

## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1. *Aquisição dos Testemunhos e Cronologia*

Os testemunhos KF-A e KF-B (Figura 45) utilizados neste estudo foram coletados a pistão pela Texas University, entre 26 de janeiro e 05 de março de 1996, a bordo do R/V Powell, em uma campanha de prospecção geoquímica nas bacias da costa brasileira coordenada pelo Centro de Pesquisas da PETROBRAS. Os testemunhos foram encaminhados para o Laboratório de Rocha da Gerência de Exploração da Bacia de Campos para estudos sedimentológicos e arquivamento (Santos & Babinski, 1996). Os procedimentos de descrição e amostragem dos testemunhos estão descritos em Toledo (2000) e Costa (2000).

Para este estudo foram selecionadas 16 amostras do KF-A (144 cm) e 16 amostras do KF-B (60 cm), pois de acordo com a descrição original estas amostras seriam suficientes para abranger todo o período de interesse, que compreende os últimos 25 mil anos. O intervalo de amostragem foi de aproximadamente 10 cm no KF-A e mais detalhado no KF-B, cerca de 3 cm entre cada amostra.

No intuito de estabelecer uma cronologia para os testemunhos foram efetuadas análises de isótopos de oxigênio em foraminíferos planctônicos (*Globigerinoides ruber*) e bentônicos (*Cibicidoides kullenbergi*) ao longo de cada testemunho em conjunto com datações de radiocarbono ( $^{14}\text{C}$ ) em quatro amostras, duas em cada testemunho. As análises de isótopos estáveis de oxigênio foram efetuadas no Laboratório Pará-Iso da Universidade Federal do Pará (UFPA). As datações de radiocarbono foram realizadas no National Ocean Science Accelerator Mass Spectrometry Facility (NOSAMS) no Woods Hole Oceanographic Institution (WHOI), EUA.

As idades de radiocarbono foram corrigidas para efeito reservatório de acordo com Butzin *et al.* (2005), em seguida foi efetuada a conversão para idades calendário com base na curva de calibração proposta por Fairbanks *et al.* (2005), a qual é amplamente utilizada neste estudo.

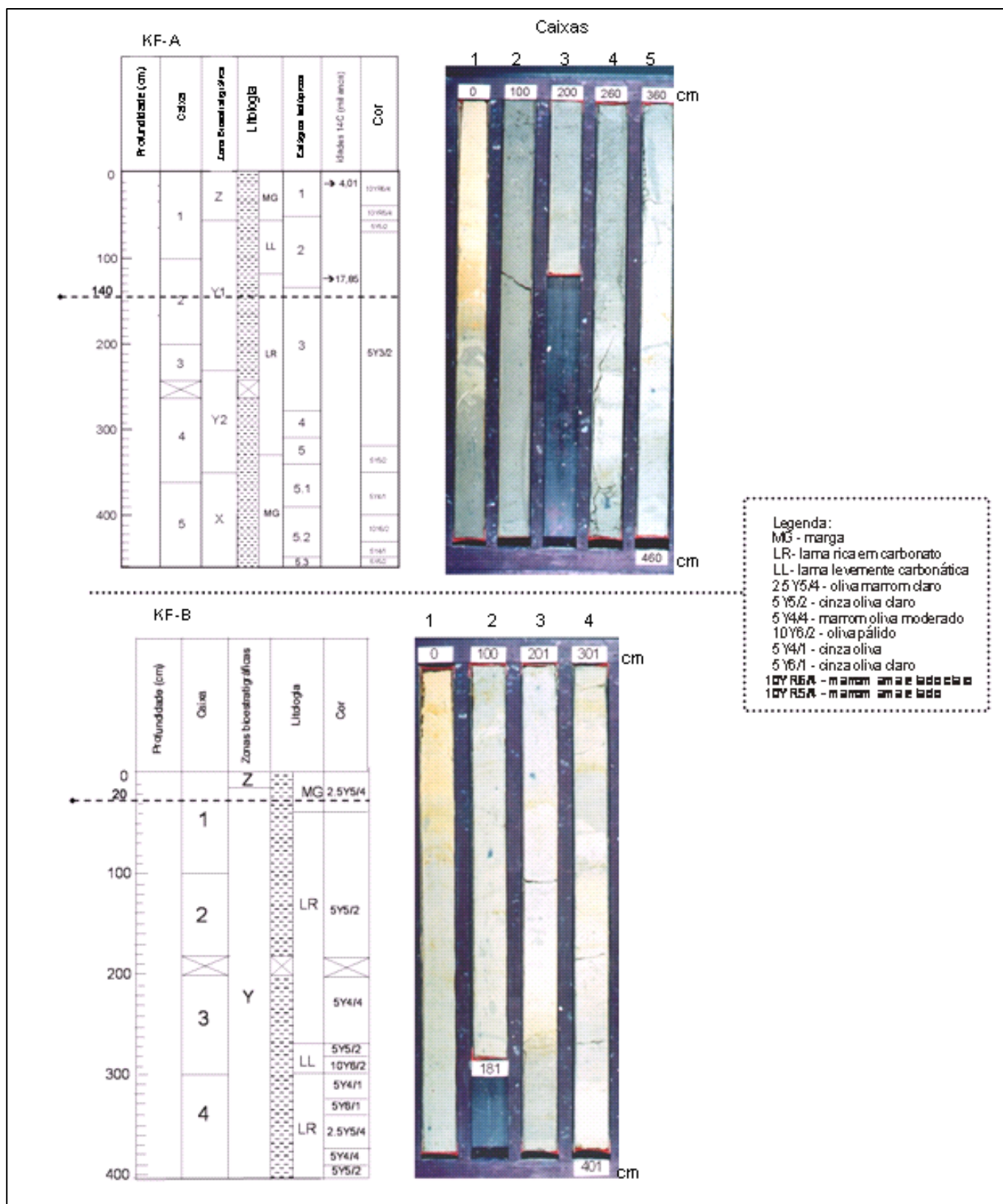


Figura 45: Ilustração esquemática e fotografia dos testemunhos KF-A e KF-B, apresentando as zonas biogeográficas, litologia e cor (a partir de Toledo (2000) e Costa (2000)). A linha horizontal pontilhada na ilustração esquemática dos testemunhos indica o comprimento representativo do intervalo de tempo de interesse para este estudo.

A correção para efeito reservatório é necessária devido a diferença entre o conteúdo de  $^{14}\text{C}$  atmosférico e o conteúdo local de  $^{14}\text{C}$  na superfície do oceano, esta diferença é conhecida como idade reservatório. A idade reservatório na superfície do oceano varia geograficamente devido a combinação de influências como as variáveis taxas de troca isotópica entre oceano e atmosfera e a mistura com águas profundas mais antigas e depletadas em  $^{14}\text{C}$ .

Neste estudo optou-se pelo modelo de Butzin *et al.* (2005) para correção da idade reservatório, como sugerido por Fairbanks *et al.* (2005) e Cao *et al.* (2007), que consideram este modelo o melhor disponível na estimativa de idades reservatório dos oceanos modernos.

De acordo com o modelo de Butzin *et al.* (2005), a idade reservatório na área deste estudo é menor que o padrão até então utilizado para as regiões tropicais, de 400 anos em média. As idades reservatório sugeridas pelos autores e utilizadas para a correção foram 263 anos para KF-A e 288 anos para KF-B (Figura 46).

As correções para efeito reservatório e as conversões para idade calendário são mostradas na tabela 3. As curvas de calibração do modelo de Fairbanks *et al.* (2005) para conversão para idades calendário são mostradas nas figuras 47 e 48.

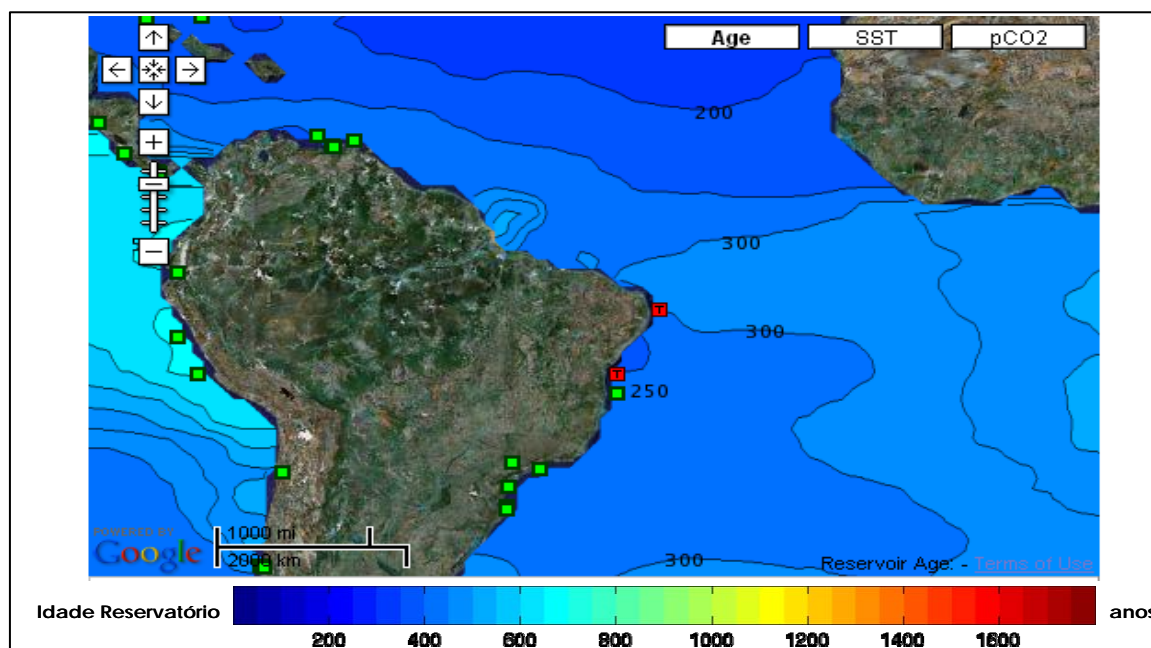


Figura 46: Idades reservatório para o Atlântico Sul e Equatorial de acordo com Butzin *et al.* (2005). Pontos verdes dados de idade reservatório medidos por Butzin *et al.* (2005) e pontos vermelhos valores calculados pelo modelo para a localização geográfica dos dois testemunhos utilizados neste estudo (imagem gerada em <http://radiocarbon.ideo.columbia.edu/research/resage/>).

Tabela 3: Datação de radiocarbono, correção para efeito reservatório e conversão para idade calendário das quatro amostras de sedimento datadas.

Testemunho	Amostra (cm)	$^{14}\text{C}$	desvio	Idade	Idade $^{14}\text{C}$	Idade
		idade (anos)	padrão (anos)	Reservatório (anos)	corrigida (anos)	Calendário (anos)
KF-A	12	4.010	40	263	3.747	4.107 ± 64
KF-A	121	17.850	120	263	17.587	20.891 ±244
KF-B	3,5	5.890	35	288	5.602	6.379 ± 40
KF-B	19	32.100	180	288	31.812	36.774 ±124

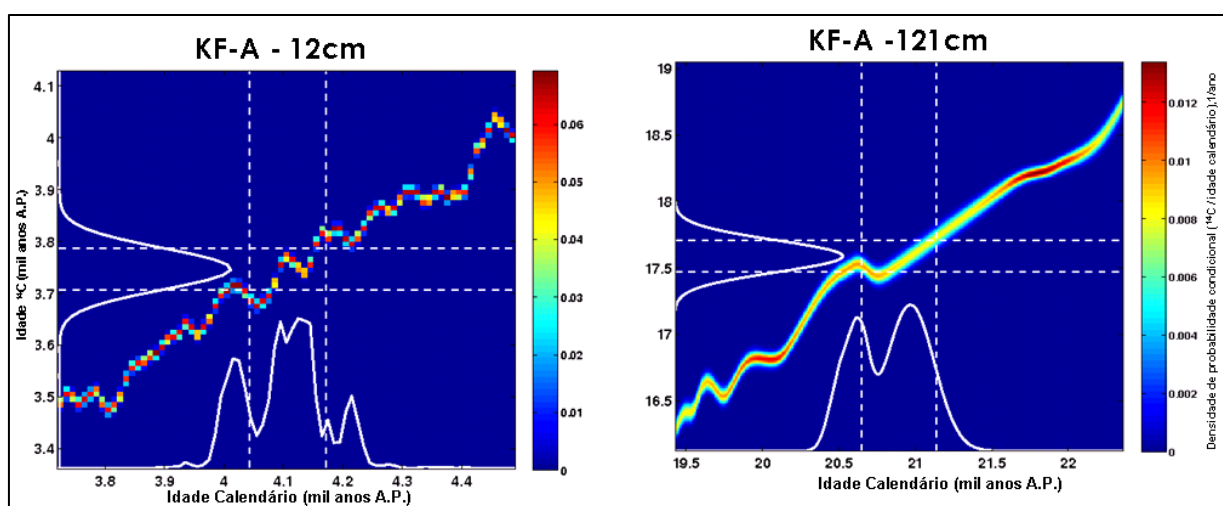


Figura 47: Curvas de calibração do modelo de Fairbanks *et al.* (2005) para as idades radiocarbono corrigidas do testemunho KF-A (imagem gerada em <http://radiocarbon.ldeo.columbia.edu/research/radcarbcal/>).

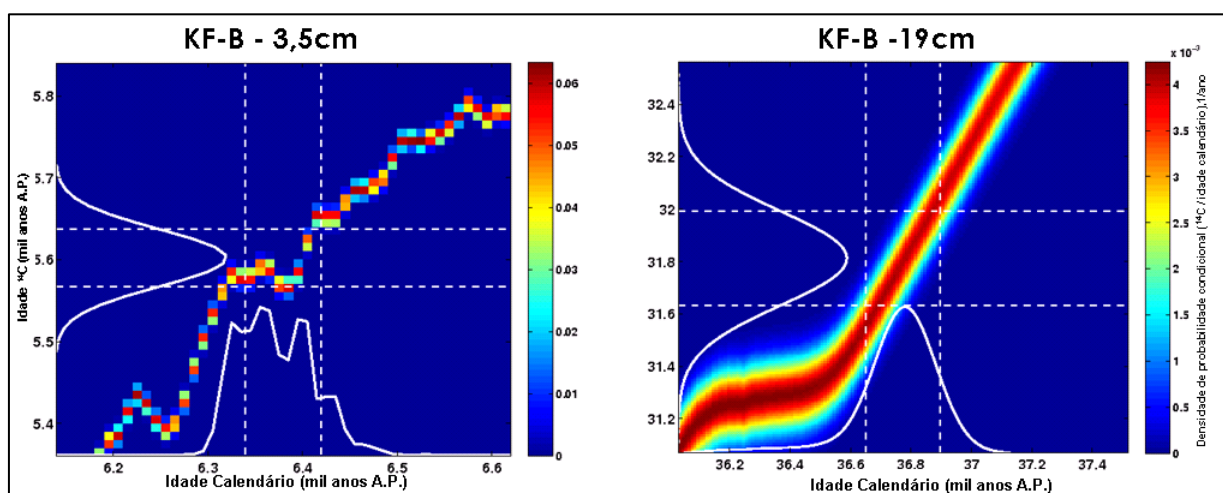


Figura 48: Curvas de calibração do modelo de Fairbanks *et al.* (2005) para as idades radiocarbono corrigidas do testemunho KF-B (imagem gerada em <http://radiocarbon.ldeo.columbia.edu/research/radcarbcal/>).

Para as demais amostras de ambos os testemunhos as idades foram estimadas por interpolação linear, considerando-se as taxas de sedimentação constantes entre os intervalos datados (Tabela 4). A partir deste ponto, todas as idades discutidas neste estudo se referem à idade calendário (mil anos A. P.)

Como a datação de  $^{14}\text{C}$  no KF-B apontou em 19cm uma idade de aproximadamente 36.800 anos, optou-se por trabalhar apenas com as oito primeiras amostras, já que estas abrangem todo o intervalo de interesse deste estudo. Portanto, das 16 amostras selecionadas inicialmente apenas as oito primeiras amostras (próximas ao topo do testemunho) foram utilizadas.

Tabela 4: Idades calendário dos testemunhos KF-A e KF-B.  
Amostras em destaque (\*) foram datadas, as demais interpoladas.

<b>CMU-14</b>		<b>PAR-40</b>	
<b>amostra</b>	<b>idade calendário</b>	<b>amostra</b>	<b>idade calendário</b>
0cm	0,2 m.a.	1cm	1,8 m.a.
★12cm	4,2 m.a.	★3,5cm	6,4 m.a.
24cm	6,1 m.a.	6cm	11,3 m.a.
36cm	8,0 m.a.	8,5cm	16,2 m.a.
43cm	9,1 m.a.	10,5cm	20,1 m.a.
46cm	9,6 m.a.	12,5cm	24,0 m.a.
48cm	9,9 m.a.	15cm	29,0 m.a.
54cm	10,8 m.a.	★19cm	36,8 m.a.
65cm	12,6 m.a.		
76cm	14,2 m.a.		
87cm	15,8 m.a.		
98cm	17,5 m.a.		
110cm	19,2 m.a.		
★121cm	20,9 m.a.		
132cm	23,6 m.a.		
144cm	26,6 m.a.		

(m.a. – mil anos A. P.)

## **5.2. Preparação das amostras para análises quantitativas de nanofósseis calcários**

O material micropaleontológico para estudos de nanofósseis calcários foi preparado a partir das 24 amostras, previamente selecionadas, dos testemunhos KF-A e KF-B no Laboratório de Paleooceanografia do Atlântico Sul (LaPAS) do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IO-USP), entre março de

2005 e julho de 2006. O material micropaleontológico foi obtido nos mesmos intervalos utilizados para as análises isotópicas de oxigênio em foraminíferos.

Após os procedimentos padrão de peneiramento, a fração sedimentar não retida na peneira de abertura de 0,062mm foi selecionada para a preparação das lâminas micropaleontológicas de nanofósseis calcários. A preparação das lâminas para observação em microscópio óptico (M.O.) seguiu a metodologia convencional descrita por Toledo (1995, 2000), Antunes (1997) e Bown & Young (1998b):

- 1) Aproximadamente 0,3g do sedimento menor que 0,062mm é selecionado, macerado e diluído em água destilada em um tubo de ensaio.
- 2) Esta solução é homogeneizada e colocada em repouso por cerca de 20 minutos para que as partículas de maior diâmetro sejam depositadas.
- 3) Colocar a lamínula, correspondente a amostra em preparo, sobre uma placa aquecedora a 50-60°C.
- 4) Após o repouso, retira-se parte da solução com o auxílio de uma pipeta. A solução deve ser disposta sobre a lamínula, ainda na placa aquecedora, até que seja completamente coberta. (Deve-se evitar o toque da pipeta na lamínula, bem como o transbordamento da solução).
- 5) Deve-se aguardar até que toda a solução evapore. Após a evaporação completa da água, o sedimento fica aderido à lamínula.
- 6) Ainda sobre a placa aquecedora, a lamínula é fixada, com a utilização de bálsamo da Canadá sintético, a uma lâmina microscópica identificada.
- 7) Após um dia de secagem as lâminas estão prontas para estudo.

Para este estudo foram confeccionadas 47 lâminas micropaleontológicas de nanofósseis calcários, das quais 24 foram selecionadas para análise quantitativa. Estas lâminas encontram-se depositadas no repositório do LaPAS / IO-USP sob o registro jupq-01 até jupq-024.

As lâminas foram observadas em microscópio óptico Olympus modelo BX41, sob aumento de até 1000x, no LaPAS / IO-USP durante o primeiro semestre de 2006.

### 5.3. *Análises Quantitativas de Nanofósseis Calcários*

A análise quantitativa da nanoflora calcária fóssil apresenta-se como um método útil para a paleoceanografia, uma vez que as progressivas mudanças da composição da flora ao longo do tempo são resultados da resposta biótica às mudanças ambientais (Matsuoka & Okada, 1989). O conhecimento de como o ambiente modifica a configuração genética dos organismos e como isto controla a sua distribuição espacial e temporal permite que o registro fóssil de tais organismos seja utilizado para reconstrução do estado e da variação de ambientes passados (Kucera, 2003).

As variações na abundância dos nanofósseis calcários são percebidas somente quando efetuados estudos quantitativos. Através da análise dos dados quantitativos das espécies é possível reconhecer assembléias características que são determinadas pela variação percentual relativa entre as espécies de uma amostra (Toledo, 2000). Desta forma o estudo da composição das assembléias de nanofósseis calcários é uma importante ferramenta na reconstrução paleoclimática e paleoceanográfica assim como na detecção de mudanças ecológicas que influenciam a distribuição de certas espécies (Buccianti & Esposito, 2004).

Normalmente a escolha das espécies para a análise quantitativa segue o critério de abundância ao longo do testemunho e a fácil identificação ao M.O., no entanto, durante os procedimentos de contagem deste estudo todas as espécies observadas ao M.O. foram quantificadas. Assim também foi possível obter a contagem semi-quantitativa, que relaciona as espécies em termos de abundância aproximada, que é a técnica mais simples para registro das espécies (Bown & Young, 1998b). As categorias são: R – rara (<1%); F – freqüente (c.1%); C – comum (2-20%) e A – abundante (>20%).

A classificação taxonômica dos nanofósseis calcários empregada neste estudo teve como base a sistemática proposta por Young e Bown (1997a, 1997b) e Young *et al.* (2003).

Para a análise da preservação dos nanofósseis calcários foi aplicado o índice de dissolução de cocolitos (IDC), modificado por Boeckel e Baumann

(2004). Este índice é utilizado para estimar o efeito da dissolução do carbonato nas assembléias de nanofósseis calcários. O IDC está fundamentado no comportamento diferencial de dissolução de cocolitos menores e mais frágeis (*E. huxleyi* e *gephyrocapsas* pequenas) e cocolitos de estrutura calcária mais robusta e assim, mais resistente à dissolução (*C. leptoporus*).

Para o cálculo do IDC são utilizadas as abundâncias relativas de *E. huxleyi*, de *gephyrocapsas* pequenas e de *C. leptoporus*, na seguinte fórmula:

$$\text{IDC} = \frac{\text{E. huxleyi (\%)} + \text{gephyrocapsas (\%)}}{\text{E. huxleyi (\%)} + \text{gephyrocapsas (\%)} + \text{C. leptoporus (\%)}}$$

O índice varia de zero a um (0,0 - 1,0), sendo o valor máximo considerado um excelente estado de preservação das amostras de nanofósseis calcários. Boeckel *et al.* (2006) observam que o IDC tem mostrado uma boa correlação com outros índices de dissolução baseados em foraminíferos.

#### Estratégias de Contagem para Análise Quantitativa

Neste estudo foram utilizadas duas estratégias de contagem para a análise quantitativa dos espécimes de nanofósseis calcários: a contagem por espécimes e a contagem por campos visuais (c.v.). As duas estratégias são descritas em estudos de nanofósseis calcários com diferentes finalidades (Okada, 1992; Bown & Young, 1998b; Tokutake, 2005), porém objetivou-se destacar a mais representativa para estudos paleoceanográficos.

*Contagem por Espécimes* – neste procedimento os primeiros 300 cocolitos visualizados ao M.O. são identificados e suas quantidades específicas são registradas. O número de c.v. ao M.O. é ilimitado e aleatório.



Na contagem por espécimes os valores da espécie *F. profunda* e de exemplares de espículas de ascídias foram contados separadamente, não sendo contabilizados na totalização dos 300 espécimes.

A contabilização separada se faz necessário devido à demasiada abundância de *F. profunda* em amostras de oceano profundo de regiões tropicais e, principalmente, do período Quaternário. Acredita-se que através deste procedimento seja possível um estudo mais pormenorizado do significado paleoambiental das espécies menos representativas, que podem ser facilmente mascaradas pela presença massiva de *F. profunda* (Okada, 1992; Tokutake, 2005).

Os exemplares de espículas de ascídias também foram contabilizados separadamente. Considerou-se este procedimento necessário por não haver um consenso a respeito do significado paleoambiental deste grupo, por não pertencerem ao fitoplâncton e por não serem um item padrão nos estudos de nanofósseis calcários. No entanto, Toledo (2000) e Toledo *et al.* (2007b) sugerem que as espículas podem ser um indicador de paleoprodutividade.

*Contagem por Campos Visuais* – de acordo com este procedimento todos os cocolitos observados em 5 (cinco) c.v. aleatórios são identificados e contabilizados. Neste caso, o número de espécimes (cocolitos) é ilimitado.

Os exemplares de *F. profunda* e espículas de ascídia são incluídos na contagem por c.v., já que o número de cocolitos contados não interfere no resultado final. Desta forma, espécies muito abundantes não devem mascarar as menos representativas.

Acredita-se que este procedimento diminua os efeitos de variação de abundância das amostras (Tokutake, 2005).

O número absoluto dos exemplares de nanofósseis calcários, obtidos das duas estratégias de contagem, foi utilizado para calcular a abundância percentual para cada táxon. De acordo com Bown e Young (1998b), o número de c.v. necessários para computar os 300 cocolitos da contagem por espécimes pode ser

considerado uma medida aproximada da abundância total de nanofósseis calcários por amostra.

#### **5.4. Abordagem Estatística**

##### *Análises Multivariadas*

Em estudos de paleoecologia e em boa parte dos estudos paleoceanográficos, as assembléias microfossilíferas selecionadas de diferentes localidades e intervalos de tempo requerem análise e interpretação de dados compostos por um grande número de variáveis (Prentice, 1986). Neste caso, a análise estatística multivariada se faz necessária, pois os procedimentos desenvolvidos por estas técnicas analisam os dados através da combinação das inúmeras variáveis (Brown, 1998), facilitando a compreensão da variabilidade total dos dados.

Neste estudo as variáveis são as diferentes espécies de nanofósseis calcários (variáveis dependentes). Estas espécies variam em abundância ao longo das diferentes amostras, ou seja, ao longo do tempo. Desta forma, as planilhas de abundância relativa das espécies de nanofósseis calcários, obtidas das análises quantitativas (Anexos 1 e 2), constituem um conjunto dados percentuais multivariados (Prentice, *op.cit.*). A partir destes dados, os procedimentos estatísticos empregados determinam matrizes de correlação (ou covariância) que servem de *entrada* para as técnicas de estatística multivariada (Kucera & Malmgren, 1998).

Como o interesse deste estudo está centrado na associação mútua e simultânea de todas as espécies (variáveis), sem distinção entre elas, foram empregados métodos interdependentes. No entanto, foi levado em consideração que a análise de dados composicionais é sempre influenciada pelo efeito da somatória fechada, onde as espécies individuais não variam independentemente (Kucera & Malmgren, 1998; Bucciatti & Esposito, 2004). Ou seja, se uma espécie aumenta sua abundância, as demais espécies devem diminuir.

As técnicas de análise multivariada utilizadas na interpretação dos dados de nanofósseis calcários foram: a análise fatorial (modo-Q) (Giraudeau, 1992, Toledo *et al.*, 1999, Toledo, 2000), a análise de componentes principais (modo-R) (Herrle *et al.*, 2003) e a análise de agrupamentos (modo-Q e modo-R) (Parker & Arnold, 1999).

A análise de agrupamentos é aplicada na exploração das similaridades entre amostras (modo-Q) ou entre as espécies (modo-R) definindo-as em grupos que considerem, respectivamente, todas as variáveis (espécies) observadas em cada amostra ou todas as amostras nas quais foram registradas as abundâncias específicas (Parker & Arnold, *op.cit.*).

A análise de agrupamento é uma das técnicas de análise multivariada mais difundidas, embora, sozinha, não seja a mais eficiente para a interpretação de dados paleoceanográficos. Para a confirmação dos agrupamentos observados Parker e Arnold (*op.cit.*) sugerem que seus resultados sejam comparados com os de outras técnicas multivariadas, como análise dos componentes principais e análise fatorial.

Na análise fatorial supõe-se que as relações existentes em um conjunto de variáveis sejam reflexos das correlações de cada uma dessas variáveis com fatores, mutuamente, não correlacionáveis entre si. Em outras palavras, esta técnica, no presente estudo, avalia a influência de 'f' fatores (subentendidos) em função da variabilidade composicional da nanoflora calcária.

Poucos fatores podem explicar grande parte da variância<sup>1</sup> total dos dados (Brown, 1998; Toledo *et al.*, *op.cit.*; Parker & Arnold, *op.cit.*; Toledo, *op.cit.*). Estes fatores devem ser interpretados em função de parâmetros ambientais e de acordo com as preferências ecológicas reportadas na literatura a respeito das espécies (ou amostras) indicadas pela análise fatorial.

A análise dos componentes principais é bastante similar à análise fatorial, porém seu objetivo é obter um pequeno número de combinações lineares (componentes principais) de um conjunto de variáveis (modo-R) que retenha o

---

<sup>1</sup> Variância é a medida da dispersão para uma lista de números que compõem um conjunto de dados (Brown, 1998).

máximo de informações originais para explicar a variabilidade das espécies (variáveis) (Brown, 1998; Parker & Arnold, 1999; Buccianti & Esposito, 2004).

A partir de uma análise de componentes principais modo-R (rotacionado por Varimax) Herrle (2003) e Herrle *et al.* (2003) sugeriram o cálculo de índices de temperatura e nutriente (IT e IN) com base nos dados quantitativos de nanofósseis calcários.

Na ausência de uma obra específica sobre o emprego de técnicas estatísticas a dados quantitativos de nanofósseis calcários, os procedimentos inerentes a cada uma das técnicas apreciadas neste estudo seguiram as recomendações de Parker e Arnold (*op.cit.*). Todas as análises estatísticas foram processadas no programa computacional *Statistica* versão 7.0 / *Statsoft* 2005 para Windows licenciado para o Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, durante o segundo semestre de 2006.

### **5.5. Índice de Nutrientes (IN) e Índice de Temperatura (IT)**

O fato de a temperatura superficial do oceano e a disponibilidade de nutrientes na superfície serem os principais fatores que influenciam a distribuição e composição da nanoflora calcária (Brand, 1994, Roth, 1994, Winter *et al.*, 1994, Burnett *et al.*, 2000), fez com que Herrle (*op.cit.*) e Herrle *et al.* (*op.cit.*) propusessem a quantificação destes dois parâmetros em índices de temperatura (IT) e nutrientes (IN).

Estes índices foram, originalmente, propostos para espécies de nanofósseis calcários de depósitos sedimentares do Cretáceo, no sudeste da França (Herrle, *op.cit.*; Herrle *et al.*, *op.cit.*). Sua aplicação tem mostrado bons resultados em amostras Jurássicas (Tremolada *et al.*, 2006) e Cretácicas (Erba & Tiraboschi, 2006). Ao que se sabe, o presente estudo é o primeiro em que estes índices são aplicados aos nanofósseis calcários do Quaternário no oceano Atlântico Sul.

Para isso, foram reproduzidas as mesmas técnicas estatísticas e critérios de seleção de espécies sugeridos pelos autores originais: aplicação da análise de

componentes principais modo-R à matriz de correlação; considerar apenas os componentes gerados com autovalor >1,0; considerar como espécies dominantes de cada agrupamento aquelas com cargas >0,5; aquelas espécies com cargas >0,4 considerar como espécies associadas (Herrle *et al.*, 2003). Tanto as cargas positivas quanto as cargas negativas devem ser consideradas.

A seleção das espécies para o cálculo dos índices deve ser de acordo com o agrupamento que apresenta maior correlação com indicadores de produtividade (IN) e de temperatura (IT).

Após selecionar os dois agrupamentos de componentes principais de cada testemunho para cada um dos parâmetros, devem-se avaliar as cargas das espécies relacionadas pela análise. De acordo com as preferências ecológicas individuais devem-se escolher as espécies que melhor indicam a produtividade das águas superficiais e a temperatura. O IN foi proposto como uma estimativa da disponibilidade de nutrientes para as águas superficiais e, portanto é referido com indicador de fertilidade superficial.

As espécies do agrupamento escolhido que não apresentarem correlação com os parâmetros não devem ser utilizadas no cálculo dos índices (Herrle, 2003; Herrle *et al.*, *op.cit.*).

Os IN e IT, como propostos originalmente e utilizado neste estudo, têm a seguinte formulação:

$$\text{IN} = \frac{\text{spp. alta fertilidade}}{\text{spp. baixa fertilidade} + \text{spp. alta fertilidade}} \times 100$$

$$\text{IT} = \frac{\text{spp. menor temperatura}}{\text{spp. maior temperatura} + \text{spp. menor temperatura}} \times 100;$$

onde os maiores valores do IN refletem alta fertilidade das águas e os maiores valores do IT indicam menor temperatura das águas superficiais, e vice-versa, respectivamente.

Os autores citados não deixam claro o critério de seleção de espécies em função das cargas atribuídas. Entretanto ficou claro que, das espécies escolhidas para o cálculo de IN, aquelas relacionadas à alta fertilidade superficial apresentavam cargas positivas enquanto as espécies relacionadas à baixa fertilidade das águas tinham cargas negativas.

No entanto, o mesmo não foi observado para a seleção das espécies para o IT, onde as espécies indicadoras de menor temperatura apresentaram tanto cargas positivas como negativas, assim como as indicadoras de maior temperatura.

### **5.6. Equação de Paleoprodutividade**

Como já foi ressaltado no capítulo 3 o estudo da variação percentual da espécie *F. profunda* tende a indicar a variação da profundidade da nutriclina / termoclina no oceano. Devido a esta característica peculiar, a observação cuidadosa da sua variação ao longo do tempo pode ser um ótimo indicador da paleoprodutividade das águas superficiais (Okada & McIntyre, 1979; Molfino & McIntyre, 1990; Baumann *et al.*, 2005). Desta forma, a instabilidade oceânica tende a aumentar a produtividade das águas superficiais, fazendo com que a abundância relativa de *F. profunda* diminua.

Com base nestas informações Beaufort *et al.* (1997) observaram que a distribuição de abundância relativa de *F. profunda* se correlacionava muito bem com a produtividade primária atual no oceano Índico e propuseram uma equação que envolvesse esses dois parâmetros:

$$PP = 617 - [270 \times \log (\% F. profunda + 3)];$$

onde PP é a paleoprodutividade em (gC/m<sup>2</sup>/ano).

Henriksson (2000) testou a aplicabilidade desta equação para o oceano Atlântico Equatorial nos últimos 200 mil anos e encontrou uma boa correlação entre os valores conhecidos de produtividade primária e as porcentagens de *F. profunda*. O autor sugeriu então, que a equação da paleoprodutividade de Beaufort poderia ser usada para monitorar as variações de produtividade nas baixas latitudes do Atlântico e também por isso, foi utilizada neste estudo.