunha. III. Brauko, Kalina Manabe. IV. Universidade Federal do Paraná.

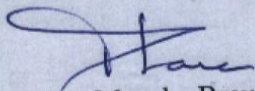
CDD 628

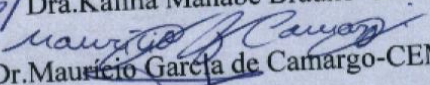
## TERMO DE APROVAÇÃO

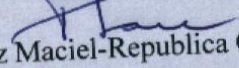
**Steffany Katherine Baudisch**

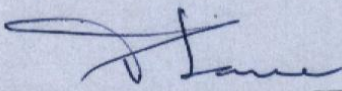
**“Aplicabilidade do método ABC( Abundance/Biomass Curves) para avaliar a contaminação orgânica em um estuário subtropical”**

Monografia aprovada como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Oceanografia, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

  
p/ Dra. Kalina Manabe Brauko-CEM

  
Prof. Dr. Maurício Garcia de Camargo-CEM/UFPR

p/   
Prof. Dr. Pablo Muniz Maciel-Republica Oriental del Uruguay

  
Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana-CEM/UFPR  
Presidente

Pontal do Paraná, 15 de julho de 2014

À minha vó, Renate Baudisch (*in memoriam*).

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer à minha mãe, Elizabeth Baudisch. Obrigada por sempre estar lá e acreditar em mim mesmo quando eu não acreditei e à minha família que mesmo longe sempre esteve perto.

A todos do laboratório de Bentos, pela ajuda, suporte e por fazerem os dias de trabalho mais divertidos.

Ao Prof. Dr. Paulo da Cunha Lana por me orientar, pelas oportunidades e conselhos.

Aos amigos que fiz durante esses cinco anos e meio de faculdade e aqueles que estão comigo desde sempre, obrigada pelas risadas, boas conversas e companheirismo.

Agradeço especialmente à Kalina Manabe Brauko, não somente por me co-orientar, mas também pela paciência, ajuda e sobretudo por sua amizade. Obrigada por tudo!

Ao Prof. Dr. Mauricio Camargo e Prof. Dr. Pablo Muniz, por aceitarem ser banca dessa monografia.

Agradeço aos órgãos financiadores que fomentaram minha pesquisa e meu intercâmbio (CNPq, CAPES, Fundação Araucária).

E a todos que estiveram envolvidos na realização desse trabalho.

**A cura para tudo é sempre água salgada:  
o suor, as lágrimas ou o mar.  
Isak Dinesen**



## RESUMO

Este trabalho avalia a aplicabilidade e confiabilidade do método ABC como indicador do nível de poluição por enriquecimento orgânico sobre a macrofauna bêntica de baixios entre-marés não vegetados de um estuário subtropical no sul do Brasil. Seguindo um desenho amostral hierarquizado no tempo e no espaço, o método foi aplicado em dois baixios contaminados e dois baixios não contaminados próximo à cidade de Paranaguá, submetidos a uma constante descarga de esgotos domésticos, em três quinzenas de um verão e de um inverno para testar a correlação de variáveis macrofaunais com indicadores químicos de contaminação e sua variabilidade espaço-temporal. Todas as curvas classificaram os baixios contaminados como muito poluídos. Já as respostas das curvas na área não-contaminada foram altamente heterogêneas, indicando que processos naturais estão possivelmente causando o efeito de poluição detectado pelo método ABC. A análise AIC aplicada aos coeficientes  $W$  do método ABC mostrou que o melhor modelo (54% de explicação dos dados) está relacionado com esteróides fecais e carbono orgânico total. Ao contrário do esperado, as maiores variações espaço-temporais de  $W$  foram encontradas na escala de baixios ( $10^2$  m) e nas interações entre pontos e quinzenas, o que pode ser explicado pelo alto dinamismo no local e pelo input de matéria orgânica de origem natural. Isso indica que o método ABC respondeu à contaminação orgânica na região do estudo, e que pode ser utilizado como indicador da saúde ambiental. No entanto, as curvas devem ser aplicadas com cautela em ambientes estuarinos sujeitos a descargas de matéria orgânica de origem natural, tornando ambíguas as respostas da macrofauna bêntica..

**Palavras-chave:** Método ABC; macrofauna bêntica; contaminação orgânica; baixios entre-marés;  $k$  e  $r$ -estrategistas.

## ABSTRACT

This study evaluates the applicability and reliability of the ABC method as an indicator of the level of organic pollution in non-vegetated tidal flats in a subtropical estuary in southern Brazil. Following a hierarchized sampling design, the method was applied in two contaminated and two non-contaminated tidal flats near Paranaguá, in three consecutive fortnights of a summer and a winter, to test for the correlations between faunal responses and chemical indicators of contamination and spatio-temporal variability. The contaminated flats were classified as grossly contaminated. However, the responses on the non-contaminated area were highly heterogeneous, indicating that natural inputs of organic matter simulated pollution effects. In the AIC analysis applied to the *W*-statistics of the ABC curves, the best model (54% of explanation) showed correlations with some of the fecal sterols and total organic carbon. Contrary to expected, the ABC curves significantly varied at the smaller spatio-temporal scales, due to the high local hydrodynamics and natural organic inputs. This suggests that the ABC method is indeed sensible to the contamination levels and can be used as an index of biotic quality. However, the method must be cautiously applied in estuaries subjected to natural organic enrichment.

Keywords: ABC Method; macrobenthic fauna; organic contamination; tidal flats; *k* and *r*-strategies.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS .....	ii
RESUMO.....	iv
ABSTRACT .....	v
INTRODUÇÃO .....	7
MATERIAL E MÉTODOS.....	10
1.1 Área de Estudo.....	10
1.2 Coleta e Processamento de Amostras .....	11
1.3 Análise de Dados .....	13
RESULTADOS .....	16
DISCUSSÃO .....	22
CONCLUSÕES .....	27
REFERÊNCIAS.....	28

## INTRODUÇÃO

Uma forma comum de se avaliar os riscos para a saúde dos ecossistemas é a caracterização das fontes de distúrbio e seus efeitos através do uso de indicadores (Fisher et al., 2001). Um indicador biológico pode ser quaisquer elementos, processos ou propriedades, de natureza qualitativa ou quantitativa, que representem condições ambientais, que não possam ser medidos diretamente por razões técnicas ou logísticas (Goodsell et al., 2009; Borja et al., 2011). A utilização de índices é uma boa alternativa para os estudos de impacto, pois sua linguagem sintética, direta e prática é facilmente entendida. Portanto, índices e indicadores podem e devem ser utilizados para orientar a investigação e as políticas de programas ambientais (Pinto et al., 2009).

A macrofauna benthica tem sido amplamente utilizada como indicadora da qualidade ambiental (Wildsmith et al., 2011). Ela é formada por animais relativamente sedentários e de ciclos de vida longos, com diferentes níveis de tolerância ao estresse. Exercem um papel importante na ciclagem de nutrientes entre o sedimento e a coluna d'água adjacente (Dauvin et al., 2012).

Muitos índices que levam em consideração as condições da biota foram propostos e aplicados em regiões específicas, particularmente em áreas temperadas do hemisfério norte. No entanto, para que esses índices sejam de fato generalizáveis e aplicáveis em variadas escalas, são ainda necessários estudos em outras áreas, incluindo as tropicais e subtropicais. Um desses índices é o método ABC (Curvas de Comparação Abundância/Biomassa, em inglês *Abundance/Biomass Comparison*), proposto por Warwick (1986), com

base na relação entre a abundância e biomassa da macrofauna bêntica em resposta a gradientes de contaminação.

De acordo com Warwick (1986), as condições de uma comunidade podem ser avaliadas com a plotagem combinada de duas curvas de *k*-dominância (Lambshead *et al.*, 1983), uma de abundância e outra de biomassa. Nessas curvas, as espécies são classificadas conforme a ordem de importância no eixo x (em escala logarítmica) e o percentual de dominância sobre o eixo y (escala cumulativa). Desta forma, as curvas de *k*-dominância são rankings cumulativos de abundâncias e biomassas plotados contra um ranking de espécies (mais precisamente, de seu logaritmo). A vantagem de curvas de dominância é que a distribuição de abundâncias entre as espécies e a distribuição de sua biomassa pode ser comparada em condições similares. Isso não é possível com os índices de diversidade, uma vez que abundância e biomassa possuem unidades de medida diferentes.

As curvas respondem tipicamente a distúrbios causados pelo despejo de esgoto doméstico. Nestes casos, o ambiente organicamente enriquecido é rapidamente dominado por espécies *r*-estrategistas, que possuem alta abundância e baixa diversidade, de pequeno tamanho e elevadas taxas de reprodução. Quando o ambiente está em equilíbrio, por outro lado, as espécies *k*-estrategistas, de menor taxa reprodutiva e maior tamanho, dominam o ambiente em biomassa e ocorrem em maior diversidade. Nessa situação, espera-se que a biomassa total seja maior, porém distribuída em um maior número de indivíduos.

As tendências gerais de variação das curvas ABC permitem categorizar os ambientes em três níveis de poluição: não poluído, moderadamente poluído

e muito poluído. Em um ambiente perturbado, ou poluído, espera-se que a biomassa total se distribua apenas entre poucas espécies, fazendo com que a curva de abundância fique acima da curva de biomassa. Em comunidades não poluídas, a curva de biomassa encontra-se acima da curva de abundância. Nas comunidades moderadamente poluídas, as curvas possuem comportamentos similares (Warwick, 1986; Clarke, 1990).

O método ABC tem sido aplicado principalmente em comunidades da macrofauna bêntica, embora haja estudos sobre comunidades planctônicas, ictiofaunais, mega- e meiobênticas (Warwick et al., 1990; Ismael et al., 2003; Rogers et al., 2008; Viana et al., 2012).

O presente trabalho avalia a aplicabilidade e confiabilidade do método ABC como indicador do nível de poluição por enriquecimento orgânico em um estuário subtropical, com a utilização de um delineamento amostral espaço-temporalmente hierarquizado. Amostragens de macrofauna e de indicadores químicos de contaminação orgânica foram conduzidas em planícies entre-marés submetidas à descarga de efluentes urbanos e afastadas da fonte de despejo. Espera-se que as curvas de abundância se sobreponham às curvas de biomassa nas áreas Contaminadas, e que o oposto ocorra nas áreas não-contaminadas. Curvas confiáveis estarão altamente correlacionadas com os indicadores químicos de contaminação e serão significativamente variáveis na maior escala espacial ( $10^3$  m), que corresponde à escala da contaminação.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **1.1 Área de Estudo**

O Complexo Estuarino de Paranaguá situa-se na costa sul do Brasil (25°30'S, 48°25'W) e possui 612 km<sup>2</sup>. Próximo à sua desembocadura, situa-se o sub-estuário da Cotinga, com cerca de 20 km de extensão (Fig. 1). Os principais rios que deságuam no sub-estuário são os Itiberê, Guaraguaçu e Maciel. O rio Guaraguaçu possui 60 km de comprimento e é o que mais contribui com descarga de água doce para o CEP. O rio Maciel de 10,6 km de comprimento possui suas bordas cercadas por manguezais é praticamente desprovido de atividades antrópicas (Kolm et al., 2002). O Rio Itiberê, de 14 km de comprimento, recebe a maior parte do esgoto não tratado produzido na cidade de Paranaguá (Kolm et al, 2002; Martins et al, 2010). De acordo com o CAB – Águas de Paranaguá, menos de 50% da população do município recebia coleta e tratamento de esgoto até 2012, sendo o restante liberado *in natura* no rio Itiberê.

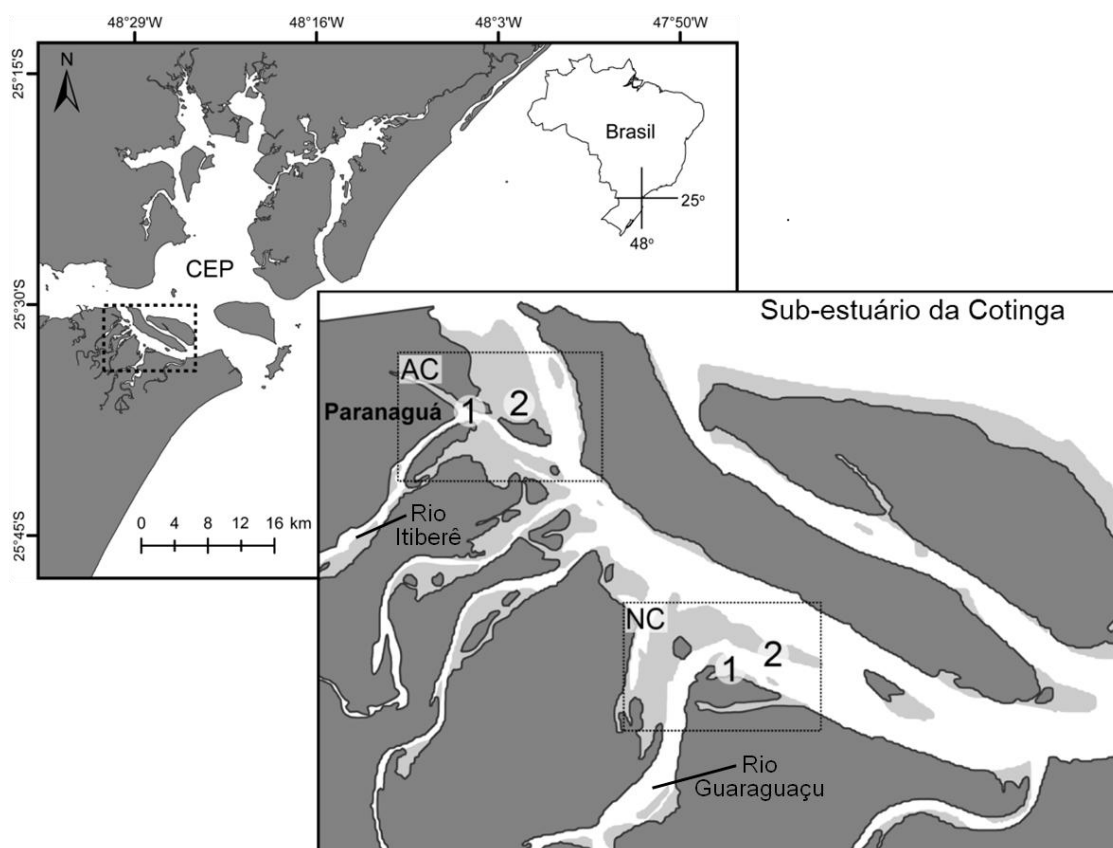


Figura 1 – Complexo Estuarino de Paranaguá (CEP) e sub-estuário da Cotinga. Baixios B1 e B2 amostrados na área Contaminada (AC), e baixios B1 e B2 na área Não-Contaminada (NC).

No sub-estuário da Cotinga foi detectado um gradiente de contaminação fecal, com as maiores concentrações de esteróides fecais na desembocadura do rio Itiberê (Abreu-Mota et al., 2014).

## 1.2 Coleta e Processamento de Amostras

A coleta do material foi realizada em duas campanhas: verão (janeiro e fevereiro de 2011) e inverno (junho e julho de 2011) (Fig. 2). Em cada campanha foram amostrados dois baixios entre-marés não vegetados em uma área Contaminada (submetida a uma constante descarga de esgotos, próximo a cidade de Paranaguá), e outros dois em uma área não-contaminada (sem a



influência do enriquecimento orgânico proveniente dos esgotos) (Fig. 1). A área Contaminada foi distanciada da Não-contaminada na escala de  $10^3$  m, sendo que dentro de cada área os baixios foram distanciados na escala de  $10^2$  m. Em cada baixo, a macrofauna foi coletada em quatro pontos dispostos paralelamente à linha d'água, a  $10^1$  m entre si, e correspondendo a quadrats de  $1\text{m}^2$ . Em cada ponto foram tomadas três réplicas aleatórias.

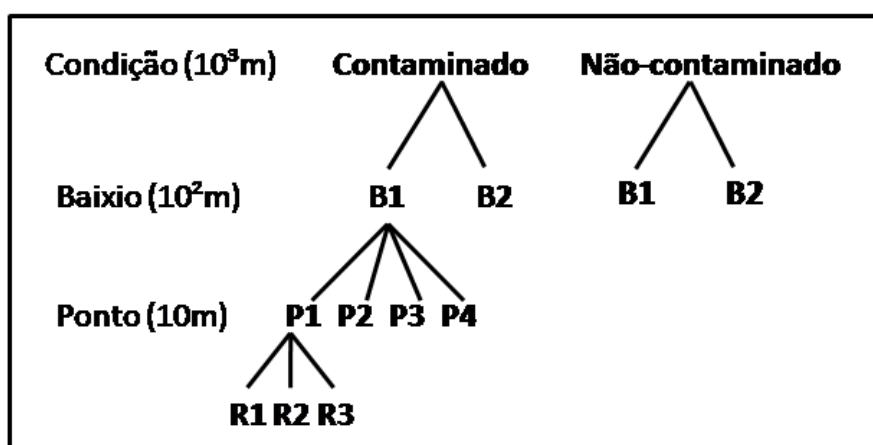


Figura 2 – Diagrama do delineamento amostral adotado, mostrando as escalas de variabilidade espacial examinada. Em 2011 foram amostrados dois Períodos (Inverno x Verão), com três Sizígias consecutivas cada. Em cada sizígia foram amostradas duas Condições (Contaminado x Não-contaminado), em dois Baixios (B1 e B2) com quatro pontos ( $n = 3$  réplicas cada).

As amostragens foram realizadas durante as marés baixas de sizígia, com um amostrador cilíndrico de PVC, de  $78,5\text{ cm}^2$  de área e  $15\text{ cm}$  de altura. Após as coletas, as amostras foram lavadas em peneira com malha de  $0,5\text{ mm}$  de abertura e fixadas em solução de formol a  $4\%$ . Após a triagem das amostras em laboratório, os organismos foram identificados até o menor nível taxonômico possível e contados, sendo posteriormente conservados em álcool a  $70\%$ . A biomassa seca foi determinada a partir da diferença entre os pesos iniciais e finais após secagem em estufa a  $60^\circ\text{C}$  por  $48$  horas. Espécies com

abundância total inferior ou igual a onze indivíduos, considerando todas as amostras, foram consideradas espécies raras e excluídas da análise.

Em cada ponto foram coletadas amostras para granulometria, teor de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), carbono orgânico total (COT) e nitrogênio total (NT), assim como dados de salinidade, pH e profundidade da camada redox. Para a análise de esteróides fecais, foi coletada uma amostra de sedimento em cada baixio.

As análises granulométricas foram realizadas através do método de peneiramento manual e a escala adotada para os cálculos dos parâmetros granulométricos foi uma adaptação da escala de Wentworth (1922), tal qual aplicada pelo pacote `rysgran` do R (Gilbert et al., 2012). O teor de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) foi obtido pelo método gravimétrico após ataque químico com solução de ácido clorídrico a  $1 \text{ mol.L}^{-1}$ . As concentrações de NT foram determinadas pelo método de Grasshoff et al. (1983), e as concentrações de COT pelo método de Strickland e Parsons (1972). As análises de esteróides fecais foram baseadas no método descrito por Kawakami e Montone (2002).

### **1.3 Análise de Dados**

As curvas ABC foram geradas no software PRIMER 6 (Clarke e Gorley, 2006) para cada quinzena do verão e inverno, nas condições contaminada e não-contaminada. Foram também gerados coeficientes  $W$  para cada réplica amostrada, que indicam a relação ou a distância entre a biomassa e a abundância. Esse coeficiente foi proposto por Clarke (1990) como um tratamento estatístico para o método ABC, com a seguinte fórmula:

$$W = \sum_{i=1}^S (B_i - A_i) / [50(S - 1)]$$

Onde  $B_i$  é a biomassa das espécies  $i$ ,  $A_i$  é a abundância das espécies  $i$  e  $S$  é o número de espécies.

Os valores de  $W$  variam de -1 a +1, sendo que valores positivos ocorrem quando a curva de biomassa se encontra acima da curva de abundância, ou seja, em condições prístinas. Já os valores negativos de  $W$  ocorrem quando a curva de abundância se encontra acima da curva de biomassa, indicando um ambiente poluído (Clark e Gorley, 2006). Ambientes moderadamente poluídos possuem um  $W$  muito próximo a zero, uma vez que as curvas de abundância e biomassa se sobrepõem em praticamente toda sua extensão.

Para explorar as correlações entre as respostas do método ABC e as variáveis abióticas, regressões múltiplas foram realizadas utilizando o coeficiente  $W$  como variável resposta. As variáveis preditoras foram: teor de coprostanol no sedimento, as razões coprostranol/colesterol e coprostranol/(coprostranol + colestanol), profundidade da camada redox, salinidade da água de percolação, pH, teores de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), nitrogênio total (NT) e carbono orgânico total (COT) do sedimento e porcentagem de finos. O Critério de Informação Akaike, ou Akaike Information Criterion (AIC) (Akaike, 1974), foi então utilizado para a seleção do melhor modelo de correlações. Ou seja, qual o conjunto de variáveis abióticas que melhor explica os valores de  $W$ .

A avaliação da significância das escalas de variabilidade espaço-temporais significativas dos coeficientes  $W$  foi explorada com um modelo linear de 5 fatores (2 temporais e 3 espaciais): Estação (2 níveis, Inverno e Verão) e

Quinzenas (3 níveis aninhados em Estação, Q1 a Q3), Condição (2 níveis, Contaminado e Não-contaminado), Baixios (2 níveis aninhados em Condição, B1 e B2) e Pontos (4 níveis aninhados em Baixios, P1 a P4). Os fatores espaciais foram ortogonais aos temporais e os fatores Estação e Condição foram fixos. O modelo foi aplicado a uma PERANOVA utilizando o software PRIMER 6 (Clarke e Gorley, 2006) e o pacote extra PERMANOVA + (Anderson et al. 2008), com os valores de  $W$  no lugar da variável dependente.

## RESULTADOS

A fauna variou consideravelmente durante as estações do ano e entre os tratamentos. De modo geral, as maiores abundâncias foram registradas no inverno das duas condições. Tubificinae sp 1 foi muito abundante durante o inverno em ambas as condições e quase ausente no verão. A abundância de *Capitella* sp. foi reduzida na condição não-contaminada, assim como Tubificinae sp 1, *Laeonereis culveri*, *Heteromastus* sp. e *Streblospio benedicti*. O oposto ocorreu com *Heleobia australis* e *Sigambra* sp., que foram mais abundantes na condição não-contaminada (Tab. 1).

As espécies que mais contribuíram para a biomassa total foram os bivalves de maior tamanho, representados por *Anomalocardia brasiliiana*, *Macoma constricta* e *Tellina versicolor*. A biomassa das espécies numericamente dominantes Tubificinae sp 1, *Laeonereis culveri* e *Heleobia australis*, foi baixa. A biomassa por indivíduo de Tubificinae sp 1 na condição não-contaminada foi maior do que na condição contaminada em ambas as estações, o mesmo ocorrendo para *Laeonereis culveri*, *Heteromastus* sp e *Streblospio benedicti*. A biomassa por indivíduo de *Capitella* sp. também foi elevada na condição não-contaminada, sendo que os indivíduos nessa condição possuíam mais que o dobro de biomassa do que os indivíduos na condição contaminada.

Tabela 1 – Abundância e biomassa ( $10^{-3}$ g) das dez espécies mais abundantes durante o inverno e o verão nas condições Contaminado e Não-contaminado.

CONTAMINADO				
Espécies	Inverno		Verão	
	Abundância	Biomassa ( $10^{-3}$ g)	Abundância	Biomassa ( $10^{-3}$ g)
<i>Tubificinae</i> sp1	7408	173	6566	140
<i>Laonereis culveri</i>	3872	332	1222	452
<i>Heleobia australis</i>	898	115	115	42
<i>Tubificinae</i> sp2	3603	121	1	2
<i>Sigambra</i> sp	512	133,7	189	99
<i>Capitella</i> sp	372	91	701	85
<i>Heteromastus</i> sp	387	156	129	61
<i>Streblospio benedicti</i>	467	113	107	29
<i>Anomalocardia flexuosa</i>	262	1097	50	1023
<i>Glycinde multidentis</i>	190	403	80	63

NÃO CONTAMINADO				
Espécies	Inverno		Verão	
	Abundância	Biomassa ( $10^{-3}$ g)	Abundância	Biomassa ( $10^{-3}$ g)
<i>Heleobia australis</i>	1406	142,7	1677	158
<i>Sigambra</i> sp	775	89,2	359	72
<i>Tubificinae</i> sp1	619	49,8	469	46
<i>Glycinde multidentis</i>	146	82,7	106	98
<i>Heteromastus</i> sp	130	57	34	22
<i>Anomalocardia flexuosa</i>	120	1352	92	2573
<i>Tubificinae</i> sp2	103	24	0	0
<i>Laonereis culveri</i>	97	59	89	55
<i>Streblospio benedicti</i>	52	23,1	11	11
<i>Capitella</i> sp	9	13	5	6

As respostas das curvas variaram entre as áreas contaminadas e não-contaminadas. Todas as curvas classificaram os baixios contaminados como muito poluídos, com a linha da abundância quase sempre acima da linha da biomassa (Fig. 3). Na Quinzena 2 do Inverno, as curvas de abundância e biomassa se sobrepuseram, porém um alto grau de contaminação foi evidenciado pelo coeficiente  $W$  (Figs. 3 e 4). No verão houve uma melhora gradativa da qualidade ambiental, evidenciada pela diminuição da distância entre as curvas, o que não se repetiu nas quinzenas do inverno.

Já as respostas das curvas na área não-contaminada foram altamente heterogêneas, variando de não poluídas a muito poluídas ao longo dos períodos de estudo. A classificação “não poluído” só foi atribuída pelas curvas

na primeira quinzena do inverno. Nas quinzenas 2 do verão e 3 do inverno os baixios foram classificados como muito poluído. Os demais baixios da área não-contaminada foram classificados como moderadamente poluídos.

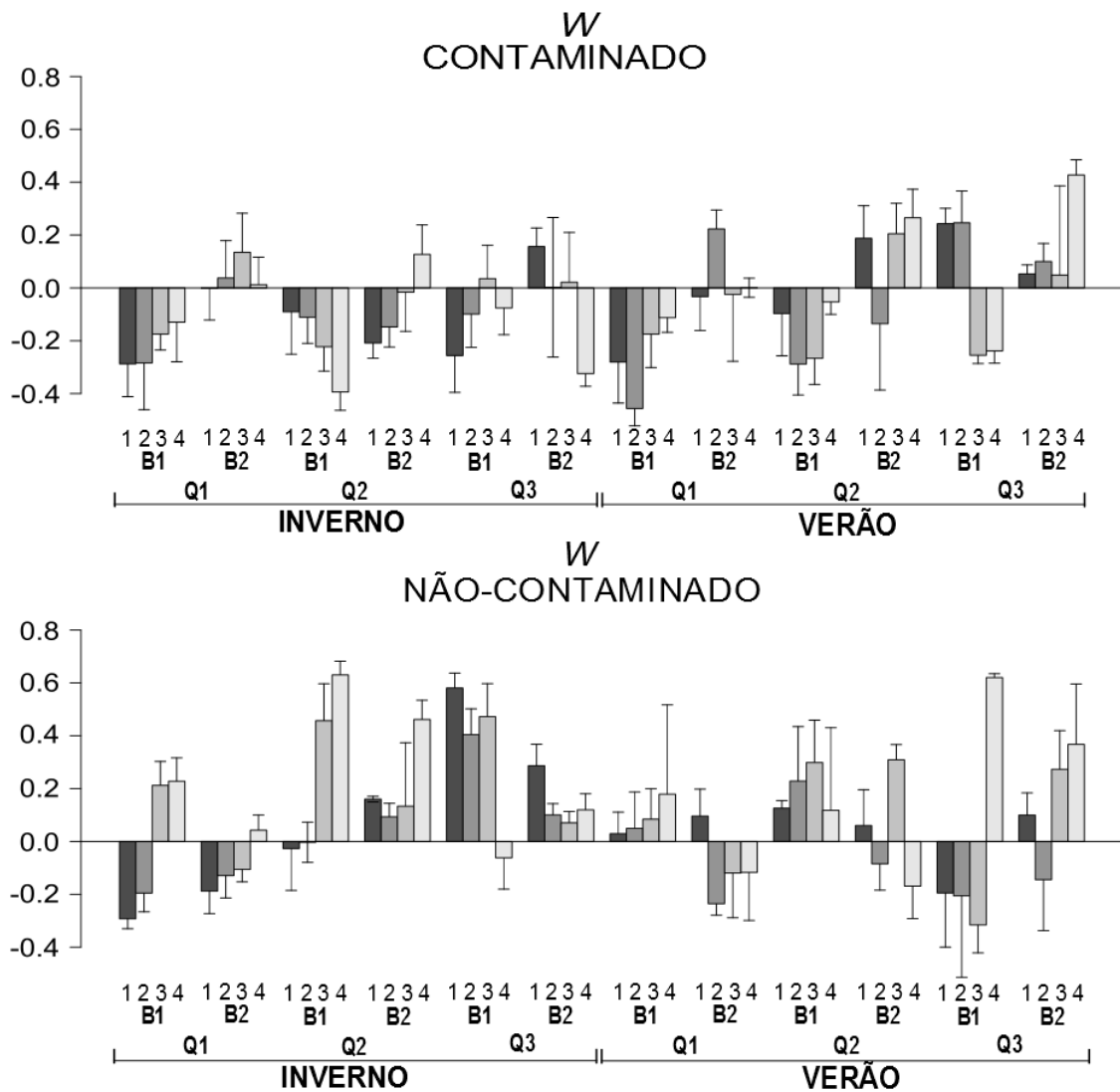


Figura 3 – Média dos coeficientes  $W$  para cada ponto no Verão e Inverno para as condições Contaminado e Não-contaminado. B1 e B2 correspondem aos baixios e Q1, Q2 e Q3 às quinzenas amostradas.

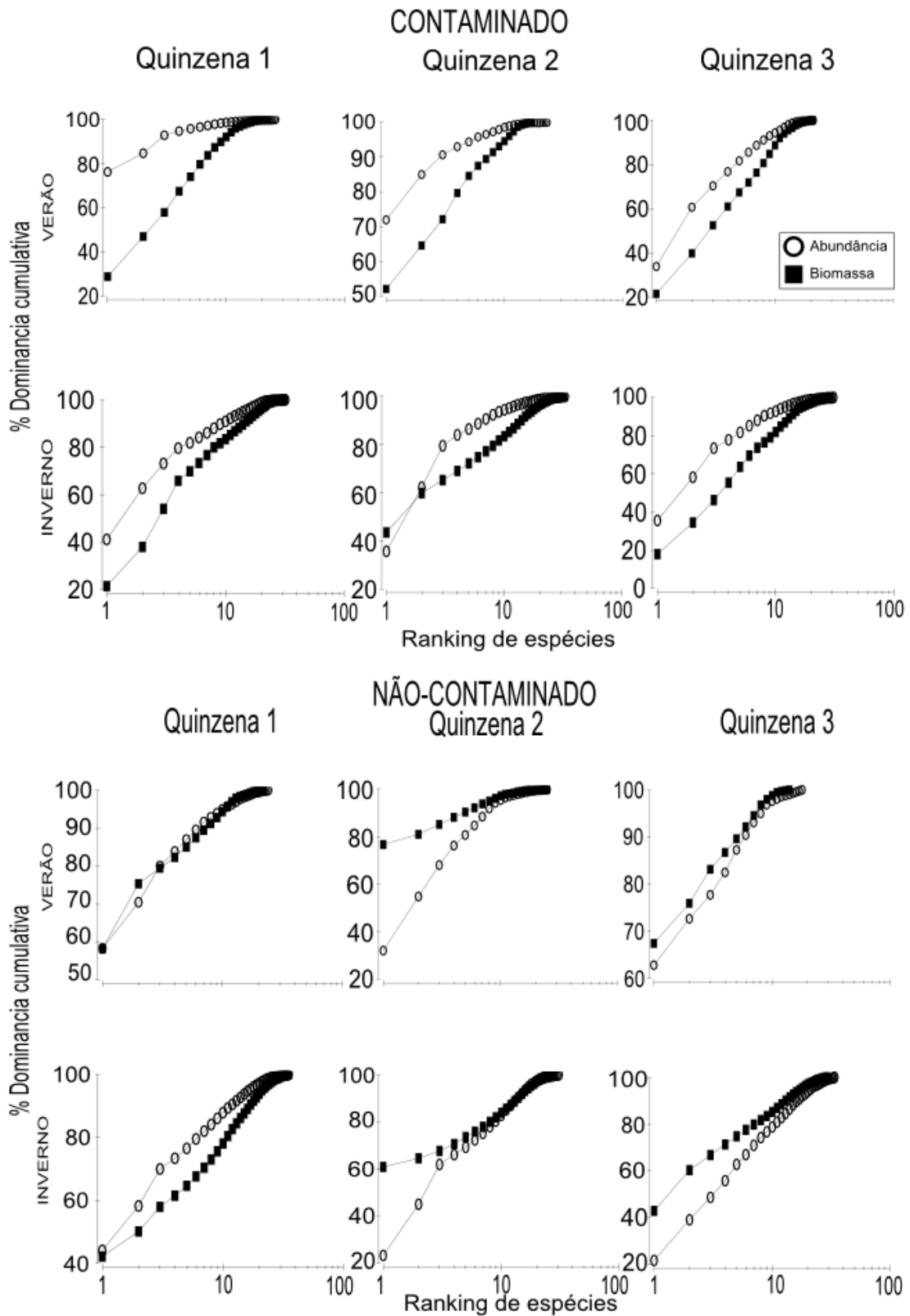


Figura 4 – Curvas ABC em cada quinzena do inverno e verão nos baixios Contaminados e Não-Contaminados. Espécies classificadas em termos de biomassa e abundância no eixo x (escala logarítmica), e porcentagem de dominância (escala cumulativa) no eixo y.



As regressões múltiplas geraram diversos modelos de correlação entre o coeficiente  $W$  e as variáveis abióticas. A análise AIC indicou que o melhor modelo explicou aproximadamente 54% de  $W$  ( $R^2$  ajustado = 0.5384), incluindo a razão coprostranol/colestanol (que indica a presença de enriquecimento orgânico por esgoto), a porcentagem de COT, a porcentagem de  $\text{CaCO}_3$  e profundidade da camada redox (Tabela 3). Os demais modelos tiveram um conjunto de variáveis menos correlacionadas a  $W$ , e seus respectivos valores de AIC podem ser observados na tabela 3.

Tabela 3 – Modelos listados em ordem de maior a menor explicação, com seus respectivos AICs. As variáveis abióticas utilizadas para a análise foram: concentrações de coprostranol (COP), as razões coprostranol/colesterol (COP/COL), coprostranol/(copostranol + colestanol) (COP/(COP+COLA)), a profundidade da camada redox (RE), o pH, o teor de carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ), de nitrogênio total (NT), carbono orgânico total (COT) e porcentagem de finos (SF).

<b>MODELO</b>	<b>AIC</b>
<b>COP/COL+RE+CaCO<sub>3</sub>+COT</b>	<b>-102,52</b>
COP/COL+RE+CaCO <sub>3</sub> +COT+SF	-101,50
COP/COL+RE+pH+CaCO <sub>3</sub> +COT+SF	-100,65
COP/COL+COP/(COP+COLA)+RE+pH+CaCO <sub>3</sub> +COT+SF	-99,00
COP+COP/COL+COP/(COP+COLA)+RE+pH+CaCO <sub>3</sub> +COT+SF	-97,04
COP+COP/COL+COP/(COP+COLA)+RE+pH+CaCO <sub>3</sub> +NT+COT+SF	-95,05

A PERANOVA mostrou diferenças significativas na variabilidade espaço-temporal das curvas ABC (representadas pelos coeficientes  $W$ ) na escala de Baixios ( $10^2$  m) e nas interações entre as Quinzenas e Pontos ( $10^1$  m) (Tabela 4). Os componentes de variação (CV %) confirmaram a alta importância da escala de Baixios e da interação entre Pontos e Quinzenas para a variabilidade dos coeficientes  $W$ .

Tabela 4 – Resultados da PERANOVA para a associações macrofauna nas diferentes escalas investigadas. *p*-valores calculados por meio do teste de permutação de Monte Carlo. As escalas são: período (PE), quinzena (QU), condição (CO), baixio (BA) e ponto (PO).

	<b>df</b>	<b>MS</b>	<b>Ps-F</b>	<b>p</b>	<b>CV(%)</b>
<b>PE</b>	1	0,00	0,29	0,91	0,00
<b>CO</b>	1	1,77	1,65	0,28	4,69
<b>QU(PE)</b>	4	0,27	2,88	0,10	3,42
<b>BA(CO)</b>	2	0,89	5,08	<b>&lt;0,01</b>	10,42
<b>PExCO</b>	1	0,50	2,03	0,21	3,82
<b>PO(BA(CO))</b>	12	0,11	0,83	0,62	0,00
<b>PExBA(CO)</b>	2	0,06	1,00	0,44	0,01
<b>QU(PE)xCO</b>	4	0,23	2,46	0,14	5,31
<b>PExPO(BA(CO))</b>	12	0,09	0,69	0,75	0,00
<b>QU(PE)xBA(CO)</b>	8	0,10	0,75	0,64	0,00
<b>QU(PE)xPO(BA(CO))</b>	48	0,13	2,29	<b>&lt;0,01</b>	21,71
<b>Res</b>	192	0,06			50,62
<b>Total</b>	287				

## DISCUSSÃO

As respostas do método ABC foram claramente congruentes na área contaminada, mas ambíguas na área não-contaminada. Ao contrário do esperado, a maioria dos pontos na área não-contaminada foram classificados como moderadamente poluídos, apesar dos indicadores químicos de contaminação orgânica apontarem concentrações abaixo do limite de contaminação descritos na literatura (Grimalt et al., 1990; Writer et al., 1995; Leeming et al., 1998; Jeng e Han, 1994; Mudge e Seguel, 1999). Tanto nas áreas contaminadas e não-contaminadas, espécies de pequeno porte foram dominantes, o que pode ter confundido os resultados das curvas. A susceptibilidade do método à presença de espécies dominantes possivelmente fez com que as áreas não-contaminadas fossem classificadas com moderadamente poluídas. Portanto, a presença de indivíduos de espécies de pequeno tamanho e alta abundância como *Heleobia australis* e *Sigambra* sp nos baixios das áreas não-contaminadas pode ter levado à classificação do ambiente como moderadamente poluído.

A ausência de espécies dominantes em biomassa pode resultar em alterações no posicionamento das curvas, fazendo com que a curva de biomassa fique abaixo da curva de abundância em regiões consideradas não poluídas (Dauer et al, 1993). Além disto, a baixa abundância de bivalves de grande porte como *Anomalocardia brasiliiana* e *Macoma constricta* pode ter influenciado a classificação das áreas não-contaminadas, na medida em que sua ausência desloca a curva de biomassa para baixo da curva de abundância, situação característica de ambientes poluídos. A presença ou ausência de organismos mais sensíveis a impactos, como muitas espécies de

equinodermos e moluscos, também pode tendenciar o resultado geral das curvas (Dauer et al. 1993).

O uso das curvas ABC no sublitoral tem contribuído de forma consistente e congruente para a classificação da qualidade ambiental (Muniz, 2003; Frontalini et al, 2011; Semprucci et al., 2013). Cai et al. (2013) demonstraram que o coeficiente  $W$  responde satisfatoriamente aos gradientes de contaminação orgânica em ambientes sublitorais abrigados de fundos não consolidados. Por outro lado, as curvas podem ser menos eficientes em planícies de maré, onde a biomassa e a diversidade tendem a ser baixas, mesmo que a fauna ocorra em altas densidades (Beukema, 1988).

Os valores de  $W$  foram correlacionados a apenas um indicador de esteróides fecais (coprostanol/colesterol) e ao carbono orgânico total (COT), sugerindo que os padrões observados nas curvas estão associados ao enriquecimento orgânico proveniente do descarte de esgotos. Contudo, há um alto input natural de fundo representado pela matéria orgânica proveniente dos manguezais adjacentes na região (Abreu-Mota et al. 2014). O enriquecimento orgânico no sub-estuário da Cotinha age como uma força efetiva na estruturação do macrobentos, mas a matéria orgânica de origem natural pode provocar o mesmo efeito da descarga de esgotos na área não-contaminada sobre a estrutura da fauna bêntica (Souza et al., 2013). Estudos comparativos entre o método ABC e outros índices baseados na fauna macrobêntica (Shannon-Weaver, AMBI, M-AMBI) mostraram que o  $W$  associado às curvas ABC foi menos sensível aos níveis de contaminação orgânica. No entanto, o método ABC tem sido apontado como um dos índices mais sensíveis na

detecção de contaminação química por diversos vetores, como Pb, Cd, Cu, Ni, Hg, Zn, DDD e TBT (Wetzel et al. 2012; Taupp e Wetzel, 2013).

A adequada replicação de amostragem é um pré-requisito para a utilização do método ABC, uma vez que espécies dominantes em biomassa são representadas por poucos indivíduos (Warwick, 1986; Warwick et al., 1987). A aplicação de um delineamento amostral hierárquico com a devida replicação deveria minimizar os efeitos gerados pela amostragem de espécies dominantes em biomassa. Ainda assim, o desempenho das curvas não foi totalmente satisfatório na área não-contaminada, altamente influenciada pela matéria orgânica de origem natural e pela alta abundância de espécies de pequeno porte.

Ao contrário do esperado, a principal escala de variação das curvas ABC ao longo do espaço e do tempo não foi a da contaminação ( $10^3\text{m}$ ), mas sim a de baixios ( $10^2\text{m}$ ) e a da interação entre pontos ( $10^1\text{m}$ ) e quinzenas. A alta variabilidade de  $W$  entre os pontos ao longo das quinzenas indica um ambiente altamente dinâmico. A influência dos gradientes estuarinos envolvendo fatores hidrológicos e sedimentares claramente condiciona as respostas das comunidades macrobênticas (Mannino e Montagna, 1997). Tal variabilidade natural se sobrepôs aos efeitos da contaminação sobre a estrutura das comunidades macrobênticas (Gaston et al., 1998), o que foi refletido nas curvas.

Os valores de  $W$  confirmam que os baixios da área contaminada estão mais poluídos do que os baixios das áreas não-contaminadas. Por outro lado, foi registrada uma alta variabilidade na escala de baixios. Isso se deve ao fato dos baixios da área contaminada estarem em estágios diferentes de

contaminação entre si (Souza et al., 2013), o que foi comprovado pelo valor significativo de  $p$  nas escalas de baixios.

Nossos resultados indicam que a aplicação do método ABC para a detecção de impactos por poluição orgânica não foi totalmente satisfatória no caso de um estuário subtropical com fontes de matéria orgânica natural, associadas à vegetação costeira. Apesar da congruente classificação das áreas contaminadas, alguns pontos da área não-contaminada foram inconsistentemente classificados como moderadamente ou muito poluídos. O alto input de fundo de matéria orgânica de origem natural promoveu o diagnóstico incorreto de perturbação nos baixios livres de contaminação, que resultou na significativa variabilidade das escalas espaciais menores (de  $10^1\text{m}$  a  $10^2\text{m}$ ) ao invés da maior escala ( $10^3\text{m}$ ), ou a escala da contaminação. A dominância de espécies pequenas também influenciou estas respostas ambíguas. As curvas são excessivamente dependentes das primeiras espécies classificadas, o que pode elevar as curvas de dominância sobre as da biomassa. Curvas mais confiáveis podem ser obtidas com o uso de curvas de dominância "parcial" (Clarke, 1990), que amenizam o problema da alta dominância, mas o efeito do alto input natural de fundo é intrínseco à área estudada e a muitos outros ambientes estuarinos.

O método ABC não é necessariamente mais sensível do que índices de diversidade na detecção de perturbações, e é menos sensível do que métodos multivariados (como as análises de escalonamento multi-dimensional, MDS), em diferenciar a estrutura de comunidades macrobênticas (Warwick e Clarke, 1991). No entanto, tem a vantagem de proporcionar uma resposta absoluta ao

invés de uma medida comparativa de perturbações induzidas por contaminação (Warwick, 1993).

## **CONCLUSÕES**

O método ABC respondeu à contaminação orgânica na região do estudo, o que indica que pode ser utilizado como indicador da saúde ambiental. No entanto, as curvas devem ser aplicadas com cautela em ambientes estuarinos sujeitos a descargas de matéria orgânica de origem natural, que representam variabilidade natural de fundo do tipo “ruído”. Nesses ambientes as respostas do método ABC podem vir a ser ambíguas.



## REFERÊNCIAS

Akaike, H. (1974). A new look at the statistical model identification. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 19(6), 716-723.

Abreu-Mota, M. A., Moura Barboza, C. A., Bicego, M. C., & Martins, C. C. (2014). Sedimentary biomarkers along a contamination gradient in a human-impacted sub-estuary in Southern Brazil: A multi-parameter approach based on spatial and seasonal variability. *Chemosphere*, 103, 156-163.

Anderson, M., Gorley, R. N., & Clarke, R. K. (2008). *Permanova+ for Primer: Guide to Software and Statistical Methods*. PRIMER-E. Plymouth, UK, 214pp.

Beukema, J. J. (1988). An evaluation of the ABC-method (abundance/biomass comparison) as applied to macrozoobenthic communities living on tidal flats in the Dutch Wadden Sea. *Marine Biology*, 99(3), 425-433.

Borja, A., Bricker, S. B., Dauer, D. M., Demetriades, N. T., Ferreira, J. G., Forbes, A. T. & Zhu, C. (2008). Overview of integrative tools and methods in assessing ecological integrity in estuarine and coastal systems worldwide. *Marine Pollution Bulletin*, 56(9), 1519-1537.

Borja, A., Basset, A., Bricker, S., Dauvin, J. C., Elliot, M., Harrison, T. & West, R. (2011). Classifying ecological quality and integrity of estuaries. *Treatise on Estuarine and Coastal Science*, 1. 125–162.

CAB – ÁGUAS DE PARANAGUÁ. *Esgoto*.  
<http://www.cabaguasdeparanagua.com.br/site/esgoto> Acesso em 5 de junho de 2014.

Cai, W., Meng, W., Liu, L., & Lin, K. (2013). Evaluation of the ecological status with benthic indices in the coastal system: the case of Bohai Bay (China). *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 1-10.

Camargo, M. Z., (2011). Marcadores orgânicos geoquímicos em sedimentos superficiais do ambiente estuarino no entorno da cidade de Paranaguá, PR. *Monografia. Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 30-37.*

Carignan, V., & Villard, M. A. (2002). Selecting indicator species to monitor ecological integrity: a review. *Environmental monitoring and assessment, 78(1)*, 45-61.

Castella, R.M.B.; Castella, P.R.; Figueiredo, D.C.S.; Queiroz, S.M.P, (2006). *Paraná Mar e Costa - Subsídios ao Ordenamento das Áreas Estuarina e Costeira do Paraná: Projeto Gestão Integrada da Zona Costeira do Paraná com ênfase na Área Marinha;* Programa Nacional de Meio Ambiente - PNMA II. Curitiba: Secretaria de Estado do Meio Ambiente e Recursos Hídricos - SEMA.

Clarke, K. R. (1990). Comparisons of dominance curves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 138(1)*, 143-157.

Clarke, K. R., & Gorley, R. N. (2006). PRIMER v6: user manual/tutorial (Plymouth routines in multivariate ecological research). *Plymouth: Primer-E Ltd.*

Dauer, D. M., Luckenbach, M. W., & Rodi Jr, A. J. (1993). Abundance biomass comparison (ABC method): effects of an estuarine gradient, anoxic/hypoxic events and contaminated sediments. *Marine Biology, 116(3)*, 507-518.

Dauer, D. M., Llansó, R. J., & Lane, M. F. (2008). Depth-related patterns in benthic community condition along an estuarine gradient in Chesapeake Bay, USA. *Ecological Indicators, 8(4)*, 417-424.

Dauvin, J. C., Alizier, S., Rolet, C., Bakalem, A., Bellan, G., Gesteira, J. L., Grimes, S., de-la-Ossa-Carretero, J.A. & Del-Pilar-Ruso, Y. (2012). Response of different benthic indices to diverse human pressures. *Ecological Indicators, 12(1)*, 143-153.

Fisher, W. S., Jackson, L. E., Suter, G. W., & Bertram, P. (2001). Indicators for human and ecological risk assessment: A US environmental protection agency perspective. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 7(5), 961-970.

Frontalini, F., Semprucci, F., Coccioni, R., Balsamo, M., Bittoni, P., & Covazzi-Harriague, A. (2011). On the quantitative distribution and community structure of the meio and macrofaunal communities in the coastal area of the Central Adriatic Sea (Italy). *Environmental monitoring and assessment*, 180(1-4), 325-344.

Gaston, G. R., Rakocinski, C. F., Brown, S. S., & Cleveland, C. M. (1998). Trophic function in estuaries: response of macrobenthos to natural and contaminant gradients. *Marine and Freshwater Research*, 49(8), 833-846.

Gilbert, E. R., Camargo, M. G., & Sandrini-Neto, L. (2012). rysgran: Grain size analysis, textural classifications and distribution of unconsolidated sediments. *R package version, 2*.

Goodsell, P. J., Underwood, A. J., & Chapman, M. G. (2009). Evidence necessary for taxa to be reliable indicators of environmental conditions or impacts. *Marine Pollution Bulletin*, 58(3), 323-331.

Grasshoff, K.; Ehrhardt, M. and Kremling, K. (1983), *Methods of seawater analysis*. 2<sup>a</sup> ed. Weinheim: Verlag Chemie. 419 pp.

Grimalt, J. O., Fernandez, P., Bayona, J. M., & Albaiges, J. (1990). Assessment of fecal sterols and ketones as indicators of urban sewage inputs to coastal waters. *Environmental Science & Technology*, 24(3), 357-363.

Hadlich, H. L. (2011). Variabilidade espacial de associações de poliquetas ao longo de um gradiente de contaminação por esgotos no Canal da Cotinga, Baía de Paranaguá. .

*Dissertação. Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná, Pontal do Paraná, 60pp.*

Hyland, J., Balthis, L., Karakassis, I., Magni, P., Petrov, A., Shine, J. & Warwick, R. (2005). Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Marine Ecology Progress Series*, 295(9), 91-103.

Ismael, A. A., & Dorgham, M. M. (2003). Ecological indices as a tool for assessing pollution in El-Dekhaila Harbour (Alexandria, Egypt). *Oceanologia*, 45(1), 121-131.

Jeng, W. L., & Han, B. C. (1994). Sedimentary coprostanol in Kaohsiung harbour and the Tan-Shui estuary, Taiwan. *Marine Pollution Bulletin*, 28(8), 494-499.

Kawakami, S.K., Montone, R. C. (2002). An efficient ethanol-based analytical protocol to quantify fecal steroids in marine sediments. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 13, 226-232.

Kolm, H. E., Schoenenberger, M. F., Piemonte, M. D. R., Souza, P. S. D. A., Mucciato, M. B., & Mazzuco, R. (2002). Spatial variation of bacteria in surface waters of Paranaguá and Antonina Bays, Paraná, Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 45(1), 27-34.

Lamshead, P. J. D., Platt, H. M., & Shaw, K. M. (1983). The detection of differences among assemblages of marine benthic species based on an assessment of dominance and diversity. *Journal of Natural History*, 17(6), 859-874.

Leeming, R., Bate, N., Hewlett, R., & Nichols, P. D. (1998). Discriminating faecal pollution: A case study of stormwater entering Port Phillip Bay, Australia. *Water Science and Technology*, 38(10), 15-22.

Mannino, A., & Montagna, P. A. (1997). Small-scale spatial variation of macrobenthic community structure. *Estuaries*, 20(1), 159-173.

Marone, E., Guimarães, M. R., Prata Jr, V. P., Klingenfuss, M. S., & Camargo, R. (1995). Caracterização física das condições oceanográficas, meteorológicas e costeiras das zonas estuarinas da Baía de Paranaguá, PR. In *Anales del VI Congreso Latinoamericano de Ciencias del Mar. Mar del Plata, Argentina*.

Martins, C. C., Braun, J. A., Seyffert, B. H., Machado, E. C., & Fillmann, G. (2010). Anthropogenic organic matter inputs indicated by sedimentary fecal steroids in a large South American tropical estuary (Paranaguá estuarine system, Brazil). *Marine pollution bulletin*, 60(11), 2137-2143.

Meire, P. M., & Dereu, J. (1990). Use of the abundance/biomass comparison method for detecting environmental stress: some considerations based on intertidal macrozoobenthos and bird communities. *Journal of Applied Ecology*, 27(1), 210-223.

Mudge, S. M., & Seguel, C. G. (1999). Organic contamination of San Vicente Bay, Chile. *Marine Pollution Bulletin*, 38(11), 1011-1021.

Muniz, P. (2003). Comunidades macrobênticas como indicadoras da qualidade ambiental de ecossistemas costeiros rasos: Estudo de caso – Enseada de Ubatuba (SP, Brasil). *Tese de Doutorado*. Universidade de São Paulo, São Paulo.170-172.

Muniz, P.; Lana, P.; Venturini, N.; Elias, R.; Vallarino, E; Bremec,C.; Martins, C.; Sandrini Neto, L. (2013). *Un manual de protocolos para evaluar la contaminación marina por efluentes domésticos*. Editora Udelar, 1ª ed. Montevideo, 129pp.

Pearson, T. H., & Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 16, 229-311.

Pinto, R., Patrício, J., Baeta, A., Fath, B. D., Neto, J. M., & Marques, J. C. (2009). Review and evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. *Ecological Indicators*, 9(1), 1-25.

Rogers, S. I., Somerfield, P. J., Schratzberger, M., Warwick, R., Maxwell, T. A., & Ellis, J. R. (2008). Sampling strategies to evaluate the status of offshore soft sediment assemblages. *Marine Pollution Bulletin*, 56(5), 880-894.

Salas, F., Neto, J. M., Borja, A., & Marques, J. C. (2004). Evaluation of the applicability of a marine biotic index to characterize the status of estuarine ecosystems: the case of Mondego estuary (Portugal). *Ecological indicators*, 4(3), 215-225.

Semprucci, F., Frontalini, F., Covazzi-Harriague, A., Coccioni, R., & Balsamo, M. (2013). Meio-and macrofauna in the marine area of the Monte St. Bartolo Natural Park (Central Adriatic Sea, Italy). *Scientia Marina*, 77(1), 189-199.

Souza, F. M., Brauko, K. M., Lana, P. C., Muniz, P., & Camargo, M. G. (2013). The effect of urban sewage on benthic macrofauna: A multiple spatial scale approach. *Marine Pollution Bulletin*, 67(1), 234-240.

Strickland, J.D.H., Parsons, T.R. (1972). A practical handbook of seawater analysis. *Bulletin of the Fisheries Research Board*, 167, 310 pp.

Suguio, K. (1973). *Introdução à Sedimentologia*. 1ª ed. São Paulo: Edgard Blücher/EDUSP, 317pp.

Taupp, T., & Wetzel, M. A. (2013). Relocation of dredged material in estuaries under the aspect of the Water Framework Directive—A comparison of benthic quality indicators at dumping areas in the Elbe estuary. *Ecological Indicators*, 34, 323-331.

Viana, A. P., Frédou, F. L., & Frédou, T. (2012). Measuring the ecological integrity of an industrial district in the Amazon estuary, Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 64(3), 489-499.

Warwick, R. (1986). A new method for detecting pollution effects on marine macrobenthic communities. *Marine Biology*, 92(4), 557-562.

Warwick, R. M. (1993). Environmental impact studies on marine communities: pragmatical considerations. *Australian Journal of Ecology*, 18(1), 63-80.

Warwick, R. M. (2001). Pollution: Effects on Marine Communities. *Encyclopedia of Ocean Sciences*, 4, 2222-2229.

Warwick, R. M., & Clarke, K. R. (1991). A comparison of some methods for analysing changes in benthic community structure. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 71(01), 225-244.

Warwick, R. M., & Clarke, K. R. (1994). Relearning the ABC: taxonomic changes and abundance/biomass relationships in disturbed benthic communities. *Marine Biology*, 118(4), 739-744.

Warwick, R. M., Platt, H. M., Clarke, K. R., Agard, J., & Gobin, J. (1990). Analysis of macrobenthic and meiobenthic community structure in relation to pollution and disturbance in Hamilton Harbour, Bermuda. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 138(1), 119-142.

Warwick, R. M., & Pearson, T. H. (1987). Detection of pollution effects on marine macrobenthos: further evaluation of the species abundance/biomass method. *Marine Biology*, 95(2), 193-200.

Warwick, R. M., & Clarke, K. R. (1996). Relationships between body-size, species abundance and diversity in marine benthic assemblages: facts or artefacts?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 202(1), 63-71.

Wentworth, C. K. (1922). A scale of grade and class terms for clastic sediments. *The Journal of Geology*, 30(5),377-392.

Wetzel, M. A., von der Ohe, P. C., Manz, W., Koop, J. H., & Wahrendorf, D. S. (2012). The ecological quality status of the Elbe estuary. A comparative approach on different benthic biotic indices applied to a highly modified estuary. *Ecological Indicators*, 19, 118-129.

Wildsmith, M. D., Rose, T. H., Potter, I. C., Warwick, R. M., & Clarke, K. R. (2011). Benthic macroinvertebrates as indicators of environmental deterioration in a large microtidal estuary. *Marine pollution bulletin*, 62(3), 525-538.