



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

RAFAEL ANAISCE DAS CHAGAS

**Avaliação da integridade biótica em estuários:
análise cienciométrica e comparação entre tamanhos de malha na avaliação biológica**

Belém - PA
2023

RAFAEL ANAISCE DAS CHAGAS

**Avaliação da integridade biótica em estuários:
análise cienciométrica e comparação entre tamanhos de malha na avaliação biológica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia do convênio da Universidade Federal do Pará e Embrapa Amazônia Oriental, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ecologia.

Área de concentração: Ecologia.
Linha de Pesquisa: Ecologia Teórica e Aplicada

Orientador: Prof. Dr. Raphael Ligeiro

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

- D229a das Chagas, Rafael Anaisce.
 Avaliação da integridade biótica em estuários : análise
 cienciométrica e comparação entre tamanhos de malha na avaliação
 biológica / Rafael Anaisce das Chagas. — 2023.
 76 f. : il. color.
- Orientador(a): Prof. Dr. Raphael Ligeiro
 Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Pará, Instituto de
 Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ecologia,
 Belém, 2023.
1. Ecossistema estuarino. 2. Integridade ambiental. 3.
 Bentos. 4. Metodologia de amostragem. 5. Biodiversidade
 Amazônica. I. Título.

CDD 016.5745

RAFAEL ANAISCE DAS CHAGAS

**Avaliação da integridade biótica em estuários:
análise cienciométrica e comparação entre tamanhos de malha na avaliação biológica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia do convênio da Universidade Federal do Pará e Embrapa Amazônia Oriental, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ecologia pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA:

Prof. Dr. Raphael Ligeiro
Universidade Federal do Pará – *Campus* Belém (Presidente/Orientador)

Prof. Dr. Luciano Fogaça de Assis Montag
Universidade Federal do Pará – *Campus* Belém (Membro interno)

Profa. Dra Karina Dias da Silva
Universidade Federal do Pará – *Campus* Altamira (Membro interno)

Prof. Dr. Colin Robert Beasley
Universidade Federal do Pará – *Campus* Bragança (Membro externo)

Prof. Dr. Leandro Schlemmer Brasil
Universidade Federal de Mato Grosso (Membro externo)

Prof. Dr. José Souto Rosa Filho
Universidade Federal de Pernambuco (Membro externo)

Profa. Dra. Joseline Molozzi
Universidade Estadual da Paraíba (Membro externo)

Aprovada em: 30 de março de 2023.

Apresentação pública remota: <https://meet.google.com/dsn-dnpm-xaf>

*A minha avó Genoveva Siqueira Anaisce, por
tudo que a sua simplicidade me ensinou
(In memoriam).*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela força diária, pelas bênçãos em minha vida e pelas pessoas nas quais inseriu em minha caminhada.

A minha família, em especial a minha amada e eterna vó Genoveva Anaisce (*in memoriam*), minha mãe Maria Dolores Anaisce, minha irmã Renata Anaisce e a minha sobrinha/afilhada Giovanna (nossa *Vieirinha*) que está chegando em breve ao mundo.

A minha noiva Mara Barros, que incondicionalmente me apoia e auxilia em tudo que preciso e pela companhia nas noites virando escrevendo não apenas esta tese, mas muitos outros trabalhos. Acima de tudo meus agradecimentos pela família que ela me presenteou (Elton, Camyla e Ana Clara). Que Deus continue a abençoar nossa família e que permita que em breve aumente um pouquinho mais (rsrs)!

A Capes pelo financiamento da bolsa de estudo entre os anos de 2019 e 2021, que me deu condições de efetuar esse trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGEco/UFPA) pelo suporte técnico ao desenvolvimento deste estudo.

Ao meu orientador, Dr. Raphael Ligeiro, que desde o ano de 2019, compartilha suas experiências e conhecimento, o que possibilitou esta pesquisa.

Ao Dr. Luciano Montag, Dr. Colin Beasley e Dr. Leandro Brasil pelas considerações no texto base na qualificação desta tese, realizada em março de 2022, que possibilitaram ajustes importantes para a versão final.

Ao prof. Dr. Leandro Juen pela leitura criteriosa na sessão 1 desta tese e o respectivo compartilhamento de seu conhecimento a partir das considerações pautadas.

A prof.^a Dr.^a Andrea Bezerra pelo apoio durante o doutorado e pela disponibilização dos materiais e estrutura necessária para o processamento de material e análise do estudo que resultou na sessão 2 desta tese. Além disso, por sua amizade, conselhos e pelo acolhimento em sua sala/laboratório entre 2021 e 2022, período no qual atuei como professor substituto na UFRA.

Ao meu amigo Weverton Santos pela amizade e apoio constante. Além disso, pela ajuda no processo de triagem e leitura dos documentos utilizados na sessão 1 e, assim como a Mara, pela ajuda nas coletas, triagem, identificação e análise da sessão 2 desta tese.

Ao meu amigo Wagner Santos pela amizade, apoio e força, principalmente por sua presença constante, independentemente de qualquer coisa.

Em suma, meus sinceros agradecimentos a todos!

“Prudência é a ferramenta que te coloca
preparado no dia da oportunidade”.

Tiago Brunet

Avaliação da integridade biótica em estuários: análise cienciométrica e comparação entre tamanhos de malha na avaliação biológica

RESUMO GERAL

A avaliação da condição ecológica do ambiente estuarino é uma prioridade em todo o globo, em função da multitude de serviços ecossistêmicos que ele proporciona. Esta tese tem como objetivo contribuir com o tema a partir de duas abordagens essenciais, divididas em duas sessões. Na primeira sessão da tese, foi realizada uma análise cienciométrica dos estudos sobre avaliação da integridade biótica em estuários. Os resultados indicam que, apesar do crescimento no número de publicações, ainda são poucos pesquisadores atuando com o tema. Os países europeus (principalmente Espanha e Portugal) e os EUA dominam a produção científica, possivelmente em virtude da promulgação de diretrizes de avaliação ambiental proposta nesses países. O autor espanhol Angel Borja desponta como autor de produção científica mais influente, com participação no desenvolvimento dos índices mais aplicados no mundo (AMBI e M-AMBI). Dentre os índices bióticos mais utilizados, destacam-se aqueles que utilizam os macroinvertebrados bentônicos como organismos indicadores dos distúrbios antrópicos. Verificamos que as métricas mais utilizadas nos índices são relacionadas a estrutura da comunidade (e.g., riqueza, abundância e biomassa), parâmetros abióticos (e.g., salinidade, temperatura) e poluentes (e.g., metais pesados). Os resultados destacam uma preocupação com os métodos utilizados, existindo uma variedade de técnicas, equipamentos e delineamentos amostrais sendo aplicados. Outro ponto que se destaca é a grande lacuna de estudos nos países tropicais, principalmente devido à carência de índices específicos para essa região. Na segunda sessão da tese, foi realizada uma comparação da amostragem feita com diferentes tamanhos de malhas (0,5 mm, 1,0 mm e 2,0 mm) para a coleta da comunidade de macroinvertebrados bentônicos. Independentemente do tamanho de malha utilizado, as variáveis biológicas mensuradas não mostraram diferenças. Isso permite que estudos que objetivam a caracterização ecológica de habitats bentônicos ou investigações de relações entre os organismos e o habitat sejam realizados utilizando uma malha de tamanho maior, o que permite uma abordagem mais econômica e mais rápida. No entanto, para avaliações de biodiversidade, o uso de malha de 0,5 mm apresenta melhores resultados, englobando maior abundância de indivíduos e riqueza de espécies. As informações apresentadas por esta tese subsidiam e estimulam o desenvolvimento de índices de avaliação específicos para a região tropical, considerando suas particularidades locais. Além disso, indicamos que estudos que objetivam a caracterização biológica de comunidades bentônicas podem ser realizados utilizando um tamanho de malha maior. Mesmo assim, recomendamos que a escolha por um determinado tamanho de malha deve ser avaliada cautelosamente, baseada nos objetivos específicos de cada estudo.

Palavras-chave: Ecossistema estuarino; Integridade ambiental; Macroinvertebrados.

Assessment of biotic integrity in estuaries: scientometric analysis and comparison between mesh sizes on the biological evaluation

GERAL ABSTRACT

The assessment of the ecological condition of the estuarine environment is a priority worldwide, due to the multitude of ecosystem services it provides. This thesis aims to contribute to the theme from two essential approaches, divided into two sessions. In the first session of the thesis, a scientometric analysis of studies on the assessment of biotic integrity in estuaries was carried out. The results indicate that, despite the growth in the number of publications, there are still few researchers working with the subject. European countries (mainly Spain and Portugal) and the USA dominate scientific production, possibly due to the enactment of proposed environmental assessment guidelines in these countries. The Spanish author Angel Borja stands out as the author with the most influential scientific production, with participation in the development of the most applied indices in the world (AMBI and M-AMBI). Among the most used biotic indices, those that use benthic macroinvertebrates as indicators of anthropic disturbances stand out. We verified that the most used metrics in the indices are related to community composition (e.g., richness, abundance and biomass), abiotic parameters (e.g., salinity, temperature) and pollutants (e.g., metals). The results highlight a concern with the methodological aspects used, with a variety of techniques, equipment and sample designs being applied. Another point that stands out is the great absence of studies in tropical countries, mainly due to the lack of specific indices for this region. In the second session of the thesis, a comparison of the sampling made with different mesh sizes (0.5 mm, 1.0 mm and 2.0 mm) was carried out for the collection of the community of benthic macroinvertebrates. The results showed that, regardless of the mesh size used, the biological variables measured did not show significant differences. This allows studies that aim at the biological characterization of benthic habitats or investigations of relationships between organisms and the habitat to be carried out using a larger mesh, which allows for a more economical approach, done in less time. However, for biodiversity assessments, the use of a 0.5 mm mesh presents better results, encompassing greater abundance of organisms and species richness. The information presented in this thesis subsidize and stimulate the development of specific evaluation indexes for the tropical region, considering its local particularities. In addition, we indicate that studies that aim at the biological characterization of benthic communities can be carried out using a larger mesh size. Even so, we recommend that the choice for a given mesh size should be carefully evaluated, based on the specific objectives of each study.

Keywords: Estuarine ecosystem. Environmental integrity. Macrobenthos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	12
REFERÊNCIAS	16
2. Sessão I	21
Scientometrics on the assessment of biotic integrity in estuaries	22
Abstract.....	23
1. Introduction.....	24
2. Material and methods.....	25
<i>2.1 Data Collection.....</i>	<i>25</i>
<i>2.2 Description of the current panorama of scientific production</i>	<i>27</i>
<i>2.3 Scientific production and influential authorship</i>	<i>28</i>
<i>2.4 Applicability of indices of biotic integrity assessment.....</i>	<i>28</i>
3. Results	29
<i>3.1 Description of the current panorama of scientific production</i>	<i>29</i>
<i>3.2 Scientific production and influential authorship</i>	<i>31</i>
<i>3.3 Applicability of biotic integrity assessment indexes</i>	<i>34</i>
4. Discussion	38
<i>4.1 Description of the current panorama of scientific production</i>	<i>38</i>
<i>4.2 Scientific production and influential authorship</i>	<i>39</i>
<i>4.3 Application of the biotic integrity assessment indexes</i>	<i>41</i>
5. Conclusion	43
Acknowledgments	43
Reference	44
3. Sessão II.....	52
A escolha do tamanho da malha amostral na avaliação quantitativa do bentos estuarino	53
Resumo.....	54
Introdução	54
Material e métodos.....	55
<i>Area de estudo</i>	<i>55</i>
<i>Procedimento amostral.....</i>	<i>56</i>
<i>Triagem e identificação taxonômica.....</i>	<i>57</i>
<i>Variáveis biológicas investigadas</i>	<i>57</i>

<i>Análise de dados</i>	58
Resultados	59
Discussão	66
Referências	67
4. CONCLUSÃO GERAL	72
5. ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO	73
6. APÊNDICES	77

1. INTRODUÇÃO GERAL

Estuários são caracterizados como corpos d'água costeiros que possuem contato com o mar e com os rios. Deste modo, constituem-se como um ambiente de transição rio-mar, que é acometido por influências das correntes fluviais e de marés (Bernardino et al., 2015; Day Jr et al., 2013; McLusky & Elliott, 2004). O ambiente estuarino é um ecossistema único e sua importância abrange tanto características ecológicas quanto socioeconômicas (Duarte & Vieira, 1997; Silva, 2000; Whitfield & Elliott, 2011).

Os estuários são um dos ecossistemas mais produtivos da natureza, sendo responsável pela manutenção de uma grande biodiversidade (Bernardino et al., 2015; Lana & Bernardino, 2018; Silva Junior et al., 2017). Eles atuam como protetores da região costeira de ação de grandes ondas e tempestades, possuindo outras inúmeras funções ecológicas, dentre as quais destacam-se a abundância de recursos pesqueiros (p.ex., peixes, moluscos e crustáceos), que utilizam este ambiente como área de reprodução e alimentação. Além disso, serve com habitat natural para muitas espécies de aves e mamíferos (Barreira e Castro, 2016).

Em função de sua alta produtividade, o ambiente estuarino tem relevante importância socioeconômica para as populações tradicionais (Thrush et al., 2013). Dentre as atividades, destacam-se a pesca, a aquicultura, a recreação, a atividade portuária, a agricultura, além de servir como via de acesso ao interior do continente (Barreira e Castro, 2016). Por conta disso, historicamente o desenvolvimento econômico das cidades litorâneas esteve comumente associado aos estuários.

Uma característica comum aos estuários é a alta resiliência ambiental a perturbações naturais, capaz de reequilibrar gradualmente as condições físico-químicas e a biota após encerradas as perturbações (Liu et al., 2021). No entanto, a complexidade ambiental estuarina, somadas à sua vulnerabilidade à influência antrópica, faz com que estes ambientes estejam em constante ameaça. Essa vulnerabilidade advém da proximidade com centros urbanos, portos, parques aquícolas, agrícolas e/ou industriais, o que acarreta no descarte de efluentes (Leorri et al., 2008; Mulik et al., 2020; Quataert et al., 2011; Wetzel et al., 2012; Zhou et al., 2018). Todas essas pressões causam o enriquecimento orgânico e, conseqüentemente, a eutrofização e até destruição desses ambientes (Wang et al., 2021). Atualmente os estuários são ecossistemas altamente alterados e que requerem monitoramento e avaliação constante (Wetzel et al., 2012).

Nas últimas décadas, diversas metodologias foram desenvolvidas objetivando a caracterização do nível de integridade ambiental de estuários. Dentre as metodologias desenvolvidas, índices bióticos são constantemente utilizados na avaliação da condição

ecológica de estuários (Borja et al., 2000; Bryce et al., 2002; Deegan et al., 1997; Pérez-Domínguez et al., 2012). Essa avaliação ocorre a partir de métricas relacionadas à sensibilidade dos organismos à degradação ambiental (Borja et al., 2000; Sigamani et al., 2015).

Os índices atuam como ferramentas na avaliação ambiental, auxiliando na detecção dos impactos (Diaz et al. 2004). Isso é possível pois estes índices relacionam atributos da comunidade com estressores ambientais (Engle & Summers, 1999). O Índice de Integridade Biótica (IBI – *Index of Biotic Integrity*) foi originalmente desenvolvido para sistemas de água doce utilizando a ictiofauna como indicadores dos distúrbios ambientais (Karr, 1981, 1991). Posteriormente, foram desenvolvidos índices para outros ambientes, tais como o estuarino, principalmente com base em Pearson e Rosenberg (1978) e Karr (1981). Muitos destes índices foram desenvolvidos segundo legislações e diretrizes ambientais, tais como a *European Water Framework Directive* (WFD, Directive 2000/60/EC), na União Europeia (European Commission, 2000).

Os estuários são ambientes naturalmente estressantes pois sofrem constantemente ações das ondas, variação físico-químicas (p.ex., salinidade e temperatura) e remoção do substrato, o que explicaria uma baixa resposta de índices taxonômicos (de Souza et al., 2021; Liu et al., 2021). Sendo assim, a utilização de métricas adequadas são essenciais para uma avaliação correta e precisa (Hallett et al., 2016; O'Brien et al., 2016; Pinto et al., 2009), pois sintetizam as informações biológicas em dados quantitativos possibilitando a classificação da condição ecológica do ambiente (O'Brien et al., 2016). Essas informações são importantes para o estabelecimento de medidas mitigatórias, e uma correta gestão e manejo adequado do ambiente estuarino.

Atualmente existem vários índices de avaliação da integridade biótica de ambientes estuarinos. No entanto, não há consenso sobre qual a melhor abordagem de estudo ou a melhor metodologia a ser aplicada (Muniz et al., 2012). Isso advém principalmente das peculiaridades e da complexidade ambiental de cada ecossistema. Neste contexto, é bem comum a aplicação e teste de mais de um índice nos estudos (Borja et al., 2015; Cardoso et al., 2012; Dauvin et al., 2012; Pandey et al., 2021; Pinto et al., 2009; Wetzel et al., 2012). Há estudos que sugerem a calibração de índices bióticos com índices de geoacumulação e abordagens multivariadas (Pandey et al., 2021). Essa abordagem integrada de monitoramento e avaliação dos ecossistemas estuarinos é promissora (Liu et al., 2021), principalmente devido o desafio que é avaliar os impactos nos estuários.

Existe uma diversidade de grupo de organismos que são utilizados na obtenção das respostas a estressores ambientais nos corpos hídricos, incluindo peixes (Deegan et al., 1997;

Fisch et al., 2016; Hughes et al., 2002), crustáceos (Fisch et al., 2015), recifes de corais (Jamerson et al., 2001), invertebrados terrestres (Kimberling et al., 2001), aves (Bryce et al., 2002; Glennon & Porter, 2005), anfíbios (Micacchion, 2004) e macroinvertebrados bentônicos (Borja et al., 2008; Borja et al., 2000; Cardoso et al., 2012; Llansó et al., 2002; Macedo et al., 2016; Silva et al., 2017; Van Dolah et al., 1999; Weisberg et al., 1997). Há também, estudos que propõem índices multitaxa como, por exemplo, utilizando peixes, lagostim e anfíbios (Simon et al., 2000), aves e anfíbios (Crewe & Timmermans, 2005), insetos aquáticos e macroinvertebrados bentônicos (Bonada et al., 2006) e insetos aquáticos e peixes (Chen et al., 2017).

Considerando a gama de indicadores biológicos utilizados, se destacam os macroinvertebrados bentônicos (Bonada et al., 2006), pelas vantagens advindas da íntima e obrigatória relação com o substrato (Gray & Elliott, 2009), características biológicas (*e.g.* ciclo de vida curto) e ecologia (*e.g.*, diversidade e abundância, amplo gradiente de sensibilidade às alterações antropogênicas), que possibilitam respostas rápidas aos estressores ambientais (Borja et al., 2000; Docile & Figueiró, 2013; Weisberg et al., 1997).

Os métodos de amostragem da macrofauna bentônica são diversos e não há padronização amostral nos estudos. Com a inexistência (e mesmo impossibilidade) de um delineamento amostral padronizado, a seleção dos métodos de coleta dependerá das características sedimentares na área de estudo, recursos financeiros e tempo disponíveis, e objetivo do estudo (Rumohr, 2009). Tal escolha faz-se importante, pois determina a eficiência da coleta (Colling & Bemvenuti, 2011; Reuscher et al., 2018; Taherdoost, 2016), a eficácia da avaliação a ser inferida (Ligeiro et al., 2020) e o investimento a ser aplicado (Eleftheriou, 2013; Pinna et al., 2014).

O delineamento amostral é essencial para o sucesso da coleta de macroinvertebrados bentônicos (Colling & Bemvenuti, 2011; Couto et al., 2010; Pinna et al., 2014), principalmente em termos do tamanho da abertura da malha a ser utilizada (Colling & Bemvenuti, 2011; Rumohr, 2009). Uma escolha inadequada pode representar um aumento considerável no investimento necessário e tempo de processamento das amostras (lavagem, triagem e identificação taxonômica) (Colling & Bemvenuti, 2011; Couto et al., 2010; Eleftheriou, 2013; Rumohr, 2009), o que pode acarretar na inviabilidade da avaliação a ser efetuada.

O grande número de ameaças aliado à importância estratégica dos estuários demanda estratégias de conservação e gestão ambiental imediatas e eficientes, que por sua vez dependem de uma correta avaliação da condição ecológica e ambiental desses ecossistemas. Para isso, deve-se levar em consideração a identificação das lacunas de pesquisa, bem como as limitações

de conhecimento acerca da avaliação do ambiente estuarino e, conseqüentemente, uma correta avaliação ambiental. Um passo importante a ser dado é sumarizar as informações existentes na literatura (Adegoke & Oni, 2018; Tranfield et al., 2003). A cienciometria surge como campo de pesquisa que possibilita a avaliação da produtividade e a popularidade dos diferentes atores com base em dados bibliográficos disponíveis publicamente. Além disso, destacam padrões estruturais e cognitivos acerca de um tema e indicam os principais tópicos abordados (Cobo et al., 2011). A partir das inferências realizadas, a cienciometria pode atuar como um indicador de investimento, apontando, por exemplo, áreas prioritárias para a realização de pesquisas (Kinouchi, 2014).

Deste modo, o presente estudo está dividido em duas seções, cada uma com seus objetivos descritos a seguir:

Na seção 1 foi realizada uma análise cienciométrica acerca dos estudos que avaliaram a integridade biótica em estuários. Os objetivos foram: (i) Descrever o panorama atual da produção científica acerca do tema; (ii) Caracterizar as autorias mais produtiva/influentes e a organização da colaboração científica; (iii) Analisar os índices de integridade aplicados nos estudos, as métricas mais utilizadas e a metodologia utilizada.

Na seção 2 foi realizado um estudo de comparação da amostragem com diferentes tamanhos de malhas na coleta da comunidade bentônica. Os objetivos propostos foram: (i) testar se peneiras com diferentes tamanhos de malha fornecem diferentes composições da comunidade bentônica; (ii) comparar o desempenho de diferentes indicadores ecológicos com base em dados utilizando peneiras com abertura de malha de 0,5 mm, 1,0 mm e 2,0 mm de malha.

REFERÊNCIAS

- Adegoke, D. & Oni, O. (2018). *Knowledge Production on Peace and security in Africa: Mapping the epistemic terrain of peace and security in Africa*. African Leadership Centre.
- Barreira e Castro, C. (2016). Estuários e manguezais. In C. Gerling, C. Ranieri, L. Fernandes, M.T.d.J. Gouveia & V. Rocha (Eds.), *Manual de ecossistemas marinhos e costeiros para educadores* (pp. 20-21). Editora Comunicar.
- Bernardino, A.F., Barros, F., Perez, L.F., Netto, S.A., Colling, L.A., Pagliosa, P.R., Lana, P.C., Maia, R.C., Christofolletti, R.A., Rosa Filho, J.S. & Costa, T.M. (2015). Monitoramento de ecossistemas bentônicos estuarinos. In A. Turra & M.R. Denadai (Eds.), *Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros* (pp. 134-154). ReBentos.
- Bonada, N., Prat, N., Resh, V.H. & Statzner, B. (2006). Developments in aquatic insect ibomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology*, 51, 495-523.
- Borja, A., Dauer, D.M., Llansó, R.J., Muxika, I., Rodríguez, J.G. & Schaffner, L.C. (2008). Assessing estuarine benthic quality conditions in Chesapeake Bay: A comparison of three indices. *Ecological Indicators*, 8(4), 395-403.
- Borja, A., Franco, J. & Pérez, V. (2000). A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12), 1100-1114.
- Borja, Á., Marín, S.L., Muxika, I., Pino, L. & Rodríguez, J.G. (2015). Is there a possibility of ranking benthic quality assessment indices to select the most responsive to different human pressures? *Marine Pollution Bulletin*, 97(1-2), 85-94.
- Bryce, S.A., Hughes, R.M. & Kaufmann, P.R. (2002). Development of a Bird Integrity Index: using bird assemblages as indicators of riparian condition. *Environmental Management*, 30(2), 294-310.
- Cardoso, I., Fonseca, L.C. & Cabral, H.N. (2012). Ecological quality assessment of small estuaries from the Portuguese coast based on benthic macroinvertebrate assemblages indices. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 1136-1142.
- Chen, K., Hughes, R.M., Brito, J.G., Leal, C.G., Leitão, R.P., Oliveira-Júnior, J.M.B., Oliveira, V.C., Dias-Silva, K., Ferraz, S.F.B., Ferreira, J., Hamada, N., Juen, L., Nessimian, J.L., Pompeu, P.S. & Zuanon, J. (2017). A multi-assemblage, multi-metric biological condition index for eastern Amazonia streams. *Ecological Indicators*, 78, 48-61.
- Cobo, M.J., López-Herrera, A.G., Herrera-Viedma, E. & Herrera, F. (2011). Science mapping software tools: Review, analysis, and cooperative study among tools. *Journal of the American Society for Information Science and Technology*, 62(7), 1382-1402.
- Colling, A. & Bemvenuti, C.E. (2011). Organismos bentônicos. In D. Calazans (Ed.), *Estudos oceanográficos: do instrumental ao prático* (pp. 276-295). Editora Textos.
- Couto, T., Patricio, J., Neto, J.M., Ceia, F.R., Franco, J. & Marques, J.C. (2010). The influence of mesh size in environmental quality assessment of estuarine macrobenthic communities [Article]. *Ecological Indicators*, 10(6), 1162-1173.
- Crewe, T.L. & Timmermans, S.T.A. (2005). *Assessing biological integrity of great lakes coastal wetlands using marsh bird and amphibian communities*. Great lakes Commission des Grands Lacs.
- Dauvin, J.C., Alizier, S., Rolet, C., Bakalem, A., Bellan, G., Gesteira, J.L.G., Grimes, S., de-La-Ossa-Carretero, J.A. & Del-Pilar-Ruso, Y. (2012). Response of different benthic indices to diverse human pressures. *Ecological Indicators*, 12(1), 143-153.
- Day Jr, J.W., Crump, B.C., Kemp, W.M. & Yáñez-Arancibia, A. (2013). *Estuarine Ecology* (2 ed.). Wiley-Blackwell.

- de Souza, J.V.N., 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. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 250, 07105.
- Deegan, L.A., Finn, J.T. & Buonaccorsi, J. (1997). Development and validation of an estuarine biotic integrity index [Article]. *Estuaries*, 20(3), 601-617.
- Docile, T.N. & Figueiró, R. (2013). Histórico e perspectiva da utilização de macroinvertebrados no monitoramento biológico de ecossistema aquáticos no Brasil. *Acta Scientiae & Technicae*, 1(1), 31-44.
- Duarte, A.A.L. & Vieira, J.M.P. (1997). Caracterização dos ambientes estuarinos. Mistura em estuários. *Revista Engenharia Civil*, 6, 41-55.
- Eleftheriou, A. (2013). *Methods for the Study of Marine Benthos* (4 ed.). Wiley-Blackwell.
- Engle, V.D. & Summers, J.K. (1999). Refinement, validation, and application of a benthic condition index for northern Gulf of Mexico estuaries. *Estuaries*, 22(3A), 624-635.
- European Commission. (2000). *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy (Water Framework Directive)*. Off. J. Eur. Union L327.
- Fisch, F., Branco, J.O. & Menezes, J.T. (2015). Carcinofauna como indicador da integridade biótica de um ambiente estuarino no litoral de Santa Catarina, Brasil. *Revista Ambiente & Água*, 10(2), 464-478.
- Fisch, F., Branco, J.O. & Menezes, J.T. (2016). Ictiofauna como indicador da integridade biótica de um ambiente de estuário. *Acta Biológica Colombiana*, 21(1), 27-38.
- Glennon, M.J. & Porter, W.F. (2005). Effects of land use management on biotic integrity: An investigation of bird communities. *Biological Conservation*, 126(4), 499-511.
- Gray, J.S. & Elliott, M. (2009). *Ecology of marine sediments* (2 ed.). Oxford University Press.
- Hallett, C.S., Valesini, F. & Elliott, M. (2016). A review of Australian approaches for monitoring, assessing and reporting estuarine condition: I. International context and evaluation criteria. *Environmental Science & Policy*, 66, 260-269.
- Hughes, J.E., Deegan, L.A., Weaver, M.J. & Costa, J.E. (2002). Regional application of an Index of Estuarine Biotic Integrity based on fish communities. *Estuaries*, 25(2), 250-263.
- Jamerson, S.C., Erdmann, M.V., Karr, J.R. & Potts, K.W. (2001). Charting a course toward diagnostic monitoring: A continuing review of coral reef attributes and a research strategy for creating coral reef indexes of biotic integrity. *Bulletin of Marine Science*, 69(2), 701-744.
- Karr, J.R. (1981). Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, 6(6), 21-27.
- Karr, J.R. (1991). Biological Integrity: A long-neglected aspect of water resource management. *Ecological Applications*, 1(1), 66-84.
- Kimberling, D.N., Karr, J.R. & Fore, L.S. (2001). Measuring human disturbance using terrestrial invertebrates in the shrub-steppe of eastern Washington (USA). *Ecological Indicators*, 1, 63-81.
- Kinouchi, R.R. (2014). Scientometrics: the project for a science of science transformed into an industry of measurements. *Scientiae Studia*, 12(special issue), 147-159.
- Lana, P.C. & Bernardino, A.F. (2018). *Brazilian Estuaries: A Benthic Perspective*. Springer.
- Leorri, E., Cearreta, A., Irabien, M.J. & Yusta, I. (2008). Geochemical and microfaunal proxies to assess environmental quality conditions during the recovery process of a heavily polluted estuary: The Bilbao estuary case (N. Spain). *Science of The Total Environment*, 396(1), 12-27.

- Ligeiro, R., Hughes, R.M., Kaufmann, P.R., Heino, J., Melo, A.S. & Callisto, M. (2020). Choice of field and laboratory methods affects the detection of anthropogenic disturbances using stream macroinvertebrate assemblages. *Ecological Indicators*, *115*, 106382.
- Liu, H., Gilmartin, J., Li, C.X. & Li, K.Z. (2021). Detection of time-varying pulsed event effects on estuarine pelagic communities with ecological indicators after catastrophic hurricanes [Article]. *Ecological Indicators*, *123*, 12.
- Llansó, R.J., Scott, L.C., Dauer, D.M., Hyland, J.L. & Russel, D.E. (2002). An estuarine benthic Index of Biotic Integrity for the Mid-Atlantic Region of the United States. I. Classification of assemblages and habitat definition. *Estuaries*, *25*(6A), 1219-1230.
- Macedo, D.R., Hughes, R.M., Ferreira, W.R., Firmiano, K.R., Silva, D.R.O., Ligeiro, R., Kaufmann, P.R. & Callisto, M. (2016). Development of a benthic macroinvertebrate multimetric index (MMI) for Neotropical Savanna headwater streams. *Ecological Indicators*, *64*, 132-141.
- McLusky, D.S. & Elliott, M. (2004). *The Estuarine Ecosystem: Ecology, Threats and Management* (3 ed.). Oxford University Press.
- Micacchion, M. (2004). *Integrated Wetland Assessment Program. Part 7: Amphibian Index of Biotic Integrity (AmphIBI) for Ohio Wetlands*. Ohio EPA Technical Report WET/2004-7.
- Mulik, J., Sukumaran, S. & Dias, H.Q. (2020). Is the benthic index AMBI impervious to seasonality and data transformations while evaluating the ecological status of an anthropized monsoonal estuary? *Ocean & Coastal Management*, *186*, 105080.
- Muniz, P., Hutton, M., Kandratavicius, N., Lanfranconi, A., Brugnoli, E., Venturini, N. & Gimenez, L. (2012). Performance of biotic indices in naturally stressed estuarine environments on the Southwestern Atlantic coast (Uruguay): A multiple scale approach.(Report). *Ecological Indicators*, *19*, 89–97.
- O'Brien, A., Townsend, K., Hale, R., Sharley, D. & Pettigrove, V. (2016). How is ecosystem health defined and measured? A critical review of freshwater and estuarine studies. *Ecological Indicators*, *69*, 722-729.
- Pandey, V., Venkatnarayanan, S., Kumar, P.S., Ratnam, K., Jha, D.K., Rajaguru, S. & Dharani, G. (2021). Assessment of ecological health of Swarnamukhi river estuary, southeast coast of India, through AMBI indices and multivariate tools [Article]. *Marine Pollution Bulletin*, *164*, 112031.
- Pearson, T.H. & Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography Marine Biology Annual Review*, *16*, 229-311.
- Pérez-Domínguez, R., Maci, S., Courrat, A., Lepage, M., Borja, A., Uriarte, A., Neto, J.M., Cabral, H., St.Raykov, V., Franco, A., Alvarez, M.C. & Elliott, M. (2012). Current developments on fish-based indices to assess ecological-quality status of estuaries and lagoons. *Ecological Indicators*, *23*, 34-45.
- Pinna, M., Marini, G., Mancinelli, G. & Basset, A. (2014). Influence of sampling effort on ecological descriptors and indicators in perturbed and unperturbed conditions: A study case using benthic macroinvertebrates in Mediterranean transitional waters. *Ecological Indicators*, *37*, 27-39.
- Pinto, R., Patrício, J., Baeta, A., Fath, B.D., Neto, J.M. & Marques, J.C. (2009). Review and evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. *Ecological Indicators*, *9*(1), 1-25.
- Quataert, P., Verschelde, P., Breine, J., Verbeke, G., Goetghebeur, E. & Ollevier, F. (2011). A diagnostic modelling framework to construct indices of biotic integrity: A case study of fish in the Zeeschelde estuary (Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, *94*(3), 222-233.

- Reuscher, M.G., Montagna, P.A. & Sturdivant, S.K. (2018). Sampling techniques for the Marine Benthos. In J.K. Cochran, H. Bokuniewicz & P. Yager (Eds.), *Encyclopedia of Ocean Sciences* (3 ed.). Academic Press.
- Rumohr, H. (2009). *Soft-bottom macrofauna: Collection, treatment, and quality assurance of samples*. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences.
- Sigamani, S., Perumal, M., Arumugam, S. & Veeraiyan, B. (2015). AMBI indices and multivariate approach to assess the ecological health of Vellar-Coleroon estuarine system undergoing various human activities. *Marine Pollution Bulletin*, 100(1), 334-343.
- Silva, D.R.O., Herlihy, A.T., Hughes, R.M. & Callisto, M. (2017). An improved macroinvertebrate multimetric index for the assessment of wadeable streams in the neotropical savanna. *Ecological Indicators*, 81, 514-525.
- Silva Junior, M.G., Castro, A.C.L. & Saint-Paul, U. (2017). Comparative analysis of distribution of intertidal fish assemblages in different estuarine systems on northern coast of Brazil. *Journal of Sustainable Development*, 10(2), 26-36.
- Silva, M.C. (2000). Estuários - Critérios para uma classificação ambiental. *Revista Brasileira de Recursos Hídricos*, 5(1), 25-35.
- Simon, T.P., Jankowski, R. & Morris, C. (2000). Modification of an index of biotic integrity for assessing vernal ponds and small palustrine wetlands using fish, crayfish, and amphibian assemblages along southern Lake Michigan. *Aquatic Ecosystem Health and Management*, 3, 407-418.
- Taherdoost, H. (2016). Sampling Methods in Research Methodology; How to Choose a Sampling Technique for Research. *SSRN Electronic Journal*, 5(2), 18-27.
- Thrush, S.F., Townsend, M., Hewitt, J.E., Davies, K., Lohrer, A.M., Lundquist, C. & Cartner, K. (2013). The many uses and values of estuarine ecosystems. In J. Dymond (Ed.), *Ecosystem services in New Zealand—conditions and trends* (pp. 226–237). Manaaki Whenua Press.
- Tranfield, D., Denyer, D. & Smart, P. (2003). Towards a Methodology for Developing Evidence-Informed Management Knowledge by Means of Systematic Review. *British Journal of Management*, 14, 207-222.
- Van Dolah, R.F., Hyland, J.L., Holland, A.F., Rosen, J.S. & Snoots, T.R. (1999). A benthic index of biological integrity for assessing habitat quality in estuaries of the southeastern USA. *Marine Environmental Research*, 48(4-5), 269-283.
- Wang, X.Y., Yan, J.G., Bai, J.H., Shao, D.D. & Cui, B.S. (2021). Effects of interactions between macroalgae and seagrass on the distribution of macrobenthic invertebrate communities at the Yellow River Estuary, China. *Marine Pollution Bulletin*, 164, 112057.
- Weisberg, S.B., Ranasinghe, J.A., Schaffner, L.C., Diaz, R.J., Dauer, D.M. & Frithsen, J.B. (1997). An estuarine benthic index of biotic integrity (B-IBI) for Chesapeake Bay. *Estuaries*, 20(1), 149-158.
- Wetzel, M.A., Von der Ohe, P.C., Manz, W., Koop, J.H.E. & Wahrendorf, D.-S. (2012). The ecological quality status of the Elbe estuary. A comparative approach on different benthic biotic indices applied to a highly modified estuary. *Ecological Indicators*, 19, 118–129.
- Whitfield, A. & Elliott, M. (2011). *Ecosystem and Biotic Classifications of Estuaries and Coasts*. In E. Wolanski & D.S. McLusky (Eds.), *Treatise on Estuarine and Coastal Science* (Vol. 1, pp. 99-124). Academic Press.
- Zhou, Z., Li, X., Chen, L., Li, B., Liu, T., Ai, B., Yang, L., Liu, B. & Chen, Q. (2018). Macrobenthic assemblage characteristics under stressed waters and ecological health

assessment using AMBI and M-AMBI: a case study at the Xin'an River Estuary, Yantai, China. *Acta Oceanologica Sinica*, 37(5), 77-86.

2. Sessão I

Scientometrics on the assessment of biotic integrity in estuaries

A primeira sessão desta tese foi elaborada, formatada conforme as normas do periódico científico *Ecological Indicators*, disponível em: <https://www.sciencedirect.com/journal/ecological-indicators>

Scientometrics on the assessment of biotic integrity in estuaries¹

Rafael Anaisce*

Endereço: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute, Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

Email: rafaelanaisce@hotmail.com

* Corresponding author

Leandro Juen

Endereço: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute, Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

Email: leandrojuen@gmail.com

Raphael Ligeiro

Endereço: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute, Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

Email: ligeirobio@gmail.com

Author contributions

Rafael Anaisce: Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft, Visualization. **Leandro Juen:** Writing - Review & Editing. **Raphael Ligeiro:** Conceptualization, Writing - Review & Editing, Supervision.

¹ Manuscrito em avaliação no periódico científico *Ecological Indicators*

Abstract

In this study, we conducted a scientometric analysis of studies on the assessment of ecological conditions in estuaries using biotic indicators. Thus, we sought to (1) Describe the current landscape of the scientific production on the topic; (2) Characterize the most productive/influential authorships and the organization of scientific collaboration; (3) Analyze the biotic integrity indices applied in the studies, the most used metrics, and the methods employed. After the survey process, separation, and analysis, 334 publications were selected between the years 1990 and 2021 that met all the criteria established in our study. The results indicate an increase in the number of publications along the years, but there are still few researchers working on the subject. European countries (mainly Spain and Portugal) and the USA dominate the scientific production, possibly due to the promulgation of legal guidelines in these countries regarding environmental assessments. In this context, a concentrated scientific collaboration linked to European authors stands out. The Spanish author Angel Borja stands out as the author with the most influential scientific production, with participation in the development of two of the biotic indexes most used around the world (AMBI and M-AMBI). Among the most commonly used indicators are the benthic macroinvertebrates, followed by the fish. We found that the most commonly used metrics are related to community composition (e.g., richness, abundance, biomass), abiotic parameters (e.g., salinity, temperature), and pollutants (e.g., metals). Our results indicate that methodological issues are still of great concern, given the absence of method standardization among studies. Another relevant aspect is the large gap of studies in tropical countries, which keep applying indices not developed for their regional particularities. The results of this study highlight the necessity of more studies on tropical environments, on the sensitivity of the species and about methodological aspects, which can greatly contribute for the development of the field.

Keywords: Aquatic ecosystems. Tropical estuaries. Biotic integrity. AMBI. Scientific production.

1. Introduction

Maintaining the environmental integrity of aquatic ecosystems is a priority in many developed countries (e.g., North America and Europe), and the approaches and methods used in environmental monitoring and assessment are constantly under discussion. (Llansó et al., 2002; O'Brien et al., 2016; Pinto et al., 2009). This concern is also gaining prominence in developing countries (Fisch et al., 2015; Neves & Valentin, 2011), although often there is no specific legislation or governmental stimulus to conduct studies and monitoring programs.

Multimetric indices are among the main tools used for biological monitoring of aquatic ecosystems (Pinto et al., 2009; Ruaro & Gubiani, 2013; Vadas et al., 2022), being considered fast and efficient for this purpose (Josefson et al., 2009; Karr, 1991; Silva et al., 2017). The usefulness of environmental assessment using these indices stems from the identification of effective biological metrics sensitive to environmental disturbances. Such metrics must allow for the distinction of differences between environments with high degrees of anthropogenic impact and those minimally or least-disturbed (reference sites) (Karr & Dudley, 1981; Pinto et al., 2009; Stoddard et al., 2006). The decision to select a particular group of organisms as an indicator of ecological integrity comes from their sensitivity or tolerance to environmental stresses (Bonada et al., 2006). Thus, multimetric indices act by synthesizing biological information into quantitative data capable of classifying the ecological condition of the environment (O'Brien et al., 2016). A proper assessment allows to make accurate inferences about the effects of anthropogenic impacts on aquatic environments.

Estuarine environments are one of nature's most productive ecosystems (Wolff, 1973), being responsible for maintaining a large biodiversity (Lana & Bernardino, 2018; Silva Junior et al., 2017). Due to its high productivity, the estuarine environment has an irreplaceable socioeconomic importance for human populations (Thrush et al., 2013). However, such environments are subject to numerous impacts resulting from anthropic activities (e.g., land use, deficient sanitation, use of pesticides) (Chen et al., 2004; Deegan et al., 1997). Furthermore, with the increasing urban development, the estuarine system becomes continuously more fragile and vulnerable, resulting in quantitative and qualitative changes in the biotic communities (Borja, 2014). In this context, the assessment and maintenance of ecological integrity in estuarine environments is paramount for socioeconomic development and for maintaining the equilibrium of adjacent coastal and marine systems (Borja, 2014; Cardoso et al., 2012; Llansó et al., 2002).

Listing, understanding, and summarizing existing scientific knowledge helps us to critically analyze the limitations of current knowledge and identify potential research gaps that

can be addressed or solved in future studies (Adegoke & Oni, 2018; Tranfield et al., 2003). In recent years, increasing attention has been devoted to the systematic study of scientific literature dealing with particular research domains, due to the availability of online databases coupled with the development of effective tools capable of automated analysis (Aria et al., 2020). In this context, scientometrics emerges as a field of research that makes it possible to evaluate the productivity and popularity of different actors based on publicly available bibliographic data. In addition, it highlights structural and cognitive patterns about a theme and indicates the main topics covered (Cobo et al., 2011). From the inferences made, scientometrics can act as an investment indicator, indicating, for example, priority areas for research (Kinouchi, 2014).

The number of studies involving the ecological assessment of estuarine environments is very uneven between continents or between countries. A recurring pattern is that areas of high biodiversity are also areas of great economic exploitation, often in underdeveloped countries, where economic interests take precedence over environmental issues. But that, on the other hand, still lack studies and monitoring of the possible effects of decreased ecological integrity. Thus, the compilation, organization and understanding of the scientific production on the subject is urgent, because it can enable the design of strategies and policies aimed at preserving estuarine environments, as well as identify gaps in knowledge that need to be mitigated.

In this study, we used the methodology *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (Moher et al., 2015; Salameh et al., 2020), combined with a scientometric analysis, to perform a comprehensive review of the assessment of biotic integrity in estuaries. Our objectives are: (1) To describe the current panorama of scientific production on the subject; (2) To characterize the productive/influential authorship and the organization of scientific collaboration; (3) To analyze the integrity indexes applied in the studies, the most used metrics and the methodology used. The contributions arising from this will provide comprehensive bibliographic information that will allow the direction of strategic research in future studies on the assessment of biotic integrity in estuaries.

2. Material and methods

2.1 Data Collection

We used the PRISMA protocol to standardize literature data collection (Moher et al., 2009). This protocol allows for an efficient and reliable selection of articles to be analyzed, as well as full and transparent replication of the entire method. Combined with the PRISMA protocol, we apply bibliometric analysis to assess the development of the research pipeline on this topic.

The PRISMA protocol begins with the selection of the databases to be used in the scientific literature search. In the present study, we used only the Web of Science Core Collection (WoS) (<http://www.webofknowledge.com>). The use of WoS is justified because it is a worldwide known database and because it contains the largest and one of the main bibliographic databases, which enables an exploration in the most diverse scientific domains. In addition, it incorporates journals from both the Science Citation Index Expanded and the Social Sciences Citation Index journals.

The search was performed in April 2022, and for filtering articles in WoS we used the terms (TS = (“Biotic ind*” OR “Biotic integrity” OR “Habitat integrity” OR “Ecosystem integrity” OR “Multimetric ind*” OR “Ecolog* indic*”) AND TS = (Estuar*)). The item “TS” indicates that the search was performed on the words mentioned in the title, abstract and keywords. In addition, the use of “*” allows the inclusion of derived words, making the search as broad as possible within the theme, because it allows the selection of words that were often used in the searches in derived form.

Based on the criteria described above, we found a total of 1,176 articles published between 1990 and 2021. In the screening phase, only articles whose approach contemplated the assessment of biotic integrity in estuaries were selected, determined based on reading the title, abstract, and keywords. Only articles, book chapters and review articles were considered, excluding other types of documents (Proceedings paper, Corrections, Editorial material, Data paper, etc.). In addition, we excluded articles published in 2022 because the publication period was open at the time of selection, which could affect the comparison with the other years. The application of the above criteria resulted in the filtering of 334 publications for the subsequent analyses, according to the PRISMA flowchart (Figure 1). For a more detailed analysis about the literature we performed an additional filtering, separating the articles whose approach in assessing biotic integrity in estuaries used biotic indices and those articles that considered only statistical comparisons of one or more biological metrics.

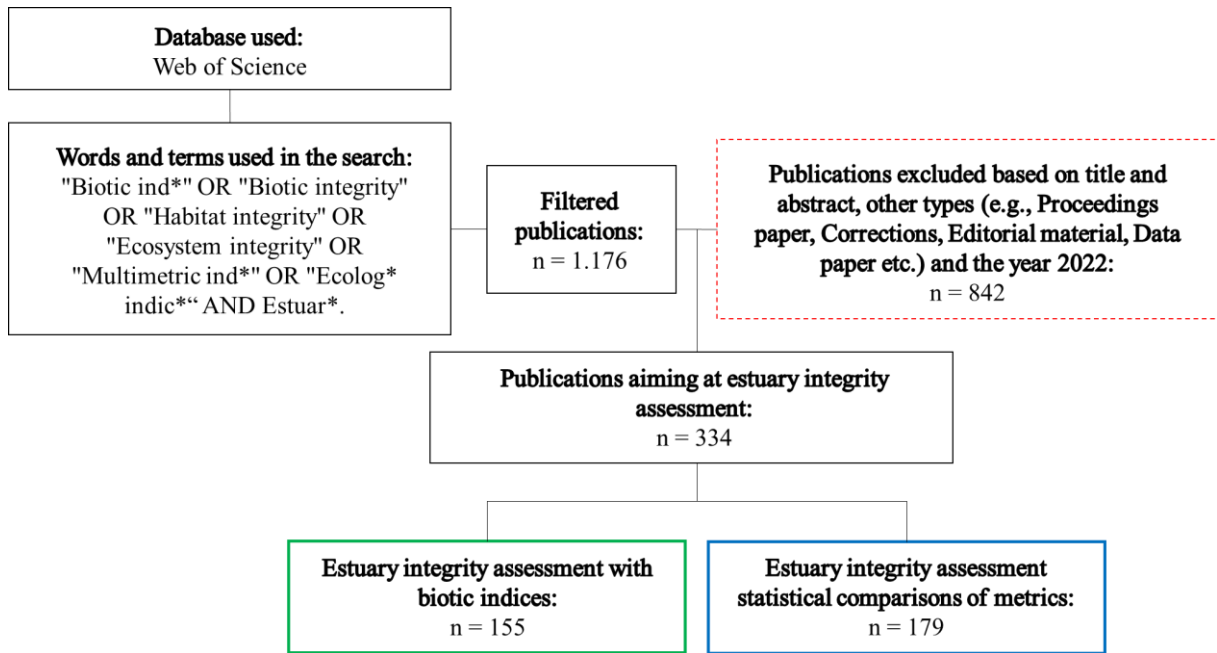


Figure 1: PRISMA flow diagram of the process of identifying and screening included articles.

The analyses were performed using the *bibliometrix* package and the function *biblioshiny* (Aria & Cuccurullo, 2017) in the software R (versão 4.1.1.) (R Core Team, 2023). We use the *bibliometrix* package because it is a comprehensive tool that allows effective scientific mapping. In addition, it offers several options to import bibliographic data from scientific databases and perform bibliometric analyses related to different objectives (Derviř, 2020; Moreira et al., 2020). In the present study, the information filtered in WoS was used in the BibTeX format.

2.2 Description of the current panorama of scientific production

To describe the current panorama of scientific production on the subject, we present data regarding journals (total number of volumes, types of articles, publication period, publication rate per year, citation rate per article, and number of references), authors (total number, number of single authorship in articles, and number of multiple authorship in articles), and scientific collaboration.

To indicate journals that specialize in or prioritize publications addressing the assessment of biotic integrity in estuaries, we calculated the number of articles published in each journal per year and also applied the Bradford's law, which divides a set of journals in a field into three zones. Each with approximately one third of the articles: the first zone highlights a small number of journals, indicating their relevance to the theme; the second zone is composed of a larger volume of journals, indicating a moderate relevance on the theme; and the third zone

encompasses most of the journals, whose theme is not one of the indexing priorities. Currently, Bradford's law serves as a neutral and objective tool for the selection of the most central information sources in a field (Hjørland & Nicolaisen, 2005).

2.3 Scientific production and influential authorship

The identification of the most productive and influential authors on the theme was performed from four analyses: (1) total production (number of published articles); (2) fractional frequency of publications (FFP) (proportion of the number of authors in each publication). Using FFP makes it possible to identify the most productive authors based on their actual contributions. In addition, we also identified the nationality of the most productive authors and compared the publication frequency of authors in the area based on Lotka's Law (Kawamura, 1999).

Based on the corresponding information from the authors, we identified the institution that most participated in research on estuarine integrity assessment. Through this information we also identified the nationality of the authors, calculating the total production of articles per country and the frequency of publication. In this way, we determined the scientific collaboration between authors of the same nationality and scientific collaboration with authors of different nationalities.

The most influential articles were identified from ranking based on the total number of citations. Additionally, we also estimated the number of citations per year and the main purpose of the article (e.g., index development, index application, or review article of applied indexes).

2.4 Applicability of indices of biotic integrity assessment

In this stage of the study, the analysis of the indices used was carried out by extracting information from the articles in which the evaluation of biotic integrity in estuaries used the biotic indices (according to the criteria mentioned above).

In this sense, the first information extracted was about the main objective of the study, i.e., if it was about the development, efficacy test, or application/use of one or more indices. We also analyzed the review articles in order to highlight the existing but less applied indices. We subsequently created a checklist of existing indices, as well as which groups of organisms are used as indicators of response to human disturbances. In addition, we quantified the number of articles that applied/used each index and the respective area to where the index was originally developed.

We quantified the number of sites where the studies were conducted, the sampling period, and which methodologies were used to select the sampling sites. We also characterized the sampling methods used in the studies, classifying them by taxonomic group (e.g., methodologies used in the collection of fish, macroinvertebrates, plankton, etc.).

Finally, the metrics used in each study were counted and classified according to their similarities (e.g., metrics related to taxonomic composition, ecological indicators, trophic composition, population dynamics characteristics, habitat type and characteristics, abiotic parameters, etc.).

3. Results

3.1 Description of the current panorama of scientific production

The 334 filtered scientific documents covered a total of 111 different journals. The documents published as original articles accounted for 94.3% (N = 315) and the remain were review articles (N = 19). Overall, these publications were heavily referenced (N = 14,679 references), with an average of 32.19 references used per article. The contribution of 1,255 authors were listed, with an average of 3.76 authors per article, and only 15 articles were written with single authorship. The scientific collaboration index was 3.90% (Table 1).

Table 1. Main information about bibliometric analysis related to the assessment of biotic integrity in estuaries.

General Information	
Period	1990-2021
Sources (e.g., journals)	111
Scientific documents	334
Average number of citations per article	32.19
References	14,679
Document Types	
Scientific articles	315
Review articles	19
Author Information	
Authors	1,255
Authors of single-authored articles	15
Authors of multi-authored articles	1.240
Author Collaboration	
Single-authored articles	16
Authors by articles	3.76
Collaboration Index	3.9

Publications on the assessment of biotic integrity in estuaries have been filtered since 1990. The absence of articles filtered before 1990 does not indicate inexistence of studies, but rather that, through the protocol carried out, it was not possible to filter such articles.

We detected that from 1994 until 2008 there was a continuous increase in the number of publications per year on the theme and, in the following years, a high variability in this rate. The total production curve of articles showed an uninterrupted growth over the years, with an average annual increase rate of 9.33% (Figure 2).

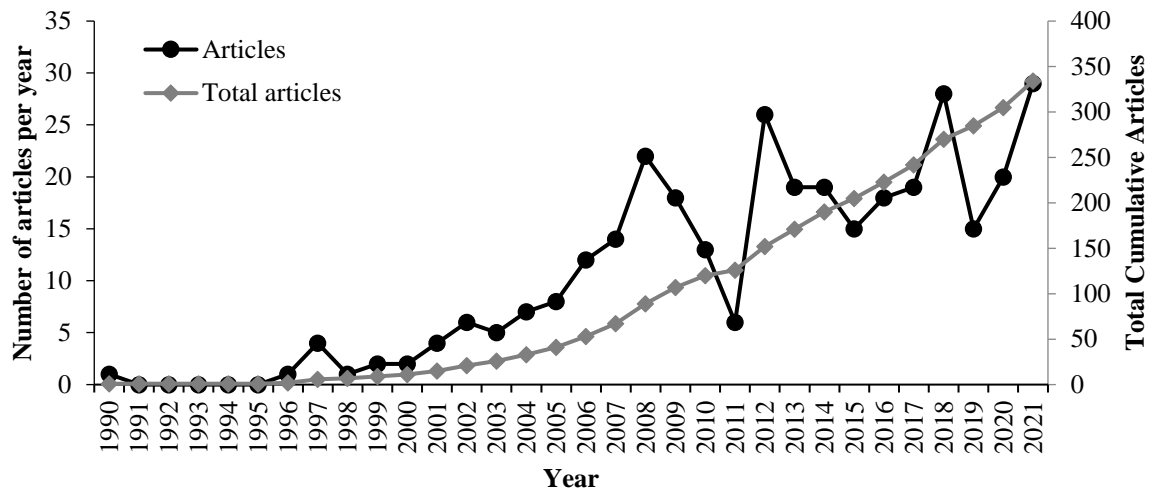


Figure 2. Annual scientific production related to the assessment of biotic integrity in estuaries, indicating the number of articles published per year (black line) and the cumulative total (gray line).

Overall, the main scientific journals that published on biotic integrity in estuaries were *Ecological Indicators* (N = 73 articles) and *Marine Pollution Bulletin* (N = 47) (Figure 3A). However, between 1994 and 2004, the journal *Estuaries* dominated the publications on this topic. In 2006, after the change to *Estuaries and Coasts*, the journal maintained its dominance until 2008. At the same time, the journal *Marine Pollution Bulletin* considerably increased the number of publications on the subject, surpassing the journal *Estuaries and Coasts* definitely in 2011. The journal *Ecological Indicators* also showed a considerable increase in the number of publications and has predominated in this aspect since 2012. The journal *Estuarine, Coastal and Shelf Science* also stands out, and in the last decade has been increasing the number of published articles. The dominance of the journals *Ecological Indicators* and *Marine Pollution Bulletin* is confirmed by the result of the application of Bradford's law (Figure 3B), being the only periods occupying the first zone, indicating their relevance to the theme.

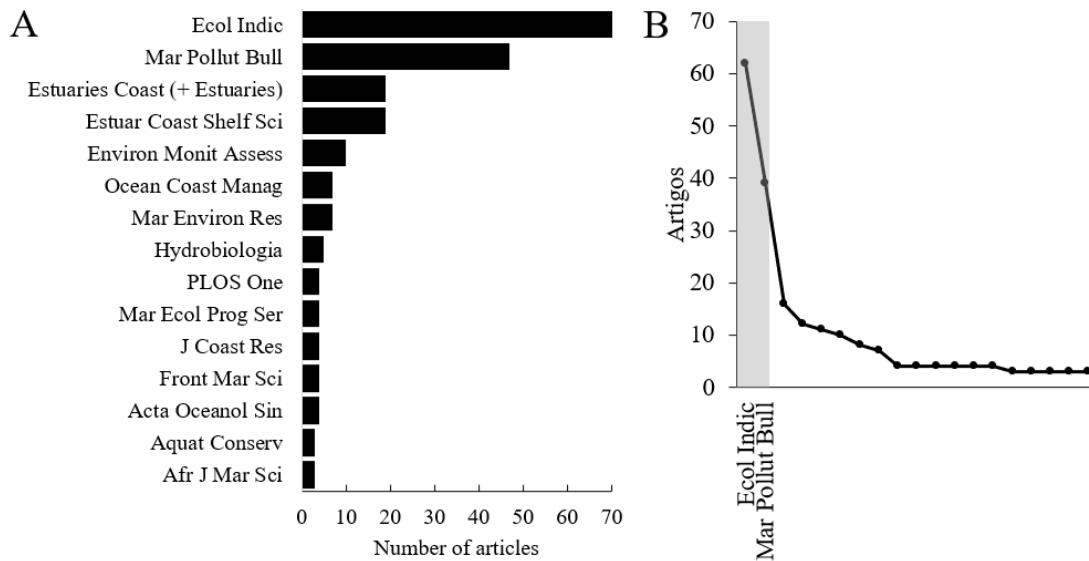


Figure 3. A - Number of articles in the 15 scientific journals with most publications about the assessment of biotic integrity in estuaries more productive (1990-2020) and B - Distribution of journals by Bradford's law, highlighting the first distribution zone delimited by journals Ecological Indicators and Marine Pollution Bulletin.

3.2 Scientific production and influential authorship

When analyzing the scientific production by author we found that the five main authors wrote at least ten articles on the subject during the analyzed period. The Spanish Angel Borja is the most productive author (N = 25 articles) (Table 2). The contribution of this author is highlighted mainly by his presence in ~92% of the scientific production from Spain. The USA, which was the most productive country (Figure 4), presented only one author (Daniel M. Dauer, with eight published articles) positioned among the 15 most productive authors. This indicates that the USA has a larger number of authors and research groups developing studies on biotic integrity in estuaries, and the number of published articles is better distributed among researchers in this country. This is confirmed by the low scientific collaboration index presented by the USA (Figure 4).

Quite differently, the presence of six Portuguese authors among the 10 most productive indicates the existence of a consolidated collaboration network in this country. In this context, we highlight the Portuguese researcher João Carlos Marques (N = 22 articles) as the second most productive author, being present in ~58% of the scientific publications from his country. The result of the fractional frequency of publications (FFP) highlights again the Spanish author Angel Borja and the Portuguese author João Carlos Marques in first and second position, respectively. Table 2 also shows the H-index and M-index results of the main authors based on research involving the assessment of estuary integrity.

Table 2. Ranking of the 15 authors (and their respective nationality) with more articles related to biotic integrity assessment in estuaries. Key: total number of articles (TA), percentage contribution in the total number of articles (%TA), fractional frequency of publications (FFP), total number of citations (TC), H-index, M-index and the year of the first publication on the topic (PY).

Ranking	Author	Country	TA	%TA	FFP	TC	H-index	M-index	PY
1	Borja A	Spain	25	7.5	6.7	3,235	21	0.91	2000
2	Marques JC	Portugal	22	6.6	3.8	1,731	19	0.73	1997
3	Neto JM	Portugal	16	4.8	2.5	904	13	0.68	2004
4	Costa MJ	Portugal	12	3.6	1.7	292	7	0.56	2007
5	Patricio J	Portugal	12	3.6	2.2	637	10	0.53	2004
6	Costa JL	Portugal	11	3.3	1.4	251	7	0.43	2007
7	Muxika I	Spain	10	3.0	2.5	1,319	10	0.50	2003
8	Dauer DM	USA	7	2.1	1.4	650	7	0.27	1997
9	Salas F	Spain	7	2.1	1.3	433	7	0.37	2004
10	Teixeira H	Portugal	7	2.1	1.1	340	7	0.48	2008

We observed that 1,060 authors (84.5%) participated in the production of only one article related to the theme. Another 125 authors (10%) participated in two articles. Thus, articles with only one or two authors represented 94.5% of the total number of articles. The smallest group, corresponding to 5.5%, contains authors with more than 3 articles on the subject. These three groups of authors indicate that authorship on the topic follows the characteristics of Lotka's Law, which states that the number of authors making n contributions in a given scientific field is approximately $1/n^2$ of those making a single contribution and that the proportion of those making a single contribution is plus or minus 60%.

The geographical distribution of the studies found based on the country of the corresponding authors indicates a total of 37 countries with research on the assessment of biotic integrity in estuaries. In all, 17 countries (15 European and 2 North American) contributed together with 60.72% ($N = 201$ articles) of the published articles. Contributions to research in this area have been dominated by corresponding authors from developed countries. The top contributing countries include the USA ($N = 75$ articles), Portugal ($N = 40$ articles), China ($N = 36$ articles), Brazil ($N = 29$ articles), and Spain ($N = 29$ articles). Collaboration among researchers from different countries is evident, among the ten most productive countries the highest collaboration rates were Portugal (45%), France (41%), and Spain (41%). On the other hand, countries like USA (12%) and China (8%), even being highly productive countries, present low rates of scientific collaboration with other countries.

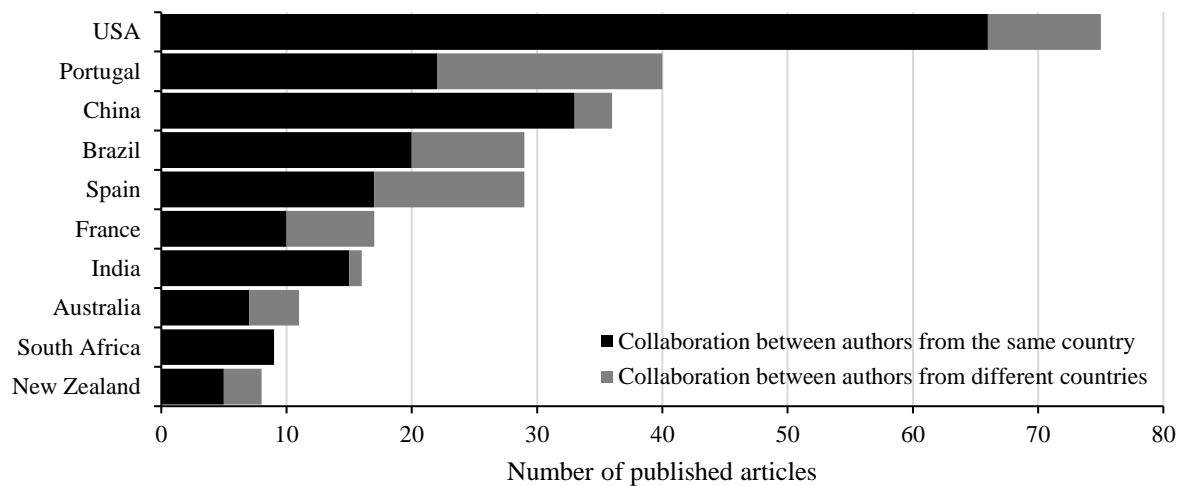


Figure 4. Number of articles related to the assessment of biotic integrity in estuaries from the 10 most productive countries, indicating scientific collaboration between authors from the same country and scientific collaboration with authors from different countries.

Among the 10 most cited articles (Table 3), the article entitled “*A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments*”, by the Spanish authors Borja, Franco and Pérez, is the most cited article. This article has a total of 1,011 citations (average of 43.95 citations per year), which corresponds to the sum of the total citations of the second, third and fourth articles in the ranking (Table 3). The fact that this article is the most cited is a result of the main objective of the study which was the development of the AZTI Marine Biotic Index - AMBI (Borja et al., 2000), one of the most used indexes for evaluating the biotic integrity of estuaries around the world. In this list of most cited articles, it is evident the presence of other articles whose objective was the development of a biotic index, all by American authors. One such article is by Stephen B. Weisberg and collaborators, who proposed the Benthic Index of Biotic Integrity - B-IBI (Weisberg et al., 1997), and another article corresponds to the development of the Estuarine Biotic Integrity Index - EBI, proposed by Linda A. Deegan and collaborators (Deegan et al., 1997).

In this list of most cited articles are the most influential and important works for the theme. It is noteworthy the presence of two review articles about the assessment of biotic integrity of estuaries among the most cited, demonstrating the importance of compiling information to stimulate and advance research on the subject.

Table 3. Ranking of the 10 most cited papers related to the assessment of biotic integrity in estuaries. We also present the number of total citations (TC), the total number of citations per year (TC/year) and whether the paper is about an index development.

N	Article	DOI	TC	TC/Year	Index Development
1	Borja A, 2000, Mar Pollut Bull	10.1016/S0025-326X(00)00061-8	1,011	43.95	yes
2	Muxika I, 2007, Mar Pollut Bull	10.1016/j.marpolbul.2006.05.025	430	26.87	no
3	Weisberg SB, 1997, Estuaries	10.2307/1352728	285	10.96	yes
4	Borja A, 2003, Mar Pollut Bull	10.1016/S0025-326X(03)00090-0	258	12.90	no
5	Dauvin JC, 2007, Mar Pollut Bull	10.1016/j.marpolbul.2006.08.017	233	14.56	no
6	Pinto R, 2009, Ecol Indic	10.1016/j.ecolind.2008.01.005	195	13.92	review
7	Borja A, 2005, Cont Shelf Res	10.1016/j.csr.2005.05.004	192	10.66	review
8	Muxika I, 2005, Ecol Indic	10.1016/j.ecolind.2004.08.004	190	10.55	no
9	Dauvin JC, 2007, Mar Pollut Bull	10.1016/j.marpolbul.2006.08.045	186	11.62	no
10	Deegan LA, 1997, Estuaries	10.2307/1352618	145	11.62	yes

3.3 Applicability of biotic integrity assessment indexes

Of the 334 articles addressing the assessment of biotic integrity of estuaries, only 46.4% (N = 155) used multimetric indices. Of these, a total of 68.2% (N = 107) only aimed to apply a previously published index, 12.1% (N = 19) tested the effectiveness of an index, and 16.6% (N = 26) aimed to develop a new index. The remainder (3.2%, N = 5) were review studies of indices used in the assessment of biotic integrity in estuaries. The studies that did not use biotic indices in the assessment of estuarine integrity, for the most part, only made comparisons between values of individual metrics between impaired sites with reference sites.

When analyzing the taxa used as indicators of disturbances in the assessment of estuarine integrity, we evidenced a large use of benthic macrofauna (67.1%, N= 112) (Figure 5). Among the most used groups we can mention annelids (e.g., polychaetes), mollusks (mainly bivalves), and crustaceans (mainly decapods and amphipods). We also highlight ichthyofauna as the second most used indicator (22.8%, N= 38).

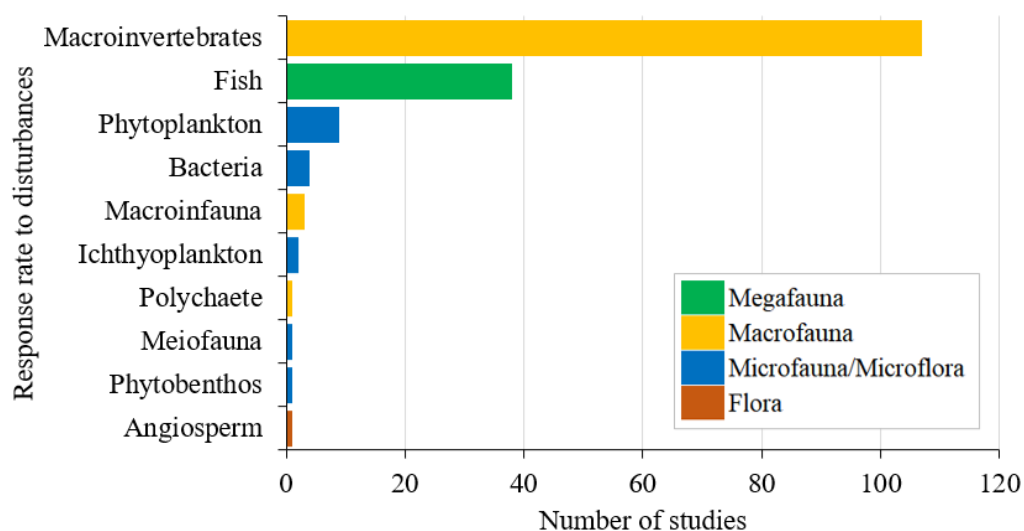


Figure 5: Taxa used as indicators of disturbance in the assessment of biotic integrity in estuaries, classified as microfauna/microflora, macrofauna, megafauna and flora.

A total of 90 indices were used in studies assessing biotic integrity of estuarine environments. A list of the 16 most used indexes is described in Table 4. The five most commonly used indices are the AZTI's Marine Biotic Index (AMBI) (52.9%; N = 82), M-AMBI (27.7%; N = 43) and BENTIX (13.5%; N = 21), BOPA (Benthic Opportunistic Polychaetes Amphipods) (8.4%; N = 13) and B-IBI - Benthic Index of Biotic Integrity (7.7%; N = 12). The fact that the AMBI was used by more than half of the studies analyzed reflects in the higher number of citations of the works that apply this index. From the studies found, there was a consensus about the inexistence of an index with enough amplitude to be applied in a large spatial extent and diversity of environments, even though it was common the use of indexes developed in one area and applied in others. In addition, in the list of the most used indexes, it is evident the importance of macrofauna and fish as indicators of disturbances.

Table 4. List of the 16 indices most used in the assessment of biotic integrity of estuarine environments ordered according the number of studies (N).

Ranking	Tool name	Abbreviation	Response Taxa	Area applied	N	Reference
1	AZTI's Marine Biotic Index	AMBI	Benthos	Estuarine	82	Borja et al. (2000)
2	M-AMBI	M-AMBI	Benthos	Estuarine and marine	43	Muxika et al. (2007)
3	BENTIX	BENTIX	Benthos	Marine	21	Simboura and Zenetos (2002)
4	Benthic Opportunistic Polychaetes Amphipods	BOPA	Benthos (Polychaetes and amphipods)	Estuarine	13	Dauvin and Ruellet (2007)
5	Benthic Index of Biotic Integrity	B-IBI	Benthos	Estuarine	12	Weisberg et al. (1997)
6	Benthic Opportunistic Annelids Amphipods	BO2A	Bentos (Anelids and amphipods)	Estuarine	11	Dauvin and Ruellet (2009)
7	Estuarine Fish Assessment Index	EFAI	Ichthyofauna	Estuarine	11	Cabral et al. (2012)
8	Estuarine Biotic Integrity Index	EBI	Benthos	Estuarine	10	Deegan et al. (1997)
9	Benthic Quality Index	BQI	Benthos	Marine	9	Rosenberg et al. (2004)
10	Estuarine Fish Community Index	EFCI	Ichthyofauna	Estuarine	9	Harrison and Whitfield (2004)
11	Infaunal Trophic Index	ITI	Benthos	Marine	9	Word (1979)
12	Transitional Fish Classification Index	TFCI	Ichthyofauna	Estuarine	7	Coates et al. (2007)
13	AZTI's Fish Index	AFI	Ichthyofauna	Estuarine	6	Uriarte and Borja (2009)
14	Fish-Based Estuarine Bioticy Index	EBI	Ichthyofauna	Estuarine	5	Breine et al. (2007)
15	French Estuarine and Lagoon Fish Index	ELFI	Ichthyofauna	Estuarine	5	Delpech et al. (2010)
16	Index of Biotic Integrity	IBI	Ichthyofauna	Freshwater	5	Karr (1981)

A total of 430 metrics were extracted from the papers. They were classified into 13 groups: (1) metrics used in index development - set of metrics used in the development of the indices - (e.g., metrics used in the AMBI formulation), (2) metrics used in a particular publication - set of metrics used were the same as in a particular publication - (e.g., metrics

used in Borja et al. (2000)), (3) functional groups, (4) taxonomic composition, (5) trophic composition, (6) population dynamics (dispersal/reproduction characteristics), (7) chemical elements (e.g., metals), (8) habitat, (9) assembly structure, (10) abiotic parameters, (11) sediments (e.g., grain size), (12) sensitivity to disturbance, (13) other inorganic and organic components.

A list of the 20 most commonly used metrics is described in Table 5. From this list, seven groups of metrics are represented. The main group of metrics used are those corresponding to the assemblage structure (e.g., richness, abundance, biomass, etc.) being present in 53.5% (N = 83) of the analyzed studies. Another group of metrics very important and widely used are the abiotic parameters (e.g., temperature, salinity, pH, DO, etc.) being present in 42.6% (N = 66).

On average, studies assessing biotic integrity in estuaries used at least 11 metrics (Minimum = 11 and maximum = 47), with the most commonly used being “richness” (43.2%; N = 67; metric group: assembly structure), “salinity” (28.4%; N = 44; metric group: abiotic parameter), “dissolved oxygen” (27.7%; N = 43; metric group: abiotic parameter) and Shannon Index (26.5%; N = 41; metric group: assembly structure). In addition to these, we observed the use of metals, which characterizes another important metric group in these studies.

Table 5. List of the 20 most widely used metrics in studies about the assessment of ecological integrity in estuaries.

Ranking	Group	Metric	Unit	N° of studies
1	Assemblage structure	Richness	N	67
2	Abiotic parameters	Salinity	-	44
3	Abiotic parameters	Dissolved Oxygen	OD	43
4	Assemblage structure	Shannon Index	H'	41
5	Assemblage structure	Abundance	N	35
6	Abiotic parameters	Depth	metros	25
7	Abiotic parameters	Temperature	°C	24
8	Abiotic parameters	Total Organic Matter	TOM	23
9	Sediment	Granulometry	%	23
10	Other inorganic and organic components	Total Organic Carbon	TOC	23
11	Abiotic parameters	pH	-	21
12	Taxonomic composition (Phytoplankton)	Chlorophyll a	Chl a	20
13	Chemical elements (metal)	Cadmium	Cd	19
14	Chemical elements (metal)	Lead	Pb	19
15	Chemical elements (metal)	Copper	Cu	18
16	Chemical elements (metal)	Zinc	Zn	18
17	Assemblage structure	Biomass	grams	17
18	Index-Based	AMBI	-	16
19	Substances	Total Nitrogen	TN	16
20	Chemical elements (metal)	Chromium	Cr	15

The results found indicate that there is no standardization in sampling methods, regardless of the target group selected as the ecological indicator (Supplementary Material).

For instance, in the collection of benthic macroinvertebrates several types of sampling methodologies were used (e.g., core, box core, grab, transects, cylinder tubes, etc.), and each methodology had several adaptations. A prime example of the adaptations made is the grab sampling, with 11 types of dredges used (box grab, Day grab, Ekman grab, Ekman-Birge grab, Hamon grab, Petersen grab, Petit Ponar grab, Ponar grab, Shipek grab, Smith McIntyre grab, Van Veen grab). In addition, each grab used had a distinct sampling area, ranging from 0.03 m² to 1.0 m². Other methods used (e.g., box core, core, transect, and PVC cylinder tubes) presented areas ranging between 0.01 m² and 0.25 m² and, used at depths between 5 and 35 cm. These methodological variations can greatly affect the efficiencies of the indices, as well as making it difficult to compare the results.

Regardless of the sampling method employed, another important characteristic when using benthic macroinvertebrates in the assessment of biotic integrity is the mesh size used in field or laboratory screening. The studies found used four mesh sizes: 0.25 mm, 0.50 mm, 1 mm, and 2 mm. Of these mesh sizes, the vast majority of studies (80.2%; N = 65) used the 0.5 mm mesh, and 1 mm mesh was also widely used (27.2%; N = 22). It is noteworthy that some studies (N = 10) used more than one mesh size, aiming to make comparisons to verify which mesh size was more effective in describing the benthic community and, consequently, in evaluating the environmental disturbance.

The studies that used fish as indicators of disturbance used four types of fishing nets for sampling: seine, gillnet, trawl, and tarpon. Each of the type of nets employed had numerous mesh sizes, ranging from 3 mm to 100 mm. The other sampling methods are available in Supplementary Material.

Regarding the method of site selection for sampling, a total of 30 selection methods were found, but only seven were used more than once. In the vast majority of studies (72.9%; N = 113), past environmental assessment data were used in the selection of impaired and reference sites. Other methods used were: using dissolved oxygen concentration values, probabilistic (randomized), contaminant concentration in sediment based on Long et al. (1995) threshold, and distance from stress focus (e.g., agro-industrial waste discharge).

4. Discussion

4.1 Description of the current panorama of scientific production

Because the online publishing system as we know it today was established in the 1980s (Souza, 2006), we found no articles filtered before 1990. Regardless, given the socioeconomic and environmental importance that estuaries have, the number of filtered publications in this study can be considered low. This low number of publications on environmental assessment in estuaries has already been evidenced by O'Brien et al. (2016). In their study, these authors indicate a ratio of 5:1 when comparing the number of studies that evaluate the biotic integrity of other environments (e.g., streams, lakes, wetlands, etc.) with estuaries.

Despite this, it is evident that the scientific production on the assessment of estuarine integrity has continuously increased over the years, following the growth in the problematization and awareness of the importance of assessing the ecological condition of estuarine environments (Hallett et al., 2019b). This can be seen in the number of publications on the subject in the United States and in the constituent countries of the European Union (Souza & Vianna, 2020). This has led to numerous monitoring protocols being structured, including the development of biotic indices. However, the development of more robust and accurate monitoring tools in tropical countries is sorely needed (Souza & Vianna, 2020).

The considerable increase in the number of annual publications in the early 2000s may be a result of the implementation of the new European Union water use policy, the European Water Framework Directive (WFD, Directive 2000/60/EC), which came into effect in December 2000 (European Commission, 2000) and the Marine Strategy Framework Directive (MSFD, Directive 2008/56/EC) (European Commission, 2008). In addition, other policies, incentives and awareness programs may also have contributed to the increase in the number of studies around the world, such as the Oceans Act 2000 and the Clean Water Act (1972, amended in 1977 and put into practice in the early 1990s) in the USA and the National Water Act in South Africa, among others (Hallett et al., 2016; Pérez-Domínguez et al., 2012). In addition, there are several initiatives underway around the world that aim to meet the targets linked to the Sustainable Development Goals (SDGs), launched in 2000 by the United Nations (UN).

Numerous monitoring programs have been implemented around the world in an attempt to adequately assess estuarine environments (Borja et al., 2011; Borja et al., 2008; Hallett et al., 2016; Pérez-Domínguez et al., 2012). Thus, the assessment of the ecological condition of coastal and estuarine ecosystems has become a concern for environmental managers in several

countries, aiming to ensure the long-term functioning of the ecosystem and the mitigation of pre-existing degradation (Vasconcelos et al., 2017).

Despite this overall tendency, the number of studies conducted in tropical environments, especially in estuarine environments, is still very scarce (Ruaro & Gubiani, 2013; Souza & Vianna, 2020). This reality must be discussed, addressed, and analyzed by researchers and the respective stakeholders of tropical countries, seeking to stimulate the realization of more studies with this theme. An example of this is that a large part of the scientific production of tropical countries, most of them underdeveloped, is published in non-indexed journals. This has a direct impact on the dissemination and access to the results. As a consequence, the number of studies in tropical regions may be underestimated (Ruaro & Gubiani, 2013). Even if this is the case, we believe that this number is still too low when compared to the production of other parts of the world.

4.2 Scientific production and influential authorship

The high number of authors evidenced in the studies analyzed is not a particularity of studies regarding the assessment of biotic integrity in estuaries. This panorama is observed in the scientific literature in general (Aria et al., 2021; Derviş, 2020; Fortuna et al., 2020). It is also noteworthy that the average number of authors per article is not an effective measure to be used in a general comparison, because it varies immensely between the themes studied and the approaches used. We found that the four main journals (*Ecological Indicators*, *Marine Pollution Bulletin*, *Estuaries and Coasts* and *Estuarine, Coastal and Shelf Science*) where the studies analyzed were published have a scope and focus directly related to the assessment of environmental integrity or directed to studies conducted in estuaries. Furthermore, we note that the journals *Ecological Indicators* (FI = 4,229) and *Marine Pollution Bulletin* (FI = 4,049), whose scope and focus is on the assessment of environmental integrity regardless of the type of environment (e.g., terrestrial, rivers, lakes, estuary or sea), or more general topics, have a higher impact factor (FI) than journals with a specific focus on estuarine environments: *Estuaries and Coasts* (FI = 2,319) and *Estuarine, Coastal and Shelf Science* (FI = 2,929).

The nationality of the top 15 authors is an indication of which countries have well developed and encouraged estuarine integrity assessment. We highlight Portuguese and Spanish authors in this list, which is possibly correlated to the coastal monitoring policies mentioned earlier. The absence of authors from other nationalities (e.g., Brazil and China) in this list was already expected because studies on the subject in these countries are scarce, recent or only aimed the application of some indices. Because of this, the asymmetry in the distribution of the

number of authors and their scientific productivity is evident, indicating that few authors published most of the articles. Results like this one provide important information to stimulate new researchers who wish to work with the theme or for those who already execute projects on the theme, allowing the identification of researchers who are references in the subject, collaborating institutions and, consequently, new approaches and research trends (Adegoke & Oni, 2018; Hota et al., 2019; Pereira et al., 2019; Tranfield et al., 2003; Wang et al., 2018). Over the years, and especially in recent years, due to lack of funding and the need to conduct more multidisciplinary studies, it has become increasingly necessary to establish research networks and collaborations.

The result of the production of the authors over time, in terms of number of publications and total citations per year, justifies the important contributions of the authors Angel Borja and João Carlos Marques, who have more than 15 years of experience in the line of research analyzed. This fact makes these authors the main references in the evaluation of biotic integrity in estuaries. Furthermore, the high number of authors may be an indication of the co-authorship participation of graduate students with results from their dissertations and theses. This is an encouraging result, as it shows that new researchers are being trained to work with the theme, and that we can expect an improved scenario in the coming years, if stimulus and funding programs are implemented.

In general, developed countries are commonly cited in the literature as the most productive ones. As in the present study, the USA stands out in the ranking of total production in several areas, always occupying the first positions among the most productive countries (Aria et al., 2021; Fortuna et al., 2020; Wang et al., 2018; Zyoud et al., 2017). This result is pertinent since the USA has led the SCImago Journal & Country Rank for many years (www.scimagojr.com), which measures the scientific influence of academic journals and countries. This ranking is based on the number of scientific articles, citations, self-citations, citations per article, and H-index.

The high productivity of developed countries is a result of the greater amount of funding, laboratory structures, and the availability of modern equipment (Wang et al., 2018; Zyoud et al., 2017). One factor that is evident and favors the high number of publications from developed countries is the high level of collaboration between authors from the same country and between authors from other countries (Zyoud et al., 2017). The opposite occurs in developing countries, which usually present advances in some areas of research and consequently a greater number of published articles, but in overall follow a tendency of low productivity (Ekundayo & Okoh,

2018). In developing countries, self-funded or independent studies are the main research scenario (Ekundayo & Okoh, 2018; Vanni et al., 2014).

A country's geographical position, language and academic culture, for example, can result in a greater number of scientific collaborations. A good example of this is the frequent collaboration between European countries regarding the assessment of ecological condition in estuaries (Dauvin et al., 2012; Muxika et al., 2005; Pérez-Domínguez et al., 2012; Teixeira et al., 2008). Regardless of the subject studied, scientific collaboration between institutions and countries is the result of the efforts of authors from different research groups. In many cases, this type of collaboration in studies on the assessment of ecological condition in estuaries occurs only at the national level, as for example in the USA (Bergquist et al., 2006; Engle & Summers, 1999; Van Dolah et al., 1999), Portugal (Cardoso et al., 2012; Costa-Dias et al., 2010; Gamito et al., 2012; Medeiros et al., 2012), China (Luo et al., 2017; Qiu et al., 2018; Zhou et al., 2018), Germany (Wetzel et al., 2014; Wetzel et al., 2012), Belgium (Quataert et al., 2011), Australia (Hallett et al., 2019a), Spain (Leorri et al., 2008), France (Dauvin et al., 2007) and New Zealand (Berthelsen et al., 2018). A scientific collaboration at an international level presents several positive aspects, among them the amount of available resources and the exchange of knowledge/experience, which allow the execution of more complete and complex projects (de Bem Oliveira et al., 2019).

4.3 Application of the biotic integrity assessment indexes

The record of many studies that sought to evaluate the integrity of estuarine ecosystems through multivariate analysis instead of applying indices was already expected. However, the presence of those that developed biotic indices for the evaluation of estuarine ecosystem integrity in the list of most cited articles was expected given the importance of the indices in this regard. Borja et al. (2000) was the most cited article, because they developed the biotic index AMBI, which represents the most widely applied benthic index in the assessment of the ecological condition of estuaries worldwide (Mulik et al., 2020). It is considered the most suitable index to evaluate the ecological state of estuaries, even under very different environmental conditions (Borja et al., 2015). Among the most cited papers, only three were not developed in the context of WFD: Weisberg et al. (1997), Deegan et al. (1997) and Marques et al. (1997).

Of these indices, according to WFD and MSFD, AMBI and M-AMBI are the most efficient indices to evaluate the integrity of marine and coastal ecosystems (Borja et al., 2008; Cai et al., 2015; Sigamani et al., 2015). Even with reports of the effectiveness of this index in

the assessment of tropical estuarine environments (Borja & Tunberg, 2011), most of these indices were developed for European coastal waters and, as mentioned before, in the context of the WFD (Souza & Vianna, 2020). Because of this, the efficacy of these indices is only known for temperate environments, and the suitability or adaptability for tropical environments is not yet well defined (Lepage et al., 2016).

The correct selection of the metrics to be used in the biotic indices is paramount to the success of the ecological assessments (Mulik et al., 2020). Metrics used in a particular study, that are effective in determining environmental responses, are likely to be useful in other sites under similar circumstances (Zhang et al., 2020).

The results presented here indicate the considerable use of benthic macroinvertebrates as an indicator group in the evaluation of environmental disturbances in estuaries. This stems from several characteristics of this group, including the fact that these organisms are an important component of the estuarine ecosystem, present high taxonomic diversity, limited dispersion (horizontal and vertical), low rate of migration out of the estuary, and high sensitivity to anthropogenic disturbances (Borja et al., 2011; Borja et al., 2008; Cardoso et al., 2012; Deegan et al., 1997; Fisch et al., 2015; Hallett et al., 2019b; Pinto et al., 2009). Changes in environmental factors can be inferred based on changes in the abundance and biomass of macrofauna (Liu et al., 2014). Fish are also an important ecological group in the assessment of estuarine integrity (Cabral et al., 2012; Hallett et al., 2019a; Harrison & Whitfield, 2004; Lepage et al., 2016), and that is why some studies address its use in conjunction with benthos (Young et al., 2014).

Metrics such as “richness”, “abundance” and “biomass” are widely used and are the most commonly used ecological variables in comparing impaired and reference sites (Ganesh et al., 2014; Wetzel et al., 2012). Abiotic metrics, such as salinity, are used to evaluate estuarine environments precisely because community composition is strongly influenced by the saline gradient (Medeiros et al., 2021; Menegotto et al., 2019). Besides salinity, other abiotic parameters such as dissolved oxygen, temperature and sediment granulometry are also very relevant (Crespo et al., 2017; Ganesh et al., 2014; Muniz & Venturini, 2001). Another important group of metrics widely used in studies are metals, given the long-term damages that they cause on the ecosystems and the communities (Berezina et al., 2017; Chainho et al., 2008; Puente & Diaz, 2008).

The effectiveness of sampling and methodological procedures are constantly discussed in the scientific literature (Isabela & Decio, 2019). This discussion is important because the use

of different methods can lead to different results and, consequently, to erroneous inferences (Isabela & Decio, 2019).

In the present study we evidenced a high diversity of sampling methods used both in fish and benthic macroinvertebrate sampling. This is very worrying because it makes comparisons among studies difficult. The sampling methodology will determine the success and efficiency of the collection (Reuscher et al., 2018) and, consequently, the effectiveness of the evaluation (Ligeiro et al., 2020). Thus, the search for standardized sampling methods is essential for the success of the evaluation, the comparability among studies and the reduction of the sampling effort (Couto et al., 2010). Therefore, we suggest that more studies regarding the discussion and standardization of sampling methods would be very important for the development of this research field.

5. Conclusion

The assessment of the ecological condition of estuarine environments is a priority in many countries around the world. The growth in the number of studies and the development of numerous biotic indices indicates a demand for scientific-based conservation strategies and adequate environmental management.

In the present study we highlight the inexistence of a broad index that can be applied in a large spatial extent (many countries) and in a diversity of environments. Even so, it is still common to use indices developed in one area and applied in others, mainly in tropical regions. The use of indices applied in places not appropriate for them may incur in incorrect results, and lead to erroneous ecological assessments. In this line, it is also necessary a better knowledge of the sensitivity of the various species and biological groups in different spatial and environmental contexts.

In this study we present a comprehensive information data that can help the direction of research strategies in future studies on the assessment of biotic integrity in estuaries around the globe. This includes the necessity of more studies on tropical environments, on the sensitivity of the species and about methodological aspects, which can greatly contribute for the development of the field.

Acknowledgments

The Coordination of Superior Level Staff Improvement (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES) for granting a doctoral scholarship to the first author between March 2019 and May 2021. RL would also like to thank the National

Council for Scientific and Technological Development (CNPq) for a research productivity fellowship (Grant #312531/2021-4). To the Programa de Pós-Graduação em Ecologia (PPGEco/UFGA) of the Federal University of Pará. To the researchers Mara Rúbia Ferreira Barros and Weverton Jhon Pinheiro dos Santos for the contribution in the reading and screening process of the publications. To Dr. Luciano Montag, Dr. Colin Beasley, and Dr. Leandro Brasil for the review and suggestions on this manuscript.

Reference

- Adegoke, D. & Oni, O. (2018). *Knowledge Production on Peace and security in Africa: Mapping the epistemic terrain of peace and security in Africa*. African Leadership Centre.
- Aria, M., Alterisio, A., Scandurra, A., Pinelli, C. & D'Aniello, B. (2021). The scholar's best friend: research trends in dog cognitive and behavioral studies. *Animal Cognition*, 24(3), 541-553.
- Aria, M. & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix : An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11(4), 959-975.
- Aria, M., Misuraca, M. & Spano, M. (2020). Mapping the Evolution of Social Research and Data Science on 30 Years of Social Indicators Research. *Social Indicators Research*, 149(3), 803-831.
- Berezina, N.A., Gubelit, Y.I., Polyak, Y.M., Sharov, A.N., Kudryavtseva, V.A., Lubimtsev, V.A., Petukhov, V.A. & Shigaeva, T.D. (2017). An integrated approach to the assessment of the eastern Gulf of Finland health: A case study of coastal habitats. *Journal of Marine Systems*, 171, 159-171.
- Bergquist, D.C., Hale, J.A., Baker, P. & Baker, S.M. (2006). Development of ecosystem indicators for the Suwannee River estuary: Oyster reef habitat quality along a salinity gradient. *Estuaries and Coasts*, 29(3), 353-360.
- Berthelsen, A., Atalah, J., Clark, D., Goodwin, E., Patterson, M. & Sinner, J. (2018). Relationships between biotic indices, multiple stressors and natural variability in New Zealand estuaries. *Ecological Indicators*, 85, 634-643.
- Bonada, N., Prat, N., Resh, V.H. & Statzner, B. (2006). Developments in aquatic insect ibomonitoring: A comparative analysis of recent approaches. *Annual Review of Entomology*, 51, 495-523.
- Borja, A. (2014). Grand challenges in marine ecosystems ecology. *Frontiers in Marine Science*, 1, 1-6.
- Borja, A., Basset, A., Bricker, S., Dauvin, J.C., Elliott, M., Harrison, T., Marques, J.C., Weisberg, S.B. & West, R. (2011). 1.08 - Classifying Ecological Quality and Integrity of Estuaries. In E. Wolanski & D. McLusky (Eds.), *Treatise on Estuarine and Coastal Science* (pp. 125-162). Academic Press.
- Borja, A., Dauer, D.M., Llansó, R.J., Muxika, I., Rodríguez, J.G. & Schaffner, L.C. (2008). Assessing estuarine benthic quality conditions in Chesapeake Bay: A comparison of three indices. *Ecological Indicators*, 8(4), 395-403.
- Borja, A., Franco, J. & Pérez, V. (2000). A Marine Biotic Index to Establish the Ecological Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments. *Marine Pollution Bulletin*, 40(12), 1100-1114.

- Borja, Á., Marín, S.L., Muxika, I., Pino, L. & Rodríguez, J.G. (2015). Is there a possibility of ranking benthic quality assessment indices to select the most responsive to different human pressures? *Marine Pollution Bulletin*, 97(1-2), 85-94.
- Borja, A. & Tunberg, B. (2011). Assessing benthic health in stressed subtropical estuaries, eastern Florida, USA using AMBI and M-AMBI. *Ecological Indicators*, 11(2), 295-303.
- Breine, J.J., Maes, J., Quataert, P., Van den Bergh, E., Simoens, I., Van Thuyne, G. & Belpaire, C. (2007). A fish-based assessment tool for the ecological quality of the brackish Schelde estuary in Flanders (Belgium) [Article]. *Hydrobiologia*, 575, 141-159.
- Cabral, H.N., Fonseca, V.F., Gamito, R., Gonçalves, C.I., Costa, J.L., Erzini, K., Gonçalves, J., Martins, J., Leite, L., Andrade, J.P., Ramos, S., Bordalo, A., Amorim, E., Neto, J.M., Marques, J.C., Rebelo, J.E., Silva, C., Castro, N., Almeida, P.R., Domingos, I., Gordo, L.S. & Costa, M.J. (2012). Ecological quality assessment of transitional waters based on fish assemblages in Portuguese estuaries: The Estuarine Fish Assessment Index (EFAI). *Ecological Indicators*, 19, 144-153.
- Cai, W., Borja, A., Lin, K., Zhu, Y., Zhou, J. & Liu, L. (2015). Assessing the benthic quality status of the Bohai Bay (China) with proposed modifications of M-AMBI. *Acta Oceanologica Sinica*, 34(10), 111-121.
- Cardoso, I., Fonseca, L.C. & Cabral, H.N. (2012). Ecological quality assessment of small estuaries from the Portuguese coast based on benthic macroinvertebrate assemblages indices. *Marine Pollution Bulletin*, 64, 1136-1142.
- Chainho, P., Chaves, M.L., Costa, J.L., Costa, M.J. & Dauer, D.M. (2008). Use of multimetric indices to classify estuaries with different hydromorphological characteristics and different levels of human pressure. *Marine Pollution Bulletin*, 56(6), 1128-1137.
- Chen, J.C., Chang, N.B., Fen, C.S. & Chen, C.Y. (2004). Assessing the stormwater impact to an urban river ecosystem using estuarine water quality simulation model. *Civil Engineering and Environmental Systems*, 21(1), 33-49.
- Coates, S., Waugh, A., Anwar, A. & Robson, M. (2007). Efficacy of a multi-metric fish index as an analysis tool for the transitional fish component of the Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55(1-6), 225-240.
- Cobo, M.J., López-Herrera, A.G., Herrera-Viedma, E. & Herrera, F. (2011). Science mapping software tools: Review, analysis, and cooperative study among tools. *Journal of the American Society for Information Science and Technology*, 62(7), 1382-1402.
- Costa-Dias, S., Sousa, R. & Antunes, C. (2010). Ecological quality assessment of the lower Lima Estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 61(4-6), 234-239.
- Couto, T., Patricio, J., Neto, J.M., Ceia, F.R., Franco, J. & Marques, J.C. (2010). The influence of mesh size in environmental quality assessment of estuarine macrobenthic communities [Article]. *Ecological Indicators*, 10(6), 1162-1173.
- Crespo, D., Grilo, T.F., Baptista, J., Coelho, J.P., Lillebo, A.I., Cassio, F., Fernandes, I., Pascoal, C., Pardal, M.A. & Dolbeth, M. (2017). New climatic targets against global warming: will the maximum 2 degrees C temperature rise affect estuarine benthic communities? *Scientific Reports*, 7(1), 3918.
- Dauvin, J.C., Alizier, S., Rolet, C., Bakalem, A., Bellan, G., Gesteira, J.L.G., Grimes, S., de-La-Ossa-Carretero, J.A. & Del-Pilar-Ruso, Y. (2012). Response of different benthic indices to diverse human pressures. *Ecological Indicators*, 12(1), 143-153.
- Dauvin, J.C. & Ruellet, T. (2007). Polychaete/amphipod ratio revisited. *Marine Pollution Bulletin*, 55(1-6), 215-224.
- Dauvin, J.C. & Ruellet, T. (2009). The estuarine quality paradox: Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? *Marine Pollution Bulletin*, 59(1-3), 38-47.

- Dauvin, J.C., Ruellet, T., Desroy, N. & Janson, A.L. (2007). The ecological quality status of the Bay of Seine and the Seine estuary: Use of biotic indices [Article]. *Marine Pollution Bulletin*, 55(1-6), 241-257.
- de Bem Oliveira, I., Nunes, R., Mattiello, L., Barros-Ribeiro, S., de Souza, I.P., Coelho, A.S.G. & Collevatti, R.G. (2019). Research and partnership in studies of sugarcane using molecular markers: a scientometric approach. *Scientometrics*, 119(1), 335-355.
- Deegan, L.A., Finn, J.T. & Buonaccorsi, J. (1997). Development and validation of an estuarine biotic integrity index [Article]. *Estuaries*, 20(3), 601-617.
- Delpech, C., Courrat, A., Pasquaud, S., Lobry, J., Le Pape, O., Nicolas, D., Boet, P., Girardin, M. & Lepage, M. (2010). Development of a fish-based index to assess the ecological quality of transitional waters: the case of French estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 60(6), 908-918.
- Derviş, H. (2020). Bibliometric Analysis using Bibliometrix an R Package. *Journal of Scientometric Research*, 8(3), 156-160.
- Ekundayo, T.C. & Okoh, A.I. (2018). A global bibliometric analysis of Plesiomonas-related research (1990 - 2017). *PLoS ONE*, 13(11), e0207655.
- Engle, V.D. & Summers, J.K. (1999). Refinement, validation, and application of a benthic condition index for northern Gulf of Mexico estuaries. *Estuaries*, 22(3A), 624-635.
- European Commission. (2000). *Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for community action in the field of water policy (Water Framework Directive)*. Off. J. Eur. Union L327.
- European Commission. (2008). *Directive 2008/56/EC of the European Parliament and of the Council of the council establishing a framework for community action in the field of marine environmental policy (Marine Strategy Framework Directive)*.
- Fisch, F., Branco, J.O. & Menezes, J.T. (2015). Carcinofauna como indicador da integridade biótica de um ambiente estuarino no litoral de Santa Catarina, Brasil. *Revista Ambiente & Água*, 10(2), 464-478.
- Fortuna, G., Aria, M., Iorio, C., Mignogna, M.D. & Klasser, G.D. (2020). Global research trends in complex oral sensitivity disorder: A systematic bibliometric analysis of the framework. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 49(6), 555-564.
- Gamito, S., Patrício, J., Neto, J.M., Teixeira, H. & Marques, J.C. (2012). Feeding diversity index as complementary information in the assessment of ecological quality status. *Ecological Indicators*, 19, 73-78.
- Ganesh, T., Rakesh, M., Raman, A., Nanduri, S., Moore, S. & Rajanna, B. (2014). Macrobenthos response to sewage pollution in a tropical inshore area. *Environmental Monitoring and Assessment*, 186(6), 3553-3566.
- Hallett, C.S., Trayler, K.M. & Valesini, F.J. (2019a). The Fish Community Index: A Practical Management Tool for Monitoring and Reporting Estuarine Ecological Condition. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 15(5), 726-738.
- Hallett, C.S., Valesini, F. & Elliott, M. (2016). A review of Australian approaches for monitoring, assessing and reporting estuarine condition: I. International context and evaluation criteria. *Environmental Science & Policy*, 66, 260-269.
- Hallett, C.S., Valesini, F.J., Kilminster, K., Wells, N.S. & Eyre, B.D. (2019b). A rapid protocol for assessing sediment condition in eutrophic estuaries. *Journal of Environmental Monitoring*, 21(6), 1021-1037.
- Harrison, T.D. & Whitfield, A.K. (2004). A multi-metric fish index to assess the environmental condition of estuaries. *Journal of Fish Biology*, 65(3), 683-710.
- Hjørland, B. & Nicolaisen, J. (2005). Bradford's Law of Scattering: Ambiguities in the Concept of "Subject". In F. Crestani & I. Ruthven (Eds.), *Context: Nature, Impact, and Role* (pp. 96-106). Springer Berlin Heidelberg.

- Hota, P.K., Subramanian, B. & Narayanamurthy, G. (2019). Mapping the Intellectual Structure of Social Entrepreneurship Research: A Citation/Co-citation Analysis. *Journal of Business Ethics*, 166(1), 89-114.
- Isabela, K. & Decio, S. (2019). Sampling strategy always matters: Methodological issues on collecting samples in tropical transitional environments for ecological analysis based on recent foraminifera. *Marine Micropaleontology*, 148, 46-57.
- Josefson, A.B., Blomqvist, M., Hansen, J.L., Rosenberg, R. & Rygg, B. (2009). Assessment of marine benthic quality change in gradients of disturbance: comparison of different Scandinavian multi-metric indices. *Marine Pollution Bulletin*, 58(9), 1263-1277.
- Karr, J.R. (1981). Assessment of biotic integrity using fish communities. *Fisheries*, 6(6), 21-27.
- Karr, J.R. (1991). Biological Integrity: A long-neglected aspect of water resource management. *Ecological Applications*, 1(1), 66-84.
- Karr, J.R. & Dudley, D.R. (1981). Ecological perspective on water quality goals. *Environmental Management*, 5(1), 55-68.
- Kawamura, C.D.L.T.Y.K.H.S.M. (1999). Lotka's law and the pattern of scientific productivity in the dental science literature. *Medical Informatics and the Internet in Medicine*, 24(4), 309-315.
- Kinouchi, R.R. (2014). Scientometrics: the project for a science of science transformed into an industry of measurements. *Scientiae Studia*, 12(special issue), 147-159.
- Lana, P.C. & Bernardino, A.F. (2018). *Brazilian Estuaries: A Benthic Perspective*. Springer.
- Leorri, E., Cearreta, A., Irabien, M.J. & Yusta, I. (2008). Geochemical and microfaunal proxies to assess environmental quality conditions during the recovery process of a heavily polluted estuary: The Bilbao estuary case (N. Spain). *Science of The Total Environment*, 396(1), 12-27.
- Lepage, M., Harrison, T., Breine, J., Cabral, H., Coates, S., Galván, C., García, P., Jager, Z., Kelly, F., Mosch, E.C., Pasquaud, S., Scholle, J., Uriarte, A. & Borja, A. (2016). An approach to intercalibrate ecological classification tools using fish in transitional water of the North East Atlantic. *Ecological Indicators*, 67, 318-327.
- Ligeiro, R., Hughes, R.M., Kaufmann, P.R., Heino, J., Melo, A.S. & Callisto, M. (2020). Choice of field and laboratory methods affects the detection of anthropogenic disturbances using stream macroinvertebrate assemblages. *Ecological Indicators*, 115, 106382.
- Liu, L., Li, B., Lin, K., Cai, W. & Wang, Q. (2014). Assessing benthic ecological status in coastal area near Changjiang River estuary using AMBI and M-AMBI. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 32(2), 290-305.
- Llansó, R.J., Scott, L.C., Dauer, D.M., Hyland, J.L. & Russel, D.E. (2002). An estuarine benthic Index of Biotic Integrity for the Mid-Atlantic Region of the United States. I. Classification of assemblages and habitat definition. *Estuaries*, 25(6A), 1219-1230.
- Luo, X., Lin, S., Yang, J., Shen, J., Fan, Y. & Zhang, L. (2017). Benthic habitat quality assessment based on biological indices in Xiaoqing River estuary and its adjacent sea of Laizhou Bay, China. *Journal of Ocean University of China. JOUC*, 537-546.
- Marques, J.C., Pardal, M.A., Nielsen, S.N. & Jorgensen, S.E. (1997). Analysis of the properties of exergy and biodiversity along an estuarine gradient of eutrophication [Article]. *Ecological Modelling*, 102(1), 155-167.
- Medeiros, C.R., Paiva, F.F., Ligeiro, R., Molozzi, J. & Melo, A.S. (2021). Saline gradient drives functional nestedness of polychaete communities in tropical estuaries. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 251, 107185.
- Medeiros, J.P., Chaves, M.L., Silva, G., Azeda, C., Costa, J.L., Marques, J.C., Costa, M.J. & Chainho, P. (2012). Benthic condition in low salinity areas of the Mira estuary

- (Portugal): Lessons learnt from freshwater and marine assessment tools. *Ecological Indicators*, 19, 79-88.
- Menegotto, A., Dambros, C.S. & Netto, S.A. (2019). The scale-dependent effect of environmental filters on species turnover and nestedness in an estuarine benthic community. *Ecology*, 100(7), e02721.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G. & The Prisma Group. (2009). Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement. *PLoS ONE*, 6(7), e1000097.
- Moher, D., Shamseer, L., Clarke, M., Ghersi, D., Liberati, A., Petticrew, M., Shekelle, P., Stewart, L.A. & PRISMA-P Group. (2015). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic Reviews*, 4(1), 1-9.
- Moreira, P.S.C., Guimarães, A.J.R. & Tsunoda, D.F. (2020). Qual ferramenta bibliométrica escolher? Um estudo comparativo entre softwares. *P2P & Inovação*, 6(2), 140-158.
- Mulik, J., Sukumaran, S. & Dias, H.Q. (2020). Is the benthic index AMBI impervious to seasonality and data transformations while evaluating the ecological status of an anthropized monsoonal estuary? *Ocean & Coastal Management*, 186, 105080.
- Muniz, P. & Venturini, N. (2001). Spatial distribution of the macrozoobenthos in the Sólis Grande Stream Estuary (Canelones-Maldonado, Uruguay). *Brazilian Journal of Biology*, 61(3), 409-420.
- Muxika, I., Borja, A. & Bald, J. (2007). Using historical data, expert judgement and multivariate analysis in assessing reference conditions and benthic ecological status, according to the European Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 55(1-6), 16-29.
- Muxika, I., Borja, A. & Bonne, W. (2005). The suitability of the marine biotic index (AMBI) to new impact sources along European coasts. *Ecological Indicators*, 5(1), 19-31.
- Neves, R.A.F. & Valentin, J.L. (2011). Revisão bibliográfica sobre a macrofauna bentônica de fundos não-consolidados, em áreas costeiras prioritárias para conservação no Brasil. *Arquivos de Ciência do Mar*, 44(3), 59-80.
- O'Brien, A., Townsend, K., Hale, R., Sharley, D. & Pettigrove, V. (2016). How is ecosystem health defined and measured? A critical review of freshwater and estuarine studies. *Ecological Indicators*, 69, 722-729.
- Pereira, R.S., Santos, I.C., Oliveira, K.D.S. & LeÃO, N.C.A. (2019). Meta-Analysis as a Research Tool: A Systematic Review of Bibliometric Studies in Administration. *RAM. Revista de Administração Mackenzie*, 20(5), eRAMG190186.
- Pérez-Domínguez, R., Maci, S., Courrat, A., Lepage, M., Borja, A., Uriarte, A., Neto, J.M., Cabral, H., St.Raykov, V., Franco, A., Alvarez, M.C. & Elliott, M. (2012). Current developments on fish-based indices to assess ecological-quality status of estuaries and lagoons. *Ecological Indicators*, 23, 34-45.
- Pinto, R., Patrício, J., Baeta, A., Fath, B.D., Neto, J.M. & Marques, J.C. (2009). Review and evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. *Ecological Indicators*, 9(1), 1-25.
- Puente, A. & Diaz, R.J. (2008). Is it possible to assess the ecological status of highly stressed natural estuarine environments using macroinvertebrates indices? *Marine Pollution Bulletin*, 56(11), 1880-1889.
- Qiu, B., Zhong, X. & Liu, X. (2018). Assessment of the benthic ecological status in the adjacent waters of Yangtze River Estuary using marine biotic indices. *Marine Pollution Bulletin*, 137, 104-112.
- Quataert, P., Verschelde, P., Breine, J., Verbeke, G., Goetghebeur, E. & Ollevier, F. (2011). A diagnostic modelling framework to construct indices of biotic integrity: A case study of

- fish in the Zeeschelde estuary (Belgium). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 94(3), 222-233.
- R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing*
- Reuscher, M.G., Montagna, P.A. & Sturdivant, S.K. (2018). Sampling techniques for the Marine Benthos. In J.K. Cochran, H. Bokuniewicz & P. Yager (Eds.), *Encyclopedia of Ocean Sciences* (3 ed.). Academic Press.
- Rosenberg, R., Blomqvist, M., H, C.N., Cederwall, H. & Dimming, A. (2004). Marine quality assessment by use of benthic species-abundance distributions: a proposed new protocol within the European Union Water Framework Directive. *Marine Pollution Bulletin*, 49(9-10), 728-739.
- Ruaro, R. & Gubiani, É.A. (2013). A scientometric assessment of 30 years of the Index of Biotic Integrity in aquatic ecosystems: Applications and main flaws. *Ecological Indicators*, 29, 105-110.
- Salameh, J.P., Bossuyt, P.M., McGrath, T.A., Thombs, B.D., Hyde, C.J., Macaskill, P., Deeks, J.J., Leeflang, M., Korevaar, D.A., Whiting, P., Takwoingi, Y., Reitsma, J.B., Cohen, J.F., Frank, R.A., Hunt, H.A., Hooft, L., Rutjes, A.W.S., Willis, B.H., Gatsonis, C., Levis, B., Moher, D. & McInnes, M.D.F. (2020). Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies (PRISMA-DTA): explanation, elaboration, and checklist. *BMJ*, 370, m2632.
- Sigamani, S., Perumal, M., Arumugam, S. & Veeraiyan, B. (2015). AMBI indices and multivariate approach to assess the ecological health of Vellar-Coleroon estuarine system undergoing various human activities. *Marine Pollution Bulletin*, 100(1), 334-343.
- Silva, D.R.O., Herlihy, A.T., Hughes, R.M. & Callisto, M. (2017). An improved macroinvertebrate multimetric index for the assessment of wadeable streams in the neotropical savanna. *Ecological Indicators*, 81, 514-525.
- Silva Junior, M.G., Castro, A.C.L. & Saint-Paul, U. (2017). Comparative analysis of distribution of intertidal fish assemblages in different estuarine systems on northern coast of Brazil. *Journal of Sustainable Development*, 10(2), 26-36.
- Simboura, N. & Zenetos, A. (2002). Benthic indicators to use in Ecological Quality classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic Index. *Mediterranean Marine Science*, 3/2, 77-111.
- Souza, E.P.S. (2006). Publication of scientific journals on the Internet. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*, 21(1), 24-28.
- Souza, G.B.G. & Vianna, M. (2020). Fish-based indices for assessing ecological quality and biotic integrity in transitional waters: A systematic review [Review]. *Ecological Indicators*, 109, 105665.
- Stoddard, J.L., Larsen, D.P., Hawkins, C.P., Johnson, R.K. & Norris, R.H. (2006). Setting expectations for the ecological condition of streams: The concept of reference condition. *Ecological Applications*, 16(4), 1267-1276.
- Teixeira, H., Salas, F., Borja, A., Neto, J.M. & Marques, J.C. (2008). A benthic perspective in assessing the ecological status of estuaries: The case of the Mondego estuary (Portugal) [Article]. *Ecological Indicators*, 8(4), 404-416.
- Thrush, S.F., Townsend, M., Hewitt, J.E., Davies, K., Lohrer, A.M., Lundquist, C. & Cartner, K. (2013). The many uses and values of estuarine ecosystems. In J. Dymond (Ed.), *Ecosystem services in New Zealand—conditions and trends* (pp. 226-237). Manaaki Whenua Press.
- Tranfield, D., Denyer, D. & Smart, P. (2003). Towards a Methodology for Developing Evidence-Informed Management Knowledge by Means of Systematic Review. *British Journal of Management*, 14, 207-222.

- Uriarte, A. & Borja, A. (2009). Assessing fish quality status in transitional waters, within the European Water Framework Directive: Setting boundary classes and responding to anthropogenic pressures. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 82(2), 214-224.
- Vadas, R.L., Hughes, R.M., Bae, Y.J., Baek, M.J., Gonzáles, O.C.B., Callisto, M., Carvalho, D.R., Chen, K., Ferreira, M.T., Fierro, P., Harding, J.S., Infante, D.M., Kleynhans, C.J., Macedo, D.R., Martins, I., Silva, N.M., Moya, N., Nichols, S.J., Pompeu, P.S., Ruaro, R., Silva, D.R.O., Stevenson, R.J., Terra, B.F., Thirion, C., Ticiani, D., Wang, L. & Yoder, C.O. (2022). Assemblage-based biomonitoring of freshwater ecosystem health via multimetric indices: A critical review and suggestions for improving their applicability. *Water Biology and Security*, 1(3), 100054.
- Van Dolah, R.F., Hyland, J.L., Holland, A.F., Rosen, J.S. & Snoots, T.R. (1999). A benthic index of biological integrity for assessing habitat quality in estuaries of the southeastern USA. *Marine Environmental Research*, 48(4-5), 269-283.
- Vanni, T., Mesa-Frias, M., Sanchez-Garcia, R., Roesler, R., Schwartzmann, G., Goldani, M.Z. & Foss, A.M. (2014). International scientific collaboration in HIV and HPV: a network analysis. *PLoS ONE*, 9(3), e93376.
- Vasconcelos, R.P., Batista, M.I. & Henriques, S. (2017). Current limitations of global conservation to protect higher vulnerability and lower resilience fish species. *Scientific Reports*, 7(1), 7702.
- Wang, C., Liu, Y., Zhan, Q., Yang, W. & Wu, N. (2018). Global trends in phytoplankton research of river ecosystems during 1991–2016: A bibliometric analysis. *Fundamental and Applied Limnology*, 191(1), 25-36.
- Weisberg, S.B., Ranasinghe, J.A., Schaffner, L.C., Diaz, R.J., Dauer, D.M. & Frithsen, J.B. (1997). An estuarine benthic index of biotic integrity (B-IBI) for Chesapeake Bay. *Estuaries*, 20(1), 149-158.
- Wetzel, M.A., Scholle, J. & Teschke, K. (2014). Artificial structures in sediment-dominated estuaries and their possible influences on the ecosystem. *Marine Environmental Research*, 99, 125-135.
- Wetzel, M.A., Von der Ohe, P.C., Manz, W., Koop, J.H.E. & Wahrendorf, D.-S. (2012). The ecological quality status of the Elbe estuary. A comparative approach on different benthic biotic indices applied to a highly modified estuary. *Ecological Indicators*, 19, 118–129.
- Wolff, W.J. (1973). The estuary as a habitat an analysis of data on the soft-bottom Macrofauna of the Estuarine area of the rivers rhine, Meuse, and Scheldt. *Zoologische Verhandelingen*, 126(1), 1-242.
- Word, J.Q. (1979). The Infaunal Trophic Index. In W. Bascom (Ed.), *Annual Report 1978 Southern California Coastal Water Research Project* (pp. 19-41). El Segundo.
- Young, S.S., Yang, H.N., Huang, D.J., Liu, S.M., Huang, Y.H., Chiang, C.T. & Liu, J.W. (2014). Using Benthic Macroinvertebrate and Fish Communities as Bioindicators of the Tanshui River Basin Around the Greater Taipei Area - Multivariate Analysis of Spatial Variation Related to Levels of Water Pollution. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(7), 7116-7143.
- Zhang, Y., Ban, X., Li, E., Wang, Z. & Xiao, F. (2020). Evaluating ecological health in the middle-lower reaches of the Hanjiang River with cascade reservoirs using the Planktonic index of biotic integrity (P-IBI). *Ecological Indicators*, 114, 106282.
- Zhou, Z., Li, X., Chen, L., Li, B., Liu, T., Ai, B., Yang, L., Liu, B. & Chen, Q. (2018). Macrobenthic assemblage characteristics under stressed waters and ecological health assessment using AMBI and M-AMBI: a case study at the Xin'an River Estuary, Yantai, China. *Acta Oceanologica Sinica*, 37(5), 77-86.

Zyoud, S.H., Waring, W.S., Al-Jabi, S.W. & Sweileh, W.M. (2017). Global research production in glyphosate intoxication from 1978 to 2015: A bibliometric analysis. *Human & Experimental Toxicology*, 36(10), 997-1006.

3. Sessão II

A escolha do tamanho da malha amostral na avaliação quantitativa do bentos estuarino

A segunda sessão desta tese foi elaborada (e posteriormente traduzida) e formatada conforme as normas do periódico científico *Hydrobiologia*, disponível em: <https://www.springer.com/journal/10750/submission-guidelines>

1 **A escolha do tamanho da malha amostral na avaliação quantitativa do bentos estuarino²**

2
3 Rafael Anaisce*

4 Address: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute,
5 Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

6 Email: rafaelanaisce@hotmail.com

7 ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1555-6154>

8
9 Mara Rúbia Ferreira Barros

10 Address: Laboratório de Ecotoxicologia (ICB) e Laboratório de Pesquisa em Monitoramento
11 Ambiental Marinho, Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110,
12 Belém, PA, Brazil.

13 Email: eng.p.marabarrosgmail.com

14 ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1354-7550>

15
16 Weverton John Pinheiro dos Santos

17 Address: Integrated Biological Research Group - GIBI, Federal University of Pará, Rua
18 Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

19 Email: weverton_john@hotmail.com

20 ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8413-5081>

21
22 Raphael Ligeiro

23 Address: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute,
24 Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

25 Email: ligeirobio@gmail.com

26 ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9717-5461>

27
28 Endereço: Ecology and Conservation Laboratory (LABECO), Biological Sciences Institute,
29 Federal University of Pará, Rua Augusto Corrêa 01, zip code 66075-110, Belém, PA, Brazil.

30 * Corresponding author - Email: rafaelanaisce@hotmail.com

31

² Título final (lingua inglesa): **The choice of the sampling mesh size in the quantitative assessment of estuarine benthos**

32 **Author contributions**

33 **Rafael Anaisce:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Writing - Original Draft,
34 Visualization. **Mara Rúbia Ferreira Barros** and **Weverton John Pinheiro dos Santos:**
35 Conceptualization, Methodology, Formal analysis. **Raphael Ligeiro:** Conceptualization,
36 Writing - Review & Editing, Supervision.

37

38 **Resumo**

39 A seleção do tamanho de malha a ser utilizado em pesquisas com a macrofauna bentônica é
40 uma questão bastante discutida na literatura científica, tendo implicações na viabilidade de
41 estudos de larga escala. Neste estudo realizamos uma análise da eficiência amostral de
42 diferentes tamanhos de malhas na amostragem de comunidades bentônicas estuarinas. As
43 amostragens foram realizadas em quatro pontos no estuário do rio Primavera (Amazônia
44 Oriental), em setembro de 2020, utilizando quatro quadrantes (1m² cada) em cada ponto,
45 dispostos em duas faixas paralelas (margem do rio e bosque de mangue) situadas dentro da
46 região intermareal. Em laboratório, triamos as amostras em malhas com abertura 0,5 mm, 1,0
47 mm e 2,0 mm e identificamos ao menor nível taxonômico possível (espécie ou morfoespécie).
48 Os resultados mostraram que a eficiência de retenção das malhas 1,0 mm e 2,0 mm foram
49 semelhantes, quando comparada com as estimativas de densidade obtidas pela malha de
50 tamanho 0,5 mm. A diferença encontrada para a riqueza de espécies deve-se principalmente à
51 presença de alguns táxons encontrados apenas na malha mais fina, como ostracodes,
52 foraminíferos e nematódeos. Além disso, as respostas ecológicas por meio dos indicadores
53 ecológicos não apresentam diferenças entre os tamanhos de malha avaliados. A composição das
54 espécies da malha de tamanho 1,0 mm e 2,0 mm foram similares e ambas diferiram da malha
55 0,5 mm. Conclui-se que a utilização de uma malha maior (2,0 mm) em estudos que objetivam
56 a caracterização biológica de habitats bentônicos ou investigações de relações entre os
57 organismos e o habitat demonstrou-se ser eficaz. No entanto, para avaliações da biodiversidade,
58 o uso de malha mais fina (0,5 mm) apresenta melhores resultados, revelando uma maior
59 abundância de indivíduos e riqueza de espécies.

60

61 **Palavras-chave:** Macroinvertebrados. Composição de espécies. Indicadores ecológicos.

62

63 **Introdução**

64 O uso de indicadores biológicos permite inferir sobre a condição ecológica de um
65 ecossistema (Borja et al., 2011; Puente & Diaz, 2008; Simboursa & Zenetos, 2002). Isso é
66 possível devido a relação entre os dados biológicos e os graus de perturbações ambientais
67 (Engle & Summers, 1999). Diversos grupos taxonômicos são utilizados como indicadores de
68 perturbações ambientais (Ganesh et al., 2014; Izegaegbe et al., 2020; Sany et al., 2015).

69 Os macroinvertebrados bentônicos são utilizados frequentemente como indicadores de
70 distúrbios ambientais em áreas marinhas (Borja et al., 2008; Borja et al., 2000; Pearson &
71 Rosenberg, 1978; Young et al., 2014; Zhou et al., 2018). A vantagem da utilização deste grupo
72 taxonômico advém de características como íntima e obrigatória relação com o fundo, baixa
73 mobilidade, baixo custo de amostragem e alta diversidade taxonômica, de modos e histórias de
74 vida (Gray et al., 1992; Borja et al., 2000; Docile & Figueiró, 2013; Clarke et al., 2014; Weisberg
75 et al., 1997). Tais características fazem com que os macroinvertebrados bentônicos apresentem

76 uma sensibilidade não só à poluição da água, mas também às alterações ocasionadas nos
77 habitats físicos.

78 As metodologias de amostragem da macrofauna bentônica são diversas e, por conta
79 disso, não há padronização amostral nos estudos. A escolha de uma metodologia depende das
80 características sedimentares na área de estudo, recursos financeiros disponíveis, objetivo da
81 pesquisa e preferências dos pesquisadores (Rumohr, 2009). Além disso, a relação custo-
82 benefício da amostragem (Souza & Barros, 2015), relacionado ao tempo necessário para o
83 processamento das amostras bem como a eficiência do equipamento, também influencia na
84 escolha do aparato de amostragem a ser utilizado (Eleftheriou, 2013; Rumohr, 2009). Essas
85 decisões possuem grande relevância científica, pois a metodologia utilizada influencia na
86 eficácia da avaliação ambiental (Ligeiro et al., 2020). A busca por métodos padronizados e
87 eficazes de amostragem é primordial (Couto et al., 2010), principalmente quando se trata de
88 estudos realizados em ambientes estuarinos. Nos estuários, as amostragens possuem um custo
89 elevado e são demoradas devido, principalmente, aos esforços na coleta de material biológico
90 e posteriores análises laboratoriais (*p.ex.*, triagem e identificação taxonômica) (Carey &
91 Keough, 2002).

92 Um dos aspectos mais discutidos em termos de metodologias de amostragem é a escolha
93 do tamanho da malha utilizada na retenção da macrofauna bentônica (Somerfield et al., 2018).
94 O uso de uma malha de 1,0 mm é bastante difundido em estudos em estuários que usam padrões
95 de macrofauna para caracterizar habitats bentônicos (Checon et al., 2022). Mas aqueles com
96 finalidades mais específicas utilizam peneira com malha de 0,5 mm ou mais fina (Hemery et
97 al., 2017; Ptatscheck et al., 2020; Rumohr, 2009; Souza & Barros, 2015). Entre as várias etapas
98 da coleta de organismos bentônicos, o uso de um determinado tamanho de malha amostral pode
99 representar um aumento considerável no tempo de processamento das amostras (*p.ex.*, tempo
100 de triagem e de identificação taxonômica) (Couto et al., 2010). Assim, se dois ou mais tamanhos
101 de malhas apresentarem similaridades nas respectivas avaliações, poderemos escolher um
102 tamanho de malha maior, diminuindo assim o tempo de processamento em laboratório.

103 No presente estudo objetivamos realizar uma análise comparativa de diferentes
104 tamanhos de malhas na amostragem da comunidade bentônica estuarina. Os objetivos foram:
105 (1) testar se peneiras com diferentes tamanhos de malha fornecem diferentes composições da
106 comunidade bentônica; (2) comparar o desempenho de diferentes indicadores ecológicos com
107 base em dados utilizando peneiras de 0,5 mm, 1 mm e 2 mm de malha.

108

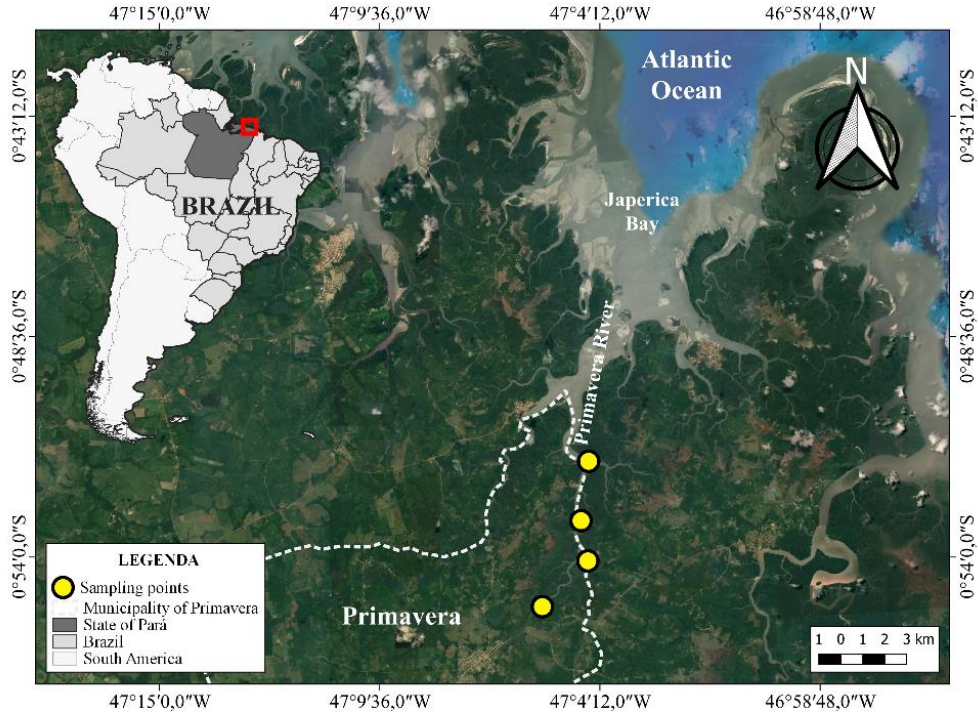
109 **Material e métodos**

110 *Area de estudo*

111 A área de estudo é a região estuarina do Rio Primavera, situado no município de
112 Primavera (Figura 1), pertencente à região bragantina do estado do Pará (Amazônia Oriental).
113 A região possui clima tropical quente e úmido (temperatura média de 27,7 °C e umidade do ar
114 entre 80 e 85%), possuindo também altos índices pluviométricos com variações de precipitação
115 ao longo do ano (Moraes et al., 2005), determinando dois períodos sazonais: um de estiagem
116 (ou menos chuvoso) – com pluviometria mensal com média inferior a 60 mm de junho a
117 dezembro, regionalmente conhecido como “verão amazônico”; e um período chuvoso, com
118 pluviosidade entre 2500-3000 mm, que dura de janeiro a junho, conhecido como inverno
119 amazônico.

120

121



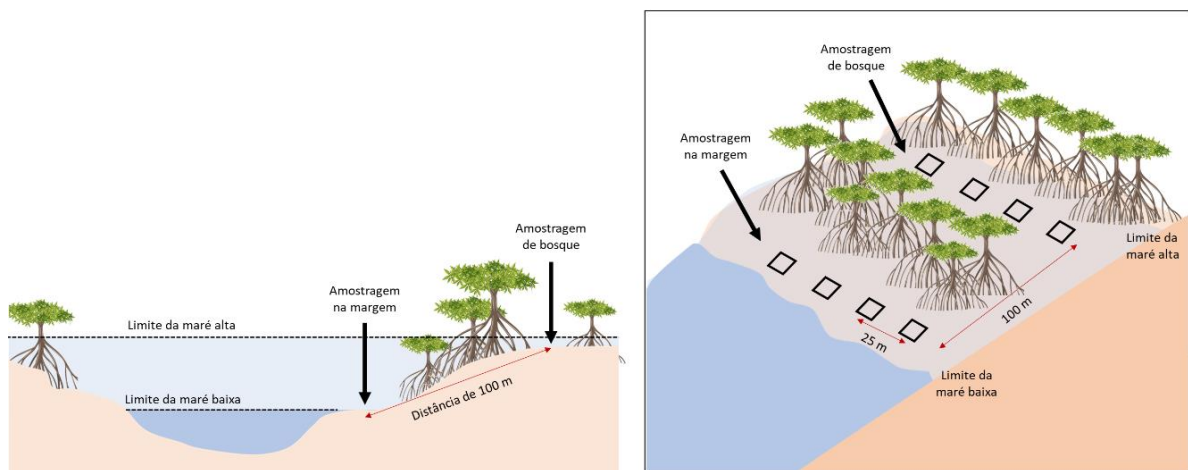
122
123 **Figura 1:** Pontos de coleta (●) na região estuarina do Rio do Primavera, município de Primavera, estado do Pará.
124

125 *Procedimento amostral*

126 Realizamos amostragens da comunidade bentônica em setembro de 2020, em quatro
127 pontos de coleta nos manguezais do estuário do Rio Primavera. Em cada ponto efetuamos
128 amostragens em duas faixas, uma nas margens do rio (ou canal principal) e outra dentro do
129 bosque de mangue. Em cada faixa estendemos uma linha paralela à margem do rio, onde foram
130 dispostos quatro quadrantes de 1 m² cada um, distanciados entre si em 25 m (Figura 2). Assim,
131 em cada ponto amostral foi obtido um total de oito quadrantes, somando 32 quadrantes
132 coletados nos quatro pontos amostrais (Figura 2). Todas as amostragens foram efetuadas
133 durante período de baixa maré.

134 Em cada quadrante coletamos 5 cm de profundidade no sedimento. As amostras foram
135 peneiradas *in situ* em peneira de malha de 0,5 mm, etiquetadas e o material preservado em
136 etanol a 70 %.

137



138

139

140

Figura 2: Procedimento amostral em cada ponto na região estuarina do Rio do Primavera, município de Primavera, estado do Pará.

141 *Triagem e identificação taxonômica*

142 Em laboratório, lavamos as amostras em água corrente utilizando uma coluna de
143 peneiras com três tamanhos de malha: 0,5 mm, 1,0 mm e 2,0 mm. Esse procedimento permitiu
144 a separação da amostra em três estratos, ou seja, estrato 1 com bentos retidos em malha de 2,0
145 mm, estrato 2 com bentos retidos em malha de 1,0 mm, e estrato 3 com bentos resultantes da
146 retenção em malha de 0,5 mm.

147 Posteriormente à lavagem e triagem, todos os espécimes foram quantificados e
148 identificados ao menor nível taxonômico possível com o uso de bibliografia especializada para
149 cada táxon: invertebrados gerais (Amaral et al., 2006; Matthews-Cascon & Lotufo, 2006),
150 moluscos (Dornellas & Simone, 2011; Leal, 2002a, 2002b; Longo et al., 2014; Rios, 2009),
151 poliquetas (Amaral & Nonato, 1981; Amaral & Nonato, 1996) e crustáceos (Bezerra & Júnior,
152 2006; Ng, 2004). Quando a identificação dos organismos ao nível de espécie não foi possível,
153 mas os indivíduos puderam ser morfológicamente identificados e agrupados como espécies
154 distintas, os mesmos foram tratados como morfoespécies. Cada grupo identificado foi
155 devidamente separado, etiquetado, armazenados em etanol 70% e depositado nas respectivas
156 coleções do Museu de Zoologia da Universidade Federal Rural da Amazônia (MZUFRA).

157

158 *Variáveis biológicas investigadas*

159 Para a análise comparativa de diferentes tamanhos de malhas na amostragem de
160 comunidade bentônica foram utilizadas seis variáveis: abundância, riqueza, Índice de riqueza
161 de Margalef, Índice de diversidade Shannon-Wiener, Índice de dominância de Simpson e Índice
162 de Equabilidade de Pielou. Tais variáveis foram selecionadas para análise em virtude de sua
163 frequente utilização em estudos de levantamento da comunidade bentônica e de monitoramento
164 ambiental em ambientes estuarinos, o que destaca a eficiência das mesmas no diagnóstico das
165 condições ecológicas neste ambiente.

166 A abundância (N) foi expressa em número de indivíduos por metro quadrado.

167 A riqueza de espécies (S) expressa simplesmente o número total de espécies observadas.

168 A riqueza de Margalef (d) tem como objetivo relacionar o número de espécies com o
169 número de indivíduos de uma comunidade (Margalef, 1984). É expressa pela equação $d = \frac{S-1}{\log N}$,

170 onde S é o valor de riqueza de espécies e N o número total de indivíduos. Considera-se baixa
171 diversidade quando d possui valor baixo.

172 O índice de diversidade de Shannon-Wiener (H') é considerado o índice de diversidade
173 mais apropriado para amostras aleatórias de espécies de uma comunidade de interesse, pois
174 mede o grau de incerteza em prever a que espécie pertencerá a um indivíduo escolhido, ao
175 acaso, de uma amostra com S espécies e N indivíduos (Shannon & Weaver, 1963). É calculado
176 pela equação $H' = -\sum_i \frac{N_i}{N} \ln \frac{N_i}{N}$, sendo i as várias espécies presentes na amostra, N_i as
177 abundâncias de cada espécie e N o número total de indivíduos. Quanto menor o valor de H' ,
178 menor o grau de incerteza e, portanto, a diversidade da amostra é baixa. A diversidade tende a
179 ser mais alta quanto maior o valor de H' .

180 O Índice de dominância de Simpson (D) é um índice que calcula a probabilidade de dois
181 indivíduos escolhidos ao acaso na comunidade pertencerem à mesma espécie. A escala de D
182 varia de 0 a 1, sendo quanto maior o valor de D , maior a dominância, ou seja, menor a
183 diversidade.

184 O Índice de equabilidade de Pielou (J') busca analisar o padrão de distribuição dos
185 indivíduos entre as espécies, sendo proporcional a diversidade (Pielou, 1969), sendo expressa
186 pela equação $J = \frac{H'}{\log N}$. A escala de J varia de 0 a 1, sendo que, $J < 0,5$ apresenta-se baixa
187 equitabilidade e $J > 0,5$ alta equitabilidade.

188

189 *Análise de dados*

190 Assumimos que os organismos retidos por um dado tamanho de malha seriam retidos
191 por peneiras de tamanho de malha maior. Deste modo, determinamos os números cumulativos
192 de organismos e espécies a partir do fracionamento cumulativo das peneiras. Assim, para
193 contabilizar os organismos retidos na peneira de 1 mm foram somados os dados das peneiras
194 de 1 mm e 2 mm, e para contabilizar os organismos retidos na peneira de 5 mm foram somados
195 os dados das duas outras peneiras.

196 Inicialmente, utilizamos o método de rarefação para comparar a eficiência amostral dos
197 tamanhos de malhas utilizados para representar a riqueza de espécies. As curvas de rarefação
198 foram feitas baseadas no esforço amostral em termos (1) do número de indivíduos e (2) do
199 número de amostras (Gotelli & Colwell, 2001). Para isso utilizamos as funções do pacote
200 *iNEXT* (iNterpolation e EXTrapolation) (Hsieh et al., 2016). A comparação das curvas é
201 efetuada considerando a sobreposição dos intervalos de confiança de 95% (Chao et al., 2014).
202 Para rarefação (interpolação) e predição (extrapolação) baseou-se em amostragens de
203 incidência ou abundância utilizando o método Bootstrap.

204 Para verificar se o tamanho da malha influencia na determinação das variáveis
205 biológicas mensuradas, primeiramente calculamos e testamos os pressupostos de normalidade
206 (teste de Shapiro-Wilk) e de homoscedasticidade (teste de Levene). Buscando não violar os
207 pressupostos de normalidade e homoscedasticidade, os dados foram logaritimizados. Utilizamos
208 uma Análise de Variância em blocos, seguida de um teste post-hoc de Tukey. O uso do teste
209 ANOVA em blocos se deve ao fato dele possibilitar que uma segunda fonte de variação
210 aleatória – denominada de bloco – seja controlada. Neste caso, os blocos representaram cada
211 quadrante amostrado. Assim, estimou-se apenas o efeito do tamanho de malha na variável
212 resposta, sem a interferência das naturais diferenças entre os quadrantes.

213 Para sumarizar os dados da estrutura e composição da assembleia, utilizamos a análise
214 de escalonamento multidimensional não-métrico (Non-Metric Multidimensional Scaling –
215 NMDS) ordenando os 16 pontos amostrados em cada ambiente com base na similaridade de
216 composição das espécies. Para testar a diferença na composição de espécies entre as três malhas
217 aplicamos uma Análise de Similaridade (ANOSIM). Os valores R resultantes revelam
218 diferenças na composição de espécies, considerando que valores de R próximos a 0 indicam
219 ausência de separação, enquanto valores de R mais próximos de 1 sugerem separação entre
220 grupos (Clarke, 1993). Para o ANOSIM utilizamos o índice de dissimilaridade de Jaccard, que
221 considera apenas a presença/ausência das espécies nas amostras, e a distância de Gower
222 modificada, com os dados de abundância logaritimizados em base 2, desta forma também
223 representando as abundâncias das espécies na composição (Anderson et al., 2006).

224 Adicionalmente, com a finalidade de determinar a retenção percentual e seletividade das
225 malhas testadas, utilizamos o Método de Classificação Multinormal de Espécies (CLAM)
226 (Chazdon et al., 2011). O CLAM é um análise que tem como objetivo de verificar a
227 especificidade na composição de espécies, dividindo-os em quatro grupos com base em sua
228 frequência de ocorrência com um limiar de especialização de 60%. Os grupos foram: (i)
229 espécies retidas em malha de tamanho maior; (ii) espécies retidas em malha de tamanho menor;
230 (iii) espécies retidas em todas as malhas comparadas (ou seja, espécies generalistas); e (iv)
231 espécies com baixa frequência de ocorrência em qualquer um dos tamanhos de malhas, deste
232 modo consideradas raras.

233 Todas as análises foram consideradas a um nível de significância de 95% e executadas
234 no *software* R versão 4.1.0 (R Foundation for Statistical Computação) (R Core Team, 2023),
235 usando o pacote *Vegan* (Oksanen et al., 2019).

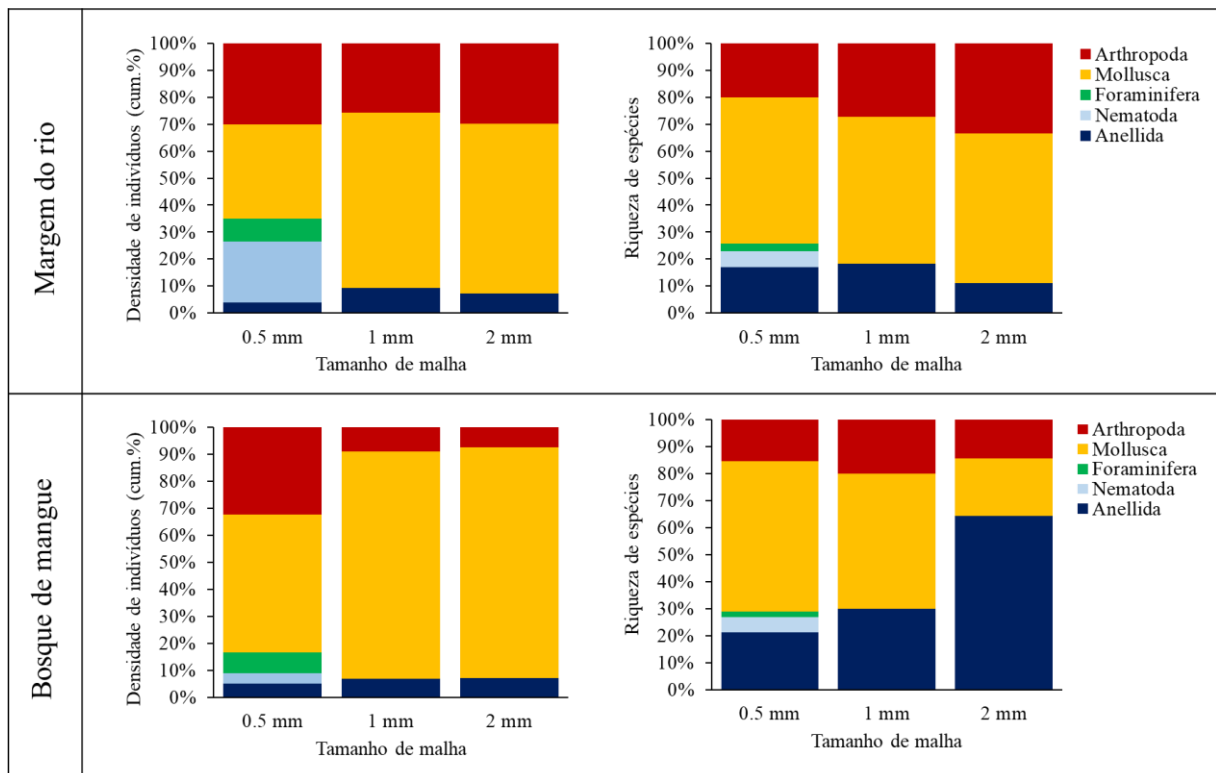
236

237 Resultados

238 Ao todo foram coletados 6.226 espécimes, pertencentes a 59 táxons dos filos Anellida,
 239 Arthropoda, Foraminifera, Mollusca e Nematoda (Tabela 1). Desse total, 2.940 indivíduos
 240 (representando 35 espécies) correspondem aqueles encontrados na margem do rio e 3.286
 241 (representando 52 espécies) no bosque de mangue. Isso correspondeu aos organismos coletados
 242 na malha de 0,5 mm (que corresponde a soma dos dados das malhas de 0,5 mm, 1,0 mm e 2,0
 243 mm).

244 A amostragem na margem do rio apresentou uma retenção média de 47% de abundância
 245 de indivíduos e 60% na riqueza de espécies com malha de 1,0 mm. Com a malha de 2,0 mm, a
 246 retenção média foi de 37% de abundância e 49% na riqueza. Os resultados da amostragem no
 247 bosque de mangue foram bem semelhantes, com retenção média de 48% de abundância e 49%
 248 na riqueza com malha de 1,0 mm, e de 41% de abundância e 44% na riqueza com a malha de
 249 2mm (Tabela 1).

250 Os moluscos foram mais abundantes e diversos nas amostragens realizadas margem do
 251 rio, independentemente do tamanho da malha considerada (Figura 3). De forma bem semelhante
 252 foi observado na amostragem no bosque do mangue, com os moluscos mais abundantes
 253 independentemente do tamanho da malha considerada. No entanto, nesta região amostral
 254 (Figura 3), destaca-se a maior riqueza de espécies de anelídeos em malha de 2,0 mm (Figura
 255 3). Outra observação importante é a presença de foraminífera e nematódeos apenas na malha
 256 de 0,5 mm.
 257



258 **Figura 3.** Comparação da composição relativa da comunidade bentônica do Rio Primavera, derivada de
 259 amostragem na margem do rio e bosque de mangue obtidos com peneiras de 0,5 mm, 1 mm e 2 mm. A composição
 260 é descrita como percentual da densidade populacional por m² e riqueza de espécies.
 261
 262

Tabela 1: Composição da comunidade bentônica amostrada na margem do rio e no bosque de mangue situados no rio Primavera.

N	Taxa	Espécies	Amostras com o táxon (n)	MARGEM DO RIO					Soma	Amostras com o táxon (n)	BOSQUE DE MANGUE					Soma	TOTAL
				Tamanho das malhas							Tamanho das malhas						
				0.5 mm	1.0 mm	2.0 mm		0.5 mm			1.0 mm	2.0 mm					
				Densidade	Densidade	Retenção	Densidade	Retenção			Densidade	Densidade	Retenção	Densidade	Retenção		
Ind.m ⁻²	Ind.m ⁻²	%	Ind.m ⁻²	%	Ind.m ⁻²	Ind.m ⁻²	%	Ind.m ⁻²	%								
1	Anellida	<i>Alitta succinea</i>	1	1,0	1,0	100%	n.p.	0%	1	1	3,0	3,0	100%	3,0	100%	3	4
2		<i>Diopatra</i> sp.							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
3		<i>Glycera</i> sp.	2	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	8							8	
4		<i>Laonereis acuta</i>							1	2,0	2,0	100%	2,0	100%	2	2	
5		<i>Namalycastis abiuma</i>							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
6		<i>Neanthes bruaca</i>	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	2	4,5	1,0	11%	1,0	11%	9	13
7		<i>Nereis riisei</i>							4	1,5	1,5	100%	1,5	100%	6	6	
8		<i>Nereis</i> sp.1							1	2,0	2,0	100%	2,0	100%	2	2	
9		<i>Nereis</i> sp.2	1	1,0	1,0	100%	n.p.	0%	1	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	5
10		<i>Perinereis anderssoni</i>							1	2,0	2,0	100%	2,0	100%	2	2	
11		<i>Perinereis ponteni</i>	1	3,0	3,0	100%	3,0	100%	3							3	
12		<i>Pisone</i> sp.							2	1,0	1,0	100%	1,0	50%	2	2	
13		<i>Spio</i> sp.	2	2,5	1,0	20%	1,0	20%	5	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	9
14	Arthropoda	Acari indet.	13	22,5	n.p.	0%	n.p.	0%	292	14	38,6	n.p.	0%	n.p.	0%	540	832
15		<i>Pseudodiaptomus</i> sp.							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
16		Insecta indet. (larva)	9	8,4	2,0	21%	1,9	20%	76	11	13,9	4,5	29%	4,3	28%	153	229
17		<i>Uca</i> sp.	13	10,7	10,7	100%	10,7	100%	139	7	6,1	6,1	100%	6,0	98%	43	182
18		<i>Callinectes</i> sp.	1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1							1	
19		Amphipoda indet.	4	2,8	1,0	27%	1,0	18%	11	3	31,0	3,0	10%	2,0	2%	93	104
20		Stomatopoda indet.	1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	8	6,9	1,8	20%	1,6	15%	55	56
21		<i>Macrobrachium</i> sp.							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
22		Ostracoda indet.	11	75,0	1,0	0%	1,0	0%	825	9	65,6	2,0	0%	n.p.	0%	590	1415
23	Foraminifera	Foraminifera indet.	13	33,5	n.p.	0%	n.p.	0%	436	13	40,0	n.p.	0%	n.p.	0%	520	956
24	Mollusca	<i>Chione</i> sp.	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	8
25		<i>Crassostrea gasar</i>	3	2,0	2,0	100%	2,0	100%	6	3	2,3	2,3	100%	2,3	100%	7	13
26		<i>Cyclinella tenuis</i>	7	25,9	1,0	1%	n.p.	0%	181	4	25,0	n.p.	0%	n.p.	0%	100	281
27		<i>Leukoma pectorina</i>							1	2,0	2,0	100%	1,0	50%	2	2	
28		<i>Mytella charruana</i>	6	1,2	1,2	100%	1,2	86%	7	11	2,8	2,8	100%	2,7	97%	31	38
29		<i>Neoteredo reynei</i>							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
30		<i>Polymesoda caroliniana</i>	14	18,1	13,0	67%	8,5	44%	253	14	55,3	57,7	97%	60,0	85%	774	1027
31		<i>Semele proficua</i>	9	4,6	4,6	100%	4,4	98%	41	2	2,5	2,5	100%	2,5	100%	5	46
32		<i>Semele</i> sp.	6	5,8	5,2	89%	5,2	89%	35	3	2,0	2,0	100%	2,0	100%	6	41
33		Semelidae indet.							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	

Tabela 1: Continuação.

N	Taxa	Espécies	Amostras com o táxon (n)	MARGEM DO RIO					BOSQUE DE MANGUE					TOTAL			
				Tamanho das malhas					Tamanho das malhas								
				0,50 mm Densidade Ind.m ⁻²	1,0 mm Densidade Ind.m ⁻²	Retenção %	2,0 mm Densidade Ind.m ⁻²	Retenção %	Soma	0,50 mm Densidade Ind.m ⁻²	1,0 mm Densidade Ind.m ⁻²	Retenção %	2,0 mm Densidade Ind.m ⁻²		Retenção %	Soma	
34	Mollusca	<i>Sphenia fragilis</i>							1	2,0	2,0	100%	2,0	100%	2	2	
35		<i>Tagelus plebeius</i>	1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1							1	
36		<i>Tellina</i> sp.							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
37		Veneridae indet.							1	12,0	n.p.	0%	n.p.	0%	12	12	
38		Veneridae indet.2							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
39		<i>Assiminea</i> sp.	3	1,3	1,3	100%	1,0	25%	4	4	2,8	1,5	27%	n.p.	0%	11	15
40		<i>Assiminea succinea</i>	4	10,0	n.p.	0%	n.p.	0%	40	3	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	12	52
41		<i>Circulus</i> sp.	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	2	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	8	12
42		<i>Heleobia</i> sp.	1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	5
43		Hidrobiidae indet.							1	1,0	1,0	100%	n.p.	0%	1	1	
44		<i>Ketosia</i> sp.							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
45		<i>Melampus coffea</i>	6	8,7	8,7	100%	8,3	96%	52	6	13,2	13,2	100%	13,2	100%	79	131
46		Monoplacophora indet.							3	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	12	12	
47		<i>Natica</i> sp.	4	5,0	n.p.	0%	n.p.	0%	20	2	6,0	n.p.	0%	n.p.	0%	12	32
48		<i>Onchidium</i> sp.	3	2,3	2,3	100%	2,3	100%	7	1	84,0	84,0	100%	84,0	100%	84	91
49		<i>Parnavasis obesa</i>							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
50		<i>Parodizia uruguayensis</i>	2	6,5	1,0	8%	n.p.	0%	13							13	
51		Phasianellidae indet.	1	12,0	n.p.	0%	n.p.	0%	12							12	
52		<i>Rissoella</i> sp.	1	24,0	n.p.	0%	n.p.	0%	24							24	
53		Solariellidae indet.	1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	3	5,3	n.p.	0%	n.p.	0%	16	20
54		<i>Solariorbis schumoi</i>							1	2,0	2,0	100%	n.p.	0%	2	2	
55		<i>Stramonita floridana</i>							1	1,0	1,0	100%	1,0	100%	1	1	
56		<i>Tenagodus</i> sp.							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
57	Nematoda	Nematoda indet. 1							1	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	4	4	
58		Nematoda indet. 2	4	61,0	n.p.	0%	n.p.	0%	244	2	12,0	n.p.	0%	n.p.	0%	24	268
59		Nematoda indet. 3	6	30,7	n.p.	0%	n.p.	0%	184	4	4,0	n.p.	0%	n.p.	0%	16	200
		TOTAL							2940							3286	

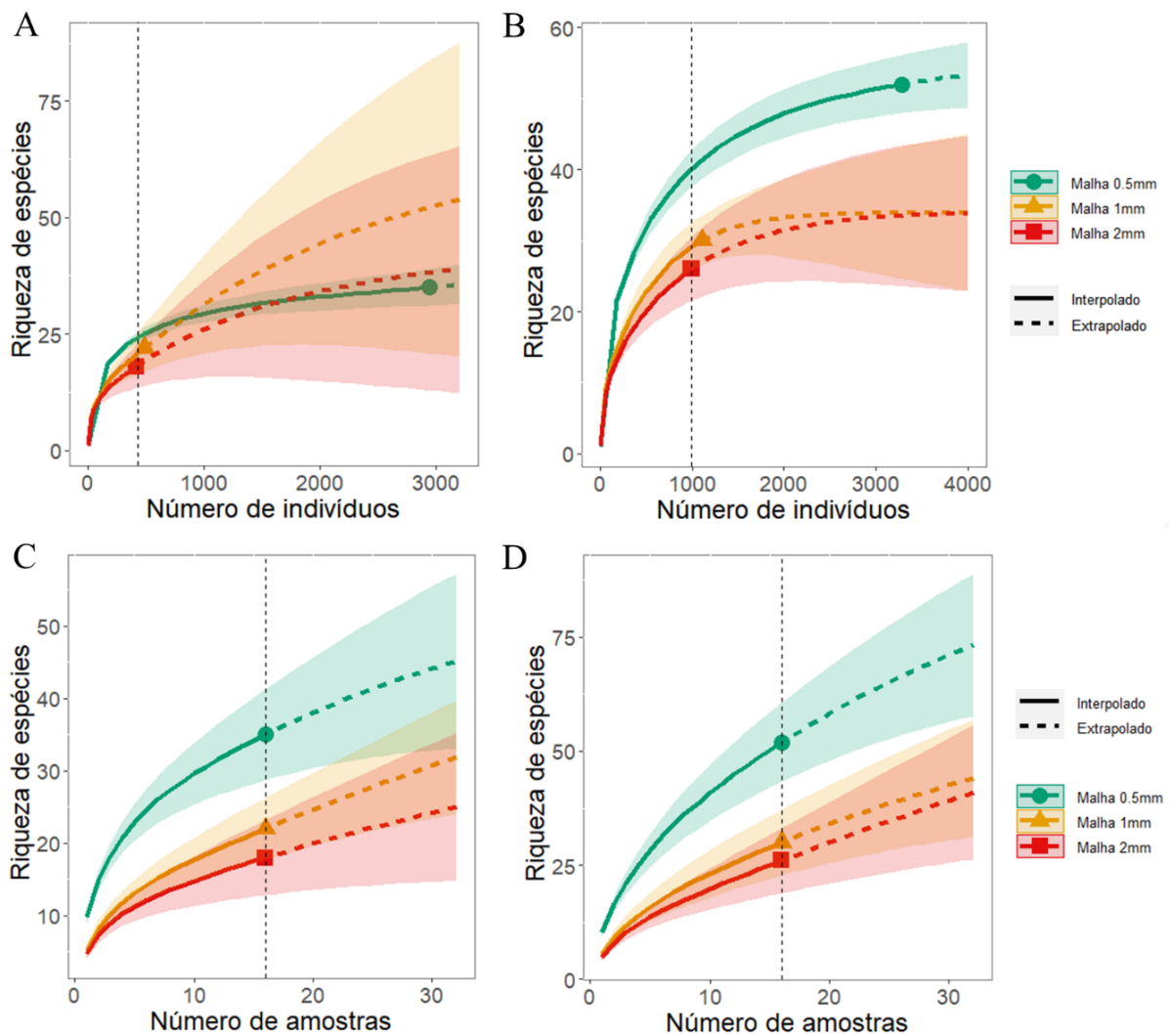
264 Legenda: n.p. = não presente.

265

266

267 A partir da curva de rarefação com base no número de indivíduos é possível perceber
 268 que a riqueza de espécies bentônicas coletadas na margem do rio não difere entre os três
 269 tamanhos de malhas analisados. Isso é indicado pela sobreposição dos intervalos de confiança
 270 das curvas (Figura 4A). As curvas de rarefação dos macroinvertebrados coletados no bosque de
 271 mangue indicam que a riqueza de espécies entre as malhas de tamanhos 1,0 mm e 2,0 mm são
 272 semelhantes, mas estas diferem do tamanho de malha 0,5 mm (Figura 4B), possuindo um maior
 273 número de espécies. Além da interpolação, também são indicadas as extrapolações que nos
 274 permite estimar o número de espécies ao ser aplicado um esforço de coleta maior.

275 As curvas de rarefação com base no número de amostras foram semelhantes nos dois
 276 ambientes amostrados (margem do rio e bosque de mangue), indicando similaridade na riqueza
 277 de espécies nas malhas de tamanho 1,0 m e 2,0 mm e divergência entre estas malhas e a de
 278 tamanho 0,5 mm (Figura 4C-D). Destaca-se que as extrapolações indicam, em ambos os
 279 ambientes, que a riqueza acumulada tende a aumentar com o aumento do número de amostras.
 280



281 **Figura 4.** Curvas de rarefação da comunidade bentônica considerando os três diferentes tamanhos de malha nas
 282 amostragens realizadas na margem do rio (A e C) e bosque de mangue (B e D).
 283
 284

285 A comparação das variáveis biológicas entre os tamanhos de malha apresentou
286 resultados semelhantes nas amostragens da margem do rio e do bosque de mangue (Figura 5).

287 Na margem do rio, a densidade ($F_{(2,30)}=33,947$; $p<0,001$) e a riqueza ($F_{(2,30)}=51,202$;
288 $p<0,001$) na malha de 0,5 mm foram significativamente maiores do que em malhas maiores,
289 com uma densidade de indivíduos de 153,53 ind.m⁻² ($p<0,001$) e cinco espécies ($p<0,001$) a
290 mais do que em malhas de tamanho 1,0 mm e densidade de indivíduos de 157,69 ind.m⁻²
291 ($p<0,001$) e seis espécies ($p<0,001$) a mais do que em malhas de tamanho 2,0 mm. Não houve
292 diferenças significativas na comparação da densidade de indivíduos ($p=0,983$) e riqueza de
293 espécies ($p=0,826$) entre as malhas 1,0 mm e 2,0 mm. A comparação da riqueza de Margalef
294 entre os tamanhos malhas indica diferenças significativas ($F_{(2,30)}=23,256$; $p<0,001$),
295 apresentando que malha de 0,5 mm são menos diversas do em 1,0 mm ($p=0,001$) e 2,0 mm
296 ($p=0,983$), não havendo diferenças significativas entre as malhas maiores ($p=0,988$). Não houve
297 diferenças significativas nas comparações dos demais índices de diversidade entre os tamanhos
298 de malha: diversidade Shannon-Wiener ($F_{(2,30)}=8,203$; $p=0,067$), dominância de Simpson
299 ($F_{(2,30)}=2,088$; $p=0,141$) e equabilidade de Pielou ($F_{(2,30)}=2,126$; $p=0,136$).

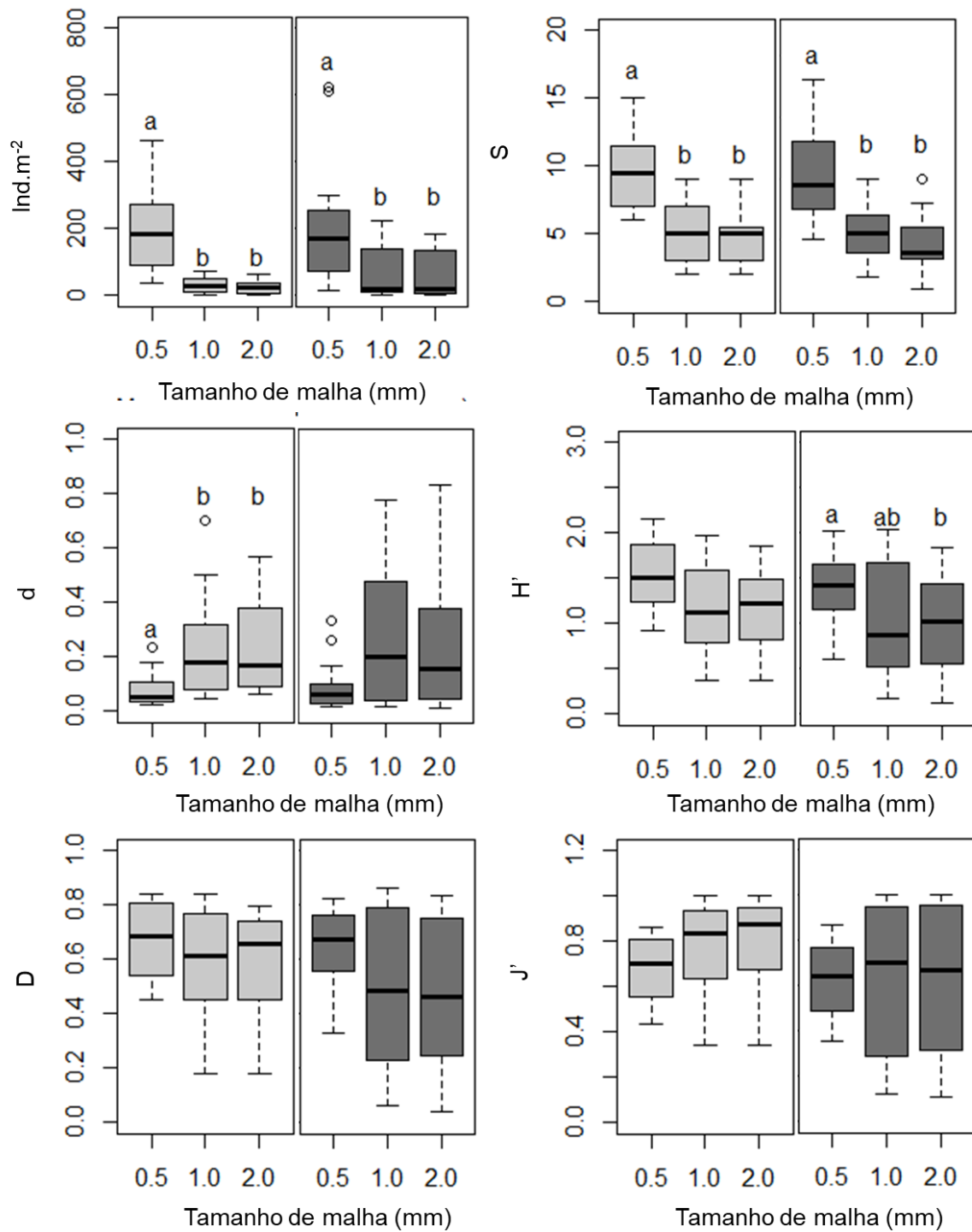
300 No bosque de mangue, a densidade de indivíduos ($F_{(2,30)}=26,894$; $p<0,001$) e a riqueza
301 de espécies ($F_{(2,30)}=36,744$; $p<0,001$) encontradas no tamanho da malha de 0,5 mm foram
302 significativamente maiores do que em malhas maiores, com um total de 136,25 ind.m⁻²
303 ($p=0,008$) e cinco espécies ($p<0,001$) a mais do que em malhas de tamanho 1,0 mm e 143,375
304 ind.m⁻² ($p=0,005$) e seis espécies ($p<0,001$) a mais que que em malhas de tamanho 2,0 mm.
305 Não houve diferenças significativas na comparação da densidade de indivíduos ($p=0,985$) e
306 riqueza de espécies ($p=0,584$) entre as malhas 1,0 mm e 2,0 mm. Não houve diferenças
307 significativas nos índices de diversidade entre os tamanhos de malha: riqueza de Margalef
308 ($F_{(2,30)}=7,497$; $p=0,237$), diversidade Shannon-Wiener ($F_{(2,30)}=8,203$; $p=0,067$), dominância de
309 Simpson ($F_{(2,30)}=2,088$; $p=0,141$) e equabilidade de Pielou ($F_{(2,30)}=2,126$; $p=0,136$).

310 As diferenças significativas encontradas na densidade de indivíduos e riqueza de
311 espécies, tanto nas amostragens realizadas na margem do rio quanto no bosque de mangue, se
312 deveram à presença de alguns táxons encontrados apenas na malha mais fina, com destaque aos
313 micromoluscos, nematódeos e foraminíferos.

314 A estrutura das comunidades na margem do rio ($R_{Jaccard}=0,258$, $p<0,001$; $R_{Gower}=0,136$,
315 $p<0,001$) e no bosque de mangue ($R_{Jaccard}=0,223$, $p<0,001$; $R_{Gower}=0,089$, $p<0,001$) variou
316 significativamente entre malhas. No NMDS é possível observar a formação de um grupo que
317 reuniram as amostras das malhas 1,0 mm e 2,0 mm, e outro com aquelas da malha 0,5 mm
318 (Figura 6A e 6B). Verifica-se que as dissimilaridades geradas pelo índice de Jaccard (dados de
319 presença/ausência das espécies) foram maiores do que as geradas pela distância de Gower
320 (dados de abundância das espécies).

321 A partir da análise de seletividade das malhas, testada pela CLAM, fica claro quais são
322 as espécies que são retidas especificamente em cada tamanho de malha e que são determinantes
323 na diferenciação das comunidades bentônica (Tabela 1 e Figura 7). A similaridade encontrada
324 entre a composição de espécies entre malhas de tamanho 1,0 mm e 2,0 mm também é
325 corroborada com os resultados da análise CLAM. Ou seja, ao comparar a composição
326 representativa das espécies retidas em malhas de 1,0 mm e 2,0 mm, não se evidenciou diferença
327 estatística entre esses dois tamanhos de malha, não sendo indicadas especificidade na
328 composição. Assim, as espécies presentes foram classificadas por generalistas, ou seja, as
329 mesmas espécies são retidas em ambas as malhas (Figura 7). Isso foi observado tanto nas
330 amostragens realizadas na margem do rio quanto no bosque de mangue. O resultado da análise
331 CLAM entre as malhas maiores com a de 0,5 mm deixa claro quais são as espécies que estão
332 presentes apenas na malha menor (Arachnida indet., Ostracoda indet., Foraminifera indet.,
333 *Cyclinella tenuis*, Nematoda morf. 2 e Nematoda morf. 3), sendo os nematódeos presentes
334 apenas no bosque de mangue.

335



336

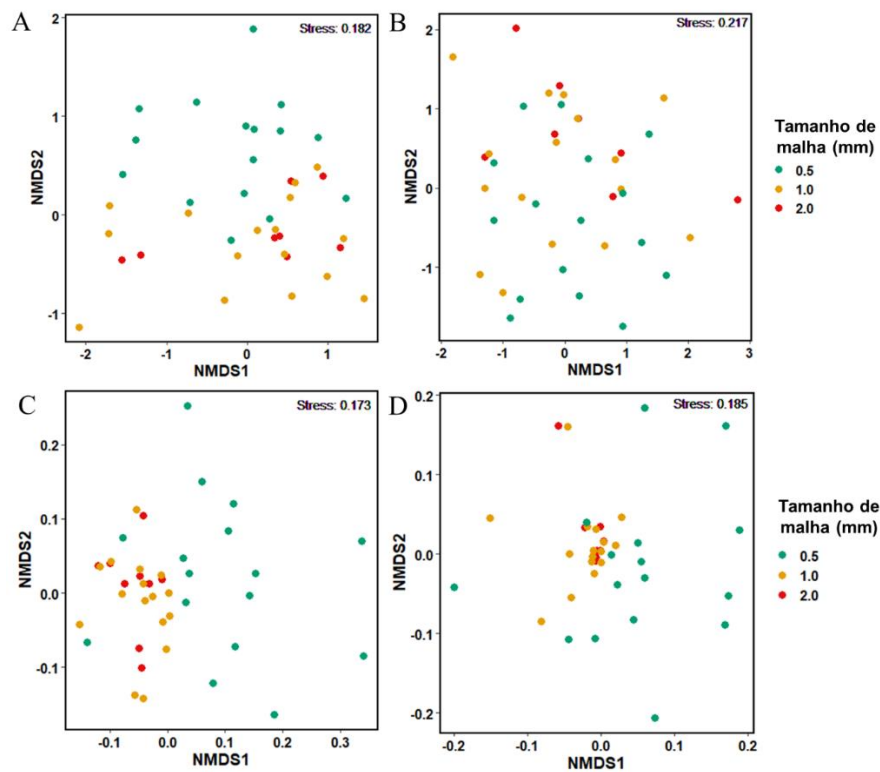
337

338

339

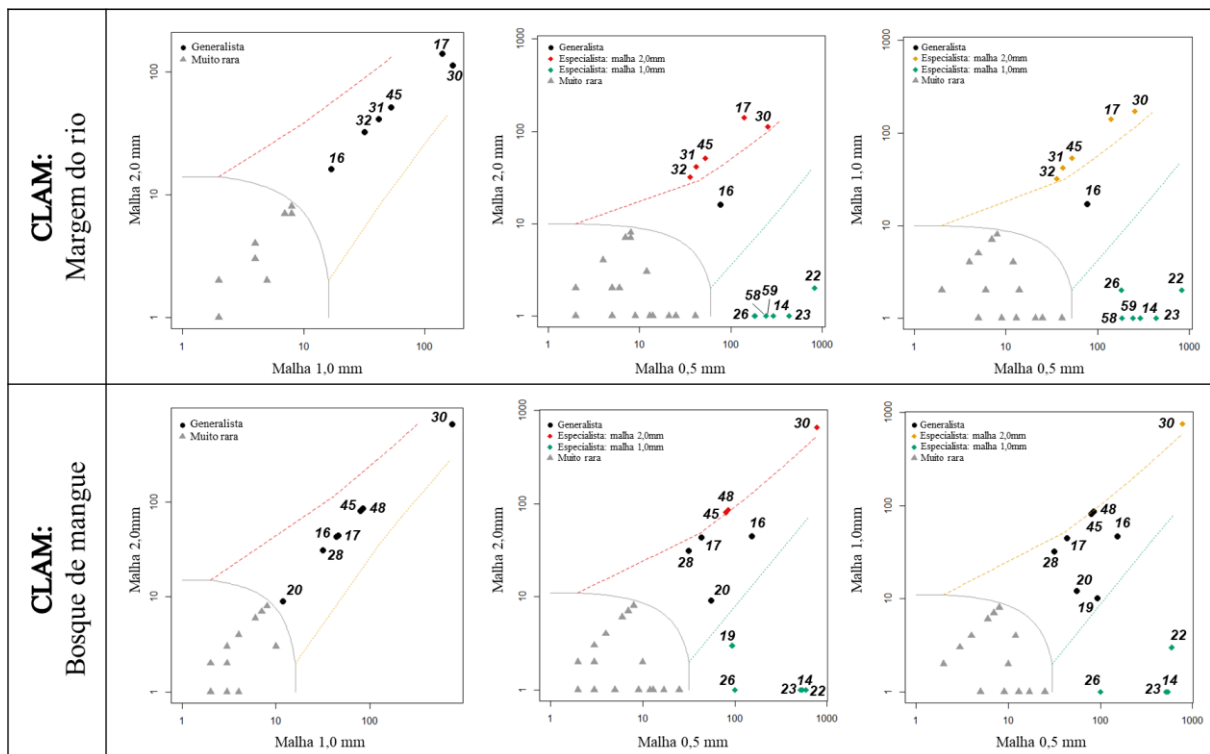
340

Figura 5. Comparação da densidade de indivíduos (ind.m⁻²), riqueza de espécies (S), riqueza de Margalef (*d*), diversidade de Shannon-Wiener (*H'*), dominância de Simpson (*D*) e equabilidade de Pielou (*J'*) na composição bentônica considerando os três diferentes tamanhos de malha nas amostragens realizadas na margem do rio (cor cinza claro) e bosque de mangue (cor cinza escuro).



341
342
343
344
345

Figura 6. Resultado da nMDS ordenando a composição bentônica considerando os três diferentes tamanhos de malha nas amostragens realizadas na margem do rio (A e C) e bosque de mangue (B e D), usando cada uma das várias medidas de dissimilaridade (A e B: Índice de Jaccard; C e D: medida de Gower).



346
347
348
349
350
351
352

Figura 7. Análise de CLAM agrupando as espécies encontradas em especialistas, generalistas e raras quanto a retenção por tamanho de malhas (2,0 mm, 1,0 mm e 0,5 mm) nas amostragens realizadas na margem do rio e bosque de mangue. Números representam as seguintes espécies: Arachnida indet. (14), Larva de Insecta (16), *Uca* sp. (17), Amphipoda indet. (19), Stomatopoda indet. (20), Ostracoda indet. (22), Foraminifera indet. (23), *Cyclinella tenuis* (26), *Mytella charruana* (28), *Polymesoda caroliniana* (30), *Semele proficua* (31), *Semele* sp.1 (32), *Melampus coffea* (45), *Onchidium* sp. (48), Nematoda morf. 2 (58) Nematoda morf. 3 (59).

353 **Discussão**

354 O tamanho de malha utilizado para o processamento das amostras afeta diretamente a
 355 retenção da fauna bentônica, o que por sua vez pode alterar a caracterização das comunidades
 356 (Checon et al., 2022). No presente estudo, a densidade geral e a riqueza de espécies foram
 357 significativamente maiores no tamanho de malha mais fino. Esses padrões eram esperados,
 358 visto que a comunidade das malhas maiores são subconjuntos das malhas de tamanho menor.
 359 Isso é uma característica já relatada em outros estudos (Checon et al., 2022; Couto et al., 2010).

360 O percentual de retenção das malhas de 1,0 mm e 2,0 mm no presente estudo são
 361 similares aos encontrados por outros estudos realizados (34-50%) (Reish, 1959; Word, 1980).
 362 Um bom exemplo disso é o estudo recente de Checon et al. (2022), que encontrou abundância
 363 total com a malha de 1,0 mm de apenas 37,04% da abundância encontrada com a malha mais
 364 fina, sendo um número considerado baixo, embora valores próximos tenham sido encontrados
 365 por outros autores (Couto et al., 2010; Muniz & Pires-Vanin, 2005; Pinto et al., 2009). No
 366 entanto, outros estudos indicam que a abundância total obtida com malhas de 1,0 mm pode
 367 chegar a 50–70% daquela retida em malha de 0,5 mm (Bachelet, 1990; Hammerstrom et al.,
 368 2012; Lampadariou et al., 2005).

369 A riqueza de espécies também apresentou resultado bem divergente aos encontrados por
 370 muitos estudos (Checon et al., 2022; Lampadariou et al., 2005; Rodrigues et al., 2007; Souza
 371 & Barros, 2015; Thompson et al., 2003). Estes relatam que o total de espécies na peneira de
 372 1,0 mm comumente chega perto de 90% da registrada com a malha de 0,5 mm. No presente
 373 estudo, encontramos um percentual abaixo que dos relatados pelos autores mencionados.

374 Na literatura não há uma justificativa concreta acerca da amplitude das diferenças
 375 mencionadas acima quanto a abundância de indivíduos e riqueza de espécies. Uma possível
 376 explicação pode ser a influência da estação de amostragem e tipo de habitat (Couto et al., 2010).
 377 Outras indicam que essa distinção advém das diferenças latitudinais entre as áreas de estudo
 378 (Checon et al., 2022). Isso seria possível devido ao aumento gradual do tamanho do corpo das
 379 espécies bentônicas ao longo da latitude e de temperaturas mais frias (Defeo & McLachlan,
 380 2013). No entanto, esse padrão relacionado a diferença latitudinal não foi observado por Checon
 381 et al. (2022) ao comparar os resultados de seu estudo com aqueles realizados em latitudes mais
 382 altas. Outra explicação é de que a maior abundância e riqueza de malhas menores é resultado
 383 da retenção de indivíduos jovens (Bachelet, 1990; Checon et al., 2022; Thompson et al., 2003),
 384 bem como pode ser atribuída a espécies de pequeno porte (Checon et al., 2022).

385 A ausência de diferenças significativas nos índices de diversidade entre os tamanhos de
 386 malha diverge dos resultados encontrados por Couto et al. (2010). Estes autores sugerem que
 387 as diferenças encontradas em seu estudo entre as malhas de tamanho 0,5 mm e 1,0 m variaram
 388 de acordo com as circunstâncias ambientais (*p.ex.*, habitat, faixa de salinidade, estação do ano,
 389 tipo de ecossistema, etc.). Deste modo, os autores concluem que a malha de 0,5 mm é mais
 390 capaz de capturar informações importantes das comunidades, o que melhoraria as avaliações
 391 ecológicas. Porém, isso não reflete os resultados do presente estudo.

392 Em nosso estudo, anelídeos (*p.ex.*, poliquetas) e moluscos (*p.ex.*, bivalves e
 393 gastrópodes) dominaram a riqueza de espécies da fauna bentônica. Destaca-se que, mesmo que
 394 esses grupos sejam considerados como os de menor retenção com o aumento do tamanho de
 395 malha (Bachelet, 1990; Tanaka & Leite, 1998), não observamos perdas significativas com o
 396 aumento da malha. Neste sentido, a maior riqueza encontrada apenas na malha de 0,5 mm
 397 advém de espécies diminutas, tais como os micro moluscos, foraminíferos, ostracodes e vermes
 398 nematódeos.

399 A perda de abundância de indivíduos e riqueza de espécies com o uso das malhas
 400 maiores (*p.ex.*, malhas de 1,0 mm ou 2,0 mm) pode acarretar representação equivocada da
 401 composição da biodiversidade local (Connolly et al., 2014; Ellingsen et al., 2007) e,
 402 consequentemente, afetar negativamente a avaliação da biodiversidade, conforme encontrado

403 por Checon et al. (2022). No presente estudo, mesmo que os resultados de ANOSIM tenham
 404 destacado diferenças nas composições de espécies, principalmente quando somente a incidência
 405 das espécies foi considerada, não detectamos grande perda de informação sobre as espécies
 406 coletadas. Isso foi indicado pela baixa especificidade de retenção de espécies em malhas de 0,5
 407 mm, representando 10% da riqueza total de espécies na margem do rio e 8% no bosque de
 408 mangue.

409 Além do mencionado, a escolha de um determinado tamanho de malha está relacionada
 410 ao tipo de substrato do local de estudo. Por exemplo, em substratos mais arenosos é comumente
 411 utilizada a malha de 1,0 mm, já em substratos lamosos o uso da malha de 0,5 mm é maior
 412 (Eleftheriou, 2013). Outra característica importante é que o uso da peneira de malha mais fina
 413 (*p.ex.*, 0,5 mm) requer consideravelmente mais esforço para triagem, quantificação e taxonomia
 414 do que a peneira de malha de 1,0 mm (Kingston & Riddle, 1989). Neste sentido, se uma malha
 415 maior possibilita uma avaliação semelhante à de uma malha menor, torna-se vantajosa a
 416 utilização desta malha, pois reduz o custo e o esforço amostral (Couto et al., 2010). Além disso,
 417 o uso de uma malha maior pode ocasionar uma redução de tempo considerável no tempo de
 418 triagem, o que pode viabilizar a realização de estudos em larga escala, abrangendo muitos
 419 pontos amostrais (Hughes & Peck, 2008).

420 Nossos resultados mostraram que as malhas de tamanhos de 1,0 mm e 2,0 mm
 421 apresentaram similaridade em todas as variáveis ecológicas utilizadas. Já a comparação entre
 422 estes tamanhos de malha com a de 0,5 mm apresentou resultados variados, com algumas
 423 variáveis ecológicas utilizadas apontando similaridades e outras divergências. Isso sugere que
 424 em estudos que objetivam a caracterização das espécies presentes ou que buscam relacionar os
 425 organismos e os habitats estuarinos pode ser utilizado utilizando uma malha maior, o que
 426 permite uma abordagem mais econômica em termos de esforço amostral. No entanto, para
 427 avaliações de biodiversidade mais detalhadas, o uso de malha de 0,5 mm apresenta melhores
 428 resultados, englobando uma maior abundância de indivíduos e riqueza de espécies,
 429 principalmente em ambientes de bosque de mangue. Recomendamos que a escolha por um
 430 determinado tamanho de malha deve ser avaliada cautelosamente, com base nos objetivos
 431 específicos de cada estudo, e nos recursos humanos, financeiros e tempo disponíveis.

432

433 Referências

- 434 Amaral, A.C.Z. & Nonato, E.F. (1981). *Anelídeos poliquetos da costa brasileira: Chave para*
 435 *famílias e glossário*. CNPq.
- 436 Amaral, A.C.Z. & Nonato, E.F. (1996). *Annelida Polychaeta: características, glossário e*
 437 *chaves para famílias e gêneros da costa brasileira*. Editora da UNICAMP.
- 438 Amaral, A.C.Z., Rizzo, A.E. & Arruda, E.P. (2006). *Manual de identificação dos invertebrados*
 439 *marinhos da região Sudeste-Sul do Brasil* (Vol. 1). Editora da Universidade de São
 440 Paulo.
- 441 Anderson, M.J., Ellingsen, K.E. & McArdle, B.H. (2006). Multivariate dispersion as a measure
 442 of beta diversity. *Ecology Letters*, 9(6), 683-693.
- 443 Bachelet, G. (1990). The choice of a sieving mesh size in the quantitative assessment of marine
 444 macrobenthos: a necessary compromise between aims and constraints. *Marine*
 445 *Environmental Research*, 30(1), 21-35.
- 446 Bezerra, L.E.A. & Júnior, W.F. (2006). Crustáceos do litoral oeste do estado do Ceará. In H.
 447 Matthews-Cascon & T.M.C. Lotufo (Eds.), *Biota marinha da costa oeste do Ceará* (pp.
 448 170-198). MMA.
- 449 Borja, A., Basset, A., Bricker, S., Dauvin, J.C., Elliott, M., Harrison, T., Marques, J.C.,
 450 Weisberg, S.B. & West, R. (2011). 1.08 - Classifying Ecological Quality and Integrity

- 451 of Estuaries. In E. Wolanski & D. McLusky (Eds.), *Treatise on Estuarine and Coastal*
 452 *Science* (pp. 125-162). Academic Press.
- 453 Borja, A., Dauer, D.M., Llansó, R.J., Muxika, I., Rodríguez, J.G. & Schaffner, L.C. (2008).
 454 Assessing estuarine benthic quality conditions in Chesapeake Bay: A comparison of
 455 three indices. *Ecological Indicators*, 8(4), 395-403.
- 456 Borja, A., Franco, J. & Pérez, V. (2000). A Marine Biotic Index to Establish the Ecological
 457 Quality of Soft-Bottom Benthos Within European Estuarine and Coastal Environments.
 458 *Marine Pollution Bulletin*, 40(12), 1100-1114.
- 459 Carey, J.M. & Keough, M.J. (2002). Compositing and Subsampling to Reduce Costs and
 460 Improve Power in Benthic Infaunal Monitoring Programs. *Estuaries*, 25(5), 1053-1061.
- 461 Chao, A., Gotelli, N.J., Hsieh, T.C., Sander, E.L., Ma, K.H., Colwell, R.K. & Ellison, A.M.
 462 (2014). Rarefaction and extrapolation with Hill numbers: a framework for sampling and
 463 estimation in species diversity studies. *Ecological Monographs*, 84(1), 45-67.
- 464 Chazdon, R.L., Chao, A., Colwell, R.K., Lin, S.-Y., Norden, N., Letcher, S.G., Clark, D.B.,
 465 Finegan, B. & Arroyo, J.P. (2011). A novel statistical method for classifying habitat
 466 generalists and specialists. *Ecology*, 92(6), 1332-1343.
- 467 Checon, H.H., Miranda, A., Bers, A.V., Quintino, V. & Turra, A. (2022). Effects of sieve mesh-
 468 size on the identification of benthic assemblages and their relationships with habitats
 469 and environmental gradients. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 278, 108113.
- 470 Clarke, K.R. (1993). Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure.
 471 *Australian Journal of Ecology*, 18, 117-143.
- 472 Clarke, K.R., Gorley, R.N., Somerfield, P.J., Warwick, R.M. (2014) *Change in marine*
 473 *communities: an approach to statistical analysis and interpretation*, 3rd edition.
 474 PRIMER-E: Plymouth
- 475 Connolly, S.R., MacNeil, M.A., Caley, M.J., Knowlton, N., Cripps, E., Hisano, M., Thibaut,
 476 L.M., Bhattacharya, B.D., Benedetti-Cecchi, L., Brainard, R.E., Brandt, A., Bulleri, F.,
 477 Ellingsen, K.E., Kaiser, S., Kröncke, I., Linse, K., Maggi, E., O'Hara, T.D., Plaisance,
 478 L., Poore, G.C.B., Sarkar, S.K., Satpathy, K.K., Schückel, U., Williams, A. & Wilson,
 479 R.S. (2014). Commonness and rarity in the marine biosphere. *Proceedings of the*
 480 *National Academy of Sciences*, 111(23), 8524-8529.
- 481 Couto, T., Patricio, J., Neto, J.M., Ceia, F.R., Franco, J. & Marques, J.C. (2010). The influence
 482 of mesh size in environmental quality assessment of estuarine macrobenthic
 483 communities [Article]. *Ecological Indicators*, 10(6), 1162-1173.
- 484 Defeo, O. & McLachlan, A. (2013). Global patterns in sandy beach macrofauna: Species
 485 richness, abundance, biomass and body size. *Geomorphology*, 199, 106-114.
- 486 Docile, T.N. & Figueiró, R. (2013). Histórico e perspectiva da utilização de macroinvertebrados
 487 no monitoramento biológico de ecossistema aquáticos no Brasil. *Acta Scientiae &*
 488 *Techicae*, 1(1), 31-44.
- 489 Dornellas, A.P.S. & Simone, L.R.L. (2011). Annotated list of type specimens of mollusks
 490 deposited in Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, Brazil. *Arquivos de*
 491 *Zoologia*, 42(1), 1-81.
- 492 Eleftheriou, A. (2013). *Methods for the Study of Marine Benthos* (4 ed.). Wiley-Blackwell.
- 493 Ellingsen, K.E., Hewitt, J.E. & Thrush, S.F. (2007). Rare species, habitat diversity and
 494 functional redundancy in marine benthos. *Journal of Sea Research*, 58(4), 291-301.
- 495 Engle, V.D. & Summers, J.K. (1999). Refinement, validation, and application of a benthic
 496 condition index for northern Gulf of Mexico estuaries. *Estuaries*, 22(3A), 624-635.
- 497 Ganesh, T., Rakesh, M., Raman, A., Nanduri, S., Moore, S. & Rajanna, B. (2014).
 498 Macrobenthos response to sewage pollution in a tropical inshore area. *Environmental*
 499 *Monitoring and Assessment*, 186(6), 3553-3566.

- 500 Gotelli, N.J. & Colwell, R.K. (2001). Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the
501 measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters*, 4, 379-391.
- 502 Gray, J.S., McIntyre, A.D., and Irwin, J., 1992. *Manual of methods in aquatic environment*
503 *research*. Part 11. Biological assessment of marine pollution with particular reference
504 to benthos. FAO Fisheries Technical Paper 324: 49 pp.
- 505 Hammerstrom, K.K., Ranasinghe, J.A., Weisberg, S.B., Oliver, J.S., Fairey, W.R., Slattery,
506 P.N. & Oakden, J.M. (2012). Effect of sample area and sieve size on benthic
507 macrofaunal community condition assessments in California enclosed bays and
508 estuaries. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 8(4), 649-658.
- 509 Hemery, L.G., Politano, K.K. & Henkel, S.K. (2017). Assessing differences in macrofaunal
510 assemblages as a factor of sieve mesh size, distance between samples, and time of
511 sampling. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(8), 413.
- 512 Hsieh, T.C., Ma, K.H. & Chao, A. (2016). iNEXT: an R package for rarefaction and
513 extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods in Ecology and Evolution*,
514 7(12), 1451-1456.
- 515 Hughes, R.M. & Peck, D.V. (2008). Acquiring data for large aquatic resource surveys: the art
516 of compromise among science, logistics, and reality. *Journal of the North American*
517 *Benthological Society*, 27(4), 837-859.
- 518 Izegaegbe, J.I., Vivier, L. & Mzimela, H.M. (2020). Trace metal contamination in sediment in
519 the Mhlathuze Estuary, northern KwaZulu-Natal, South Africa: effects on the
520 macrobenthic community [Article]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 192(6),
521 401.
- 522 Kingston, P.F. & Riddle, M.J. (1989). Cost effectiveness of benthic faunal monitoring. *Marine*
523 *Pollution Bulletin*, 20(10), 490-496.
- 524 Lampadariou, N., Karakassis, I. & Pearson, T.H. (2005). Cost/benefit analysis of a benthic
525 monitoring programme of organic benthic enrichment using different sampling and
526 analysis methods. *Marine Pollution Bulletin*, 50(12), 1606-1618.
- 527 Leal, J.H. (2002a). Bivalves. In K.E. Carpenter (Ed.), *The living marine Resources of the*
528 *Western Central Atlantic* (Vol. 1, pp. 25-98). Rome.
- 529 Leal, J.H. (2002b). Gastropods. In K.E. Carpenter (Ed.), *The living marine Resources of the*
530 *Western Central Atlantic* (Vol. 1, pp. 99-147). Rome.
- 531 Ligeiro, R., Hughes, R.M., Kaufmann, P.R., Heino, J., Melo, A.S. & Callisto, M. (2020). Choice
532 of field and laboratory methods affects the detection of anthropogenic disturbances
533 using stream macroinvertebrate assemblages. *Ecological Indicators*, 115, 106382.
- 534 Longo, P.A.S., Fernandes, M.C., Leite, F.P.P. & Passos, F.D. (2014). Gastropoda (Mollusca)
535 associated to *Sargassum* sp. beds in São Sebastião Channel São Paulo, Brazil. *Biota*
536 *Neotropica*, 14(4), e20140115.
- 537 Margalef, R. (1984). Ecosystems: Diversität and connectivity as measurable components of
538 their complication. In S. Aida, P.M. Allen, H. Atlan, K.E. Boulding, G.P. Chapman,
539 O.C. de Beaugard, A. Danzin, J.-P. Dupuy, O. Giardini, T. Hagerstrand, C.S. Holling,
540 M.J.L. Kirby, G.J. Klir, H. Laborit, J.-L. Le Moigne, N. Luhmann, P. Malaska, R.
541 Margalef, E. Morin, E.W. Ploman, K.H. Pribram, I. Prigogine, V. Soedjatmoko, J., M.
542 Zelen, Y.-J. Wu, W.A. Gough, T. Jiang & H.-T. Kung (Eds.), *The Science and Praxis*
543 *of Complexity* (pp. 228-244). United Nations University.
- 544 Matthews-Cascon, H. & Lotufo, T.M.C. (2006). *Biota marinha da costa oeste do Ceará* (Vol.
545 24). MMA.
- 546 Moraes, B.C., Costa, J.M.N., Costa, A.C.L. & Costa, M.H. (2005). Variação espacial e temporal
547 da precipitação no estado do Pará. *Acta Amazonica*, 35(2), 207-214.

- 548 Muniz, P. & Pires-Vanin, A.M.S. (2005). More about taxonomic sufficiency: a case study using
549 polychaete communities in a subtropical bay moderately affected by urban sewage.
550 *Ocean Science Journal*, 40(3), 17-33.
- 551 Ng, P.K.L. (2004). Crustacea: Decapoda, Brachyura. In C.M. Yule & H.-S. Yong (Eds.),
552 *Freshwater Invertebrates of the Malaysian Region* (pp. 311-336). Academy of Sciences
553 Malaysia.
- 554 Oksanen, J., Blanchet, F.G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlenn, D., Minchin, P.R.,
555 O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H., Szoecs, E. & Wagner, H.
556 (2019). *vegan: Community Ecology Package*
- 557 Pearson, T.H. & Rosenberg, R. (1978). Macrobenthic succession in relation to organic
558 enrichment and pollution of the marine environment. *Oceanography Marine Biology*
559 *Annual Review*, 16, 229-311.
- 560 Pielou, E.C. (1969). *An Introduction to Mathematical Ecology*. Wiley-Interscience.
- 561 Pinto, R., Patrício, J., Baeta, A., Fath, B.D., Neto, J.M. & Marques, J.C. (2009). Review and
562 evaluation of estuarine biotic indices to assess benthic condition. *Ecological Indicators*,
563 9(1), 1-25.
- 564 Ptatscheck, C., Gehner, S. & Traunspurger, W. (2020). Should we redefine meiofaunal
565 organisms? The impact of mesh size on collection of meiofauna with special regard to
566 nematodes. *Aquatic Ecology*, 54(4), 1135-1143.
- 567 Puente, A. & Diaz, R.J. (2008). Is it possible to assess the ecological status of highly stressed
568 natural estuarine environments using macroinvertebrates indices? *Marine Pollution*
569 *Bulletin*, 56(11), 1880-1889.
- 570 R Core Team. (2023). *R: A language and environment for statistical computing*
- 571 Reish, D.J. (1959). A Discussion of the Importance of the Screen Size in Washing Quantitative
572 Marine Bottom Samples. *Ecology*, 40(2), 307-309.
- 573 Rios, E.C. (2009). *Compendium of brazilian sea shells*. Evangraf.
- 574 Rodrigues, A.M., Meireles, S., Pereira, T. & Quintino, V. (2007). Spatial heterogeneity
575 recognition in estuarine intertidal benthic macrofaunal communities: influence of sieve
576 mesh-size and sampling depth. *Hydrobiologia*, 587(1), 37-50.
- 577 Rumohr, H. (2009). *Soft-bottom macrofauna: Collection, treatment, and quality assurance of*
578 *samples*. ICES Techniques in Marine Environmental Sciences.
- 579 Sany, S., Hashim, R., Salleh, A., Rezayi, M. & Safari, O. (2015). Ecological quality assessment
580 based on macrobenthic assemblages indices along West Port, Malaysia coast.
581 *Environmental Earth Sciences*, 74(2), 1331-1341.
- 582 Shannon, C.E. & Weaver, W. (1963). *A mathematical theory of communication*. University of
583 Illinois Press.
- 584 Simboura, N. & Zenetos, A. (2002). Benthic indicators to use in Ecological Quality
585 classification of Mediterranean soft bottom marine ecosystems, including a new Biotic
586 Index. *Mediterranean Marine Science*, 3/2, 77-111.
- 587 Somerfield, P.J., Dashfield, S.L. & Warwick, R.M. (2018). The structure and organisation of
588 integral marine benthic communities in relation to sieve mesh size. *Journal of*
589 *Experimental Marine Biology and Ecology*, 502, 164-173.
- 590 Souza, G.B.G. & Barros, F. (2015). Analysis of sampling methods of estuarine benthic
591 macrofaunal assemblages: sampling gear, mesh size, and taxonomic resolution.
592 *Hydrobiologia*, 743, 157-174.
- 593 Tanaka, M.O. & Leite, F.P.P. (1998). The effect of sieve mesh size on the abundance and
594 composition of macrophyte-associated macrofaunal assemblages. *Hydrobiologia*,
595 389(1), 21-28.

- 596 Thompson, B.W., Riddle, M.J. & Stark, J.S. (2003). Cost-efficient methods for marine pollution
597 monitoring at Casey Station, East Antarctica: the choice of sieve mesh-size and
598 taxonomic resolution. *Marine Pollution Bulletin*, 46(2), 232-243.
- 599 Weisberg, S.B., Ranasinghe, J.A., Schaffner, L.C., Diaz, R.J., Dauer, D.M. & Frithsen, J.B.
600 (1997). An estuarine benthic index of biotic integrity (B-IBI) for Chesapeake Bay.
601 *Estuaries*, 20(1), 149-158.
- 602 Word, J.Q. (1980). Classification of benthic invertebrates into infaunal trophic index feeding
603 groups. In W. Bascom (Ed.), *Biennial Report for the Years 1979/198* (pp. 103–121).
604 Southern California Coastal Water Research Project.
- 605 Young, S.S., Yang, H.N., Huang, D.J., Liu, S.M., Huang, Y.H., Chiang, C.T. & Liu, J.W.
606 (2014). Using Benthic Macroinvertebrate and Fish Communities as Bioindicators of the
607 Tanshui River Basin Around the Greater Taipei Area - Multivariate Analysis of Spatial
608 Variation Related to Levels of Water Pollution. *International Journal of Environmental*
609 *Research and Public Health*, 11(7), 7116-7143.
- 610 Zhou, Z., Li, X., Chen, L., Li, B., Liu, T., Ai, B., Yang, L., Liu, B. & Chen, Q. (2018).
611 Macrobenthic assemblage characteristics under stressed waters and ecological health
612 assessment using AMBI and M-AMBI: a case study at the Xin'an River Estuary, Yantai,
613 China. *Acta Oceanologica Sinica*, 37(5), 77-86.
- 614

4. CONCLUSÃO GERAL

Os resultados apresentados nesta tese permitiram caracterizar detalhadamente o panorama da produção científica acerca da avaliação da integridade de ambientes estuarinos. Neste contexto, verifica-se que mesmo com um aumento constante no número de publicações acerca do tema ao longo do tempo, um grupo bem reduzido de atores atuam nessa linha de pesquisa. Destacam-se países como os EUA, Espanha e Portugal, onde o tema é bem abordado e estudado, resultante as diretrizes ambientais propostas em cada um deles.

A avaliação da condição ecológica do ambiente estuarino é uma prioridade de inúmeros países pelo globo, o que resultou no desenvolvimento de inúmeros índices. No entanto, os estudos recentes indicam que inexitem índices amplos e que podem ser aplicados em diversas áreas no mundo. Porém, evidenciou-se a aplicação ampla de um pequeno número de índices em um grande número de locais, espalhados por todo o globo. Isso é preocupante, pois esse uso indiscriminado pode enviesar os resultados e, conseqüentemente, caracterizar de forma errônea a condição ecológica dos ecossistemas.

Além disso, verifica-se uma lacuna de estudos em países tropicais. Neste sentido, é evidente a necessidade do desenvolvimento de índices de avaliação específicos para essas regiões, principalmente devido às suas múltiplas particularidades locais.

Em suma, as informações bibliográficas apresentadas permitem o direcionamento de pesquisas estratégicas em estudos futuros acerca da avaliação da integridade biótica em estuários em todo o globo.

Outro resultado importante encontrado nesta tese é que os valores de índices ecológicos não apresentaram diferenças expressivas ao comparar tamanhos de malhas. Isso permite os estudos que objetivam o levantamento da fauna bentônica e investigações de relações entre os organismos e os habitats estuarinos pode ser utilizado utilizando uma malha maior, o que permite uma abordagem mais econômica em termos de esforço amostral.

Destaca-se a que escolha por um determinado tamanho de malha deve ser avaliada cautelosamente e, se necessário, com a realização de uma amostragem preliminar, se baseando nos objetivos específicos de cada estudo e recursos (*p.ex.*, humanos e financeiros) e tempo disponíveis.

5. ARTIGOS PUBLICADOS DURANTE O PERÍODO DO DOUTORADO

Artigos 2019

1. Barros, M.R.F. and Chagas, R.A. (2019) Use of mollusks in zoohandicraft manufacturing in the Amazon Region. **Brazilian Journal of Biological Sciences** 6, 263-69.
2. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R., Santos, R.F., Duarte, L.B., Pereira, C.M.B., Noronha, G.S.T., Brito, L.C.R. and Herrmann, M. (2019) Composition of the ichthyofauna of the igarapé Praquiquara, Castanhal, Eastern Amazon. **Folia Amazônica** 28, 1-17.
3. Chagas, R.A., Silva, R.E.O., Passos, T.A.F., Assis, A.S., Abreu, V.S., Santos, W.C.R., Barros, M.R.F. and Herrmann, M. (2019) Análise biomorfométrica da ostra-do-mangue cultivada no litoral amazônico. **Scientia Plena** 15, 1-13.
4. Prata, E.G., Araújo, J.F., Chagas, R.A., Deus, S.C.S.R. and Miranda, C.S.C. (2019) Percepção dos alunos em relação à doença de chagas e consumo do açaí no município de Breves, PA. **Revista Ciência & Desenvolvimento** 12, 609-21.
5. Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Bezerra, A.M. (2019) Record of *Achatina fulica* (Férussac, 1821) (Gastropoda, Achatinidae) sinistral in the MZUFRA Malacological Collection, Belém, Pará, Brazil. **Scientia Amazonia** 8, 1-5.

Artigos 2020

6. Barros, M.R.F., Chagas, R.A., Herrmann, M. and Bezerra, A.M. (2020) New record of the invasive snail *Melanoides tuberculatus* (Mollusca: Thiaridae) in the Amazon region, Northern Brazil. **Brazilian Journal of Biology** 80, 368-72.
7. Barros, M.R.F., Chagas, R.A., Santos, W.C.R. and Herrmann, M. (2020) Novo registro de *Melanoides tuberculata* (Mollusca: Thiaridae) na Amazônia Oriental. **Research, Society and Development** 9, e774974461.
8. Barros, M.R.F., Freire, C.C.O., Abreu, V.S., Faro, A.C., Ribeiro, I.A., Quaresma, L.M., Santos, W.C.R., Chagas, R.A. and Herrmann, M. (2020) Composição centesimal do molusco *Paxyodon syrmatophorus* (Gmelin, 1791) (Bivalvia: Hyriidae) consumidos na Ilha de Tabatinga, Amazônia Orienta. **Research, Society and Development** 9, e465985141.
9. Barros, M.R.F., Santos, W.J.P. and Chagas, R.A. (2020) Morphometry and shell shape stabilization indicator (IEF) of the mussel *Mytella charruana* (d'Orbigny, 1842) (Bivalvia, Mytilidae). **Biota Amazônia** 10, 31-34.
10. Barros, M.R.F., Santos, W.J.P. and Chagas, R.A. (2020) Conquiliometria de *Littoraria flava* (King, 1832) (Gastropoda: Littorinidae) do litoral sul brasileiro. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza** 4, 1-7.
11. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R., Brabo, M.F. and Herrmann, M. (2020) Uso de métodos tradicionais e científicos em pesquisas envolvendo crescimento de ostras. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** 8, 24-28.
12. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Santos, W.J.P. and Bezerra, A.M. (2020) Mirrored chirality hypothesis test: A case study on shells of African snail *Achatina fulica* (Férussac, 1821) (Gastropoda, Achatinidae). **Scientia Amazonia** 9, 18-23.
13. Chagas, R.A., Castro, L.R., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F. and Bezerra, A.M. (2020) Ocorrências de *Glycymeris* spp. (Bivalvia: Glycymerididae) no litoral paraense, região Norte do Brasil. **Revista Ciência & Desenvolvimento** 13, 756-63.
14. Chagas, R.A., Santos, W.J.P., Melo, A.C., Gomes, A.C.A., Barros, M.R.F. and Bezerra, A.M. (2020) Predação estereotípica e tamanho seletivo por gastrópodes no forrageamento de *Tivela mactroides* (Born, 1778) (Bivalvia: Veneridae). **UNISANTA BioScience** 9, 87-95.

15. Chagas, R.A., Silva, R.E.O., Freire, C.C.O., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R., Santos, W.J.P. and Herrmann, M. (2020) Marine gastropods of Accra Beach, Barbados, North Atlantic Ocean. **Neotropical Biology and Conservation** 15, 121–33.
16. Franco, J.N., Freitas, H.V.P., Vasconcelos, K.M.V.N., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Bezerra, A.M. (2020) Primeira ocorrência do gastrópode invasor *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) (Mollusca: Thiaridae) no município de Ananindeua, Pará, Amazônia Oriental. **Scientia Amazonia** 9, 9-14.
17. Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Bezerra, A.M. (2020) Caracterização morfométrica da concha do caramujo-giganteafricano *Achatina fulica* (Bowdich, 1822). **Revista Ciência & Desenvolvimento** 13, 413-24.
18. Santos, W.J.P., Melo, A.C., Gomes, A.C.A., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Bezerra, A.M. (2020) Variação morfométrica de *Tivela mactroides* (Bivalvia, Veneridae) no litoral Norte-Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências** 21, 1-11.
19. Silva, J.C., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Bezerra, A.M. (2020) Novo registro de *Diplodon granosus* (Bruguière, 1792) (Bivalvia, Hyriidae) no rio Tocantins, Amazônia Oriental. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza** 4, e1446.
20. Silva, K.C.A., Abrunhosa, F.A., Chagas, R.A., Herrmann, M. and Cintra, I.H.A. (2020) Distribution and abundance of giant isopods *Bathynomus* (Crustacea, Isopoda, Cirolanidae) from amazon continental shelf. **Research, Society and Development** 9, e974986843.
21. Vale, A.V.P., Santos, W.C.R., Barros, M.R.F., Chagas, R.A. and Herrmann, M. (2020) Comparação de substratos artificiais na redução de bioincrustantes em um cultivo de ostras no estuário amazônico. **Revista CEPESUL: Biodiversidade e Conservação Marinha** 9, 1-16.

Artigos 2021

22. Altomari, L.N., Alves, B.H.B., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Herrmann, M., Bezerra, A.M. and Chagas, R.A. (2021) Shell morphometric ratios as a tool for taxonomic determination in gastropods: a case study in *Nerita* (Gastropoda, Neritidae). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom** 101, 1-7.
23. Altomari, L.N., Alves, B.H.B., Santos, W.J.P., Santos, W.C.R., Barros, M.R.F., Bezerra, A.M., Herrmann, M. and Chagas, R.A. (2021) Conquiliometria de gastrópodes nerítídeos da praia de Accra, Barbados, Mar do Caribe. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** 9, 1-6.
24. Barros, M.R.F., Santos, W.J.P., Abreu, V.S., Santos, W.C.R., Herrmann, M. and Chagas, R.A. (2021) Caracterização biométrica e crescimento relativo de *Iphigenia brasiliensis* (Lamarck, 1818) (Bivalvia: Donacidae) da Baía do Caeté, Amazônia Oriental. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza** 5,
25. Barros, M.R.F., Santos, W.J.P., Herrmann, M., Santos, W.C.R. and Chagas, R.A. (2021) A morfometria de ostras determina a riqueza e abundância do biofouling? **Research, Society and Development** 10, e41810212475.
26. Castro, L.R., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Bezerra, A.M., Herrmann, M. and Chagas, R.A. (2021) Estabilização conquiliométrica em moluscos: estudo de caso com *Sphenia fragilis* (H. Adams & A. Adams, 1854) (Bivalvia, Myidae). **Research, Society and Development** 10, e23510313125.
27. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Abreu, V.S., Silva, R.E.O., Almeida, M.S., Santos, W.C.R. and Herrmann, M. (2021) Growth performance of the mangrove oyster cultivated on the Amazonian coast. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 64, e21190650.

28. Chagas, R.A. and Herrmann, M. (2021) Evidence of non-drilling predation by a naticid gastropod in bivalves on Camocim Beach, Ceará, northeastern Brazil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences** 43, e50567.
29. Pantoja, J.S.L., Silva, A.V.B., Sena, M.C., Gomes, S.C. and Chagas, R.A. (2021) O trabalho da mulher pescadora: um estudo de caso no estado do Pará. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** 9, 72-77.
30. Santos, W.C.R., Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Barros, Y.M.R., Klautau, A.G.C.M., Simone, L.R.L., Cintra, I.H.A. and Herrmann, M. (2021) Lista preliminar de by catch de molusco em pescaria de arrasto na plataforma amazônica. **Arquivo de Ciências do Mar** 54, 150-62.
31. Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Herrmann, M. and Chagas, R.A. (2021) Influência morfológica da ostra *Crassostrea tulipa* (Lamarck, 1819) na composição do biofouling. **Biota Amazônia** 11, 76-78.

Artigos 2022

32. Pantoja, J.S.L., Silva, A.V.B. and Chagas, R.A. (2022) Status de conhecimento do acari-zebra *Hypancistrus zebra* Isbrücker & Nijssen, 1991 (Siluriformes, Loricariidae). **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** 10, 1-6.
33. Souza, J.N., Almeida, R.R., Almeida, R.H.C., Chagas, R.A. and Almeida, I.R. (2022) Etnoconhecimento dos consumidores de pescado da região metropolitana de Belém, Estado do Pará. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources** 10, 7-18.
34. Chagas, R.A., Ribeiro, A.C.F., Santos, W.C.R., Barros, M.R.F., Santos, W.J.P., & Herrmann, M. (2022). Efeito da sazonalidade amazônica no crescimento de ostras cultivadas. **Pesquisa Agropecuária Pernambucana**, 27(1), e2661272022.
35. Silva-Júnior, F., Sena, R., Oliveira, Y., & Chagas, R.A. (2022). Bioecologia do acará-bandeira *Pterophyllum scalare* (Schultze in Lichtenstein, 1823). **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 10(1), 43-48.
36. Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R., Herrmann, M., Bezerra, A.M. & Chagas, R.A. (2022). Conquiliometría del gasterópodo *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) (Gastropoda, Thiaridae) en la costa Norte-Noreste de Brasil. **Neotropical Hydrobiology and Aquatic Conservation**, 3(2), 3-15.
37. Jesus, G.M., Chagas, R.A. & Jesus, A.M. (2022). Pesca e bioecologia do acará-disco *Symphysodon aequifasciatus* Pellegrin 1904 (Perciformes: Cichlidae). **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 10(1), 19-25.
38. Castro, L.R., Barros, M.R.F., Santos, W.J.P., Bezerra, A.M., Hermann, M. & Chagas, R.A. (2022). First occurrence of *Sphenia fragilis* (H. Adams & A. Adams, 1854) (Bivalvia: Myidae) on the amazon coast. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 10(2), 108-112.
39. Barros, M., Santos, W. & Chagas, R.A. (2022). Bioinvasão de *Melanoides tuberculata* (Müller, 1774) na região amazônica: novo registro e status de distribuição. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 10(1), 54-59.

Artigos 2023

40. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Silva, T.C. and Santos, W.C.R. (2023). First record of the exotic gastropod *Melanoides tuberculata* in the state of Amapá (Brazilian Amazon Region). **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 11(1), 46-49.
41. Chagas, R.A., Santos, W.J.P., Barros, M.R.F., Carvalho, T.C.C., Santos, W.C.R. and Herrmann, M. (2023). Notes on some alpheid shrimps from the coast of Pará: new record and filling distribution gaps. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 11(1), 39-45.

42. Costa, R.H.N., Vieitas, C.B.P., Mota, L.F., Castro, I.N.P., Herrmann, M., Chagas, R.A. & Passos, L.F.G. (2023). Doença de haff: Impactos econômicos na comercialização de pescado nas feiras livres de Belém, estado do Pará. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 11(1), 56-62.
43. Carvalho, T.C.C., Almeida, A.M.F., Reis, A.R., Barros, M.R.F., Chagas, R.A., Palheta, G.D.A. & Melo, N.F.A.C. (2023). Biometry of carangid fish as by-catch in artisanal pink shrimp fishing in the amazon estuary. **Acta of Fisheries and Aquatic Resources**, 11(1), 63-68.

Artigos em avaliação

44. Chagas, R.A., Muniz, A.S., Oliveira, D.C.B., Silva, F.B.A., Salimos, R.K.C., Barros, M.R.F. Santos, W.C.R. and Herrmann, M. Preliminary observations on gastropod predation naticids in the eastern Amazon. **Pesquisa e Ensino em Ciências Exatas e da Natureza**
45. Chagas, R.A., Barros, M.R.F., Santos, W.C.R. and Herrmann, M. Synergy between seasonality and climatic anomaly and their effects on the growth of oysters cultivated in the Amazonian coast. **Brazilian Archives of Biology and Technology**
46. Barros, M.R.F., Abreu, V.S., Quaresma, L.M., Chagas, R.A., Herrmann, M. & Andrade, M.C. Length-weight relationships of three freshwater mussel species from Amazon (Unionida, Hyriidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**

6. APÊNDICES

Para visualizar os apêndices clique nos respectivos links abaixo.

Material suplementar 1: Checklist dos índices encontrados.

Chagas, R.A. (2022): *Checklist of index used in studies on the assessment of biotic integrity in estuaries*. Figshare. Dataset. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.19287926.v1>

Material suplementar 2: Checklist das métricas filtradas dos estudos.

Chagas, R.A. (2022): *Checklist of metrics used in studies on the assessment of biotic integrity in estuaries*. Figshare. Dataset. <https://doi.org/10.6084/m9.figshare.19287920.v1>