



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

RENAN BELÉM DA SILVA

**EFEITO DOS HPAs SOBRE A MEIOFAUNA ESTUARINA, EM ÁREAS COM
DIFERENTES GRAUS DE URBANIZAÇÃO**

Recife

2023

RENAN BELÉM DA SILVA

**EFEITO DOS HPAs SOBRE A MEIOFAUNA ESTUARINA, EM ÁREAS COM
DIFERENTES GRAUS DE URBANIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração Biologia Animal, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Orientador: Prof^o Dr. André Morgado Esteves

Coorientador: Prof^o Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

Recife

2023

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Silva, Renan Belém da.

Efeitos dos HPAs sobre a meiofauna estuarina, em áreas com diferentes graus de urbanização. /
Renan Belém da Silva. – 2023.

78 f. : il., fig.; tab.

Orientador: André Morgado Esteves.

Coorientador: Giovanni Amadeu Paiva dos Santos

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa
de Pós-graduação em Biologia Animal, Recife, 2023.

Inclui referências.

1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. 2. Estuários tropicais. 3. Meiofauna. 3.
Nematofauna. I. Esteves, André Morgado. (orient.). II. Santos, Giovanni Amadeu Paiva dos
(coorient.). III. Título.

587

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023-049

RENAN BELÉM DA SILVA

**EFEITO DOS HPAs SOBRE A MEIOFAUNA ESTUARINA, EM ÁREAS COM
DIFERENTES GRAUS DE URBANIZAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Recife, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

Aprovada em: 27/01/2023

BANCA EXAMINADORA

Profº Dr. André Morgado Esteves (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profº Dra. Virág Venekey (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Pará

Profº Dra. Taciana Kramer de Oliveira Pinto (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Alagoas

Suplente - Profº Dr. Giovanni Amadeu Paiva dos Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Suplente - Profº Dra. Patrícia Fernandes Neres (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Recife
2023

Aos meus pais, José e Edite, pois o amor fraternal e seus
conselhos, me estimularam a nunca desistir.

AGRADECIMENTOS

Meu maior agradecimento vai para todos aqueles que, ao longo desta caminhada, me cercaram com palavras e pensamentos de incentivo e força.

Agradeço a meus familiares, em especial, minha mãe Edite Belém da Silva, a meu pai José Severino da Silva e a minha irmã Fernanda Belém da Silva por todo apoio em minha jornada educacional, são pessoas que sempre levo no coração e me inspiro para ser uma pessoa melhor a cada dia. A meus primos/as, tios/as, avós obrigado por serem exemplo e pontos de luz que me guiam e estão sempre dispostos a estender a mão quando eu preciso.

Agradeço a minha namorada Ana Luiza Lins de Farias, por estar comigo em todos os momentos felizes e tristes, sempre com uma palavra de conforto e um sorriso que me enche de paz. Encorajar o sonho de alguém é uma linda demonstração de amor, sou imensamente grato a você.

Sou grato também a toda equipe de Laboratório Lacimme, em especial Flávia Lobato e Débora França, pois, apesar das adversidades, a perseverança e a amizade que não deixam desanimar são a garantia de que tudo vai dar certo.

Agradeço aos professores da PPGBA, por todas as aulas e debates que mediaram meu pensamento crítico e possibilitaram minha formação o programa de pós-graduação.

Sobretudo a meus orientadores, Dr. André Morgado e Dr. Giovanni dos Santos que possibilitaram o desenvolvimento da minha pesquisa, acreditaram em mim e sempre estiveram disponíveis para me aconselhar.

Aos professores Dr. Jose Roberto Botelho de Souza e Eliete Zanardi-Lamardo pelo suporte técnico e análises químicas utilizadas na presente pesquisa.

Agradeço aos membros da banca examinadora, pelo interesse e por disponibilizar seu tempo para ler e avaliar minha dissertação.

RESUMO

Dentre os ambientes naturais, os estuários são um dos mais influenciados pelas ações humanas. Muitas vezes inseridos em áreas urbanizadas, a poluição acaba por se depositar em seus sedimentos, causando distúrbios da fauna estuarina. Um dos poluentes comumente encontrados nestes ambientes são os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), classificados como ubíquos, podem ser divididos como petrogênicos ou pirogênicos. Enquanto os petrogênicos são provenientes do óleo bruto e seus derivados, os pirogênicos surgem a partir da queima e refinamento de petróleo. Estes últimos são mais carcinogênicos, mutagênicos e, conseqüentemente, deletérios para organismos e conservação marinha. A partir disto, a pesquisa em questão investigou três estuários da costa pernambucana com diferentes níveis de urbanização e poluição por HPAs com o intuito de avaliar como estes compostos e fatores ambientais afetam a distribuição, estrutura e diversidade da Meiofauna e Nematofauna. Estes organismos invertebrados intersticiais, há muito são utilizados como ferramenta para detectar mudanças ecológicas, além disto com o refinamento taxonômico nas assembleias de Nematódeos é possível avaliar a funcionalidade ecossistêmica. Como resultado, tanto a Meiofauna quanto a Nematofauna do estuário de referência mostraram-se mais diversas, mais equitativas e com riqueza superior, em comparação com os registros nas áreas mais urbanizadas e, conseqüentemente, mais poluídas. Com relação a funcionalidade, os resultados da área de referência evidenciaram um ambiente com maior maturidade ecologia, havendo a dominância de organismos mais sensíveis e persistentes, já os ambientes urbanizados apresentaram organismos mais colonizadores e que se alimentam de bactéria, que é um indício claro de estresse ambiental. Dentre as variáveis ambientais, a poluição por HPAs, o teor da matéria orgânica e a acidificação nos estuários foram as que mais influenciaram a Meiofauna e a Nematofauna. Tais variáveis podem ser agravadas por ações humanas, como o lançamento de esgoto não tratado que enriquece e acidifica as águas, assim como o lançamento de efluentes industriais que são fontes diretas de HPAs. A utilização do EcoQ se mostrou uma boa ferramenta para analisar a qualidade ambiental e coincidiu com os resultados observados nos índices ecológicos. Apesar disto, nossos resultados evidenciaram que para a meiofauna o EcoQ pode ser mais fiel quando atrelado à equitabilidade nas amostras, já para a Nematofauna foi ressaltado que alguns parâmetros de avaliação podem ser atualizados para não causar dualidades no resultado.

Palavras-Chaves: Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. Estuários tropicais. Meiofauna. Nematofauna.

ABSTRACT

Among natural environments, estuaries are one of the most influenced by human actions. Often inserted in urbanized areas, pollution ends up being deposited in their sediments, causing disruption to the estuarine fauna. One of the pollutants commonly found in these environments are the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs), classified as ubiquitous, can be divided as petrogenic or pyrogenic. While petrogenics come from crude oil and its derivatives, pyrogenics arise from the burning and refining of petroleum. The last ones are more carcinogenic, mutagenic and, consequently, deleterious to organisms and marine conservation. From that, the present research investigated three estuaries from Pernambuco's coast with different levels of urbanization and pollution by PAHs in order to assess how these compounds and environmental factors affect the distribution, structure and diversity of Meiofauna and Nematofauna. These intrasedimentary invertebrate organisms have long been used as a tool to detect ecological changes, and with taxonomic refinement in the nematode population, it is possible to assess even the ecosystem functionality. As a result, both the Meiofauna and the Nematofauna of the reference estuary were more diverse, more equitable and with higher richness, in comparison with the records in the more urbanized and, consequently, more polluted areas. With regard to functionality, the results of the reference area showed an environment with greater ecological maturity, with the maintenance of more sensitive and persistent organisms, while the urbanized environments presented more colonizing organisms that feed on bacteria, which is a clear indication of environmental stress. Among the environmental variables, pollution by PAHs, increased organic matter and acidification in estuaries were the ones that most influenced Meiofauna and Nematofauna. Such variables can be aggravated by human actions, such as the release of untreated sewage that enriches and acidifies the water, as well as the release of industrial effluents that are direct sources of PAHs. The use of EcoQ proved to be a good tool to analyze the environmental quality and coincided with the results observed in the ecological indices. Despite this, our results showed that for meiofauna the EcoQ can be more faithful when linked to evenness in the samples, whereas for Nematofauna it was emphasized that some evaluation parameters can be updated so as not to cause dualities in the result.

Keywords: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Tropical Estuaries. Meiofauna. Nematofauna.

LISTA DE FIGURAS

Manuscrito 1

Enviado como apêndice.

Manuscrito 2

- Figura 1.** Posição das estações onde foram recolhidas amostras bióticas e abióticas dos três estuários, que estão localizados na costa nordeste do Brasil. (A) Sistema estuarino de Goiana, área menos urbanizada (GES); (B) sistema estuarino de Timbó, área de urbanização intermediária (TES); e (C) sistema estuarino do Capibaribe, áreas mais urbanizadas (CES) 25.
- Figura 2.** Lista de gêneros de nematoides divididos em quatro categorias de frequência de ocorrência: Constante (75,1–100%), Frequente (50,1–75%), Comum (25,1–50%) e Raro (0,1–25%), através do métodos de Bodin (1977). Valores dentro das interseções representam a quantidade de gêneros compartilhados e/ou exclusivos de cada estuário. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe. Círculo verde, azul e laranja representam os estuários de GES, TES e CES, respectivamente. 32.
- Figura 3.** Gráfico de ordenação dos principais componentes (PCO) usando dados da densidade de nematoides nos estuários. Tamanho e direção dos vetores representam o nível de correlação. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe. Seta indica os gêneros que estão sobrepostos. 35.
- Figura 4.** Porcentagem de contribuição de diferentes Grupos de colonizador-persistentes (% CP) e Índice de Maturidade ($MI \pm SE$ (erro padrão)) em cada estação dos estuários amostrados. Eixo da esquerda: % CP, eixo da direita: $MI \pm SE$; GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St, estações 38.
- Figura 5.** Porcentagem de contribuição de diferentes Grupos Tróficos (% GT) e Índice de Diversidade Trófica ($ITD \pm SE$ (erro padrão)) em cada estação dos estuários amostrados. Eixo da esquerda: % - GT, eixo da direita: $ITD \pm SE$. Os valores do

Índice de diversidade trófica (ITD) estão representados com de forma inversa, ou seja, seus valores foram subtraídos de 1 ($1 - \text{valor do ITD}$), assim o valor mais alto representa maior diversidade trófica. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St, estações. 39.

Figura 6. Análise de redundância baseada em distância (dbRDA), correlação entre a assembleia de nematoides e dados ambientais, incluindo HPAs de alto e baixo peso molecular. Tamanho e direção dos vetores representam o nível de correlação. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe. 40.

LISTA DE TABELAS

Manuscrito 1

Enviado como apêndice.

Manuscrito 2

Tabela 1. Valores médios ($\pm$ SE) das variáveis ambientais dos três estuários. Valores de P (perm) < 0,05 estão em negrito. A comparação em pares foi expressa em letras minúsculas, que representam diferenças significativas da variável nos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; LMW HPAs, HPAs de baixo peso molecular; HMW, HPAs de alto peso molecular; OD, oxigênio dissolvido; MO, matéria orgânica; Temperatura, temperatura. 29.

Tabela 2. Valores médios ($\pm$ SE) das frações granulométricas nos três estuários. Resultado de Permanova e Permisp na matriz granulométrica dos estuários. Valores de P (perm) < 0,05 estão em negrito. A comparação em pares foi expressa em letras minúsculas, que representam diferenças significativas de cada fração granulométrica nos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; VCS, areia muito grossa; CS, areia grossa; MS, areia média; FS, areia fina; VFS, areia muito fina. 29.

Tabela 3. Lista de gênero por estuário, assim como seus respectivos valores de colonizador-persistentes e grupos tróficos. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; CP, colonizador-persistentes; GT, grupo trófico 31.

Tabela 4. Comparação da estrutura Nematofaunística dos três estuário, assim como a comparação em pares (pair-wise). GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; Res, resíduos; df, grau de liberdade; MS, média quadrada; t, pseudo-t ($\sqrt{\text{pseudo-F}}$). 32.

Tabela 5. Permanova e Pair-wise para os índices ecológicos nos estuários estudados. O fator analisado foi a área (Estuário). Valores de P(perm) < 0,05 estão em negrito. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema

estuarino do Capibaribe; Res, residual; df, graus de liberdade; MS, média quadrada; t, pseudo-t ($\sqrt{\text{pseudo-F}}$); Índices Ecol., índices ecológicos. 33.

Tabela 6. Valores médios e erro padrão ($\pm$ SE) dos índices ecológicos dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St (1,2,3), estação; Equitabil., equitabilidade... 33.

Tabela 7. Resultados da análise de similaridade (SIMPER) usando dados de abundância, indicando os táxons que juntos contribuem com no mínimo 40% de dissimilaridade na assembleia dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; Abund med., abundância média; Diss Med., dissimilaridade média; Diss/SD, desvio padrão da dissimilaridade; Contrib%, porcentagem de contribuição; Cum.%, porcentagem cumulativa. 34.

Tabela 8. Resultados do EQS para cada estação dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St (1,2,3), estação; Metric. do EcoQ, métricas do EcoQ; SQG, diretriz de qualidade do sedimento; ERL, Intervalo de baixo efeito; ERM, Intervalo de médio efeito; IM, índice de maturidade; CP, colonizador-persistentes; ITD, índice de diversidade trófica; “ – “, não determinado. Avaliações da qualidade no EcoQ: H, alta; G, boa; M, moderada; P, pobre; B, ruim. 36.

Tabela 9. Avaliação da qualidade ambiental através dos limites propostos pelo Critérios para a Avaliação da Qualidade dos Sedimentos em Quebec (ECM, 2007). GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; REL, nível de efeito raro; TEL, nível de efeito limiar; OEL, nível de efeito ocasional; Q. anéis, quantidades de anéis; St, estações. 37.

Tabela 10. Variáveis ambientais selecionadas pela análise DistLM-BEST, por melhor correlacionar com a fauna estuarina. O procedimento BEST foi utilizado em matrizes de similaridade baseadas na densidade dos Nematódeos. RSS, soma quadrada residual; No. Vars, número de variáveis; HMW HPAs, HPAs de alto peso molecular; MO, matéria orgânica; Temp., temperatura; OD, oxigênio dissolvido; VCSand, areia muito grossa; VFSand, areia muito fina; CSand, areia grossa; Sand, areia; MSand, areia média; FSand, areia fina; Silte, silte-argila. 40.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BEDS	Banco de Dados de Efeitos Biológicos para Sedimentos
CCME	Conselho canadense de ministros do meio ambiente
CES	Sistema estuarino do Capibaribe
CP	Colonizador-persistentes
CS	Areia grossa
EcoQ	Status qualidade ecológica
ERL	Intervalo de baixo efeito
ERM	Intervalo de médio efeito
FEL	Nível de efeito frequente
FS	Areia fina
GES	Sistema estuarino de Goiana
G-T	Grupos tróficos
H	Índice de Shannon Wiener
HPA	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HWM	Alto peso molecular
IM	Índice de maturidade
ITD	Índice de diversidade trófica
J	Índice de Pielou
LWM	Baixo peso molecular
MO	Matéria orgânica
MS	Areia média
N	Densidade
nMDS	Escala multidimensional não métrica
OD	Oxigênio dissolvido
OEL	Nível de efeito ocasional
PCO	Ordenação dos principais componentes
PEL	Nível de efeito provável
REL	Nível de efeito raro
S	Valores de riqueza
Silte	Silte-argila
SIMPER	Análise de similaridade

SQG	Diretriz de qualidade do sedimento
St	Estação
TEL	Nível de efeito limiar
TES	Sistema estuarino de Timbó
US EPA	Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
VCS	Areia muito grossa
VFS	Areia muito fina
WFD	European water framework directive

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 OBJETIVOS	18
1.1.1 Objetivo geral	18
1.1.2 Objetivos específicos	18
1.1.2.1 Manuscrito I	18
1.1.2.2 Manuscrito II	18
2 RESULTADOS	19
2.1 MANUSCRITO I - EFFECTS OF PAHS ON MEIOFAUNA FROM THREE ESTUARIES WITH DIFFERENT LEVELS OF URBANIZATION IN THE SOUTH ATLANTIC	19
2.2 MANUSCRITO II - USO DE ECOQ NA COMUNIDADE DE NEMATOIDE DE ESTUÁRIOS TROPICAIS EM DIFERENTES NÍVEIS DE URBANIZAÇÃO NO ATLÂNTICO SUL	20
2.2.1 Resumo	20
2.2.2 Introdução	22
2.2.3 Materiais e Métodos	24
2.2.3.1 Área de estudo	24
2.2.3.2 Amostragem	24
2.2.3.3 Tratamento de amostras biológicas em laboratório	25
2.2.3.4 Análises das variáveis sedimentares	26
2.2.3.5 Análise de dados	27
2.2.4 Resultados	28
2.2.4.1 Parâmetros Ambientais	28
2.2.4.2 Estrutura da Nematofauna	28
2.2.4.4 Qualidade ecológica através do EcoQ	35
2.2.4.5 Biomassa da Nematofauna	36
2.2.4.6 Grupos Tróficos (GT) e Estratégia de Vida (CP)	37
2.2.4.7 Correlação entre a nematofauna e as variáveis ambientais	39
2.2.5 Discussão	41

2.2.5.1 Oscilação da funcionalidade da nematofauna nos estuários com diferentes níveis de urbanização	41
2.2.5.2 Tipos de HPAs e suas possíveis origens nos três estuários	42
2.2.5.3 Qualidade do sedimento nos estuários com diferentes níveis de urbanização	43
2.2.6 Conclusão	45
3 CONCLUSÃO GERAL	46
4 REFERÊNCIAS	47
5 APÊNDICE A:	53

1 INTRODUÇÃO

Ambientes estuarinos são fundamentais para a vida marinha, além de serem berçários naturais para diversos animais (Courrat et al., 2009; Wasserman & Strydom, 2011), estes ecossistemas possuem importância econômica e ecológica (Adams et al., 2006; Cai & Li, 2011). Estuários são ambientes aquáticos costeiros semifechados, naturalmente influenciados pela variação da maré que altera seus parâmetros físicos e químicos constantemente. Contudo, apesar da relevância dessas áreas, diariamente recebem poluição derivada das atividades antrópicas (Valença & Santos, 2012).

A poluição chega até eles de forma direta, com o lançamento de efluentes de fábricas e industrializações, além de esgoto não tratado; e/ou indireta, por deposição atmosférica e lixiviação das vias urbanas (Domínguez et al., 2010; Freeman et al., 2019; Inglis & Kross, 2000). Dentre os poluentes que podem chegar ao sedimento estuarino há os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), estes poluentes são orgânicos e persistentes, possuem de dois a seis anéis aromáticos, são ubíquos no ambiente, além de tóxicos, carcinogênicos e mutagênicos (Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Sese et al., 2009).

Os HPAs podem ser divididos a partir de sua origem, petrogênicos e pirogênicos (Boehm, 2005). A origem petrogênica abarca os HPAs provenientes do óleo bruto, combustíveis e lubrificantes não queimados, sendo compostos principalmente por HPAs de baixo peso molecular (LWM), ou seja, com 2-3 anéis aromáticos. Já os HPAs pirogênicos, surgem a partir da queima, seja de componentes de petróleo ou matéria orgânica natural, são compostos por HPAs de alto peso molecular (HWM), formados por 4-6 anéis aromáticos (Stogiannidis & Laane, 2015).

Os organismos bentônicos, conhecidos como meiofauna, são um grupo de metazoários onipresentes em ambientes aquáticos, compostos por vários filos (grandes grupos) que medem entre 45 e 300 micrometros (Giere, 2009). Estes animais são amplamente utilizados como ferramenta para avaliar os impactos antrópicos (Schratzberger & Ingels, 2018), pois suas características são vantajosas para o monitoramento dos ambientes estuarinos, por apresentarem rápido ciclo de vida, tamanho reduzido, altas abundâncias, além de apresentarem mobilidade reduzida (Zeppilli et al., 2015). Não apenas os grandes grupos da meiofauna podem ser utilizados como ferramentas ecológicas, a avaliação da assembleia de nematofauna é adequada devido sua sensibilidade à mudanças ambientais. Além disto, as características funcionais, em

termos e diversidade trófica (Wisser, 1953) e estratégia de vida (Bongers et al., 1991), possibilitam a avaliação ambiente (Moreno et al., 2011), e fornecer respostas precisas quanto aos efeitos de HPAs sobre os serviços ecossistêmicos exercidos pelos nematódeos (Ridall & Ingels, 2021).

Uma maneira de mensurar a qualidade ambiental vêm se destacando em estudos recentes, este método é conhecido como status de qualidade ecológica (EcoQ). O EcoQ pode avaliar o ambiente a partir da riqueza da meiofauna (Semprucci et al., 2016), assim como a partir dos índices de diversidade e funcionalidade da Nematofauna para chegar a um consenso sobre a qualidade que o ambiente apresenta (Chen et al., 2018; Moreno et al., 2011). Com isto, a presente pesquisa avaliará a eficiência do EcoQ como ferramenta ecológica, além de identificar as principais variáveis ambientais e HPAs que modulam a meiofauna e nematofauna de estuários com diferentes graus de urbanização. Tendo como hipótese que no ambiente menos urbanizado, a fauna residente apresente seja mais diversa e, por consequência, apresente maior qualidade ambiental segundo o EcoQ. Além disto, dentre as variáveis testadas, as concentrações de HPAs serão as que mais influenciarão na distribuição e composição da meiofauna e nematofauna.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Este trabalho tem como objetivo (I) caracterizar e avaliar a fauna meiobentônica, assim como a distribuição da nematofauna e suas características funcionais, em estuários com níveis graduais de urbanização e poluição por HPAs. Com relação a poluição, serão (II) categorizados qualitativamente e quantitativamente os HPAs encontrados em cada um destes locais, os dados abióticos também serão coletados, para que sejam (III) correlacionados à estrutura e diversidade dos organismos presentes nesses ambientes. Além disto, testar a aplicabilidade do EcoQ para a meiofauna e nematofauna de estuários tropicais.

1.1.2 Objetivos específicos

1.1.2.1 Manuscrito I

O objetivo do presente estudo foi caracterizar os grupos da meiofauna que habitam três estuários tropicais com diferentes níveis de urbanização e, relacionar a composição, riqueza e diversidade desses grupos com as concentrações de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e variáveis ambientais (pH, matéria orgânica, oxigênio dissolvido na água, temperatura, salinidade e granulometria).

1.1.2.2 Manuscrito II

Testar a aplicabilidade do EcoQ para a assembleia de Nematoda, com o intuito de detectar a impactos humanos em estuários tropicais com diferentes níveis de urbanização. Somado a isto, será avaliado como os HPAs encontrados nestes estuários afetam a composição e a funcionalidade da nematofauna.

2 RESULTADOS

2.1 MANUSCRITO I

Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of urbanization in the South Atlantic.

Ver apêndice A.

2.2 MANUSCRITO II

Uso de EcoQ na comunidade de Nematóides de estuários tropicais em diferentes níveis de urbanização no atlântico sul.

2.2.1 Resumo

Dentre os ambientes naturais que se localizam próximos a urbanizações, os estuários são um dos que mais necessitam de atenção, por fornecerem serviços ecossistêmicos para manutenção de diversos organismos que usam suas águas para se reproduzir e se desenvolver. Dentre as problemáticas que podem afetar os ecossistemas estuarinos, estão o lançamento de efluente, esgotos não tratados, lixiviação das vias públicas, entre outros, que são fontes para entrada hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs). Os HPAs são onipresentes nos ambientes e podem ser divididos em dois tipos, os de baixo peso molecular que possuem 2-3 anéis aromáticos e são tóxicos, além dos de alto peso molecular 4-6, que são apontados como mutagênicos, carcinogênicos. No presente trabalho, a assembleia de Nematódeos de três estuários distribuídos em um gradiente de urbanização foi investigada, com o intuito de identificar quais fatores ambientais mais influenciaram a distribuição e diversidade destes organismos. De forma geral, foram contabilizados 16.436 Nematódeos, que foram caracterizados em 60 gêneros e pertencendo a 22 famílias. A abundância de organismos variou entre as áreas, sendo significativamente maior na área mais urbanizada (Sistema Estuarino do Capibaribe - 59,26%), seguido das áreas menos e (Sistemas Estuarinos de Goiana - 22,18%) e de intermediária urbanização (Sistemas Estuarinos de Timbó - 18,56%). Contudo, com relação a riqueza e o índice de diversidade de Shannon, o estuário menos urbanizado apresentou valores significativamente maiores em relação aos outros dois. Já com relação aos dados abióticos, além das concentrações de HPAs seguirem o mesmo gradiente da urbanização, outras características também favoreciam a deposição destes componentes nos estuários mais urbanizados, como altas concentrações de matéria orgânica e sedimentos finos. Salientasse que, ainda que em Goiana não tenham sido registrados, os HPAs de alto peso molecular (HMW HPAs) apresentaram maiores concentrações em relação aos de HPAs de baixo peso molecular (LMW HPAs). Na presente pesquisa, o impacto das altas concentrações de HMW HPAs e matéria orgânica nos estuários urbanizados estiveram diretamente relacionados às dominâncias de organismos colonizadores, assim como a redução da diversidade e, consequentemente, os serviços ecossistêmicos que estes organismos exercem. De forma geral, a assembleia da

Nematofauna se mostrou como boa ferramenta para avaliar os impactos e diversidade dos ambientes estuarinos. Da mesma maneira, a avaliação feita sobre a utilização do status de qualidade ambiental (EcoQ) apresentou adequados e classificou o estuário menos urbanizado como ambiente de qualidade *Boa*, já os estuários urbanizados como *Pobre*.

Palavras-Chaves: Nematódeos, Estuários urbanizados, EcoQ, HPAs.

2.2.2 Introdução

A utilização do petróleo e seus derivados são, há muito, um dos principais motivos de preocupação para a comunidade científica, pois ainda é considerado recurso indispensável para o desenvolvimento humano e sua manipulação ocasione a liberação de resíduos de interesse ecológicos por serem tóxicos, mutagênicos e carcinogênico (Engraff et al., 2011; United States Environmental Protection Agency, 2018).

Estes produtos, conhecidos como Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), são orgânicos e formados por anéis de benzeno, sendo divididos em dois grupos a partir de seu peso molecular. Os HPAs que possuem de 2-3 anéis aromáticos são classificados como de baixo peso molecular, têm origem petrogênica e são geralmente liberados no ambiente sem passar por refinamento. Por sua vez, os de alto peso molecular possuem 4-6 anéis aromáticos, se originam principalmente de forma pirogênica, ou seja, a partir da queima parcial de derivados do petróleo e matéria orgânica (Boehm, 2005).

Estes poluentes são onipresentes, paralelamente suas fontes são incontáveis e as atividades humanas no meio industrial e a falta de tratamento de efluentes são umas das principais causas para entrada destes compostos no ambiente marinho. Os estuários são um dos ambientes mais atingidos, pois atuam como sumidouros e podem acumular em seu sedimento diversos poluentes. No caso dos HPAs o acúmulo pode se agravar com a presença de sedimentos muito finos e altas concentrações de matéria orgânica, pois estas partículas se associam mais facilmente a estes compostos e se depositam no bentos estuarino.

A presença dos HPAs pode afetar diversos tipos de organismos, dentre eles a assembleia de Nematoides, que são considerados bons indicadores de impacto devida alta abundância e diversidade, além de curto tempo de geração. Estes animais, sem capacidade migratória, se desenvolvem no bentos e passam todos seu ciclo de vida sujeitos a contaminação, o que reflete diretamente na estrutura da comunidade, o que fornece resposta quanto a qualidade do ambiente (Bongers et al., 1991; Bongers and Ferris, 1999). Somado a isto, a funcionalidade em termos e diversidade trófica (Wisser, 1953) e estratégia de vida (Bongers et al., 1991) da Nematofauna possibilita, também, a avaliação da qualidade do ambiente (Moreno et al., 2011; Schratzberger & Ingels, 2018) e fornecer respostas precisas quanto os efeitos de HPAs.

Em estudos recentes, o status de qualidade ecológica (EcoQ) vem sendo usado para avaliação do ambiente utilizando as características da Nematofauna. O EcoQ se utiliza tanto dos dados diversidade, quanto da funcionalidade para chegar a um consenso e mensurar a

qualidade que o ambiente apresenta (Danovaro et al., 2004; Semprucci et al., 2016). Na presente pesquisa, foi testado a eficiência do EcoQ na detecção de condições de perturbação humana em estuários utilizando dados da assembleia de Nematoides. Além disto, foi avaliado como os organismos intersticiais são influenciados pelas variáveis ambientais e concentrações de HPAs presentes em estuários com diferentes níveis de urbanizações.

Neste sentido, e a partir do sobreposto, é esperado que o ambiente estuarino que apresenta baixa urbanização em seus arredores, apresente também maior qualidade ambiental, assim como maiores valores de diversidade. Ademais, as altas concentrações de HPAs, principalmente os de alto peso molecular, afetarão mais fortemente a estrutura da comunidade de Nematoda.

2.2.3 Materiais e Métodos

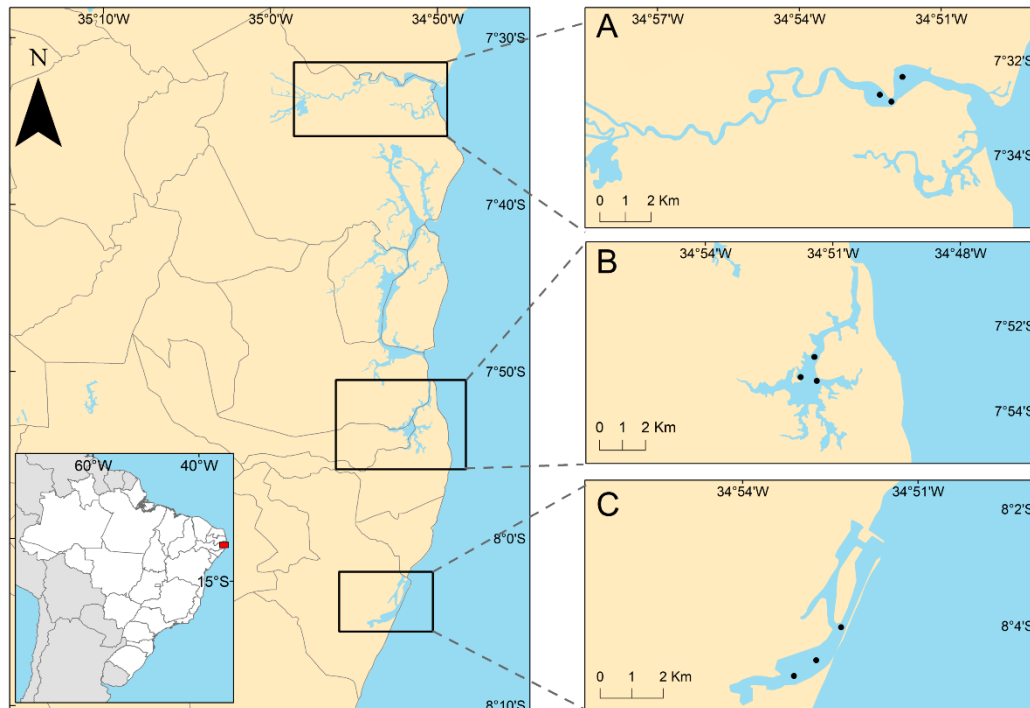
2.2.3.1 Área de estudo

As áreas estudadas são estuários tropicais dos rios Goiana, Timbó e Capibaribe, localizados na costa leste da América do Sul, Nordeste do Brasil (figura 1). Todas as áreas de estudo são urbanizadas em diferentes graus. O sistema estuarino de Goiana (GES) está localizado a 7°32'43,2"S, 34°51'50,2"W. GES foi escolhido como área de referência por ser pouco urbanizado (CPRH, 2005) e, em embora receba HPAs provenientes da queima da palha da cana-de-açúcar, as concentrações registradas nestes estuários são baixas e não causam prejuízo à fauna (Arruda-santos et al., 2018). Além disto foi previamente classificada como não perturbada, pelo índice biótico (AMBI) (Nunes de Souza et al., 2021). Já o sistema estuarino de Timbó (TES) está localizado a 7°53'45.8"S, 34°51'35.9"W, e possui um nível intermediário de urbanização (CPRH, 2005), recebendo principalmente poluição de esgotos não tratados e industriais (Noronha et al., 2011). O índice AMBI identificou o TES como ligeiramente (Valença & Santos, 2012) a moderadamente perturbado (Nunes de Souza et al., 2021), sugerindo uma degradação crescente deste estuário. O sistema estuarino do Capibaribe (CES) está localizado a 8°04'03"S e 34°52'16"W na parte interna do Porto do Recife, que é uma cidade altamente urbanizada (CPRH, 2005). É formado pela confluência dos rios Tejipió, Jordão e Pina e o braço sul do rio Capibaribe. Com base no índice biótico AZTI, esse estuário foi classificado como moderado a altamente perturbado (Nunes de Souza et al., 2021; Valença & Santos, 2012). Vários estudos relataram que os sedimentos da CES estão contaminados por HPAs, hidrocarbonetos alifáticos, tributilestanho (compostos anti-incrustantes) e metais (Macedo et al., 2007; Maciel et al., 2018, 2016, 2015).

2.2.3.2 Amostragem

As amostras foram obtidas em janeiro e fevereiro de 2016, durante o período de verão (seco). A coleta de amostras foi realizada durante esta estação, a fim de evitar o período de alta pluviosidade que leva ao enriquecimento de outros poluentes, fertilizantes e pesticidas, que interfeririam na fauna bentônica e na avaliação dos efeitos dos HPAs (Boonyatumanond et al., 2006; Zakaria et al., 2002; Zhang et al., 2017). Os estuários foram amostrados em três estações, e quatro réplicas foram obtidas em cada ponto usando um amostrador de fundo Van Veen (nove litros), para cada réplica foi realizado um lançamento. Amostras da meiofauna foram obtidas com o auxílio de um cilindro de 5 cm de altura e diâmetro interno de 3,6 cm (área de 10 cm²). As amostras foram preservadas com formaldeído tamponado a 4% (Giere, 2009).

Figura 1. Localização das estações de coleta dos três estuários na costa nordeste do Brasil. (A) Sistema estuarino de Goiana, área menos urbanizada (GES); (B) sistema estuarino de Timbó, área de urbanização intermediária (TES); e (C) sistema estuarino do Capibaribe, áreas mais urbanizadas (CES).



As frações de sedimento reservadas às análises dos parâmetros químicos (HPAs, conteúdo orgânico totais) e físicos (tamanho do grão), foram coletados em um único lançamento do mostrador de fundo, o que as caracteriza como subamostragem. Para evitar a contaminação da fração destinada às análises de HPAs, após a draga ser recolhida, uma espátula de aço inoxidável e esterilizada foi usada para retirar a superfície do sedimento (~2 cm) e um recipiente de alumínio, também esterilizado foi usado para armazenar cada amostra congelada até o processamento e leitura de HPAs ser realizada. As amostras foram homogeneizadas antes da análise cromatográfica e caracterização dos HPA, a fim de evitar variação pontual e aglomeração química. Salinidade, temperatura, oxigênio dissolvido e pH foram medidos usando uma sonda JFE Advantech tipo CTD, modelo Rinko Profiler.

2.2.3.3 Tratamento de amostras biológicas em laboratório

Para separar a meiofauna do sedimento, foram utilizados água corrente e peneiras (malhas acopladas de 300 e 45 μm , respectivamente). O sedimento remanescente na malha de 45 μm passou por um processo de dez elutriações manuais e o sobrenadante de cada elutriação foi removido e fixado com formalina tamponada a 4% (Giere, 2009).

Para montar as lâminas de Nematoda, aproximadamente 150 animais foram reservados de cada amostra. Estes animais foram colocados em um embrio com uma solução composta por 99% de Formalina e 1% de Glicerina, que permaneceu doze horas em um diafanizador. Em seguida, iniciou-se a adição de uma solução composta por 95% de álcool e 5% de Glicerina, que foi colocada quatro vezes com intervalos de 2 horas, o volume colocado era de quatro gotas. Uma hora antes do manuseio dos nematodas, uma solução composta por 99% de glicerina e 1% de álcool foi adicionada ao embrio (Giere, 2009). As lâmina de microscópio conteriam os nematodas eram carimbados circularmente com parafina, para isso foi-se usado um tubo de alumínio de 1,5 cm de diâmetro. Cada slide foi carimbado duas vezes, para lamínulas diferentes, cada uma delas abarcou oito nematodas que eram colocados em uma gotícula de glicerina no centro da área carimbada (Giere, 2009).

A identificação dos gêneros da Nematofauna foi realizada através da chave pictorial de gêneros (Platt & Warwick, 1988), tendo como suporte dados existentes no banco mundial de nematoides marinhos de vida livre (Nemys eds., 2023). Os gêneros da nematofauna foram classificados quanto a estratégia de vida, ou seja, cinco categorias que vão dos mais colonizadores (CP-1 e 2) até os mais persistente (CP-3 até CP-5) (Bongers & Bongers, 1998). Enquanto os colonizadores possuem ciclo de vida curto, altas taxas de reprodução e resistentes a distúrbios, os persistentes têm ciclo de vida mais longo, com poucos descendentes e sensíveis a distúrbios (Bongers, 1990; Bongers et al., 1991). A partir do valor médio de colonizador-persistentes nas amostras foi definido o valor do índice de maturidade (IM), seguindo a metodologia de Bongers (1990). O tipo bucal de cada gênero foi classificado a partir de Wieser (1953), sendo classificados em quatro grupos tróficos (G-T): comedores de depósito seletivos (1A) e não seletivos (1B), comedores de epistrato (2A) e predadores/onívoros (2B).

2.2.3.4 Análises das variáveis sedimentares

A matéria orgânica foi calculada a partir da perda de peso após a ignição a 450 °C por 5 horas (Giere, 2009). A granulometria foi determinada segundo Suguio (1973), utilizando o método de peneiração úmida para peneirar e separar a fração silte-argila. O sedimento remanescente foi peneirado em agitador e fracionado através de peneiras com aberturas de tamanhos entre 2 mm a 0,062 mm. Os métodos para análise das concentrações de HPA estão descritos em (Nunes de Souza et al., 2021). Resumidamente, as amostras foram analisadas por cromatografia gasosa (modelo 7820A; GC—Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) acoplada à espectrometria de massas (modelo 5975C; MS—Agilent Technologies, Santa Clara,

CA, EUA), no modo de monitoramento seleção de íons (SIM). Os valores aqui apresentados referem-se à soma dos HPAs ($\sum$ HPAs).

2.2.3.5 Análise de dados

Os dados de densidade da meiofauna foram transformados em raiz quarta e a matriz de similaridade foi calculada usando o índice de Bray-Curtis. Para visualizar os padrões de similaridade, eles foram ordenados usando a análise de escala multidimensional não métrica (nMDS). Para testar a significância dos padrões visualizados, uma ANOVA permutacional (PERMANOVA) foi aplicada. Uma análise PERMDISP foi usada para testar a homogeneidade entre os dados. As áreas estuarinas (GES, TES e CES) foram aplicadas como fator, tanto para o PERMANOVA, quanto para o PERMDISP. Todos os dados abióticos foram transformados (em raiz quarta) e normalizados, antes de serem utilizados em análises.

Para avaliar a diversidade da meiofauna estuarina, foram calculados os seguintes índices: Shannon Wiener (H'), Pielou (J) e riqueza de gêneros (S) (Anderson et al., 2008). Para analisar esses índices ecológicos de respostas da meiofauna a fatores ambientais e concentrações de HPAs, a regressão de modelagem linear multivariada baseada em distância (DistLM) foi aplicada. O dbRDA foi realizado para obter a ordenação e visualização de modelos ajustados (como do DistLM), e vetores plotados em gráficos foram gerados com a correlação de postos de Spearman.

O status de qualidade ambiental (EcoQ) (Moreno et al., 2011) para nematofauna foi avaliado a partir dos seguintes parâmetros: teor de matéria orgânica no sedimento, concentrações de HPAs através do SQG (ERL-ERM) (Long & Morgan, 1990), abundância de organismos colonizador-persistentes (CP), valores do índice de maturidade e diversidade trófica e presença de gêneros sensíveis/tolerantes nos estuários (>10%) (Moreno et al., 2011; Semprucci et al., 2014). As concentrações de HPAs foram avaliados a partir do CCME (conselho canadense de ministros do meio ambiente) também. O CCME, através do Banco de Dados de Efeitos Biológicos para Sedimentos (BEDS) (Macdonald et al., 2000, 1996), fundamentou cinco classes que definem a probabilidade de que efeitos biológicos sejam observados em organismos bentônicos: nível de efeito raro (REL), nível de efeito limiar (TEL), nível de efeito ocasional (OEL), nível de efeito provável (PEL) e nível de efeito frequente (FEL). As análises multivariadas foram realizadas utilizando o software: PRIMER v6 com a adição do pacote PERMANOVA+ (Gorley & Clarke, 2008).

2.2.4 Resultados

2.2.4.1 Parâmetros Ambientais

A salinidade do estuário variou de 23 a 36, e a temperatura média foi de $29,2 \pm 0,1$ °C (média $\pm$ SE). A matéria orgânica (MO) variou muito entre os estuários, indo de 1,37% a 16,28% (pseudo-F = 21,61; $p = 0,014$) com uma quantidade significativamente menor de MO no sistema estuarino goiano (GES) ($p < 0,045$). O pH variou de 5,79 a 8,50, onde foram registradas medidas significativamente mais ácidas para o sistema estuarino do Capibaribe (CES), diferindo dos demais ($p < 0,0003$). Curiosamente, o oxigênio dissolvido foi pelo menos três vezes maior no CES, diferindo na comparação em pares com GES e no sistema estuarino Timbó (TES) ($p < 0,02$) (tabela 1).

Em relação aos HPAs, foram identificados um total de 17 compostos diferentes, dos quais 16 são listados como nocivos à saúde pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA) (Keith, 2015). As concentrações dos HPAs de baixo peso molecular (LMW HPA) variaram de $0,55 \pm 0,67$ (média $\pm$ erro) em GES, a $58,12 \pm 21,02$ em CES. Por sua vez, os HPAs de alto peso molecular (HMW HPAs) não foram registrados em GES, suas concentrações variaram $130,21 \pm 66,80$ em TES, a $616,70 \pm 310,29$ em CES (tabela 1).

Apenas três HPAs foram detectados nos sedimentos do GES: 2-Methylnaphthalene, Fluorene e Phenanthrene. A maioria dos HPAs foram comuns a CES e TES, com exceção do Acenaphthene, que foi detectado apenas no sedimento de CES. As maiores concentrações individuais de HPAs foram relatadas para Fluoranthene, Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Pyrene, Benzo[a]pyrene e Benzo[b]fluoranthene, que juntos representaram 56,20% da concentração total de HPA.

A granulometria nos estuários variou de cascalho a silte-argila, onde a fração de areia média foi mais abundante no estuário menos impactado por HPAs, enquanto as áreas mais poluídas apresentaram maiores concentrações de silte-argila. A comparação das frações sedimentares entre as áreas mostrou que a areia muito fina foi significativamente menor no GES, enquanto a fração silte-argila no CES foi significativamente maior em relação ao GES (tabela 2).

2.2.4.2 Estrutura da Nematofauna

Um total de 60 gêneros, pertencentes a 22 famílias foram registrados nos três estuários estudados. A contagem total de indivíduos da nematofauna foi de 16.436 indivíduos, dos quais

9.740 (59,26%) indivíduos foram coletados no sistema estuarino Capibaribe (CES), em Goiana foram registrados 3.646 (22,18%) e 3.050 (18,56%) em Timbó. Devido às oscilações, a densidade dos organismos diferiu significativamente entre os estuários (Permdisp = 0,28; pseudo-F = 10,678; $p = 0,0002$), na comparação em pares CES diferiu dos demais por apresentar densidade de organismos consideravelmente maior ($p < 0,003$).

Tabela 1. Valores médios ($\pm$ SE) das variáveis ambientais dos três estuários. Valores de P (perm) $< 0,05$ estão em negrito. A comparação em pares foi expressa em letras minúsculas, que representam diferenças significativas da variável nos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; LMW HPAs, HPAs de baixo peso molecular; HMW, HPAs de alto peso molecular; OD, oxigênio dissolvido; MO, matéria orgânica; Temp., temperatura.

Área	LMW HPA ng/g ⁻¹	HMW HPA ng/g ⁻¹	OD mg/L	pH	MO mg/g	Temp. C°	Salinidade
GES	0,55 $\pm 0,67^a$	0,00 $\pm 0,00^a$	4,45 $\pm 0,44^a$	8,40 $\pm 0,04^a$	1,87 $\pm 0,35^a$	29,13 $\pm 0,08$	27,33 $\pm$ 2,16
TES	8,97 $\pm 4,65^b$	130,21 $\pm 66,80^b$	5,43 $\pm 0,49^a$	8,39 $\pm 0,06^a$	6,88 $\pm 1,12^b$	29,03 $\pm 0,04$	30,67 $\pm$ 3,56
CES	58,12 $\pm 21,02^b$	616,70 $\pm 310,29^b$	17,67 $\pm 2,04^b$	5,81 $\pm 0,02^b$	11,77 $\pm 3,04^b$	29,47 $\pm 0,27$	27,57 $\pm$ 3,78
<i>p</i>	0,018	0,001	0,024	0,039	0,014	0,103	0,349
<i>Pseudo-F</i>	16,079	28,417	63,793	4146,9	21,609	3,381	1,364
<i>PermDisp</i>	0,3697	0,0333	0,3889	0,071	0,7611	0,0245	0,7779

Tabela 2. Valores médios ($\pm$ SE) das frações granulométricas nos três estuários. Resultado de Permanova e Permdisp na matriz granulométrica dos estuários. Valores de P (perm) $< 0,05$ estão em negrito. A comparação em pares foi expressa em letras minúsculas, que representam diferenças significativas de cada fração granulométrica nos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; VCS, areia muito grossa; CS, areia grossa; MS, areia média; FS, areia fina; VFS, areia muito fina.

Estuário	Cascalho	VCS	CS	MS	FS	VFS	Silte-Argila
	%						
GES	2 $\pm 2,27$	2,13 $\pm 1,45$	16,03 $\pm 9,62$	43,23 $\pm 12,5$	33,96 $\pm 24,61$	0,67 $\pm 0,11^a$	1,97 $\pm 1,0^a$
TES	5,13 $\pm 4,7$	5,8 $\pm 3,01$	13,77 $\pm 5,98$	19,7 $\pm 5,27$	27,83 $\pm 7,27$	16,87 $\pm 8,72^b$	10,97 $\pm 4,52^{ab}$
CES	9,17 $\pm 6,63$	5,9 $\pm 3,48$	13,67 $\pm 6,88$	17,93 $\pm 7,48$	15,1 $\pm 2,18$	11,5 $\pm 4,67^b$	26,73 $\pm 10,7^b$
<i>p</i>	0,384	0,459	0,956	0,258	0,482	0,043	0,048
<i>Pseudo-F</i>	1,126	1,147	0,057	2,913	0,629	7,882	9,301
<i>PermDisp</i>	0,871	0,887	0,17	0,726	0,13	0,052	0,419

Um total de 60 gêneros, pertencentes a 22 famílias foram registrados nos três estuários estudados (tabela 3). A contagem total de indivíduos da nematofauna foi de 16.436 indivíduos, dos quais 9.740 (59,26%) indivíduos foram coletados no sistema estuarino Capibaribe (CES), em Goiana foram registrados 3.646 (22,18%) e 3.050 (18,56%) em Timbó. Devido às oscilações, a densidade dos organismos diferiu significativamente entre os estuários (Permdisp = 0,28; pseudo-F = 10,678; $p = 0,0002$), na comparação em pares CES diferiu dos demais por apresentar densidade de organismos consideravelmente maior ($p < 0,003$).

Os gêneros foram classificados de acordo com a frequência de ocorrência, baseado em Bodin (1977): Constante (75,1–100%), Frequente (50,1–75%), Comum (25,1–50%) e Raro (menor que 25%). Assim, constatou-se que dois gêneros foram constantes, enquanto quatro frequentes e 12 comuns, a maior parte deles, 42 gêneros, se classificaram como raros (figura 2).

Mais da metade (56,52%) dos organismos na área controle foram exclusivos, o que totaliza 26 dos 46 gêneros registrados em GES. Em sua maioria, os exclusivos de GES apresentaram estratégia de vida mais persistente (CP-3), enquanto o tipo bucal predominante foi de alimentadores de epistrato (2A). Em TES, 10 dos 26 gêneros registrados foram exclusivos, sendo seis deles com característica CP-3 e alimentadores de epistrato também (2A). Por fim, apenas 3 dos 19 gêneros registrados em CES foram exclusivos, dois deles foram colonizadores (CP-2) e alimentadores não seletivos (1B), já o terceiro mostrou-se mais persistente (CP-3), além de ser onívoro/predador (2B) (figura 2; tabela 3). Dez gêneros se repetiram nos três estuários, dos quais cinco apresentaram as maiores densidades do trabalho (ie, *Terschellingia*, *Sabatieria*, *Daptonema*, *Metadesmolaimus* e *Prochromadorella*). Cinco gêneros foram comuns a área de referência (GES) e a área com poluição intermediária (TES) são eles *Bolbonema*, *Chromadorita*, *Desmodora*, *Gomphionema*, *Metachromadora*. Da mesma maneira, cinco outros gêneros apareceram apenas na área de referência (GES) e a área com maior poluição por HPAs (CES), são eles *Chromaspirina*, *Laimella*, *Marylynnia*, *Oxystomina*, *Paracyatholaimus*. Apenas o gênero *Subsphaerolaimus* foi restrito às áreas poluídas (TES e CES) (figura 2).

A análise do PERMANOVA e a comparação do pair-wise evidenciou diferenças significativas na comunidade dos estuários (tabela 4). A riqueza nas áreas diferiu significativamente de um local para outro (pseudo-F = 57,861; $p = 0,0001$), sendo significativa-

Tabela 3. Lista de gênero por estuário, assim como seus respectivos valores de colonizador-persistentes e grupos tróficos. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; CP, colonizador-persistentes; GT, grupo trófico.

Estuário de GES			Estuário de TES			Estuário de CES		
Gêneros	CP	GT	Gêneros	CP	GT	Gêneros	CP	GT
Alaimella	2	2A	Araeolaimus	1	1B	Chromaspirina	3	2A
Axonolaimus	2	1B	Bolbonema	3	2A	Daptonema	2	1B
Bathylaimus	2	1B	Chromadora	3	2A	Dorylaimopsis	2	2A
Bolbonema	3	2A	Chromadorella	3	2A	Gomphionchus	2	1B
Camacolaimus	2	2A	Chromadorita	3	2A	Halichoanolaimus	3	2B
Ceramonema	3	1A	Daptonema	2	1B	Laimella	2	1B
Cheironchus	3	2B	Desmodora	3	2A	Marylynnia	3	2A
Chromadorita	3	2A	Dorylaimopsis	2	2A	Metadesmolaimus	3	2B
Chromaspirina	3	2A	Gomphionema	2	2A	Oncholaimus	4	2B
Daptonema	2	1B	Linhomoeus	2	2B	Oxystomina	4	1A
Dasynemoides	3	1A	Metachromadora	2	2A	Paracyatholaimus	3	2A
Desmodora	3	2A	Metacyatholaimus	3	2A	Parodontophora	2	1B
Diplopeltoides	3	1A	Metadesmolaimus	3	2B	Perspiria	3	2A
Dorylaimopsis	2	2A	Oncholaimus	4	2B	Prochromadorella	3	2A
Eubostrichus	3	1A	Paradesmodora	3	2A	Sabatieria	2	1B
Gammanema	3	2B	Paralongicyatholaimus	3	2A	Subsphaerolaimus	3	1B
Gomphionema	2	2A	Perspiria	3	2A	Terschellingia	2	1A
Halalaimus	4	1A	Prochromadorella	3	2A	Theristus	2	1B
Hypodontolaimus	3	2A	Sabatieria	2	1B	Viscosia	4	2B
Laimella	2	1B	Subsphaerolaimus	3	1B			
Latronema	3	2B	Synonchiella	3	2B			
Leptonemella	4	1A	Terschellingia	2	1A			
Marylynnia	3	2A	Thalassomonhystera	1	1B			
Metachromadora	2	2A	Theristus	2	1B			
Metadesmolaimus	3	2B	Trissonchulus	4	2A			
Microlaimus	2	2A	Viscosia	4	2B			
Neochromadora	3	2A						
Nudora	3	2A						
Odontophora	2	1B						
Omicronema	2	1B						
Oncholaimellus	4	2B						
Oncholaimus	4	2B						
Oxystomina	4	1A						
Paracomesoma	2	2A						
Paracyatholaimus	3	2A						
Perspiria	3	2A						
Prochromadorella	3	2A						
Pseudochromadora	3	2A						
Rhabdocoma	4	1A						
Sabatieria	2	1B						
Setosabatieria	2	1B						
Stygodesmodora	3	2A						
Terschellingia	2	1A						
Theristus	2	1B						
Viscosia	4	2B						
Xyala	3	1B						

mente maior no estuário de referência, localizado no rio Goiana (GES, $p < 0,0001$). Este índice ecológico, diminuiu ao passo que as áreas apresentavam maiores níveis de urbanização e poluição por HPAs. Já em GES a riqueza total chegou a 46 (média, $19,00 \pm 0,96$), no estuário com poluição intermediária (TES) a riqueza reduziu 43,48% ($S = 26$; média, $7,92 \pm 0,91$), enquanto que no estuário mais poluído (CES) a redução foi de 56,52% ($S = 22$; média, $9,17 \pm 0,52$).

Figura 2. Lista de gêneros de nematoides divididos em quatro categorias de frequência de ocorrência: Constante (75,1–100%), Frequente (50,1–75%), Comum (25,1–50%) e Raro (0,1–25%), através do métodos de Bodin (1977). Valores dentro das interseções representam a quantidade de gêneros compartilhados (S) e/ou exclusivos de cada estuário. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe. Círculo verde, azul e laranja representam os estuários de GES, TES e CES, respectivamente.

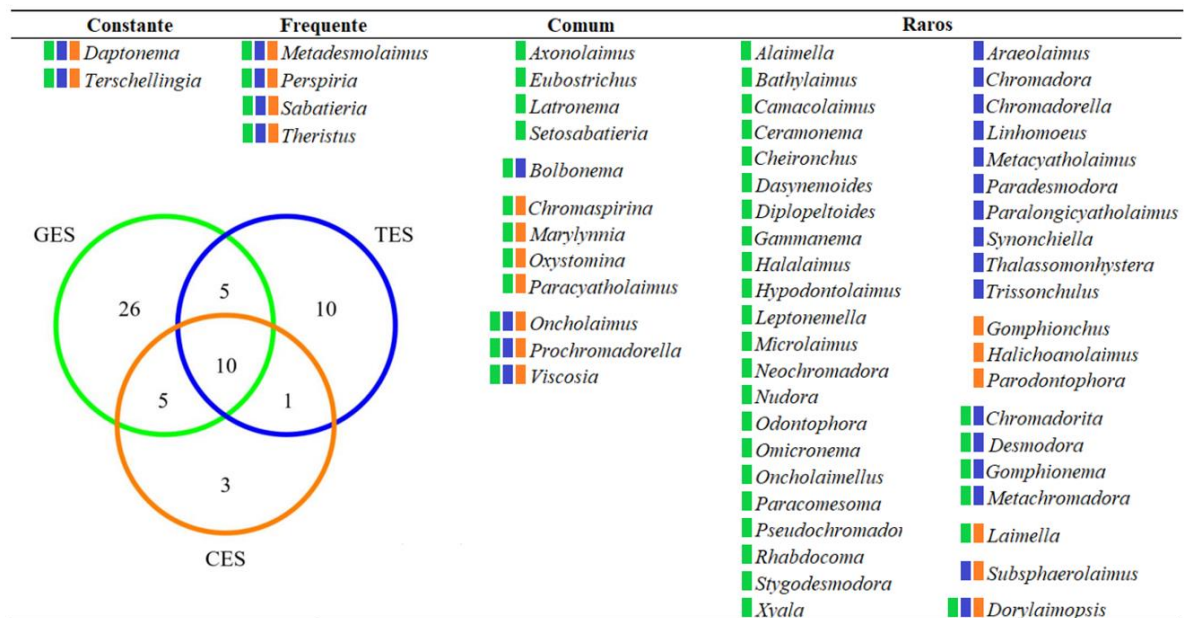


Tabela 4. Comparação da estrutura Nematofaunística dos três estuários, assim como a comparação em pares (pair-wise). GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; Res, resíduos; df, grau de liberdade; MS, média quadrada; t, pseudo-t ($\sqrt{\text{pseudo-F}}$).

PERMANOVA	df	MS	Pseudo-F	P(perm)
Estuário	2	23640	33,428	0,0001
Res	33	707.2		
Total	35			
PERMIDISP	2		1,0586	0,4175
PAIR-WISE				
Grupos		t		P(perm)
GES, TES		5,8034		0,0001
GES, CES		6,9597		0,0001
TES, CES		4,5724		0,0001

Por sua vez, a diversidade de Shannon-Wiener (H') diferiu entre os estuários (pseudo- $F = 47,078$; $p = 0,0001$), sendo significativamente maior ($p = 0,0001$) no sistema estuarino de Goiana (média, $2,27 \pm 0,09$) seguido de CES (média, $1,59 \pm 0,08$) e TES (média, $1,36 \pm 0,09$). Por fim, dentre os índices ecológicos testados apenas a equitabilidade de Pielou (J) não diferiu entre as áreas estudadas (pseudo- $F = 2,8983$; $p = 0,072$). As médias de cada índice ecológico por estação podem ser vistos na tabela 6.

Tabela 5. Permanova e Pair-wise para os índices ecológicos nos estuários estudados. O fator analisado foi a área (Estuário). Valores de $P(\text{perm}) < 0,05$ estão em negrito. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; Res, residual; df, graus de liberdade; MS, média quadrada; t, pseudo-t ($\sqrt{\text{pseudo-F}}$); Índices Ecol., índices ecológicos.

Índices Ecol.		PERMANOVA				PAIR-WISE		
		df	MS	pseudo-F	P (perm)	Groups	t	P (perm)
Riqueza - S	Estuary	2	0,618	57,861	0,0001	GES, TES	9,093	0,0001
	Res.	27	0,011			GES, CES	9,456	0,0001
	Total	35				TES, CES	1,867	0,0763
Densidade - N	Estuary	2	8,135	10,678	0,0002	GES, TES	1,265	0,2267
	Res.	27	0,762			GES, CES	3,716	0,0024
	Total	35				TES, CES	4,269	0,0002
Índice de Shannon - H'	Estuary	2	0,071	47,078	0,0001	GES, TES	9,049	0,0001
	Res.	27	0,002			GES, CES	7,241	0,0001
	Total	35				TES, CES	2,779	0,0138
Equitabil. - J'	Estuary	2	0,002	2,8485	0,075	GES, TES	-	-
	Res.	27	0,001			GES, CES	-	-
	Total	35				TES, CES	-	-

Tabela 6. Valores médios e erro padrão ($\pm SE$) dos índices ecológicos dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St (1,2,3), estação; Equitabil., equitabilidades

Estuários	GES			TES			CES		
	St1	St2	St3	St1	St2	St3	St1	St2	St3
Riqueza	20,25	17,75	19,00	10,50	5,25	8,00	8,25	8,50	10,75
	$\pm 0,48$	$\pm 2,17$	$\pm 2,04$	$\pm 1,66$	$\pm 0,48$	$\pm 1,22$	$\pm 0,48$	$\pm 0,96$	$\pm 0,75$
Densidade	272,25	274,00	365,16	522,64	152,92	87,00	1247,79	410,55	776,70
	$\pm 89,19$	$\pm 101,38$	$\pm 119,96$	$\pm 195,78$	$\pm 58,69$	$\pm 18,19$	$\pm 234,97$	$\pm 126,54$	$\pm 248,59$
Shannon	2,59	2,11	2,11	1,58	1,07	1,43	1,42	1,50	1,86
	$\pm 0,03$	$\pm 0,11$	$\pm 0,19$	$\pm 0,12$	$\pm 0,09$	$\pm 0,13$	$\pm 0,09$	$\pm 0,11$	$\pm 0,09$
Equitabil.	0,86	0,74	0,72	0,69	0,67	0,70	0,67	0,71	0,78
	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,05$	$\pm 0,06$	$\pm 0,1$	$\pm 0,02$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,02$

A análise de similaridade (SIMPER) mostrou que os gêneros que mais contribuíram para as diferenças entre GES e TES foram: *Chromaspirina* (7,42%), *Latronema* (5,19%), *Axonolaimus* (4,96%), *Metadesmolaimus* (4,69%). Entre os estuários de GES e CES, os

principais gêneros que contribuíram para a dissimilaridade foram: *Terschellingia* (7,88%), *Chromaspirina* (6,16%), *Sabatieria* (5,95%) e *Latronema* (4,55%). Já em TES e CES, os gêneros que mais contribuíram com a dissimilaridade foram: *Sabatieria* (10,92%), *Metadesmolaimus* (10,84%), *Terschellingia* (7,65%) e *Daptonema* (7,31%) (tabela 7). A análise de ordenação evidenciou a separação entre as comunidades de GES e as de TES e CES (figura 3).

Tabela 7. Resultados da análise de similaridade (SIMPER) usando dados de abundância, indicando os táxons que juntos contribuem com no mínimo 40% de dissimilaridade na assembleia dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; Abund med., abundância média; Diss Med., dissimilaridade média; Diss/SD, desvio padrão da dissimilaridade; Contrib%, porcentagem de contribuição; Cum.%, porcentagem cumulativa.

Estuários GES e TES (Dissi. med. = 83,75%)	GES Abund med.	TES Abund med.	Diss Med.	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Chromaspirina</i>	2,78	0	6,21	3,16	7,42	7,42
<i>Latronema</i>	1,98	0	4,35	3,95	5,19	12,61
<i>Axonolaimus</i>	1,89	0	4,15	2,88	4,96	17,57
<i>Metadesmolaimus</i>	1,92	0,12	3,93	1,96	4,69	22,26
<i>Terschellingia</i>	0,46	2,23	3,78	1,94	4,52	26,78
<i>Eubostrichus</i>	1,58	0	3,62	1,76	4,32	31,1
<i>Daptonema</i>	1,27	2,85	3,46	1,67	4,14	35,24
<i>Bolbonema</i>	1,54	0,09	3,32	2,13	3,97	39,2
<i>Viscosia</i>	1,43	0,18	3,04	1,41	3,63	42,84

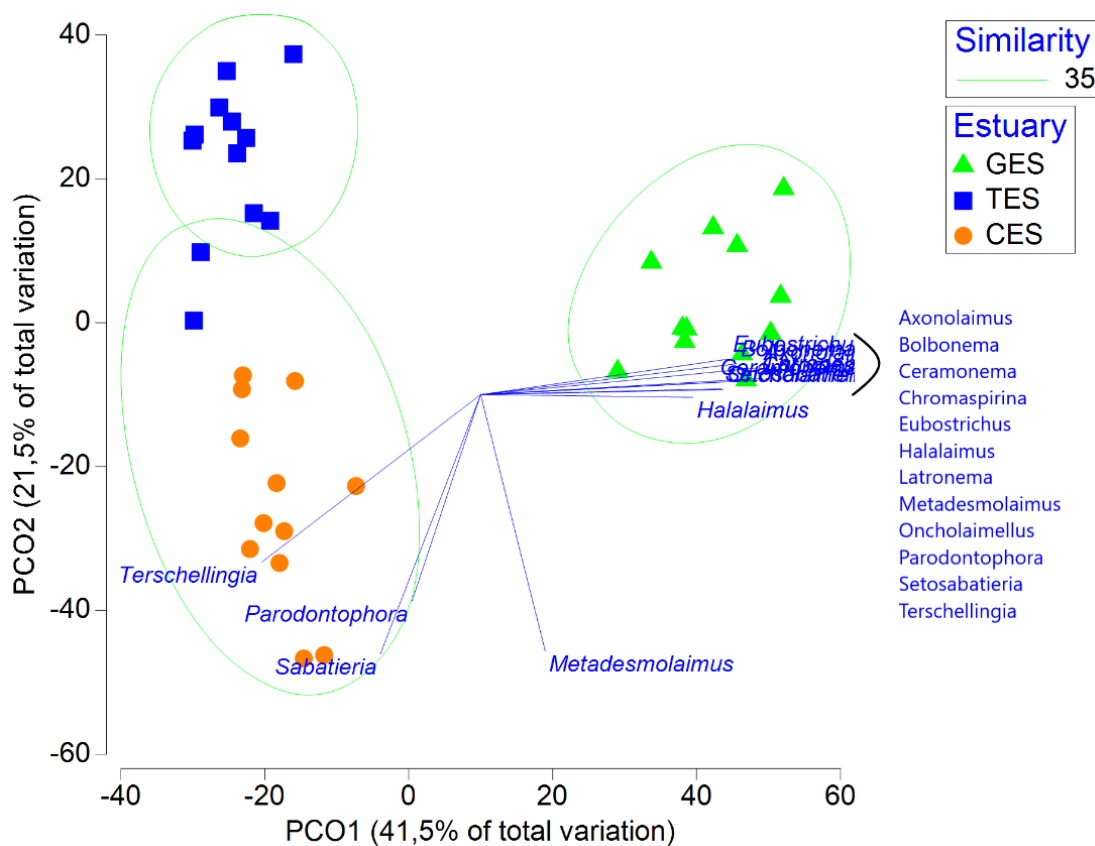
Estuários GES e CES (Dissi. med. = 78,61%)	GES Abund med.	CES Abund med.	Diss Med.	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Terschellingia</i>	0,46	3,84	6,19	3,15	7,88	7,88
<i>Chromaspirina</i>	2,78	0,16	4,84	2,87	6,16	14,04
<i>Sabatieria</i>	0,61	3,13	4,68	1,85	5,95	19,99
<i>Latronema</i>	1,98	0	3,58	5,01	4,55	24,54
<i>Axonolaimus</i>	1,89	0	3,42	3,19	4,35	28,89
<i>Prochromadorella</i>	0,3	1,87	3,24	1,14	4,13	33,02
<i>Perspiria</i>	0,36	1,75	2,99	1,74	3,8	36,82
<i>Eubostrichus</i>	1,58	0	2,96	1,85	3,76	40,58

Estuários TES e CES (Dissi. med. = 65,05%)	TES Abund med.	CES Abund med.	Diss Med.	Diss/SD	Contrib%	Cum.%
<i>Sabatieria</i>	0,56	3,13	7,1	1,86	10,92	10,92
<i>Metadesmolaimus</i>	0,12	2,7	7,05	2,3	10,84	21,76
<i>Terschellingia</i>	2,23	3,84	4,98	1,58	7,65	29,41
<i>Daptonema</i>	2,85	1,43	4,75	1,55	7,31	36,72
<i>Prochromadorella</i>	1,14	1,87	4,61	1,29	7,09	43,81

2.2.4.4 Qualidade ecológica através do EcoQ

Através dos parâmetros do EcoQ (Moreno et al., 2011), foi observado que as estações de GES tendenciaram à *Boa* qualidade do ambiente, enquanto todas as amostras de TES apresentaram qualidade *Pobre*. Como as classes das três estações de CES foram diferentes, este estuário foi classificado pela média (Chen, 2018), portanto *Pobre* (tabela 8).

Figura 3. Gráfico de ordenação dos principais componentes (PCO) usando dados da densidade de nematoides nos estuários. Tamanho e direção dos vetores representam o nível de correlação. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe. Seta indica os gêneros que estão sobrepostos.



De forma geral, a classificações do EcoQ para as estações de Goiana flutuaram entre *Ótimo* e *Bom* (H-G), o índice de Shannon foi o único que não seguiu o padrão e variou de *Moderado* a *Pobre*. Já em Timbó, as maiores classificações observadas foram nas categorias de matéria orgânica e o índice de diversidade trófica, ambos *Moderado*. Contudo as demais categorias foram dominadas por *Pobre* e *Ruim*. No estuário do Capibaribe é possível observar um padrão, suas estações um e dois foram dominadas por *Pobre* e *Ruim*, enquanto em sua estação três a classificação *Bom* apareceu para o índice de maturidade e *Alto* para as categorias de colonizador-persistentes (tabela 8).

Tabela 8. Resultados do EQS para cada estação dos estuários. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St (1,2,3), estação; Metric. Do EcoQ, métricas do EcoQ; SQG, diretriz de qualidade do sedimento; ERL, Intervalo de baixo efeito; ERM, Intervalo de médio efeito; IM, índice de maturidade; CP, colonizador-persistentes; ITD, índice de diversidade trófica; “–”, não determinado. Avaliações da qualidade no EcoQ: H, *Alta*; G, *Boa*; M, *Moderada*; P, *Pobre*; B, *Ruim*.

Metric. Do EcoQ \ Área	GES			TES			CES		
	St 1	St 2	St 3	St 1	St 2	St 3	St 1	St 2	St 3
Matéria Orgânica	H-G	H-G	H-G	M	M	M	M	P-B	P-B
ERL–ERM (ng g ⁻¹ p.s.)	H-G	H-G	H-G	H-G	H-G	H-G	H-G	H-G	H-G
IM	G	H	G	P	B	B	B	B	G
CP	H	H	H	B	B	B	B	B	H
Shannon – H'	M	P	P	P	P	P	P	P	P
ITD	G	G	G	M	P	M	G	G	G
Gêneros (>10%) Sensível/Tolerante	G	-	-	B	P	B	B	B	B
Resultado	G	H	G	P	P	P	P	B	M

A classificação das concentrações de HPAs dentro dos parâmetros do EcoQ (ERL–ERM ng/g-1, Long et al., 1995; Macdonald et al., 1996) não diferiu os estuários em relação a poluição, todas as estações apresentaram EcoQ *Alta-Boa* para os níveis de HPAs. Por este motivo, ainda que não esteja integralizado ao EcoQ, as concentrações de HPAs foram classificadas através dos critérios para avaliação da qualidade do sedimento do conselho canadense de ministros do meio ambiente (CCME, 1995; 1999), a fim de favorecer as interpretações quanto a poluição nos estuários. A tendência observada evidenciou que conforme o nível de urbanização aumenta, os limites dos parâmetros de qualidade do sedimento são ultrapassados (tabela 9). Alguns dos HPAs apresentaram concentrações preocupantes e sinalizam a necessidade da prevenção da contaminação: Dentre os HPAs de baixo peso molecular foram o Acenaphthylene e o Phenanthrene (ambos com 3 anéis), já dentre os de alto peso molecular foram Fluoranthene, Benzo[a]anthracene, Benzo[a]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene (com 4, 4, 5 e 5 anéis, respectivamente).

2.2.4.5 Biomassa da Nematofauna

A biomassa média variou de $78 \pm 16,77$ a $2.347 \pm 460,00$ μg de peso seco por 10 cm^{-2} , sendo encontrada a maior parte desta biomassa (68,53%) na área mais impactada por HPAs e urbanização, sistema estuarino do Rio Capibaribe (CES). Em contrapartida, a área com impacto

moderado apresentou valor inferior até mesmo ao registrado no estuário controle (15,28 e 19,38%, respectivamente). Diante disto, foram observadas diferenças significativas tanto entre a biomassa dos estuários (pseudo-F = 30,59; $p = 0,0001$), quanto na comparação aos pares ($p < 0,0001$).

Tabela 9. Avaliação da qualidade ambiental através dos limites propostos pelo Critérios para a Avaliação da Qualidade dos Sedimentos em Quebec (ECM, 2007). GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; REL, nível de efeito raro; TEL, nível de efeito limiar; OEL, nível de efeito ocasional; Q. anéis, quantidades de anéis; St, estações.

Q. anéis	HPAs	REL		TEL	OEL
		abaixo do REL	entre REL e TEL	entre TEL e OEL	
2	Naphthalene	Todas St	-	-	-
3	Acenaphthene	Todas St	-	-	-
3	Acenaphthylene	Demais St	-	-	CES: St 3
3	Fluorene	Todas St	-	-	-
3	Phenanthrene	Demais St	-	-	CES: St 3
3	Anthracene	Todas St	-	-	-
4	Fluoranthene	TES: St 2, 3	TES: St 1; CES: St 1,2	-	CES: St 3
4	Pyrene	TES: St 1, 2, 3	CES: St 1, 2, 3	-	-
4	Benzo[a]anthracene	TES: St 2, 3; CES: St 2	TES: St 1; CES: St 1	-	CES: St 3
4	Chrysene	TES: St 1, 2, 3; CES: St 2	CES: St 1, 3	-	-
5	Benzo[a]pyrene	TES: St 1, 2, 3	CES: St 1, 2	-	CES: St 3
5	Dibenz[a,h]anthracene	TES: St 2, 3	TES: St 1; CES: St 2	-	CES: St 1, 3

Os gêneros que mais contribuíram com a biomassa no presente estudo foram *Terschellingia* (21,8%), *Sabatieria* (15,9%), *Daptonema* (13,6%), juntos somaram 51,36% do total. Em nossa área controle (GES), os gêneros que se destacaram pela biomassa foram *Chromaspirina* e *Metadesmolaimus* (45,13%), já na área intermediária (TES) se destacaram *Daptonema* e *Terschellingia* (73,9%), enquanto que na área mais poluída foram *Terschellingia* e *Sabatieria* que apresentaram as maiores biomassas (53,91%).

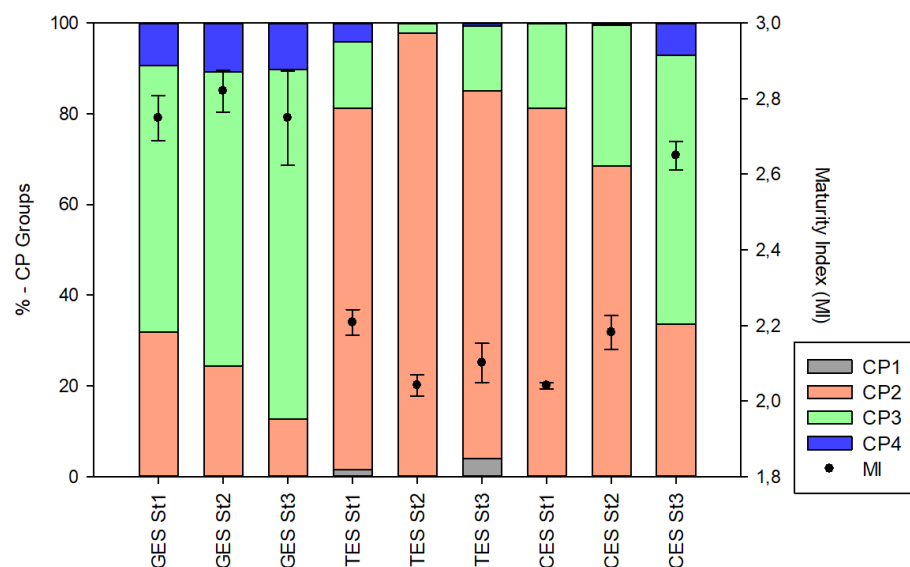
2.2.4.6 Grupos Tróficos (GT) e Estratégia de Vida (CP)

Assim como os organismos mais abundantes em Goiana se caracterizaram por serem sensíveis e com estruturas bucais mais complexas (CP-3; 2A e B, ver acima), os resultados obtidos através do SIMPER apontaram que *Chromaspirina* (CP-3; 2A), *Latronema* (CP-3; 2B) e *Axonolaimus* (CP-2; 1B) foram os gêneros que mais contribuíram (31,69%) com a similaridade dentro GES: 55,94%.

Por outro lado, os estuários urbanizados apresentaram predominância de organismos detritívoros (1A e B) e oportunistas (CP-2). O SIMPER revelou que *Daptonema* (CP-2; 1B), *Theristus* (CP-2; 1B) e *Terschellingia* (CP-2; 1A) foram os que mais contribuíram (80,26%) com a similaridade dentro de TES: 51,81%. Já em CES, os gêneros que mais contribuíram com a similaridade (59,46%) foram *Terschellingia* (CP-2; 1A), *Sabatieria* (CP-2; 1B) e *Metadesmolaimus* (CP-3; 2B), que dentro deste estuário somou: 59,46%.

As médias do índice de maturidade (MI), gerado a partir das categorias de colonizador-persistentes, variaram de $2,04 \pm 0,01$ a $2,82 \pm 0,06$, sendo o maior valor registrado na estação 2 em GES, seguida de suas estações 1 e 3 ($2,75 \pm 0,06$ e $2,75 \pm 0,12$, respectivamente) (figura 4). Em contrapartida as estações 1 de CES e 2 de TES, apresentaram os mais baixos MI ($2,04 \pm 0,01$ e $2,04 \pm 0,03$, respectivamente). A partir disto, foram observadas diferenças significativas tanto entre os estuários (pseudo-F = 114,68; $p = 0,0001$), quanto suas estações ($P < 0,0001$).

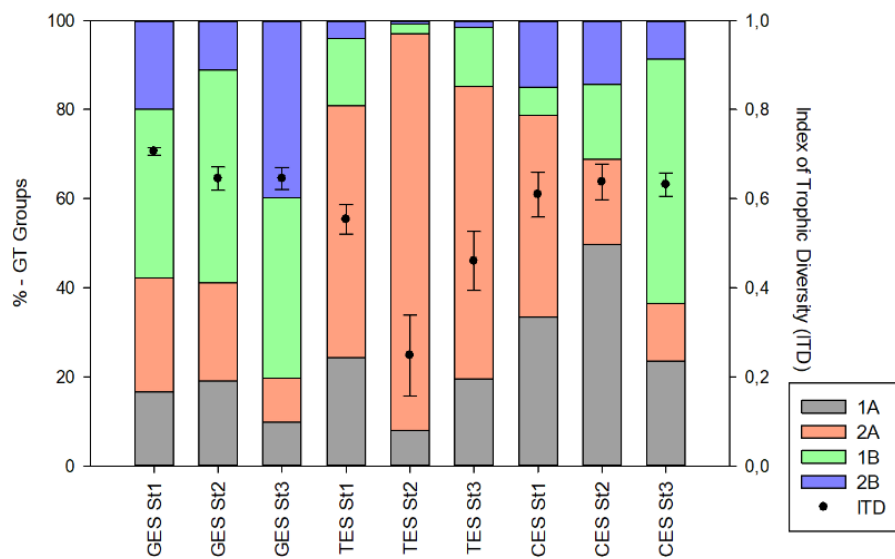
Figura 4. Porcentagem de contribuição de diferentes Grupos de colonizador-persistentes (% CP) e Índice de Maturidade (MI $\pm$ SE (erro padrão)) em cada estação dos estuários amostrados. Eixo da esquerda: % - CP, eixo da direita: MI $\pm$ SE; GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St, estações.



Já médias do índice de diversidade trófica (ITD), gerado a partir grupos tróficos (GT), variaram de $0,25 \pm 0,09$ na estação 2 de TES a $0,71 \pm 0,01$ na estação 1 de GES. Assim como no índice anterior, as maiores médias foram observadas nas três estações de GES, seguido dos valores registrados nas três estações de CES e TES, respectivamente (figura 5). Os valores

destes índices diferiram significativamente entre os estuários (pseudo-F = 23,954; $p = 0,0001$), sendo TES a área com valores significativamente mais baixos em comparação com os demais ($P < 0,0003$).

Figura 5. Porcentagem de contribuição de diferentes Grupos Tróficos GTs (% GT) e Índice de Diversidade Trófica (ITD $\pm$ SE (erro padrão)) em cada estação dos estuários amostrados. Eixo da esquerda: % - GT, eixo da direita: ITD $\pm$ SE. Os valores do Índice de diversidade trófica (ITD) estão representados com de forma inversa, ou seja, seus valores foram subtraídos de 1 ($1 - \text{valor do ITD}$), assim o valor mais alto representa maior diversidade trófica. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe; St, estações.



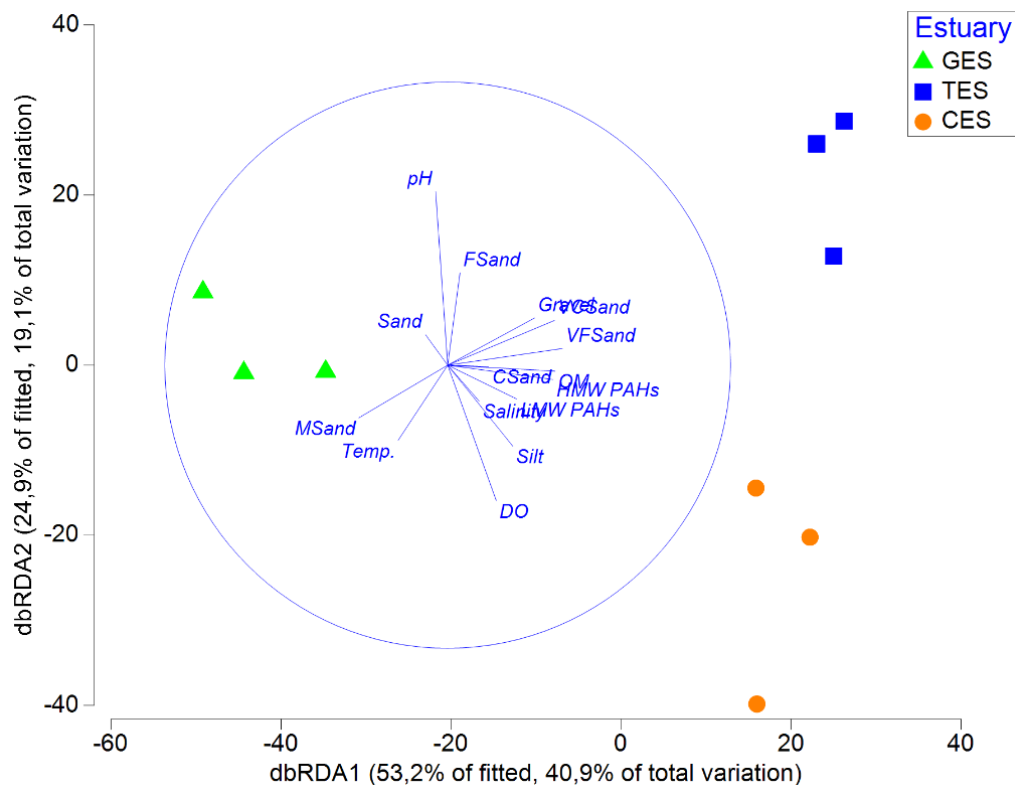
2.2.4.7 Correlação entre a nematofauna e as variáveis ambientais

Os dados abióticos explicaram 76,88% da variação da nematofauna nos estuários (DISTLM – Best). Os dados ambientais que mais se destacaram foram: os HPAs de alto peso molecular (HMW HPAs), seguido de pH e MO, juntos explicam 50,93% da distribuição da comunidade. Apenas a areia grossa ($p = 24,89\%$) e salinidade ($p = 0,6$) não influenciaram a distribuição dos organismos (tabela 10). Foi observada, a partir do dbRDA, uma clara separação entre os estuários, com os HMW HPAs agrupando as áreas mais urbanizadas e poluídas (eixo 1), além de CES ter se isolado por apresentar pH mais ácido (eixo 2) (figura 6).

Tabela 10. Variáveis ambientais selecionadas pela análise DistLM-BEST, por melhor correlacionar com a fauna estuarina. O procedimento BEST foi utilizado em matrizes de similaridade baseadas na densidade dos Nematódeos. RSS, soma quadrada residual; No. Vars, número de variáveis; HMW HPAs, HPAs de alto peso molecular; MO, matéria orgânica; Temp., temperatura; OD, oxigênio dissolvido; VCSand, areia muito grossa; VFSand, areia muito fina; Csand, areia grossa; Sand, areia; Msand, areia média; Fsand, areia fina; Silte, silte-argila.

R ²	RSS	No. Vars	Variable Selection
0,33312	55073	1	HMW HPAs
0,50927	40526	2	pH; MO
0,61234	32015	3	pH; MO; Temp.
0,66341	27797	4	OD; pH; MO; VCSand
0,70519	24347	5	OD; pH; MO; VCSand; VFSand
0,73797	21640	6	Salinidade; OD; pH; MO; VCSand; VFSand
0,76272	19596	7	Salinidade; OD; pH; MO; VCSand; Csand; VFSand
0,76879	19094	8	Salinidade; OD; pH; Sand; VCSand; Msand; Fsand; Silte

Figura 6. Análise de redundância baseada em distância (dbRDA), correlação entre a assembleia de nematoides e dados ambientais, incluindo HPAs de alto e baixo peso molecular. Tamanho e direção dos vetores representam o nível de correlação. GES, sistema estuarino de Goiana; TES, sistema estuarino de Timbó; CES, sistema estuarino do Capibaribe.



2.2.5 Discussão

2.2.5.1 Oscilação da funcionalidade da nematofauna nos estuários com diferentes níveis de urbanização

Ambientes estuarinos, muitas vezes, sofrem com as inúmeras fontes de poluição crônica resultante da urbanização que os rodeia. Os efeitos da urbanização podem ser identificados nas características físicas e químicas do sedimento estuarino, além da fauna que o compõe. A descrição da nematofauna, baseada em atributos funcionais dos gêneros, assim como sua variação espacial em detrimento dos dados ambientais, possibilitaram o entendimento das respostas ecológicas do ambiente frente ao impacto antrópico crônico (Alves et al., 2013; Egres et al., 2019).

A fragilidade do ecossistema é evidenciada com a redução da diversidade com o aumento da urbanização e, conseqüentemente, os serviços ecossistêmicos que estes organismos exercem. Como observado, o impacto das altas concentrações de HPAs e matéria orgânica nos estuários urbanizados estiveram diretamente relacionados às dominâncias de organismos colonizadores. A dominância de nematódeos com características de oportunistas, ou seja, CP-1 e CP-2 nos estuários mais urbanos (TES – 85,01; CES – 63,95%) denuncia a instabilidade desses ambientes (Bongers et al., 1991) e coincide com relatos da literatura (Alves et al., 2015; Essink & Romeyn, 1994).

Por sua vez, a área menos perturbada foi dominada por organismos com estratégia de vida persistente, revelando que o estuário de referência exibe menor nível de estresse (Bongers et al., 1991). O índice de maturidade (IM), medido a partir das cinco classes de colonizador-persistentes presentes no ambiente (Bongers & Bongers, 1998), é comumente utilizado para avaliação do ambiente (Balsamo et al., 2012; Moreno et al., 2011; Semprucci et al., 2014). O valor mais alto deste índice na área de referência significa, entre outras coisas, que este ambiente apresenta maior qualidade ambiental (Bongers et al., 1991; Semprucci et al., 2016).

A estrutura trófica da nematofauna presente em GES foi predominantemente de alimentadores de epistrato e onívoros/predadores, respectivamente. Por se tratar de um estuário de águas rasas, possivelmente os organismos raspadores (2A) se beneficiam da biomassa primária gerada por organismos fotossintetizantes (Zeppilli & Danovaro, 2009). Aparentemente, as três estações de GES possuem recursos orgânicos (i.e. organismos simbiotróficos, nematódeos de tamanhos mais reduzidos) suficiente para a manutenção dos organismos onívoros/predadores (Baldrighi et al., 2019). Em TES e CES, a dominância de

organismos detritívoros está de acordo com o impacto crônicos causado por ações humanas, como é o caso do enriquecimento orgânico. Dito isto, vale ressaltar que alguns dos organismos dominantes nos estuários mais poluídos (i.e.: *Terschellingia* e *Sabatieria*), são indicadores de estresse por hipóxia causado pelo acúmulo de matéria orgânica em ambientes urbanizados (Steyaert et al., 2007). Com isto é possível apontar que a presença dos HPAs, principalmente os de alto peso molecular, leva a prevalência de organismos oportunistas (CP 2) e detritívoros (1A e 1B).

2.2.5.2 Tipos de HPAs e suas possíveis origens nos três estuários

A presença de HPAs de alto peso molecular, a acidificação e as altas concentrações de matéria orgânica no sedimento foram as características que mais influenciaram a nematofauna. Comumente, estas características são associadas à influência humana sobre ambientes estuarinos, já que são agravadas por lançamento de esgotos sem tratamento (Gallert & Winter, 2005; Medeiros & Caruso Bicego, 2004), resíduos da queima de material vegetal (Arruda-Santos et al., 2022), resíduos industriais e substâncias que são escoadas pelas águas da chuva (Menzie et al., 2002). Concentrações individuais de: Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Benzo[ghi]perylene, Pyrene são comumente associadas ao escapamento de automóveis (Stogiannidis & Laane, 2015); a queima de biomassa vegetal como palha de arroz, feijão ou cana-de-açúcar (Arruda-santos et al., 2018; Ravindra et al., 2008); já na queima de madeira os HPAs HMW dominantes são Fluoranthene, Pyrene, Benzo[a]anthracene, Chrysene e Benzo[a]pyrene (Guillon et al., 2013).

A partir disto, pode-se afirmar que traços de HMW HPAs encontrados nos estuários urbanizados são fortes indícios da influência humana nestes ecossistemas. Pois ambos os estuários além de apresentarem HPAs citados acima (Indeno[1,2,3-cd]pyrene, Benzo[ghi]perylene), possuem grande quantidade de veículos, sendo 717.619 na cidade que rodeia CES e 171.088 na que rodeia TES, o que representa 22,8 e 5,4 vezes a quantidade de veículos registrados em GES, respectivamente (IBGE, 2021). O lançamento de esgoto sem tratamento já foi noticiado nos estuários urbanizados (Noronha et al., 2011; Valença & Santos, 2012); e em CES foram encontrados HPAs oriundos da queima da palha de Cana-de-açúcar (Collier et al., 2019; Messias et al., 2020).

Os HPAs de alto peso molecular são encontrados próximos de suas fontes, pois não são facilmente transportados em comparação com os de baixo peso molecular (Yunker et al., 2002). Encontrar estes HPAs nos estuários urbanizados é um registro perene da entrada de HPAs

HMW, pois com o aumento do número de anéis e a incorporação destes compostos ao sedimento há uma considerável redução na biodegradação e/ou evaporação destes compostos (Stout et al., 2001b).

Os HPAs registrados em GES (Phenanthrene, 2-Methylnaphthalene, Fluorene) foram encontrados apenas em uma estação, apresentaram baixas concentrações e baixo peso molecular (HPAs LMW). Este fato indica fortemente a ausência de poluição por fonte pirogênica neste estuário, apesar de Phenanthrene ser um HPA comum em fontes pirogênicas (Page et al., 1999), a ausência de Fluoranthene e Pyrene junto ao Phenanthrene reforça a inexistência destas fontes em GES (Morillo et al., 2008). Sobretudo, a ausência de Indeno[1,2,3-cd]pyrene no sedimento indica que nenhum dos HPAs surgiram através de pirólise (De Luca et al., 2004). Ademais, estudos anteriores revelaram que as concentrações de GES são baixas a ponto de não causarem risco à fauna (Arruda-santos et al., 2018; da Silva et al., 2022).

2.2.5.3 Qualidade do sedimento nos estuários com diferentes níveis de urbanização

Embora há muito os índices de diversidade sejam utilizados para a avaliação da qualidade do ambiente, desde as indicações feitas nos estudos de Moreno et al. (2011) e Semprucci et al. (2014) o índice de qualidade ambiental (EcoQ) vem sendo usado como ferramenta para avaliar o ambiente através de Nematódeos. Este índice, basicamente compila os seguintes dados: diversidade ambiental (índice de Shannon), estratégia de vida (CP), a presença de gêneros mais/menos sensíveis, características do ambiente (MO e poluição por HPAs), índice de diversidade trófica (ITD) e maturidade (IM), para que através deles atribuir um valor de qualidade para o ambiente que está sendo testado (Moreno et al., 2011).

O EcoQ é uma ferramenta boa para a avaliação do ambiente, desde que haja alguns cuidados quando for utilizado. Dentre os cuidados, vale ressaltar o detalhamento do tipo de ambiente que se está trabalhando (i.e: praia, estuário, mar profundo) e os parâmetros abióticos das áreas (i.e. matéria orgânica, perfil sedimentar, concentração de poluentes). A partir disto, os resultados do EcoQ não serão necessariamente definitivos ou unânimes na comparação entre áreas, mas avaliados e discutidos com base em dados comumente usados em estudos ecológicos com nematofauna. Tais dados incluem funcionalidade, diversidade e correlação dos parâmetros abióticos com a comunidade.

Alguns dos parâmetros do EcoQ possuem limites muito extremos/altos e dificilmente vistos em ambientes naturais, como é o caso do ITD, que para classificar o ambiente com

qualidade "Alta" este precisa apresentar ITD de 0,25 (Moreno et al., 2011), ou seja, um equilíbrio perfeito na distribuição dos grupos tróficos. A mudança nos limites deste parâmetro pode ser sutil, como: *Alto*, $0,25 < ITD < 0,35$; *Bom*, $0,35 < ITD < 0,5$; *Moderado*, $0,5 < ITD < 0,65$; *Pobre*, $0,65 < ITD < 0,8$; e *Ruim*, $< 0,8$. Esta mudança elucidaria a questão dos limites extremos, tanto para determinar o EcoQ *Alto* quanto para o *Ruim*. Além disto, a avaliação da poluição de HPAs é feita conforme as Diretrizes de Qualidade de Sedimentos (SQG: ERL–ERM) (Long & Morgan, 1990; Menviq, 1992), no entanto estes limites são conservadores e podem concluir que uma área possui qualidade *Alta* (ECM, 2007), ainda que possua concentrações de HPAs suficientes para causar prejuízo à Nematofauna.

2.2.6 Conclusão

Os estuários mostraram-se heterogêneos com relação à composição da Meiofauna e da comunidade de Nematódeos, além de apresentarem alguns padrões que sugerem efeitos diretos da poluição sobre a distribuição dos organismos nos estuários. No estuário menos urbanizado, além de apresentar maior riqueza de gêneros da Nematofauna, a grande maioria dos organismos dos gêneros em GES foram exclusivos e classificados como raros e persistentes. Já nas áreas mais urbanizadas, TES e CES, houve um severo decréscimo tanto na riqueza, quanto nos gêneros exclusivos, conseqüentemente reduziu a diversidade (H) e maturidade (IM) destes ambientes.

Como esperado, os HPAs de alto peso molecular foi a variável que mais afetou a assembleia da Nematofauna, seguido da matéria orgânica e grande variação da acidez das águas estuarinas. A partir do perfil dos HPAs, foi possível concluir que chegam até o sedimento devido as influências antrópicas, a maioria destes compostos são pirogênicos e algumas concentrações possibilitaram o entendimento de suas possíveis fontes.

Com relação ao EcoQ, para a presente pesquisa, esta ferramenta conseguiu distinguir os ambientes, tendo como resultado qualidade “Boa” para o estuário menos urbanizado, enquanto de “Pobre” para os estuários com média e alta urbanização. Apesar deste resultado coincidir com o que foi apresentado pelos índices de diversidade e funcionalidade, as considerações com relação ao limite utilizado para o ITD e qual literatura seguir para classificar os HPAs, podem elucidar possíveis lacunas e favorecer a interpretação dos resultados. A Nematofauna se provou como ferramentas adequadas para avaliação da qualidade ambiental, devido às notórias alterações na distribuição, a diversidade e funcionalidade da assembleia da Nematofauna frente aos diferentes níveis de urbanização e, conseqüentemente, poluição por HPAs.

3 CONCLUSÃO GERAL

Através da presente pesquisa, foi possível evidenciar como as características ambientais e poluição por HPAs afetaram a distribuição dos organismos intersticiais estudados, ou seja, os grupos da meiofauna e a assembleia de nematódeos. Estes organismos se mostraram sensíveis aos HPAs, com isto os índices de diversidade diminuíram ao passo que o estuário se localizava em áreas mais urbanizadas, o que esteve diretamente associado ao aumento da poluição por HPAs. A área mais urbanizada, além de ter apresentado maiores concentrações de HPAs, apresentaram também características ambientais que favoreceram a deposição e acúmulo destes componentes. Dentre estas características estão o alto enriquecimento orgânico e as altas densidade sedimento fino, pois se associam mais facilmente a estes poluentes orgânicos. Ao avaliar o status de qualidade ambiental (EcoQ) como ferramenta análise ecológica, foram identificadas algumas lacunas, tanto para a avaliação da meiofauna quanto da nematofauna. Dentre as principais problemáticas detectadas estão a necessidade da incorporação da equitabilidade na avaliação da meiofauna, já para a nematofauna os questionamentos são com relação aos limites conservadores utilizados para classificar alguns parâmetros testados, dentre eles a poluição por HPAs. De forma geral, a meiofauna, assim como a nematofauna se comportaram como boas ferramentas para aferir a os impactos ambientais nos estuários estudados. Contudo, vale ressaltar que mais estudos precisam ser feitos para solucionar as problemáticas com relação a utilização do EcoQ, assim como os impactos de que os HPAs causam no ambiente como um todo.

4 REFERÊNCIAS

- Abdel-Shafy, H.I., Mansour, M.S.M., 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egypt. J. Pet.* 25, 107–123.
- Adams, A.J., Dahlgren, C.P., Kellison, G.T., Kendall, M.S., Layman, C.A., Ley, J.A., Nagelkerken, I., Serafy, J.E., 2006. Nursery function of tropical back-reef systems. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 318, 287–301. <https://doi.org/10.3354/meps318287>
- Alves, A.S., Adão, H., Ferrero, T.J., Marques, J.C., Costa, M.J., Patrício, J., 2013. Benthic meiofauna as indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: The use of nematodes in ecological quality assessment. *Ecol. Indic.* 24, 462–475. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2012.07.013>
- Alves, A.S., Caetano, A., Costa, J.L., Costa, M.J., Marques, J.C., 2015. Estuarine intertidal meiofauna and nematode communities as indicator of ecosystem's recovery following mitigation measures. *Ecol. Indic.* 54, 184–196.
- Anderson, M., Gorley, R.N., Clarke, R.K., 2008. *Permanova+ for primer: Guide to software and statistical methods*. Primer-E Limited.
- Arruda-santos, R.H. De, Augusto, C., Schettini, F., Yogui, G.T., Maciel, D.C., Zanardi-lamardo, E., 2018. Science of the Total Environment Sources and distribution of aromatic hydrocarbons in a tropical marine protected area estuary under influence of sugarcane cultivation. *Sci. Total Environ.* 624, 935–944. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.12.174>
- Arruda-Santos, R.H., da Costa, B.V.M., de Carvalho, P.S.M., Zanardi-Lamardo, E., 2022. Sewage contamination assessment in an urbanized tropical estuary in Northeast Brazil using elemental, isotopic and molecular proxies. *Environ. Pollut.* 120726.
- Baldrighi, E., Semprucci, F., Franzo, A., Cvitkovic, I., Bogner, D., Despalatovic, M., Berto, D., Malgorzata, M., Scarpato, A., Frapiccini, E., Marini, M., Grego, M., 2019. Meiofaunal communities in four Adriatic ports: Baseline data for risk assessment in ballast water management. *Mar. Pollut. Bull.* 147, 171–184. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.056>
- Balsamo, M., Semprucci, F., Frontalini, F., Coccioni, R., 2012. Meiofauna as a Tool for Marine Ecosystem Biomonitoring. *Mar. Ecosyst.* <https://doi.org/10.5772/34423>
- Bodin, P., 1977. Les peuplements de Copépodes Harpacticoïdes (Crustacea) des sédiments meubles de la zone intertidale des côtes Charentaises (Atlantique).
- Boehm, P.D., 2005. Ch. 15 Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) In Morrison RD & Murphy BL. *Environ. Forensics Contam. Specif. Guid.* Pergamon Press Ltd 10.
- Bongers, T., 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83, 14–19. <https://doi.org/10.1007/BF00324627>
- Bongers, T., Alkemade, R., Yeates, G.W., 1991. Interpretation of disturbance-induced maturity decrease in marine nematode assemblages by means of the Maturity Index. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 76, 135–142. <https://doi.org/10.3354/meps076135>
- Bongers, T., Bongers, M., 1998. Functional diversity of nematodes. *Appl. Soil Ecol.* 10 239–

- Boonyatumanond, R., Wattayakorn, G., Togo, A., Takada, H., 2006. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand. *Mar. Pollut. Bull.* 52, 942–956.
- Cai, M., Li, K., 2011. Economic losses from marine pollution adjacent to pearl river estuary, China. *Procedia Eng.* 18, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.11.008>
- CCME. 1995. Protocol for the Derivation of Canadian Sediment Quality Guidelines for the Protection of Aquatic Life. CCME EPC-98E. Prepared by Environment Canada, Guidelines Division, Technical Secretariat of the CCME Task Group on Water Quality Guidelines, Ottawa. (Reprinted in Chapter 6 of the Canadian Environmental Quality Guidelines).
- CCME. 1999, and updates in 2001, 2002, 2003 and 2004. Canadian Environmental Quality Guidelines. Winnipeg, Manitoba.
- Chen, C., 2018. An approach based on nematode descriptors for the classification of ecological quality (EcoQ) of the Malaysian coasts 117–126.
- Collier, C.A., de Almeida Neto, M.S., de Almeida, G.M.A., Rosa Filho, J.S., Severi, W., El-Deir, A.C.A., 2019. Effects of anthropic actions and forest areas on a neotropical aquatic ecosystem. *Sci. Total Environ.* 691, 367–377.
- Courrat, A., Lobry, J., Nicolas, D., Laffargue, P., Amara, R., Lepage, M., Girardin, M., Le Pape, O., 2009. Anthropogenic disturbance on nursery function of estuarine areas for marine species. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 81, 179–190. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.10.017>
- CPRH. 2005. CPRH state agency for the environment and water resources, report on the hydrographic basins, Recife. (accessed 14 December 2016).
- da Silva, R.B., Dos Santos, G.A.P., de Farias, A.L.L., França, D.A.A., Cavalcante, R.A., Zanardi-Lamardo, E., de Souza, J.R.B., Esteves, A.M., 2022. Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of urbanization in the South Atlantic. *PeerJ* 10, e14407.
- Danovaro, R., 2009. Methods for the study of deep-sea sediments, their functioning and biodiversity. CRC press.
- Danovaro, R., Gambi, C., Mirto, S., Sandulli, R., Ceccherelli, V.U., 2004. Meiofauna. *Biol. Mar. Mediterr.* 10.
- De Luca, G., Furesi, A., Leardi, R., Micera, G., Panzanelli, A., Piu, P.C., Sanna, G., 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons assessment in the sediments of the Porto Torres Harbor (Northern Sardinia, Italy). *Mar. Chem.* 86, 15–32.
- Domínguez, C., Sarkar, S.K., Bhattacharya, A., Chatterjee, M., Bhattacharya, B.D., Jover, E., Albaigés, J., Bayona, J.M., Alam, M.A., Satpathy, K.K., 2010. Quantification and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in core sediments from Sundarban mangrove Wetland, India. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 59, 49–61. <https://doi.org/10.1007/s00244-009-9444-2>
- ECM, 2007. Criteria for the Assessment of Sediment Quality in Quebec and Application.
- Egres, A.G., Hatje, V., Miranda, D.A., Gallucci, F., Barros, F., 2019. Functional response of tropical estuarine benthic assemblages to perturbation by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Ecol. Indic.* 96, 229–240.

- Essink, K., Romeyn, K., 1994. Estuarine nematodes as indicators of organic pollution; an example from the Ems estuary (The Netherlands). *Netherl. J. Aquat. Ecol.* 28, 213–219.
- Freeman, L.A., Corbett, D.R., Fitzgerald, A.M., Lemley, D.A., Quigg, A., Steppe, C.N., 2019. Impacts of urbanization and development on estuarine ecosystems and water quality. *Estuaries and Coasts* 42, 1821–1838.
- Gallert, C., Winter, J., 2005. Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems, in: *Environmental Biotechnology*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, FRG, pp. 1–48. <https://doi.org/10.1002/3527604286.ch1>
- Giere, O., 2009. *Meiobenthology, the Microscopic Fauna in Aquatic Sediments*. ed .Springer-Verlag . 2nd.
- Gorley, A.M., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods. Prim. Plymouth, UK.
- Guillon, A., Le Ménach, K., Flaud, P.-M., Marchand, N., Budzinski, H., Villenave, E., 2013. Chemical characterization and stable carbon isotopic composition of particulate Polycyclic Aromatic Hydrocarbons issued from combustion of 10 Mediterranean woods. *Atmos. Chem. Phys.* 13, 2703–2719.
- Gyedu-Ababio, T.K., Baird, D., 2006. Response of meiofauna and nematode communities to increased levels of contaminants in a laboratory microcosm experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 63, 443–450.
- Higgins, R.P., Thiel, H., 1988. *Introduction to the study of meiofauna*. Smithson. Inst. Press.
- IBGE. 2020. vehicle fleet. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (accessed 26 December 2022). <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/pesquisa/22/28120>.
- Inglis, G.J., Kross, J.E., 2000. Evidence for systemic changes in the benthic fauna of tropical estuaries as a result of urbanization. *Mar. Pollut. Bull.* 41, 367–376.
- Keith, L.H., 2015. The Source of U.S. EPA’s Sixteen PAH Priority Pollutants. *Polycycl. Aromat. Compd.* 35, 147–160. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.892886>
- Long, E.R., MacDonald, D.D., Smith, S.L., Calder, F.D., 1995. Incidence of adverse biological effects within ranges of chemical concentrations in marine and estuarine sediments. *Environ. Manage.* 19, 81–97.
- Long, E.R., Morgan, L.G., 1990. Potential for biological effects of sediment-sorbed contaminants tested in the National Status and Trends program. Technical memo. National Ocean Service, Rockville, MD (United States). Office of Oceanography and Marine Assessment.
- Macdonald, D.D., Carr, R.S., Calder, F.D., Long, E.R., Ingersoll, C.G., 1996. Development and evaluation of sediment quality guidelines for Florida coastal waters. *Ecotoxicology* 5, 253–278.
- Macdonald, D.D., Ingersoll, C.G., Berger, T.A., 2000. Development and evaluation of consensus-based sediment quality guidelines for freshwater ecosystems. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 39, 20–31.
- Macedo, S.J. de, da Silva, H.K.P., Brayner, F.M.M., Duarte, M., Barbosa, A.M. de F., 2007. Heavy metal concentrations in sediments of the Capibaribe river estuary in the Metropolitan Region of Recife, Pernambuco-Brazil. *WIT Trans. Ecol. Environ.* 102.

- Maciel, D.C., Castro, Í.B., de Souza, J.R.B., Yogui, G.T., Fillmann, G., Zanardi-Lamardo, E., 2018. Assessment of organotins and imposex in two estuaries of the northeastern Brazilian coast. *Mar. Pollut. Bull.* 126, 473–478.
- Maciel, D.C., de Souza, J.R.B., Taniguchi, S., Bícigo, M.C., Zanardi-Lamardo, E., 2015. Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in a an urbanized tropical estuary and adjacent shelf, Northeast of Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 101, 429–433.
- Maciel, D.C., Souza, J.R.B. de, Taniguchi, S., Bícigo, M., Schettini, C.A.F., Zanardi-Lamardo, E., 2016. Hydrocarbons in sediments along a tropical estuary-shelf transition area : Sources and spatial distribution. *MPB* 113, 566–571. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.08.048>
- Medeiros, P.M., Caruso Bícigo, M., 2004. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP - Brazil. *Mar. Pollut. Bull.* 49, 761–769. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.06.001>
- Menviq, E.C., 1992. Interim criteria for quality assessment of St. Lawrence River sediment.
- Menzie, C.A., Hoeppepner, S.S., Cura, J.J., Freshman, J.S., LaFrey, E.N., 2002. Urban and suburban storm water runoff as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) to Massachusetts estuarine and coastal environments. *Estuaries* 25, 165–176.
- Messias, A.S., Paiva, S.C., Morais, O.C., 2020. Water Quality of the Capibaribe River, Municipality of Recife, State of Pernambuco, Brazil: A Case Study. *Int. J. Res. Stud. Sci. Eng. Technol.* Volume 7, 37–43.
- Moens, T., Braeckman, U., Derycke, S., Fonseca, G., Gallucci, F., Gingold, R., Guilini, K., Ingels, J., Leduc, D., Vanaverbeke, J., 2014. Ecology of free-living marine nematodes. *Nematoda* 2, 109–152.
- Moreno, M., Semprucci, F., Vezzulli, L., Balsamo, M., Fabiano, M., Albertelli, G., 2011. The use of nematodes in assessing ecological quality status in the Mediterranean coastal ecosystems. *Ecol. Indic.* 11, 328–336. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2010.05.011>
- Morillo, E., Romero, A.S., Madrid, L., Villaverde, J., Maqueda, C., 2008. Characterization and sources of PAHs and potentially toxic metals in urban environments of Sevilla (Southern Spain). *Water. Air. Soil Pollut.* 187, 41–51.
- Nemys: World Database of Nematodes. Accessed at <https://nemys.ugent.be> on 2023-03-11. doi:10.14284/366
- Noronha, T.J.M. de, Silva, H.K.P. da, Duarte, M.M.M.B., 2011. Avaliação Das Concentrações De Metais Pesados Em Sedimentos Do Estuário Do Rio Timbó, Pernambuco-Brasil. *Avaliação Das Conc. Met. Pesados Em Sedimentos Do Estuário Do Rio Timbó, Pernambuco-Brasil* 44, 70–82. <https://doi.org/10.32360/acmar.v44i2.164>
- Nunes de Souza, J.V., Vieira, M.L.M., De Assis, J.E., Zanardi-Lamardo, E., Gomes, P.B., de Souza, J.R.B., 2021. Responses of functional traits of macrobenthic communities on the presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons contamination in three tropical estuaries. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 250, 107105.
- Page, D.S., Boehm, P.D., Douglas, G.S., Bence, A.E., Burns, W.A., Mankiewicz, P.J., 1999. Pyrogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments record past human activity: a case study in Prince William Sound, Alaska. *Mar. Pollut. Bull.* 38, 247–260.

- Patrício, J., Adão, H., Neto, J.M., Alves, A.S., Traunspurger, W., Marques, J.C., 2012. Do nematode and macrofauna assemblages provide similar ecological assessment information? *Ecol. Indic.* 14, 124–137.
- Platt, H.M. and Warwick, R.M., 1988. Freelifving marine nematodes: Part II. British Chromadorida. Synopses of the British Fauna No. 38. E.J. Brill, Dr. W. Backhuys for the Linnean Society of London and the Estuarine and Brackish-water Sciences Associatio.
- Ravindra, K., Sokhi, R., Van Grieken, R., 2008. Atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: source attribution, emission factors and regulation. *Atmos. Environ.* 42, 2895–2921.
- Schratzberger, M., Ingels, J., 2018. Meiofauna matters: The roles of meiofauna in benthic ecosystems. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 502, 12–25. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.01.007>
- Semprucci, F., Balsamo, M., Frontalini, F., 2014. The nematode assemblage of a coastal lagoon (Lake Varano, southern Italy): ecology and biodiversity patterns. *Sci. Mar.* 78, 579–588.
- Semprucci, F., Balsamo, M., Sandulli, R., 2016. Assessment of the ecological quality (EcoQ) of the Venice lagoon using the structure and biodiversity of the meiofaunal assemblages. *Ecol. Indic.* 67, 451–457. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.03.014>
- Sese, B.T., Grant, A., Reid, B.J., 2009. Toxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons to the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J. Toxicol. Environ. Heal. Part A* 72, 1168–1180.
- Steyaert, M., Moodley, L., Nadong, T., Moens, T., Soetaert, K., Vincx, M., 2007. Responses of intertidal nematodes to short-term anoxic events. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 345, 175–184.
- Stogiannidis, E.; Laane, R.W.P.M., 2015. Source Characterization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Using Their Molecular Indices: An Overview of Possibilities. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 49–133.
- Stout, S.A., Uhler, A.D., Boehm, P.D., 2001. Recognition of and allocation among multiple sources of PAH in urban sediments. *Environ. Claims J.* 13, 141–158.
- Suguio, K., 1973. Introdução à sedimentologia.
- Valença, A.P.M.C., Santos, P.J.P., 2012. Macrobenthic community for assessment of estuarine health in tropical areas (Northeast, Brazil): Review of macrofauna classification in ecological groups and application of AZTI Marine Biotic Index 64, 1809–1820. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2012.06.003>
- Wasserman, R.J., Strydom, N.A., 2011. The importance of estuary head waters as nursery areas for young estuary-and marine-spawned fishes in temperate South Africa. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 94, 56–67.
- Wieser, W., 1953. On the structure of the cyst wall in four species of Heterodera Schmidt. *Medd. / Statens Vaextskyddsanstalt = Contrib. / Natl. Swedish Inst. Plant Prot.* 15.
- Wisser, W., 1953. Die Beziehungen zwischen Mundhohlengestalt, Ernährungsweise und Vorkommen beifreilebenden marinen Nematoden. *Ark. Zool.* 4, 439–484.
- Yunker, M.B., Macdonald, R.W., Vingarzan, R., Mitchell, R.H., Goyette, D., Sylvestre, S., 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Org. Geochem.* 33, 489–515.

- Zakaria, M.P., Takada, H., Tsutsumi, S., Ohno, K., Yamada, J., Kouno, E., Kumata, H., 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. *Environ. Sci. Technol.* 36, 1907–1918.
- Zeppilli, D., Danovaro, R., 2009. Meiofaunal diversity and assemblage structure in a shallow-water hydrothermal vent in the Pacific Ocean. *Aquat. Biol.* 5, 75–84.
- Zhang, D., Wang, J.-J., Ni, H.-G., Zeng, H., 2017. Spatial-temporal and multi-media variations of polycyclic aromatic hydrocarbons in a highly urbanized river from South China. *Sci. Total Environ.* 581, 621–628.

5 APÊNDICE A:

MANUSCRITO 1 e INFORMAÇÕES SUPLEMENTARES

Título: Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of urbanization in the South Atlantic

Dados brutos disponíveis em: <https://peerj.com/articles/14407/>

Effects of PAHs on meiofauna from three estuaries with different levels of urbanization in the South Atlantic

Renan B. da Silva^{1,*}, Giovanni A. P. Dos Santos^{1,*}, Ana Luiza L. de Farias¹, Débora A. A. França¹, Raianne Amorim Cavalcante¹, Eliete Zanardi-Lamardo², Jose Roberto Botelho de Souza¹ and Andre M. Esteves¹

¹ Campus Recife, Center for Biosciences, Department of Zoology, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

² Campus Recife, Technology and Geoscience Center, Department of Oceanography, Federal University of Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil

* These authors contributed equally to this work.

ABSTRACT

Estuarine environments are suggested to be the final receivers of human pollution and are impacted by surrounding urbanization and compounds carried by the river waters that flow from the continent. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are among the contaminants that can reach estuaries and can directly affect marine conservation, being considered highly deleterious to organisms living in these environments. This research investigated the meiofauna of three estuaries exposed to different levels of urbanization and consequently different levels of PAH concentrations, in order to assess how these compounds and environmental factors affect the distribution, structure and diversity of these interstitial invertebrates. A total of 15 major meiofauna groups were identified, with Nematoda being the dominant taxon (74.64%), followed by Copepoda (9.55%) and Polychaeta (8.56%). It was possible to observe significant differences in all diversity indices studied in the estuaries. With the exception of average density, the diversity indices (richness, Shannon index and evenness) were higher in the reference estuary, Goiana estuarine system (GES). On the other hand, the Timbó estuarine system (TES) had the lowest Shannon index value and richness, while the Capibaribe estuarine system (CES) had the lowest evenness value. The latter two estuaries (TES and CES) presented intermediate and high levels of urbanization, respectively. The ecological quality assessment (EcoQ) in the studied estuaries was classified from Poor to Moderate and the estuary with the lowest demographic density in its surroundings, GES, showed a better ecological quality (Moderate EcoQ). A significant distance-based multivariate linear modelling regression (DistLM) was observed between the environmental variables and the density of the meiobenthic community, where PAHs and pH were the main contributors to organism variation. The sediments were characterized by predominance of very fine sand and silt-clay in the most polluted environments, while the control site environment (GES) was dominated by medium grains. The highest concentrations of PAHs were found in the most urbanized estuaries, and directly affected the structure of the interstitial benthic community. The metrics used in the present study proved to be adequate for assessing the environmental quality of the investigated estuaries.

Submitted 13 July 2022
Accepted 26 October 2022
Published 2 December 2022

Corresponding author
Giovanni A. P. Dos Santos,
giopaiva@hotmail.com

Academic editor
Angelo Bernardino

Additional Information and
Declarations can be found on
page 17

DOI 10.7717/peerj.14407

© Copyright
2022 da Silva et al.

Distributed under
Creative Commons CC-BY 4.0

OPEN ACCESS

Subjects Conservation Biology

Keywords Tropical estuary, EcoQ, Pollution, Sediment quality, Ecological quality status

HIGHLIGHTS

1. Meiofauna proved to be a valuable ecological tool for the assessment of anthropic impacts in estuaries with different levels of urbanization and PAH pollution.
2. The evaluation of ecological quality (EcoQ) must be integrated with diversity indices, mainly equitability.
3. A gradient of PAH concentrations from less to more urbanized areas was observed.
4. Benzo[b]fluoranthene and anthracene were among the PAHs that most influenced meiofaunal composition.

INTRODUCTION

Estuaries are coastal ecosystems with broad environmental variation in salinity, pH and sediment granulometry. Although they are semi-enclosed ecosystems, estuaries are directly connected to the ocean and are influenced by continental drainage and evaporation (*Elliott & Whitfield, 2011*), as well as being influenced by alternating tides (*Jones et al., 2020*). Estuaries are recognized as natural nurseries (*Courrat et al., 2009*), and are also affected by urban expansion and regional processes, such as heat islands caused by the reduction of riparian vegetation, climatic factors, recent sedimentation and local hydrodynamics (*Cui, Zhang & Hua, 2021; Hoque et al., 2020; Scanes, Scanes & Ross, 2020*).

Although estuarine ecosystems are ecologically important and provide services for biological (*Adams et al., 2006*) and economic maintenance (*Cai & Li, 2011; Glaser, 2003*), their proximity to urban areas makes them vulnerable to the entry and chronic deposition of potentially toxic compounds (*Gabriel et al., 2020; Han et al., 2020; Wang et al., 2021*). Among the pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are cause for great environmental concern due to their potential toxicity to humans and animals (*Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Honda & Suzuki, 2020*). These organic compounds contaminate environments mainly as a result of the mishandling of petroleum-based derivatives (*Stogiannidis & Laane, 2015*). Highly industrialized and urbanized areas are more propitious to the release of these pollutants, since PAHs mainly reach coastal and estuarine environments through the release of effluents and untreated domestic sewage, as well as urban runoff (*Domínguez et al., 2010; Elmquist, Zencak & Gustafsson, 2007; Zakaria et al., 2002*). These multiple sources carry a mix of polycyclic aromatic hydrocarbons, which may accumulate in sediments and cause problems for the surrounding fauna, including mutagenic and carcinogenic effects due to their high toxicity levels (*Engraff et al., 2011; United States Environmental Protection Agency, 2018*).

According to their origin, PAHs are classified into two groups: petrogenic, *i.e.*, a direct introduction of petroleum derivatives (crude oil, fuels, lubricants) that flow into affluents and water bodies; or pyrolytic, *i.e.*, PAHs which arise from the partial burning of petroleum derivatives or even from natural organic matter. Both types have different characteristics in

terms of chemical composition and toxicity level (*Abdel-Shafy & Mansour, 2016; Zakaria et al., 2002*). Petrogenic sources are mainly comprised of 2–3 aromatic ring compounds and are less toxic, while pyrolytic processes are more toxic and greater molecular weights (4–6 ring-compounds) dominate (*Boehm, 2005*).

Contamination of estuaries with PAHs can potentially create disturbances in benthic assemblages, including the benthic meiofauna (*Schratzberger & Ingels, 2018*). It is important to highlight that the conservation of marine ecosystems may be achieved efficiently based on these tiny animals (*Balsamo et al., 2012*). Some studies suggest that investigating changes that occur in animals at the bottom of the food chain, rather than between more charismatic and larger animals, allows for a more efficient monitoring and timely conservation responses (*Ingels et al., 2021*). Meiobenthic organisms are widely used as indicators of ecological impacts and for biomonitoring, because (I) they share a close relationship with the sediment, (II) do not present larval dispersion and (III) are sensitive to environmental changes (*Hyland et al., 2005; Pusceddu et al., 2007*). In addition to diversity indices, the use of meiofauna allows for the application of the ecological quality status (EcoQ), an index widely used both in studies of open habitats (*Chen, 2018*) and semi-enclosed environments (*Semprucci, Balsamo & Sandulli, 2016*). PAHs are commonly found in areas impacted by oil residue, however there is ambiguity as to their deleterious effects on the benthic community, since reductions in richness with increases in abundance have been previously documented (*Baguley et al., 2015; Erstfeld & Snow-Ashbrook, 1999; Montagna et al., 2013; Zeppilli et al., 2015*). As such, in addition to evaluating the effects of total PAHs on meiofauna and their diversity indices, including EcoQ, we investigated the effects of each PAH concentration, individually.

The aim of the present study was to characterize the meiofaunal groups inhabiting three tropical estuaries with different levels of urbanization, and to relate taxon composition, richness and diversity to concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and environmental variables (pH, organic matter, dissolved oxygen, temperature, salinity and granulometry). Considering that meiofauna has been shown to be a good indicator of different global impacts and changes, the hypothesis is that (i) environmental variables and (ii) polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations significantly correlate with the spatial variation of meiofaunal structure.

MATERIALS AND METHODS

Study area

The studied areas were the tropical estuaries of Goiana, Timbó and Capibaribe rivers, located on the East coast of South America, Northeastern Brazil (*Fig. 1*). All of the study areas are urbanized to different degrees. The Goiana estuarine system (GES) is located at 7°32'43.2"S, 34°51'50.2"W. A study by the state environmental agency considered this estuary as poorly urbanized (*CPRH, 2005*), although it receives PAHs mainly from the burning of sugarcane straw (*Arruda-Santos et al., 2018*). Some studies performed in this area showed low PAH contamination (*Arruda-Santos et al., 2018*), and it was previously classified as undisturbed, using the biotic index (AMBI) (*Nunes de Souza et al., 2021*). The Timbó estuarine system (TES) is located at 7°53'45.8"S, 34°51'35.9"W, and has an

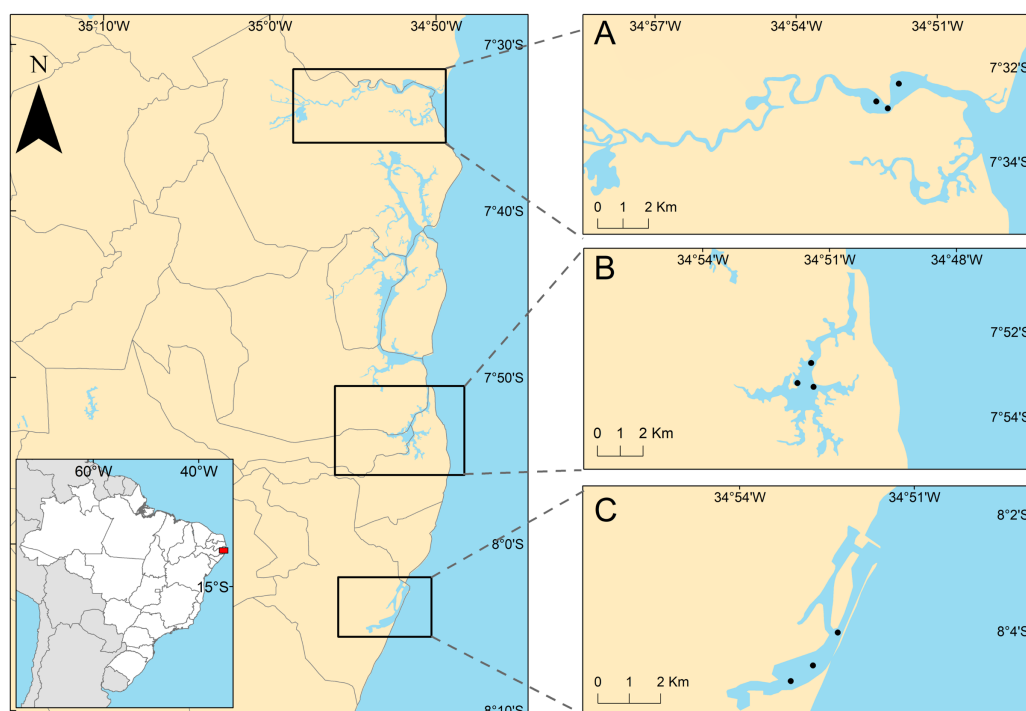


Figure 1 Positions of sampling stations in the estuaries. Positions of sampling stations in the study estuaries, located on the northeastern coast of Brazil. (A) Less urbanized area three Goiana estuarine system (GES); (B) intermediate urbanization area—Timbó estuarine system (TES); (C) more urbanized area—Capibaribe estuarine system (CES). [Full-size !\[\]\(1663bb69f307a960345edb0e712f8c02_img.jpg\) DOI: 10.7717/peerj.14407/fig-1](https://doi.org/10.7717/peerj.14407/fig-1)

intermediate level of urbanization (CPRH, 2005), mainly receiving pollution from untreated and industrial sewage (Noronha, da Silva & Duarte, 2011). The AMBI index identified TES as slightly (Valença & Santos, 2012) to moderately disturbed (Nunes de Souza et al., 2021), suggesting an increasing degradation of this estuary. The Capibaribe estuarine system (CES) is located at 8°04'03"S and 34°52'16"W in the innermost part of Recife's Port and is a highly urbanized area (CPRH, 2005) (see discussion section). It is formed by the confluence of the Tejió, Jordão and Pina rivers and the Southern arm of the Capibaribe river. Based on the AZTI biotic index, this estuary was classified as moderate to highly disturbed (Valença & Santos, 2012; Nunes de Souza et al., 2021). Several studies reported that sediments from the CES are contaminated by PAHs, aliphatic hydrocarbons, tributyltin (antifouling compounds), and metals (Macedo et al., 2007; Maciel et al., 2015, 2016, 2018).

Sampling

The samples were obtained in January and February 2016, during the summer (dry) period. Sample collection was carried out during this season in order to avoid the period of high rainfall that leads to the enrichment of other pollutants, fertilizers and pesticides, which would interfere with the benthic fauna and the assessment of the effects of PAHs (Boonyatumanond et al., 2006; Zakaria et al., 2002; Zhang et al., 2017). The estuaries were sampled at three points, and four replicas were obtained at each point using a Van Veen

(nine liters) bottom sampler. Meiofaunal samples were obtained with the aid of a 5 cm tall cylinder with an internal diameter of 3.6 cm (area of 10 cm²). Samples were preserved with 4% buffered formaldehyde ([Giere, 2009](#)).

For the analysis of sediment chemical (PAHs, Total Organic Content) and physical parameters (grain size), sediment fractions were separated within each replicate. In order to avoid contamination of the fraction intended for PAH analyses, a stainless-steel spatula was used to scoop out the surface of the sediment (~2 cm) and a sterile aluminum container was used to store each sample frozen until PAH processing and reading was performed. The samples were homogenized before the chromatographic analysis and PAH characterization, in order to avoid punctual variation and chemical agglomeration. Salinity, temperature, dissolved oxygen and pH were measured using a JFE Advantech type CTD probe, Rinko Profiler model.

Treatment of biological samples in the laboratory

To separate the meiofauna from the sediment, running water and sieves (300 and 45 µm coupled meshes, respectively) were used. The sediment remaining in the 45 µm mesh underwent a process of ten manual elutriations and the supernatant from each elutriation was removed and fixed with 4% buffered formalin ([Giere, 2009](#)). Meiofauna was identified with the aid of a stereomicroscope at the level of major groups ([Higgins & Thiel, 1988](#)).

Analyzes of the sediment variables

Organic matter was calculated from weight loss following ignition at 450 °C for 5 h ([Danovaro, 2009](#)). Granulometry was determined following [Suguio \(1973\)](#), using the wet method to sieve and separate the silt-clay fraction. The remaining sediment was sieved in a shaker after being dried and weighed and fractionated through sieves with openings of sizes 2 mm to 0.062 mm. The methods for analyzing PAH concentrations are described in [Nunes de Souza et al. \(2021\)](#). Briefly, the samples were analyzed by gas chromatography (model 7820A; GC—Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) coupled with mass spectrometry (model 5975C; MS—Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), in the selected ion monitoring mode (SIM). The values presented here refer to the sum of the PAHs ($\sum$ PAH).

Data analysis

Meiofauna density data were transformed into the fourth root and the similarity matrix was calculated using the Bray-Curtis index. In order to visualize the similarity patterns they were ordered using a non-metric multidimensional scaling technique (nMDS). To test the significance of the visualized patterns, a permutational ANOVA (PERMANOVA) was applied. A PERMDISP analysis was used to test homogeneity among data, and the estuary areas (GES, TES and CES) were applied as factor. All abiotic data were transformed ($\log(V + 1)$) and normalized before being used in correlation analyses.

To assess estuarine diversity, the following indices were calculated: Shannon Wiener (H'), Pielou (J) and richness values (S) ([Anderson, Gorley & Clarke, 2008](#)). To analyze these ecological indices of meiofauna responses to environmental factors and PAH

concentrations, the Distance-based multivariate linear modelling regression (DistLM) was applied. The dbRDA was performed to achieve the ordination and visualization of fitted models (such as from DistLM), and plotted vectors in graphics were generated with Spearman's rank correlation.

The environmental quality status (EcoQ) was obtained for each station of the estuaries, by considering the total number (richness) of meiobenthic taxa as proposed by [Danovaro et al. \(2004\)](#), modified according to European Water Framework Directive (WFD), that define environmental quality in the following classes: group richness ≤ 4 , bad; between five and seven groups, poor; between eight and 11 groups, moderate; between 12 and 15 groups, good; ≥ 16 groups, high.

Multivariate analyzes were performed using the software: PRIMER v6 with the addition of the PERMANOVA+ package ([Gorley & Clarke, 2008](#)).

RESULTS

Environmental variables

Estuary salinity ranged from 23 to 36, and the average temperature was 29.2 ± 0.1 °C (average $\pm$ SE). Organic matter (OM) varied greatly between estuaries, ranging from 1.37% to 16.28% (pseudo-F = 21.61; $p = 0.014$) with a significantly lower amount of OM at Goiana estuarine system (GES) ($p < 0.045$). The pH ranged from 5.79 to 8.50, where significantly more acidic measurements were recorded for the Capibaribe estuarine system (CES), differing from the others ($p < 0.0003$). Interestingly, dissolved oxygen was at least three times higher at CES, differing in the pairwise comparison that was registered at GES and at Timbó estuarine system (TES) ($p < 0.02$) ([Table SA1](#)).

Regarding PAHs, a total of 17 different compounds were identified, of which 16 are listed as harmful to health by the United States Environmental Protection Agency (US EPA) ([Keith, 2015](#)). Concentrations ranged from 0.55 ± 0.67 (average $\pm$ SE) in GES, to 674.81 ± 331.31 in CES ([Table SA1](#)). Only three PAHs were detected in the GES sediments: 2-methyl naphthalene, fluorene and phenanthrene. Most PAHs were common to CES and TES, with the exception of acenaphthene, that was detected in CES sediments. The highest individual concentrations of PAHs were reported for fluoranthene, indeno[1,2,3-cd]pyrene, pyrene, benzo[a]pyrene, and benzo[b]fluoranthene, which together accounted for 56.2% of the total PAH concentration.

The granulometry in the estuaries ranged from gravel to silt-clay, where the average sand fraction was more abundant in the estuary less impacted by PAHs, while the most polluted areas were dominated by silt-clay. The comparison of sediment fractions between areas showed that very fine sand was significantly lower in the GES, whereas the silt-clay fraction in the CES was significantly higher compared to GES ([Table SA2](#)). The sedimentary matrix was classified as poorly selected in the most polluted estuaries (CES and TES). On the other hand, in the reference estuary, only one station was classified as poorly selected, and the other two stations were classified as moderately selected and dominated by medium grains ([Nunes de Souza et al., 2021](#)).

Meiofauna

A total of 22,152 individuals were identified, distributed across 15 major meiofaunal groups: Nematoda, Copepoda, Rotifera, Turbellaria, Tardigrada, Gastrotricha, Ostracoda, Halacaroida, Oligochaeta, Cnidaria, Polychaeta, Amphipoda, Sipuncula, Kinorhyncha and Priapulida, added to Nauplius (crustaceans' larvae). Three of these were exclusive to GES (Sipuncula, Kinorhyncha, Priapulida), and one was exclusive to TES (Amphipoda). Richness varied significantly across estuaries (pseudo-F = 13,537; $p = 0.0001$), ranging from three at TES to 11 at GES. On average, the richness at GES was 8.75, followed by 7.83 ± 0.46 in the CES and 5.33 ± 0.55 in the TES, where the latter presented the lowest average and differed from the others in the pairwise comparison ($p < 0.0014$).

Meiofauna density (ind./10 cm²) varied significantly from one estuary to another (pseudo-F = 9.7861; $p = 0.0002$), with significantly higher values in the CES than in the other estuaries ($p < 0.0065$). Average densities ($\pm$ SE) were 1,069.2 $\pm$ 194.4 at CES; 452.2 $\pm$ 74.5 at GES and 324.7 $\pm$ 91.8 at TES. Among the taxa, Nematoda were the most abundant group, and when combined with Copepoda and Polychaeta they accounted for more than 90% of the identified organisms. The high-density value within the CES was mainly due to the presence of Nematoda and Polychaeta, whereas Nematoda and Copepoda were the most abundant groups in the GES and TES (Fig. 2). Although appearing in smaller percentages, less than 2% (Fig. SA1), it is worth noting the presence of Tardigrada and Gastrotricha in the GES, and the increase of Ostracoda in the CES, as well as, Rotifera in both TES and CES (Fig. 3).

The PERMANOVA analysis and the pairwise comparison revealed that community structure differed significantly between estuaries (Table 1). The nMDS showed a greater association between CES and TES compared to the GES stations (Fig. 4). The Spearman's correlation applied to the nMDS (vectors) indicated that Gastrotricha, Turbellaria and Tardigrada, respectively, presented most dominance and positively correlation with GES were also negatively correlated with TES. The Rotifera and Polychaeta taxa correlated positively with both CES and TES.

Shannon's diversity (H) ranged from 2.31 at GES to 1.02 at TES. This index differed between estuaries (Table SA3), showing higher values at GES compared to all other locations. Evenness varied significantly from one estuary to another, where the value of this index was significantly lower at CES compared to GES and TES (Table SA3). Based on meiofaunal richness (S), the ecological quality status (EcoQ) of all three TES station and CES station 2 were classified as Poor (S = 1–4), and all of GES station; CES station 1 and 3 as Moderate (S = 8–11) (Table SA4).

Correlation between meiofauna and environmental variables

The multivariate DistLM-Best analysis for environmental data explained 60.94% of the meiofauna community variation (DistLM—Best) (Table SA5). Among the environmental data tested, salinity ($p = 0.5$) and some sediment fractions did not significantly influence community variation (coarse sand: $p = 0.46$; fine sand: $p = 0.28$). It was possible to highlight that the sum of the PAHs and pH contributed to more than 39% of the total meiofauna variation (Table SA5). The dbRDA showed a clear separation between the least

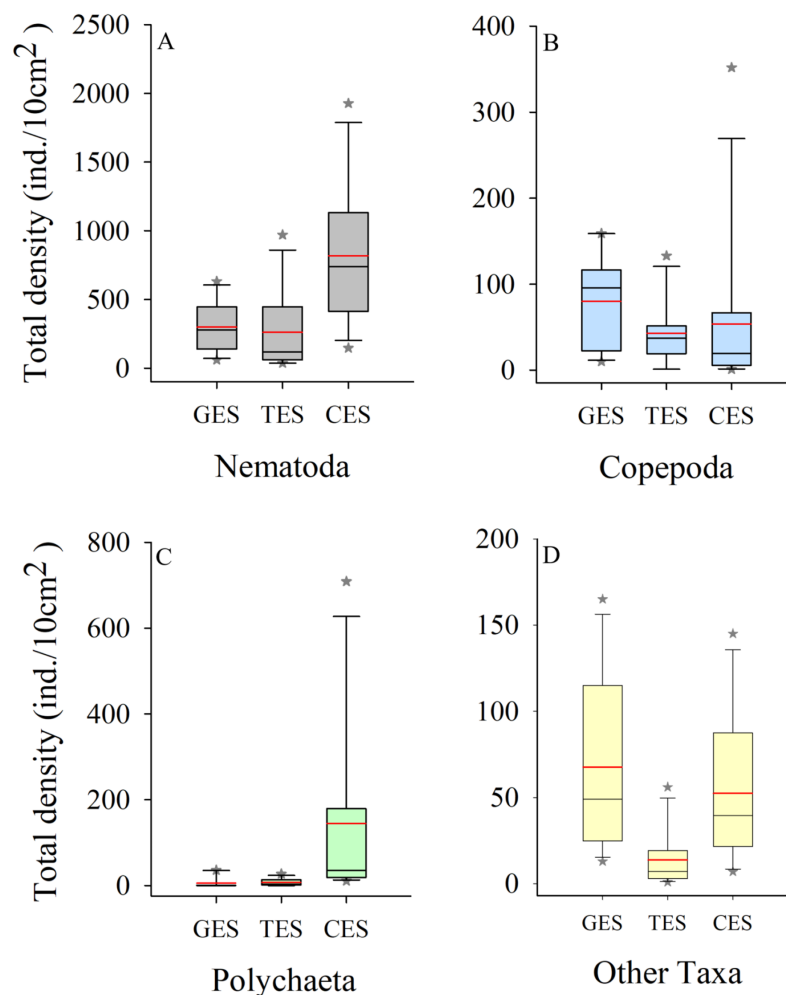


Figure 2 Density of the most abundant groups. Density of the most abundant groups registered in each estuary. Median (solid black line), Average (in red), whisker boxes represent upper/lower quartiles. Vertical lines extending from each box represent the minimum and maximum value, an asterisk (*) indicated outliers that outranged the box limits. (A) Nematoda density, (B) Copepoda density, (C) Polychaeta density and (D) Density of the other groups recorded in the estuaries. GES, Goiana estuarine system; TES, Timbó estuarine system; CES, Capibaribe estuarine system.

Full-size [DOI: 10.7717/peerj.14407/fig-2](https://doi.org/10.7717/peerj.14407/fig-2)

polluted area (GES) and the other two areas (CES and TES), as well as the relevance of PAHs and pH for the distinction between different groups (Fig. 5).

The Spearman rank of correlation for individual and total PAHs concentration significantly correlate with the reduction of Tardigrada, Gastrotricha, Halacaroidea, and Sipuncula ($p < 0.01$), but favor the increase of Nematoda, Polychaeta, Rotifera, Ostracoda e Cnidaria ($p < 0.01$). In contrast, higher pH values correlated positively and significantly with Tardigrada ($p = 0.002$) and Gastrotricha ($p = 0.04$) abundance. However, among the most abundant taxa this relationship was inverted for Nematoda and Polychaeta, since they showed a direct and positive relationship with the high acidity registered in the more urbanized estuary ($\text{pH}: 5.81 \pm 0.02$) (Tables SA6 and SA7).

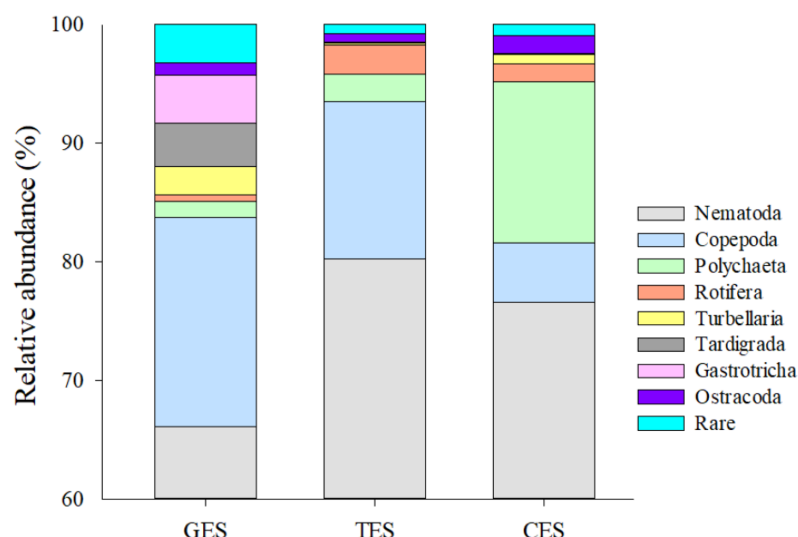


Figure 3 **Meiofauna relative abundance.** The relative abundance (%) of meiofaunal groups distributed in the three Estuaries. GES, Goiana estuarine system; TES, Timbó estuarine system; CES, Capibaribe estuarine system. Note that the Y axis started with 60% to give a better representation of the less abundante meiofaunal groups. [Full-size DOI: 10.7717/peerj.14407/fig-3](https://doi.org/10.7717/peerj.14407/fig-3)

Table 1 **Comparison of estuarine meiofauna community structure, as well as pairwise comparison.**

PERMANOVA	df	MS	Pseudo-F	P (perm)
Estuary	2	6,748.9	16.251	0.0001
Res	33	460.53		
Total	35			
PERMIDISP	2		1.6914	0.2831
				PAIR-WISE
Groups			t	P (perm)
GES, TES			4.1003	0.0001
GES, CES			4.9839	0.0001
TES, CES			3.1187	0.0003

Note:

Results of PERMANOVA, PERMIDISP and PAIR-WISE tests on the structure of the meiofauna communities in the study estuaries. The analysis factor was the area (Estuary). Values of P (perm) < 0.05 are in bold. GES, Goiana estuarine system; TES, Timbó estuarine system; CES, Capibaribe estuarine system; df, degrees of freedom; MS, mean squares; Res, residual.

The multivariate DistLM analysis for individual PAH concentrations explained 59.40% of the total faunal variation. All PAHs significantly influenced organism variation in the estuaries, with benzo[b]fluoranthene and anthracene best explaining the variation, accounting for 46.44% of the total variation (Table SA8). The first two axes of the dbrDA generated in this analysis explained about 86.3% of the PAH distribution within the estuaries. From the vectors in the dbrDA, it is possible to observe a positive correlation between PAHs and the more urbanized estuaries (CES and TES), whereas the correlations with the less urbanized estuary (GES) were all negative (Fig. SA2).

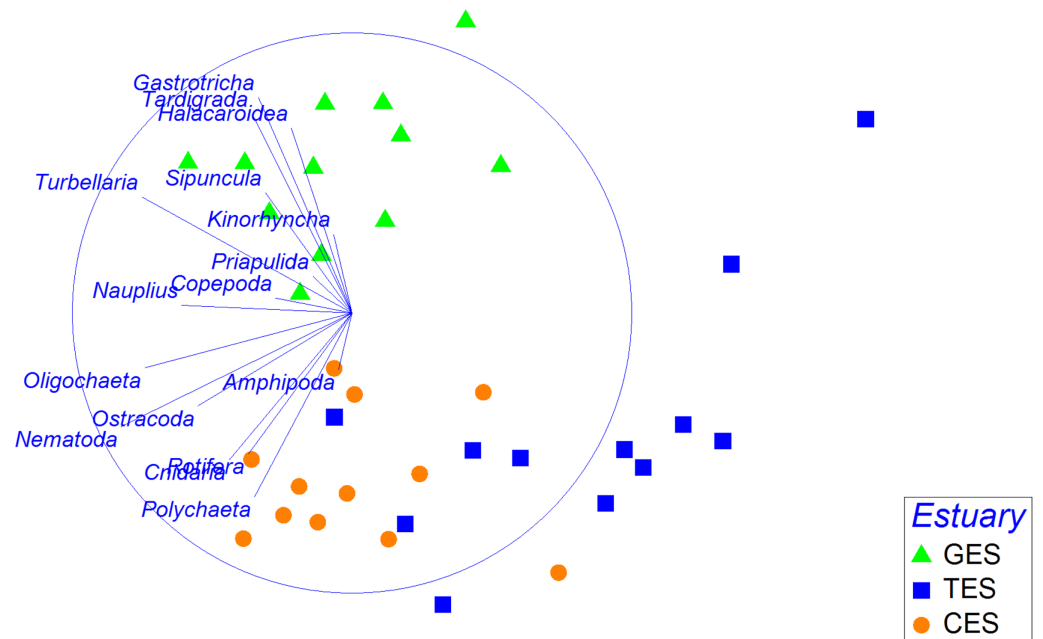


Figure 4 Non-metric multidimensional scaling (nMDS) based on the density of meiofauna groups. Non-metric multidimensional scaling (nMDS) based on meiofauna group densities (standardized on the 4th root, using Bray—Curtis), with their vector (strength and direction of effect of the variable on the ordination plot) in the three estuaries tested: GES, Goiana estuarine system; TES, Timbó estuarine system; CES, Capibaribe estuarine system. [Full-size DOI: 10.7717/peerj.14407/fig-4](https://doi.org/10.7717/peerj.14407/fig-4)

Some of the environmental variables correlated significantly with total meiofaunal density and diversity indices. Organism density correlated significantly and positively with total PAHs, dissolved oxygen, temperature and silt-clay, but negatively with the sandy and coarse fraction of the sediment. The Shannon diversity index correlated negatively and significantly with organic matter and very fine and very coarse sand. These sediment fractions were negatively and significantly correlated with richness. Evenness was significantly negatively affected by Σ PAH, dissolved oxygen, organic matter, as well as very fine sand and silt-clay (see [Table SA9](#)). When carried the correlation between the individual PAHs concentration and diversity indices, both density and equitability were affected negatively and significantly ([Table SA10](#)).

DISCUSSION

Origin of PAH pollution in estuaries

The variation and distribution of organisms in marine ecosystems is linked to the environmental factors of each location ([Coull, 1999](#)). Estuarine ecosystems are characterized by oscillations in environmental parameters (*i.e.*, salinity, organic matter, granulometry, *etc.*), making them unstable in time and space. These oscillations are associated with the characteristics of the areas through which the converging rivers pass during their course, forming this ecosystem. Common impacts on tributary courses include waste derived from urbanization, agriculture and industrialization in surrounding

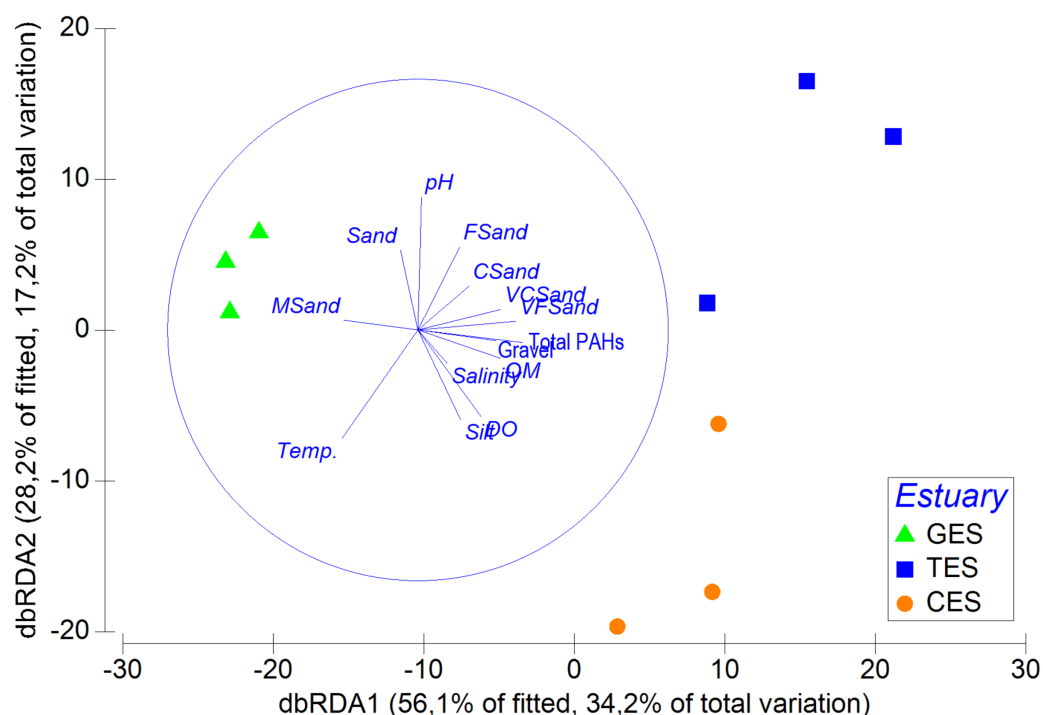


Figure 5 Distance-based redundancy analysis (dbRDA), correlation between meiofauna assemblage and environmental data. Distance-based redundancy analysis (dbRDA), correlation between meiofauna assemblage and environmental data (including $\sum$ PAHs) with their vector (strength and direction of effect of the variable on the ordination plot) in the three estuaries tested: GES, Goiana estuarine system; TES, Timbó estuarine system; CES, Capibaribe. [Full-size DOI: 10.7717/peerj.14407/fig-5](https://doi.org/10.7717/peerj.14407/fig-5)

areas, as well as the misuse of their banks resulting in leaching and silting processes (Balsamo et al., 2012).

PAHs carried by rivers may be deposited into estuarine sediment mainly through association with salts, sediment grains and organic matter, which can directly affect the resident biocenosis (Maciel et al., 2015). These events raise concerns, especially in more populated areas due to the higher incidence and recurrence of impacts and human pollution affecting estuaries. The study area used GES as a reference site due to the lower level of urbanization (IBGE, 2020) has a population density of 150.72 inhab/km² and presented considerably lower concentrations of PAHs compared to the other sites. Population densities in estuaries with medium and high levels of urbanization showed PAH values that were 22 and 46 times higher, respectively.

Although the impacts related to urbanization in the GES were lower, residues from activities such as aquaculture and practices of burning of sugar cane are carried out throughout this estuary basin. Such activities have already been identified as sources of PAH introduction into the Goiana estuarine system (GES), mainly by atmospheric deposition, although in low concentrations (Arruda-Santos et al., 2018). Estuaries such as Ohiwa, New Zealand, experience human impacts similar to those observed in the more conserved area of this study (i.e., rural pastures and less inhabited areas), and presented similar total PAH concentrations (Goiana: 1.7 ng/g⁻¹; Ohiwa: 3.0 ng/g⁻¹) (Hack et al.,

2007). Based on the Canadian classification of the Sediment Quality Guidelines (SQG), high sediment quality was recorded in the GES, since the PAH concentrations observed in this estuary were lower than the threshold proposed for the rare category (REL) (ECM, 2007; He et al., 2014). However, these concentrations indicate the entry of PAHs into this area, highlighting the importance of regular monitoring of this estuarine system.

The Timbó estuarine system (TES), which presents an intermediate level of urbanization, experiences a lack of sanitation and receives untreated effluents, generating an increase in organic matter particles in this environment (Santana, Fernandes & Machado, 2017). This increase becomes a negative factor for estuary health, since it is usually associated with and facilitates the deposition and accumulation of PAHs and other contaminants in the sediment (Medeiros & Caruso Bicego, 2004). Consequently, there is a loss of biodiversity, disruption of the food web, as well as a decrease in ecosystem services provided by benthic organisms (Gambi et al., 2020; Louati et al., 2013). Most PAHs in TES sediments had individual concentrations that, according to the SQG, would have a low probability of causing negative effects on benthic fauna (ECM, 2007). However, the presence of benzo[a]anthracene, dibenz[a,h]anthracene, and fluoranthene compounds raise concerns, since their individual concentrations are close to the threshold effect level (TEL) for benthic organisms (ECM, 2007; He et al., 2014).

Among the studied sites, the Capibaribe estuarine system (CES) had the highest PAH concentration. As seen in previous studies, this area presents characteristics that facilitate the retention of organic matter and PAHs (Araújo, Mineiro & de Cantalice, 2011; Maciel et al., 2015). The waters of this estuary are connected to Recife's Port, which receives numerous vessels annually (Port of Recife, 2021), becoming a vector area for the release of PAHs. The PAH concentrations observed in the CES are similar to those analyzed in urban and highly industrialized estuaries, such as the Yangtzen River in eastern China (Li et al., 2012), as well as in port areas in the Adriatic Sea (Baldrihi et al., 2019). The meiofaunal abundances reported in the aforementioned port area were similar to the results of this study, where the abundance of sensitive taxa (Tardigrada and Gastrotricha) decreased due to the high PAH values, while the abundances of more tolerant taxa such as Nematoda and Polychaeta increased (Dal Zotto et al., 2016; Moreno et al., 2011; Pusceddu et al., 2007). It was possible to observe that the concentrations of six of the 17 PAHs were high enough to exceed the threshold effect level (TEL) in at least one station of the CES (PAHs: acenaphthylene, phenanthrene, fluoranthene, benzo[a]anthracene, benzo[a]pyrene, and dibenz[a,h]anthracene). The levels of PAHs recorded at CES were even more alarming than the findings for the TES, since more types of PAHs have concentrations that exceed the threshold to affect fauna (ECM, 2007; He et al., 2014).

It is worth noting that estuarine environments are subject, not only to PAHs, but to several other contaminants. In fact, previous benthic studies from these urbanized estuaries also reported heavy metal contamination (Noronha, da Silva & Duarte, 2011; Silva et al., 2011). These contaminants can directly affect the abundance and diversity of meiofauna (Moens et al., 2014). Additionally, agricultural fertilizer can be observed (Noriega et al., 2019) which can cause eutrophication and anoxia due to bacterial proliferation (Carriço et al., 2013). Furthermore the input of tributyltin (Maciel et al., 2018)

can interrupt faunal reproductive processes and cause juvenile deaths ([Schratzberger et al., 2002](#)).

Ecological quality assessment using EcoQ and variation of meiofauna diversity

The ecological quality classification of the studied estuaries ranged from poor to moderate, with a prevalence of moderate in the estuary with lower PAH concentrations (GES).

The estuary with intermediate PAH concentrations (TES) received the poorest classification. This finding suggests that some other stressors are likely altering the quality of these estuaries. Similar richness results observed in the TES were reported in the Venice lagoon in Italy, which presented EcoQ results varying between Bad and Poor ([Pusceddu et al., 2007](#)). As in Venice ([Zonta et al., 2007](#)), the main factors highlighted for the bad EcoQ evaluation in the TES were: sewage entry, as well as residues from the industrial district present in the surrounding area, which has released trace elements such as heavy metal and PAHs into the estuary for decades ([Semprucci, Balsamo & Sandulli, 2016](#); [Noronha, da Silva & Duarte, 2011](#)). Such impacts corroborate results reported for the most polluted estuary of this study (CES), which justifies the low abundance (or absence) of sensitive organisms, as well as the low environmental indices' values (*i.e.*, richness, density and Shannon index) and poor EcoQ at the CES stations.

The lower level of urbanization and anthropogenic input are not the only factors responsible for superior ecological quality in the reference estuary. The sedimentary structure, composed mainly of medium grains and organic matter with concentrations 3 to 6 times lower than the other estuaries, favors a lower PAH accumulation in the reference area ([Evans, Gill & Robotham, 1990](#); [He et al., 2014](#)). In fact, the concentration in GES was at least 250 and 1,225 times lower compared to TES and CES, respectively. Additionally, many of the taxa found in polluted estuaries were extremely rare, with low equitability. These organisms did not account for even 0.5% of the total abundance, both in the estuary with an intermediate PAH concentration (Oligochaeta, Turbellaria, Nauplius, Halacaroidea, Amphipoda, Tardigrada, Cnidaria), and in the estuary with the greatest impact (Oligochaeta, Cnidaria, Nauplius, Gastrotricha, Halacaroidea) ([Zeppilli et al., 2015](#)).

Although the EcoQ of the CES is comparable to that of the least contaminated area (GES), the distribution of taxa in the CES was significantly less equitable compared to the other estuaries. As EcoQ is closely associated with richness, it is worth noting that the equitability that sustains this richness can be used as a parameter to establish the reliability and strength of this status. Thus, even if the EcoQ level is higher because an organism that appears at random, the oscillation of this taxa in the other samples can be seen as a weakening of the EcoQ status.

The fauna distribution was negatively and significantly affected by the high concentrations of organic matter, very fine sand and silt-clay, in addition to the high PAH concentrations present in estuaries located near urban areas. The decrease in environmental indices, such as Shannon diversity, richness, and evenness, are indicative of environmental stress in studies where benthic fauna has been considered as a proxy for

environmental quality status evaluations ([Damasio et al., 2020](#); [Janakiraman et al., 2017](#); [Warwick et al., 1990](#)).

Therefore, the aforementioned lower environmental indices' values, further enforce the ecological damage in areas impacted by higher concentrations of PAHs and probably other contaminants (that were not evaluated in this study). These lower environmental quality indices' values, when compared to the reference area, demonstrate that meiofauna are an adequate tool to detect early changes in impacted areas, exhibiting especially detailed responses to pollutants ([Semprucci, Balsamo & Sandulli, 2016](#); [Schratzberger & Ingels, 2018](#); [Ingels et al., 2021](#)). Meiofauna showed a better correlation with PAH compounds than macrofauna, presenting a direct correlation between diversity and pollution. On the other hand, macrofauna was more diverse in polluted estuaries, suggesting that these organisms were exposed to an intermediate disruption, according to Multimetric indices such as AMBI (A Marine Biotic Index) ([Borja, Chust & Muxika, 2019](#); [Nunes de Souza et al., 2021](#)).

Environmental factors shaping meiofauna structure in three different urbanization level estuaries

Conservation strategies aim to protect habitats, in addition to understanding the loss of fauna and the ecosystem services they provide to the environment ([Ingels et al., 2021](#)). The changes that marine environments experience due to anthropogenic actions, affect meiofauna, causing decreases in diversity and richness and mainly result in the loss of more sensitive and rare taxa. When this occurs, individuals with broader niches can proliferate, as they are more resistant or even opportunistic ([Pusceddu et al., 2007](#); [Supp & Ernest, 2014](#)). Nematoda (76.56%) stood out in the studied estuary with the highest level of pollution, followed by Polychaeta (13.53%). On the other hand, the density of Copepoda, which respond more sensitively to areas impacted by anthropogenic action ([Soetaert et al., 1995](#)), was 15 times lower than that of Nematoda.

Nematoda dominance in the most polluted estuary did not deviate from previously observed patterns in coastal marine environments in southern Italy and northern Iran ([Bertocci et al., 2019](#); [Zarghami et al., 2019](#)), in estuaries present in southeastern India and northern Taiwan ([Cai & Li, 2011](#); [Chinnadurai & Fernando, 2007](#)), and in the deep sea in the Gulf of Mexico ([Baguley et al., 2006](#)) and Espírito Santo basin in southeast of Brazil ([dos Santos et al., 2020](#)). Nematodes are commonly the most abundant taxon in areas with greater anthropogenic activity and, notably, with high concentrations of organic matter and PAHs ([Zeppilli et al., 2015](#)). This is due to the opportunistic characteristics that some colonizing Nematoda genera present, together with their diet composed of bacteria that proliferate from the decomposition of organic content ([Bongers & Ferris, 1999](#); [dos Santos et al., 2009, 2008](#); [Schratzberger & Ingels, 2018](#)).

The fauna pattern observed in estuaries exposed to lower (GES) and intermediate (TES) concentrations of PAHs presented similar meiofauna proportions in natural estuarine environments classified by [Coull \(1999\)](#), where Nematoda dominated with 0–90% and Copepoda accounted for 0–40% of the total abundance. In the GES and TES, Nematoda dominated with 66.09% and 80.17%, respectively, followed by Copepoda with 17.66% and

13.27%. The relative abundance of Copepoda in the estuary least impacted by PAHs was higher compared to the other study areas. Furthermore, the presence of taxa, such as Tardigrada and Gastrotricha, in polluted estuaries was much lower and even null compared to that observed at GES. The decrease in sensitive taxa in more urbanized estuaries confirmed the negative effect of pollution from constant anthropogenic activities, such as effluent and sewage discharge, as well as port and industrial activities, which are all factors that favor the entry of PAHs and other contaminants into estuaries (*van Damme, Heip & Willems, 1984; Maciel et al., 2015; Zeppilli et al., 2015*).

Taxa such as Tubellaria, Tardigrada, Gastrotricha, Halacaroida, Sipuncula and the Equitability index' (J'), correlated negatively with the fractions of very fine sediment and silt-clay, mainly present in the most polluted estuaries. On the other hand, in the less polluted area, medium and moderately selected grains predominated, resulting in larger interstitial spaces and favoring meiofauna diversity. Tardigrada and Gastrotricha, which were abundant in the reference estuary, are adapted to survive in ample interstitial spaces, whereas in areas where the sediment is muddy, such as in CES and TES, these groups try to adapt to epibiont life and become less diverse and abundant (*Giere, 2009*).

Larger proportions of fine grains and silt-clay were registered in the estuaries with higher PAH concentrations and the relationship between these factors has also been reported by other authors (*Tolosa, Mesa-Albernas & Alonso-Hernandez, 2009; Maciel et al., 2015; Egres et al., 2019; Wang et al., 2021; Zanardi-Lamardo et al., 2019; Losi et al., 2021*). Most fine grains exhibit a greater amount of organic matter, contributing to PAH accumulation and, consequently directly affects meiofauna, either through ingestion or direct contact with contaminants (*Arruda-Santos et al., 2018; Stogiannidis & Laane, 2015; Tremblay et al., 2005*). Although PAHs best explained fauna distribution among the studied parameters, grain size also played an important role in the heterogeneity of the meiofauna groups, which is one of the main factors influencing meiofauna abundance, distribution and diversity (*He et al., 2014*).

The sedimentary characteristics presented by CES favored the presence of Polychaeta, the high abundance of this group has already been reported in another anthropized estuary, located in Mondego (Portugal), where Polychaeta were the second most abundant group, following Nematoda (*Alves et al., 2013*). While the results of this manuscript suggest positive and significant correlations of Polychaeta meiofauna with $\sum$ PAH, the same was not observed for the coast of Galicia, where no correlations were found between Polychaeta density, environmental parameters, and PAH pollution (*Veiga, Rubal & Besteiro, 2009*). When exposed to acute impacts, such as the Deepwater Horizon accident, there was a decrease in Polychaeta meiofauna at points close to the accident, however Polychaeta macrofauna families (eg., Spionidae, Capitellidae, Maldanidae) were dominant at the spill site (*Baguley et al., 2015; Jewett, Thomas & Blanchard, 1999; Washburn, Rhodes & Montagna, 2016*).

Although most polychaeta macrofauna produce temporary juvenile meiofaunal larvae, this apparently did not affect polychaeta abundance in the previously mentioned studies. The estuary most polluted by PAHs (CES) housed more than 90% of the total Polychaeta meiofauna recorded in the present study, among which there was a slight predominance of

the Spionidae family (data not shown). The correlation between $\sum$ PAH and polychaetes was also observed in macrofauna associations, with polychaetes representing more than 70% of abundance in TES and CES, and the Spionidae family representing 73% of the total abundance of this estuary (Nunes de Souza et al., 2021). The bodies of adult Spionidae individuals range from 1.3 to 150 mm and their larvae temporarily belong to meiofauna (Radashevsky, 2012). This family is commonly associated with environmental disturbances in marine environments, as its abundance increases when exposed to environmental stress (Dean, 2008). Additionally, this family presents opportunistic species with rapid colonization capacities and tolerance both to oil pollution and its derivatives (i.e., PAHs).

Sediment acidity also strongly influenced organism distribution. Extremely low pH values were found in CES (average pH— 5.81 ± 0.02), which were approximately 1.45 times lower than those observed in the GES (average pH 8.40 ± 0.04) and TES (average pH— 8.39 ± 0.06) estuaries. The difference regarding estuary acidity can be directly linked to the individual processes and dynamics of each environment, such as sewage dumping and the decomposition of the organic matter present at each location. Wastewater from sewage or organic matter enrichment, stimulates microbial activity and respiration at different proportions, causing a decrease in pH (Gallert & Winter, 2005).

Additionally, previous studies have shown that most industrial effluents and sewage that reach estuarine waters have very low pH values (Wallace et al., 2014), which tends to change the pH of these environments. However, groups such as Nematoda and Polychaeta were apparently not negatively affected by the increased acidification in the CES and the high values of organic matter observed at this location. On the other hand, Tardigrada and Gastrotricha were more abundant in GES, which had a more alkaline pH and significantly lower organic matter values, compared to the other estuaries.

The effect of pollutants, especially PAHs, on meiofauna has been previously shown. Studies using meiobenthos are pivotal, both financially and scientifically. Such analyzes are usually cheaper than other biological assessment tools, since meiofauna are highly abundant in the environment, can be handled easily and do not require much storage space in laboratories (Schratzberger & Ingels, 2018; Balsamo et al., 2012). Scientifically, the use of indices such as EcoQ, are extremely simple and demonstrate satisfactory results when comparing impacted and non-impacted areas (Danovaro et al., 2004; Semprucci, Balsamo & Sandulli, 2016). However, public policies rarely use the diversity of intra-sedimentary microscopic benthos as ecological tools. This study shows that not only the presence/absence of some taxa in environments with high levels of PAHs can vary, but also that richness (EcoQ) proves to be a useful tool for quick and efficient access to ecological quality. Moreover evenness should serve as an assumption to identify the reliability of the EcoQ test.

CONCLUSION

We found that PAH contamination followed the urbanization gradient in estuaries with five compounds with sediment concentrations higher than the Fauna Impact Threshold (TEL) in the most urbanized estuary. The reduction in diversity indices, as well as EcoQ (richness), can be used as a good biomonitoring tool for marine conservation, especially

regarding PAHs and it can provide important information on the environmental quality status of the studied estuaries. Such compounds are potentially involved in biodiversity loss within estuaries, in addition to jeopardizing equitability. On the other hand, PAH contamination showed a positive correlation with an increase in organism density, due to the facilitation of the emergence of opportunistic groups like Nematoda and Polychaeta. Furthermore, the autochthonous pollution in the most urbanized estuaries was reflected both in the high organic enrichment and in the accentuated acidification. Granulometry, mainly fine grains that were found at the most polluted places, also played an important role in meiofauna distribution.

ADDITIONAL INFORMATION AND DECLARATIONS

Funding

Renan B da Silva was supported by the grant number IBPG-1244-2.05/20 from Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco—FACEPE. Giovanni A P Dos Santos, and Jose Roberto Botelho de Souza, were supported by the PROPESQI Notiz number 09/2019 from Federal University of Pernambuco. Débora A. A. França was supported by the BIC grant number 200216516 from PROPESQI. Raianne Amorim Cavalcante was supported by the BIC grant number 200216456 from PROPESQI, and Andre M. Esteves was supported by the grant number 310249/2019-8 from CNPq, Eliete Zanardi-Lamardo was supported by the grant number 311771/2019-0 from CNPq. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Grant Disclosures

The following grant information was disclosed by the authors:

Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco – FACEPE: IBPG-1244-2.05/20.

Federal University of Pernambuco: 09/2019.

PROPESQI: 200216516.

PROPESQI: 200216456.

CNPq: 310249/2019-8.

CNPq: 311771/2019-0.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author Contributions

- Renan B. da Silva conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.
- Giovanni A. P. Dos Santos conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.

- Ana Luiza L. de Farias performed the experiments, prepared figures and/or tables, and approved the final draft.
- Débora A. A. França performed the experiments, prepared figures and/or tables, and approved the final draft.
- Raianne Amorim Cavalcante performed the experiments, prepared figures and/or tables, and approved the final draft.
- Eliete Zanardi-Lamardo conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, analytical Analyses of PAH's, and approved the final draft.
- Jose Roberto Botelho de Souza conceived and designed the experiments, performed the experiments, analyzed the data, authored or reviewed drafts of the article, sampling design, and approved the final draft.
- Andre M. Esteves analyzed the data, prepared figures and/or tables, authored or reviewed drafts of the article, and approved the final draft.

Data Availability

The following information was supplied regarding data availability:

The raw data is available in the [Supplemental File](#).

Supplemental Information

Supplemental information for this article can be found online at <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.14407#supplemental-information>.

REFERENCES

- Abdel-Shafy HI, Mansour MSM. 2016.** A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum* 25(1):107–123 DOI 10.1016/j.ejpe.2015.03.011.
- Adams AJ, Dahlgren CP, Kellison GT, Kendall MS, Layman CA, Ley JA, Nagelkerken I, Serafy JE. 2006.** Nursery function of tropical back-reef systems. *Marine Ecology Progress Series* 318:287–301 DOI 10.3354/meps318287.
- Alves AS, Adão H, Ferrero TJ, Marques JC, Costa MJ, Patrício J. 2013.** Benthic meiofauna as indicator of ecological changes in estuarine ecosystems: the use of nematodes in ecological quality assessment. *Ecological Indicators* 24(8):462–475 DOI 10.1016/j.ecolind.2012.07.013.
- Anderson M, Gorley RN, Clarke RK. 2008.** *Permanova+ for primer: guide to software and statistical methods*. Auckland: Primer-E Limited.
- Araújo AM, Mineiro ALB, de Cantalice JRB. 2011.** Estimativa do potencial de sedimentação e erosão: caso Manguezal do Pina, Recife (PE). *Engenharia Sanitaria e Ambiental* 16(2):133–140 DOI 10.1590/S1413-41522011000200006.
- Arruda-Santos RH, Schettini CAF, Yogui GT, Maciel DC, Zanardi-lamardo E. 2018.** Sources and distribution of aromatic hydrocarbons in a tropical marine protected area estuary under influence of sugarcane cultivation. *Science of the Total Environment* 624:935–944 DOI 10.1016/j.scitotenv.2017.12.174.
- Baguley JG, Montagna PA, Cooksey C, Hyland JL, Bang HW, Morrison C, Kamikawa A, Bennetts P, Saiyo G, Parsons E, Herdener M, Ricci M. 2015.** Community response of deep-sea

- soft-sediment metazoan meiofauna to the Deepwater Horizon blowout and oil spill. *Marine Ecology Progress Series* 528:127–140 DOI 10.3354/meps11290.
- Baguley JG, Montagna PA, Hyde LJ, Kalke RD, Rowe GT. 2006. Metazoan meiofauna abundance in relation to environmental variables in the northern Gulf of Mexico deep sea. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 53(8):1344–1362 DOI 10.1016/j.dsr.2006.05.012.
- Baldrighi E, Semprucci F, Franzo A, Cvitkovic I, Bogner D, Despalatovic M, Berto D, Formalewicz MM, Scarpato A, Frapiccini E, Marini M, Grego M. 2019. Meiofaunal communities in four Adriatic ports: baseline data for risk assessment in ballast water management. *Marine Pollution Bulletin* 147(8):171–184 DOI 10.1016/j.marpolbul.2018.06.056.
- Balsamo M, Semprucci F, Frontalini F, Coccioni R. 2012. Meiofauna as a tool for marine ecosystem biomonitoring. *Marine Ecosystems* 4:77–104 DOI 10.5772/2131.
- Bertocci I, Dell’Anno A, Musco L, Gambi C, Saggiomo V, Cannavacciuolo M, Lo Martire M, Passarelli A, Zazo G, Danovaro R. 2019. Multiple human pressures in coastal habitats: variation of meiofaunal assemblages associated with sewage discharge in a post-industrial area. *Science of the Total Environment* 655(376):1218–1231 DOI 10.1016/j.scitotenv.2018.11.121.
- Boehm PD. 2005. Chapter 15: polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). In: Morrison RD, Murphy BL, eds. *Environmental Forensics—Contaminant Specific Guide*. Oxford: Pergamon Press Ltd, 10.
- Bongers T, Ferris H. 1999. Nematode community structure as a bioindicator in environmental monitoring. *Trends in Ecology & Evolution* 14(6):224–228 DOI 10.1016/S0169-5347(98)01583-3.
- Boonyatumanond R, Wattayakorn G, Togo A, Takada H. 2006. Distribution and origins of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in riverine, estuarine, and marine sediments in Thailand. *Marine Pollution Bulletin* 52(8):942–956 DOI 10.1016/j.marpolbul.2005.12.015.
- Borja A, Chust G, Muxika I. 2019. Forever young: the successful story of a marine biotic index. *Advances in Marine Biology* 82(4):93–127 DOI 10.1016/bs.amb.2019.05.001.
- Cai M, Li K. 2011. Economic losses from marine pollution adjacent to pearl river estuary, China. *Procedia Engineering* 18(11):43–52 DOI 10.1016/j.proeng.2011.11.008.
- Carriço R, Zeppilli D, Quillien N, Grall J. 2013. Can meiofauna be a good biological indicator of the impacts of eutrophication caused by green macroalgal blooms. *An Aod—Les Cahiers Naturalistes de l’Observatoire Marin* 2:9–16.
- Chen C. 2018. An approach based on nematode descriptors for the classification of ecological quality (EcoQ) of the Malaysian coasts. *Marine Biodiversity* 48:117–126 DOI 10.1007/s12526-017-0813-1.
- Chinnadurai G, Fernando OJ. 2007. Meiofauna of mangroves of the southeast coast of India with special reference to the free-living marine nematode assemblage. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 72(1–2):329–336 DOI 10.1016/j.ecss.2006.11.004.
- Coull BC. 1999. Role of meiofauna in estuarine soft-bottom habitats*. *Australian Journal of Ecology* 24(4):327–343 DOI 10.1046/j.1442-9993.1999.00979.x.
- Courrat A, Lobry J, Nicolas D, Laffargue P, Amara R, Lepage M, Girardin M, Le Pape O. 2009. Anthropogenic disturbance on nursery function of estuarine areas for marine species. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 81(2):179–190 DOI 10.1016/j.ecss.2008.10.017.
- CPRH. 2005. CPRH state agency for the environment and water resources, report on the hydrographic basins, Recife. Available at http://www.cprh.pe.gov.br/monitoramento/bacias_hidrograficas/relatorio_bacias_hidrograficas/2005/39737;63186;17020301;0;0 (accessed 14 December 2016).

- Cui C, Zhang Z, Hua E. 2021. Meiofaunal community spatial distribution and diversity as indicators of ecological quality in the Bohai Sea, China. *Journal of Ocean University of China* 20(2):409–420 DOI 10.1007/s11802-021-4550-5.
- Dal Zotto M, Santulli A, Simonini R, Todaro MA. 2016. Organic enrichment effects on a marine meiofauna community, with focus on Kinorhyncha. *Zoologischer Anzeiger* 265(25):127–140 DOI 10.1016/j.jcz.2016.03.013.
- Damasio BV, Timoszczuk CT, Kim BSM, de Sousa SHM, Bicego MC, Siegle E, Figueira RCL. 2020. Impacts of hydrodynamics and pollutants on foraminiferal fauna distribution in the Santos Estuary (SE Brazil). *Journal of Sedimentary Environments* 5(1):61–86 DOI 10.1007/s43217-020-00003-w.
- Danovaro R. 2009. *Methods for the study of deep-sea sediments, their functioning and biodiversity*. Boca Raton: CRC press.
- Danovaro R, Gambi C, Mirto S, Sandulli R, Ceccherelli VU. 2004. Meiofauna. *Biologia Marina Mediterranea* 11(1):55–97.
- Dean HK. 2008. The use of polychaetes (Annelida) as indicator species of marine pollution: a review. *Revista de Biologia Tropical* 56:11–38 DOI 10.15517/rbt.v56i4.27162.
- Domínguez C, Sarkar SK, Bhattacharya A, Chatterjee M, Bhattacharya BD, Jover E, Albaigés J, Bayona JM, Alam MA, Satpathy KK. 2010. Quantification and source identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in core sediments from Sundarban mangrove Wetland, India. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 59(1):49–61 DOI 10.1007/s00244-009-9444-2.
- dos Santos GAP, Derycke S, Fonsêca-Genevois VG, Coelho LCBB, Correia MTS, Moens T. 2008. Differential effects of food availability on population growth and fitness of three species of estuarine, bacterial-feeding nematodes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 355(1):27–40 DOI 10.1016/j.jembe.2007.11.015.
- dos Santos GAP, Derycke S, Genevois VGF, Coelho LCBB, Correia MTS, Moens T. 2009. Interactions among bacterial-feeding nematode species at different levels of food availability. *Marine Biology* 156(4):629–640 DOI 10.1007/s00227-008-1114-9.
- dos Santos GAP, Silva AC, Esteves AM, Ribeiro-Ferreira VP, Neres PF, Valdes Y, Ingels J. 2020. Testing bathymetric and regional patterns in the southwest Atlantic deep sea using infaunal diversity, structure, and function. *Diversity* 12(12):485 DOI 10.3390/d12120485.
- ECM. 2007. Criteria for the assessment of sediment quality in Quebec and application. Available at <https://www.planstlaurent.qc.ca/>.
- Egres AG, Hatje V, Miranda DA, Gallucci F, Barros F. 2019. Functional response of tropical estuarine benthic assemblages to perturbation by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Ecological Indicators* 96(5):229–240 DOI 10.1016/j.ecolind.2018.08.062.
- Elliott M, Whitfield AK. 2011. Challenging paradigms in estuarine ecology and management. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 94(4):306–314 DOI 10.1016/j.ecss.2011.06.016.
- Elmquist M, Zencak Z, Gustafsson Ö. 2007. A 700 year sediment record of black carbon and polycyclic aromatic hydrocarbons near the EMEP air monitoring station in Aspvreten, Sweden. *Environmental Science & Technology* 41(20):6926–6932 DOI 10.1021/es070546m.
- Engraff M, Solere C, Smith KEC, Mayer P, Dahllöf I. 2011. Aquatic toxicity of PAHs and PAH mixtures at saturation to benthic amphipods: linking toxic effects to chemical activity. *Aquatic Toxicology* 102(3–4):142–149 DOI 10.1016/j.aquatox.2011.01.009.
- Erstfeld KM, Snow-Ashbrook J. 1999. Effects of chronic low-level PAH contamination on soil invertebrate communities. *Chemosphere* 39(12):2117–2139 DOI 10.1016/S0045-6535(98)00421-4.

- Evans KM, Gill RA, Robotham PWJ. 1990. THE PAH and organic rates of reaction for the binding of PAH to humus have been shown to be large with equilibria being reached quickly. (Carlberg and Martinsen in Josephson, 1982). The organic material present in the Derwent river system seems to ran. *Water, Air, and Soil Pollution* 51(1):13–31 DOI 10.1007/BF00211500.
- Gabriel FA, Silva AG, Queiroz HM, Ferreira TO, Hauser-Davis RA, Bernardino AF. 2020. Ecological risks of metal and metalloid contamination in the Rio Doce estuary. *Integrated Environmental Assessment and Management* 16(5):655–660 DOI 10.1002/ieam.4250.
- Gallert C, Winter J. 2005. Bacterial metabolism in wastewater treatment systems. *Environmental Biotechnology: Concepts and Applications* 1:1–48 DOI 10.1002/3527604286.ch1.
- Gambi C, Dell’Anno A, Corinaldesi C, Lo Martire M, Musco L, Da Ros Z, Armiento G, Danovaro R. 2020. Impact of historical contamination on meiofaunal assemblages: the case study of the Bagnoli-Coroglio Bay (southern Tyrrhenian Sea). *Marine Environmental Research* 156(2):104907 DOI 10.1016/j.marenvres.2020.104907.
- Giere O. 2009. *Meiobenthology, the microscopic fauna in aquatic sediments*. Second Edition. Berlin: Springer-Verlag.
- Glaser M. 2003. Interrelations between mangrove ecosystem, local economy and social sustainability in Caeté Estuary, North Brazil. *Wetlands Ecology and Management* 11:265–272 DOI 10.1023/A:1025015600125.
- Gorley AM, Clarke KR. 2008. *PERMANOVA+ for PRIMER: guide to software and statistical methods*. Plymouth, UK: PRIMER-E, Plymouth.
- Hack LA, Tremblay LA, Wratten SD, Lister A, Keesing V. 2007. Benthic meiofauna community composition at polluted and non-polluted sites in New Zealand intertidal environments. *Marine Pollution Bulletin* 54(11):1801–1812 DOI 10.1016/j.marpolbul.2007.07.009.
- Han M, Niu X, Tang M, Zhang B-T, Wang G, Yue W, Kong X, Zhu J. 2020. Distribution of microplastics in surface water of the lower Yellow River near estuary. *Science of the Total Environment* 707(13):135601 DOI 10.1016/j.scitotenv.2019.135601.
- He X, Pang Y, Song X, Chen B, Feng Z, Ma Y. 2014. Distribution, sources and ecological risk assessment of PAHs in surface sediments from Guan River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin* 80(1–2):52–58 DOI 10.1016/j.marpolbul.2014.01.051.
- Higgins RP, Thiel H. 1988. *Introduction to the study of meiofauna*. Washington, D.C.: Smithsonian Institution Press.
- Honda M, Suzuki N. 2020. Toxicities of polycyclic aromatic hydrocarbons for aquatic animals. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(4):1363 DOI 10.3390/ijerph17041363.
- Hoque MZ, Cui S, Islam I, Xu L, Tang J. 2020. Future impact of land use/land cover changes on ecosystem services in the lower Meghna River Estuary, Bangladesh. *Sustainability* 12(5):2112 DOI 10.3390/su12052112.
- Hyland J, Balthis L, Karakassis I, Magni P, Petrov A, Shine J, Vestergaard O, Warwick R. 2005. Organic carbon content of sediments as an indicator of stress in the marine benthos. *Marine Ecology Progress Series* 295:91–103 DOI 10.3354/meps295091.
- IBGE. 2020. Population census. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Available at <http://www.ibge.gov.br> (accessed 25 January 2022).
- Ingels J, Vanreusel A, Pape E, Pasotti F, Macheriotou L, Arbizu PM, Sørensen MV, Edgcomb VP, Sharma J, Sánchez N. 2021. Ecological variables for deep-ocean monitoring must include microbiota and meiofauna for effective conservation. *Nature Ecology & Evolution* 5(1):27–29 DOI 10.1038/s41559-020-01335-6.

- Janakiraman A, Naveed MS, Sheriff MA, Altaff K. 2017. Ecological restoration assessment of Adyar creek and estuary using meiofaunal communities as ecological indicators for aquatic pollution. *Regional Studies in Marine Science* 9(1):135–144 DOI 10.1016/j.rsma.2016.12.001.
- Jewett SC, Thomas A, Blanchardl A. 1999. ‘Exxon Valdez’ oil spill: impacts and recovery in the soft-bottom benthic community in and adjacent to eelgrass beds. *Marine Ecology Progress Series* 185:59–83 DOI 10.3354/meps185059.
- Jones AE, Hardison AK, Hodges BR, McClelland JW, Moffett KB. 2020. Defining a riverine tidal freshwater zone and its spatiotemporal dynamics. *Water Resources Research* 56(4):1–17 DOI 10.1029/2019WR026619.
- Keith LH. 2015. The source of U.S. EPA’s sixteen PAH priority pollutants. *Polycyclic Aromatic Compounds* 35(2–4):147–160 DOI 10.1080/10406638.2014.892886.
- Li B, Feng C, Li X, Chen Y, Niu J, Shen Z. 2012. Spatial distribution and source apportionment of PAHs in surficial sediments of the Yangtze Estuary. *Marine Pollution Bulletin* 64(3):636–643 DOI 10.1016/j.marpolbul.2011.12.005.
- Losi V, Grassi E, Balsamo M, Rocchi M, Gaozza L, Semprucci F. 2021. Changes in taxonomic structure and functional traits of nematodes as tools in the assessment of port impact. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 260(2):107524 DOI 10.1016/j.ecss.2021.107524.
- Louati H, Ben O, Soltani A, Got P, Mahmoudi E, Cravo-laureau C, Duran R, Aissa P, Pringault O. 2013. The roles of biological interactions and pollutant contamination in shaping microbial benthic community structure. *Chemosphere* 93(10):2535–2546 DOI 10.1016/j.chemosphere.2013.09.069.
- Macedo SJ, da Silva HKP, Brayner FMM, Duarte M, de Barbosa AMF. 2007. Heavy metal concentrations in sediments of the Capibaribe river estuary in the Metropolitan Region of Recife, Pernambuco-Brazil. *WIT Transactions on Ecology and the Environment* 102:1–9.
- Maciel DC, Castro ÍB, de Souza JRB, Yogui GT, Fillmann G, Zanardi-Lamardo E. 2018. Assessment of organotins and imposex in two estuaries of the northeastern Brazilian coast. *Marine Pollution Bulletin* 126(1):473–478 DOI 10.1016/j.marpolbul.2017.11.061.
- Maciel DC, de Souza JRB, Taniguchi S, Bicego MC, Zanardi-Lamardo E. 2015. Sources and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in a an urbanized tropical estuary and adjacent shelf, Northeast of Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 101(1):429–433 DOI 10.1016/j.marpolbul.2015.09.051.
- Maciel DC, de Souza JRB, Taniguchi S, Bicego MC, Schettini CAF, Zanardi-Lamardo E. 2016. Hydrocarbons in sediments along a tropical estuary-shelf transition area: sources and spatial distribution. *Marine Pollution Bulletin* 113(1–2):566–571 DOI 10.1016/j.marpolbul.2016.08.048.
- Medeiros PM, Caruso Bicego M. 2004. Investigation of natural and anthropogenic hydrocarbon inputs in sediments using geochemical markers. I. Santos, SP—Brazil. *Marine Pollution Bulletin* 49(9–10):761–769 DOI 10.1016/j.marpolbul.2004.06.001.
- Moens T, Braeckman U, Derycke S, Fonseca G, Gallucci F, Gingold R, Guillini K, Ingels J, Leduc D, Vanaverbeke J, Van Colen C, Vanreusel A, Vincx M. 2014. Ecology of free-living marine nematodes. In: Schmidt-Rhaesa A, ed. *Handbook of Zoology*. Second Edition. Berlin: De Gruyter, 109–152.
- Montagna PA, Baguley JG, Cooksey C, Hartwell I, Hyde LJ, Hyland JL, Kalke RD, Kracker LM, Reuscher M, Rhodes ACE. 2013. Deep-sea benthic footprint of the Deepwater Horizon blowout. *PLOS ONE* 8(8):e70540 DOI 10.1371/journal.pone.0070540.

- Moreno M, Semprucci F, Vezzulli L, Balsamo M, Fabiano M, Albertelli G. 2011. The use of nematodes in assessing ecological quality status in the Mediterranean coastal ecosystems. *Ecological Indicators* 11(2):328–336 DOI 10.1016/j.ecolind.2010.05.011.
- Noriega C, Araujo M, Flores-Montes M, Araujo J. 2019. Trophic dynamics (Dissolved Inorganic Nitrogen-DIN and Dissolved Inorganic Phosphorus-DIP) in tropical urban estuarine systems during periods of high and low river discharge rates. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 91(2):462 DOI 10.1590/0001-3765201920180244.
- Noronha TJM, da Silva HKP, Duarte MMB. 2011. Avaliação das concentrações de metais pesados em sedimentos do Estuário Do Rio Timbó, Pernambuco-Brasil. *Arquivos de Ciências do Mar* 44:70–72 DOI 10.32360/acmar.v44i2.164.
- Nunes de Souza J, Laís M, Vieira M, de Souza B. 2021. Responses of functional traits of macrobenthic communities on the presence of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons contamination in three tropical estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 250(1):107105 DOI 10.1016/j.ecss.2020.107105.
- Port of Recife. 2021. Infrastructure. Available at <https://www.portodorecife.pe.gov.br/mep.php> (accessed 18 January 2022).
- Pusceddu ANP, Raschetti SIF, Irto SIM, Olmer MAH. 2007. Effects of intensive mariculture on sediment biochemistry. *Ecological Applications* 17:1366–1378 DOI 10.1890/06-2028.1.
- Radashevsky VI. 2012. Spionidae (Annelida) from shallow waters around the British Islands: an identification guide for the NMBAQC Scheme with an overview of spionid morphology and biology. *Zootaxa* 3152(1):1–35 DOI 10.11646/zootaxa.3152.1.1.
- Santana C, Fernandes J, Machado J. 2017. Revista sanitary exhaustion in Abreu e Lima City: the shocks caused in Timbó river Exaustão sanitária na cidade de Abreu e Lima: os choques causados no rio Timbó. *Revista Geama* 3:29–36.
- Scanes E, Scanes PR, Ross PM. 2020. Climate change rapidly warms and acidifies Australian estuaries. *Nature Communications* 11(1):1–11 DOI 10.1038/s41467-020-15550-z.
- Schratzberger M, Ingels J. 2018. Meiofauna matters: the roles of meiofauna in benthic ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 502(2):12–25 DOI 10.1016/j.jembe.2017.01.007.
- Schratzberger M, Wall CM, Reynolds WJ, Reed J, Waldock MJ. 2002. Effects of paint-derived tributyltin on structure of estuarine nematode assemblages in experimental microcosms. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 272(2):217–235 DOI 10.1016/S0022-0981(02)00129-6.
- Semprucci F, Balsamo M, Sandulli R. 2016. Assessment of the ecological quality (EcoQ) of the Venice lagoon using the structure and biodiversity of the meiofaunal assemblages. *Ecological Indicators* 67:451–457 DOI 10.1016/j.ecolind.2016.03.014.
- Silva RCP, Paz DHF, Nascimento CMS, Araújo GVR, Tavares RG. 2011. Impactos Ambientais na bacia do rio Capibaribe: avaliação da Poluição de suas águas no centro da cidade do Recife-PE. In: XIX Simpósio Bras. Recur. Hídricos. Maceió-AL.
- Soetaert K, Vincx M, Wittoeck J, Tulkens M. 1995. Meiobenthic distribution and nematode community structure in five European estuaries. *Hydrobiologia* 311:185–206 DOI 10.1007/BF00008580.
- Stogiannidis E, Laane R. 2015. Source characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons by using their molecular indices: an overview of possibilities. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* 234:49–133 DOI 10.1007/978-3-319-10638-0.
- Suguio K. 1973. *Introdução à sedimentologia*. Sao Paulo: Edgard Blucher/EDUSP, 317.

- Supp SR, Ernest SKM. 2014. Species-level and community-level responses to disturbance: a cross-community analysis. *Ecology* 95(7):1717–1723 DOI 10.1890/13-2250.1.
- Tolosa I, Mesa-Albernas M, Alonso-Hernandez CM. 2009. Inputs and sources of hydrocarbons in sediments from Cienfuegos bay, Cuba. *Marine Pollution Bulletin* 58(11):1624–1634 DOI 10.1016/j.marpolbul.2009.07.006.
- Tremblay L, Kohl SD, Rice JA, Gagné J-P. 2005. Effects of temperature, salinity, and dissolved humic substances on the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to estuarine particles. *Marine Chemistry* 96(1–2):21–34 DOI 10.1016/j.marchem.2004.10.004.
- United States Environmental Protection Agency. 2018. Regional screening levels (RSLs)-user’s guide. National Center for Environmental Assessment. c/o-Risk. Available at <https://www.epa.gov/risk/regional-screening-levels-rsls-usersguide#Spec>.
- Valença APMC, Santos PJP. 2012. Macrobenthic community for assessment of estuarine health in tropical areas (Northeast, Brazil): Review of macrofauna classification in ecological groups and application of AZTI Marine Biotic Index. *Marine Pollution Bulletin* 64(9):1809–1820 DOI 10.1016/j.marpolbul.2012.06.003.
- van Damme D, Heip C, Willems KA. 1984. Influence of pollution on the harpacticoid copepods of two North Sea estuaries. *Hydrobiologia* 112:143–160 DOI 10.1007/BF00006919.
- Veiga P, Rubal M, Besteiro C. 2009. Shallow sublittoral meiofauna communities and sediment polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) content on the Galician coast (NW Spain), six months after the Prestige oil spill. *Marine Pollution Bulletin* 58(4):581–588 DOI 10.1016/j.marpolbul.2008.11.002.
- Wallace RB, Baumann H, Grear JS, Aller RC, Gobler CJ. 2014. Coastal ocean acidification: the other eutrophication problem. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 148:1–13 DOI 10.1016/j.ecss.2014.05.027.
- Wang Y-S, Wu F-X, Gu Y-G, Huang H-H, Gong X-Y, Liao X-L. 2021. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in the intertidal sediments of Pearl River Estuary: characterization, source diagnostics, and ecological risk assessment. *Marine Pollution Bulletin* 173:113140 DOI 10.1016/j.marpolbul.2021.113140.
- Warwick RM, Platt HM, Clarke KR, 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(1–2):119–142 DOI 10.1016/0022-0981(90)90180-K.
- Washburn T, Rhodes ACE, Montagna PA. 2016. Benthic taxa as potential indicators of a deep-sea oil spill. *Ecological Indicators* 71:587–597 DOI 10.1016/j.ecolind.2016.07.045.
- Zakaria MP, Takada H, Tsutsumi S, Ohno K, Yamada J, Kouno E, Kumata H. 2002. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rivers and estuaries in Malaysia: a widespread input of petrogenic PAHs. *Environmental Science & Technology* 36:1907–1918 DOI 10.1021/es011278+.
- Zanardi-Lamardo E, Mitra S, Vieira-Campos AA, Cabral CB, Yogui GT, Sarkar SK, Biswas JK, Godhantaraman N. 2019. Distribution and sources of organic contaminants in surface sediments of Hooghly river estuary and Sundarban mangrove, eastern coast of India. *Marine Pollution Bulletin* 146(10):39–49 DOI 10.1016/j.marpolbul.2019.05.043.
- Zarghami M, Company TP, Nazarhaghghi F, Sohrabi M. 2019. Effect of urban pollutants on distribution of meiofauna worms in the southern cities of Caspian Sea. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* 9(3):73–88.
- Zeppilli D, Sarrazin J, Leduc D, Arbizu PM, Fontaneto D, Fontanier C, Gooday AJ, Kristensen RM, Ivanenko VN, Sørensen MV, Vanreusel A, Thébault J, Mea M, Allio N,

- Andro T, Arvigo A, Castrec J, Danielo M, Foulon V, Fumeron R, Hermabessiere L, Hulot V, James T, Langonne-Augen R, Le Bot T, Long M, Mahabror D, Morel Q, Pantalos M, Pouplard E, Raimondeau L, Rio-Cabello A, Seite S, Traisnel G, Urvoy K, Van Der Stegen T, Weyand M, Fernandes D. 2015.** Is the meiofauna a good indicator for climate change and anthropogenic impacts? *Marine Biodiversity* **45**(3):505–535 DOI [10.1007/s12526-015-0359-z](https://doi.org/10.1007/s12526-015-0359-z).
- Zhang D, Wang J-J, Ni H-G, Zeng H. 2017.** Spatial-temporal and multi-media variations of polycyclic aromatic hydrocarbons in a highly urbanized river from South China. *Science of the Total Environment* **581**(4):621–628 DOI [10.1016/j.scitotenv.2016.12.171](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.171).
- Zonta R, Botter M, Cassin D, Pini R, Scattolin M, Zaggia L. 2007.** Sediment chemical contamination of a shallow water area close to the industrial zone of Porto Marghera (Venice Lagoon, Italy). *Marine Pollution Bulletin* **55**(10–12):529–542 DOI [10.1016/j.marpolbul.2007.09.024](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2007.09.024).