

**Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da
Área Ambiental I – Porção Capixaba do Rio Doce e Região
Marinha e Costeira Adjacente**

**Material Suplementar Ambiente Marinho – Tema Ictiofauna e
Carcinofauna**

RT- 43/ JUN 23

RA2022 PMBA/Fest

Vitória,

Junho de 2023

SUMÁRIO

1	HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL	3
2	METODOLOGIA	4
2.1	COLETA	4
2.2	ANÁLISE DE DADOS.....	11
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	31
3	RESULTADOS DOS INDICADORES	32
3.1	COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES.....	33
3.1.1.	Ictiofauna estuarina/marinha	33
3.1.2.	Carcinofauna estuarina/marinha	41
3.1.3.	Ictiofauna recifal	49
3.2	COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES RECIFAIS E ESTUARINOS..	64
3.3	DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA.....	95
3.4	CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS EM PEIXES.....	97
3.5	DIETA E CONDIÇÃO CORPORAL DE ESPÉCIES SENTINELAS	98
3.6	ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA.....	101
3.6.1	Crustáceos marinhos	101
3.6.2	Peixes estuarinos e recifais.....	104
3.7	USO DE HABITAT DO ROBALO-PEVA	114
3.8	MICROQUÍMICA DE OTÓLITO	122
4	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS	125
5	REFERÊNCIAS	126

1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

O histórico de malha e frequência amostrais do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) abrange informações de suma importância para o balizamento do presente programa, uma vez que passou por modificações ao longo do tempo, visando melhor atender aos objetivos do PMBA/Fest. Estas alterações foram aprovadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) por meio de: (1) ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019 (para o período de transição) e (2) Proposta Técnica de continuação do monitoramento, apresentada no primeiro semestre de 2022 visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest”.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) MS - Malha e frequência amostrais, onde as diferentes malhas e frequências amostrais são apresentadas nas abas “Ano 1”, “Transição”, “Novo Ciclo” e “Histórico Frequências” e 2) MS – Mapas das malhas amostrais, com a espacialização referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais coletadas entre setembro de 2018 e setembro de 2019, “Transição” às estações entre outubro de 2019 e julho de 2022 e “Novo Ciclo” referente às estações amostrais coletadas a partir de agosto de 2022.

2 METODOLOGIA

A metodologia apresentada contempla o escopo em vigência no momento de entrega deste relatório, ou seja, as amostragens e análises previstas para o Novo Ciclo do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática – PMBA submetidas à Fundação Renova através do FORMULÁRIO DE APRESENTAÇÃO DE PLANO DE TRABALHO em 31 de agosto de 2022. Após a descrição da metodologia implementada, será apresentado um breve descritivo sobre as modificações metodológicas (parâmetros, análise de parâmetros ou grupo de parâmetros, dentre outros) que ocorreram ao longo da evolução do PMBA/Fest a fim de determinar os indicadores.

2.1 COLETA

2.1.1. Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha

Para a descrição da ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha de substrato inconsolidado, foram realizadas amostragens mensais (Ano 1, entre outubro/2018 e setembro/2019) e trimestrais (entre novembro/2019 e agosto/2022) na porção do baixo Rio Doce e sua área marinha adjacente (local do impacto). Além disso, representando um gradiente de impacto, foram também amostrados os estuários e áreas marinhas adjacentes aos rios São Mateus (~120 km ao norte do Rio Doce, em Conceição da Barra/ES) e Piraquê-Açú (~48 km ao sul do Rio Doce). Em cada estuário, foram amostrados dois pontos internos, localizados a 2 e 4 km da foz, e quatro pontos externos (área marinha adjacente), sendo o primeiro localizado a 2 km da foz e os demais a 4 km da foz, em forma de cruz. À investigação acerca de potenciais impactos do rejeito nas assembleias de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos, foram adicionados 11 pontos de coleta à malha amostral original, a partir de dezembro/2019, aqui chamados “Pontos novos”, todos localizados em áreas externas aos estuários. Por meio da integração de dados, será possível determinar o efeito relativo do rejeito e de variáveis ambientais na composição das assembleias de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos na área impactada.

Devido a pandemia de COVID-19, os trabalhos de campo e laboratório foram interrompidos entre março e dezembro/2020, visando a preservação da saúde não só dos membros das equipes, mas também das comunidades das localidades onde os estudos foram desenvolvidos.

Em cada ponto amostral, foram empregados três arrastos de cinco minutos cada, utilizando-se uma rede de arrasto de fundo com portas (tipo “balão” ou “wing trawl”), com as seguintes especificações: tralha superior PES 5mm com 8,62m de comprimento e tralha inferior PES 8mm com 10,25m de comprimento; peso do chumbo equivalente a 1,62kg, sendo 27 unidades de 60g; malha 13mm, fio 210/09 nas mangas e barriga; malha 5mm, fio 210/12 no saco. As portas são de madeira vazada com dimensões de 70cm x 42cm, pesando 9,3 kg cada. A velocidade média dos arrastos foi padronizada em 3,7km/h (i.e. 2 mn/h).

Após a coleta, os peixes e crustáceos estuarinos/marinhos foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados quanto ao ponto, arrasto, local e data de coleta. O material foi mantido resfriado e encaminhado para os laboratórios responsáveis, onde foram preservados congelados até o seu processamento.

Antes do início de cada arrasto foram mensuradas as seguintes variáveis ambientais: temperatura (°C), profundidade (m), salinidade, pH, turbidez (NTU) e oxigênio dissolvido (OD - ppm) da água. Para tanto, foi utilizada uma sonda multiparâmetros Horiba modelo U-52G. Para as medidas de fundo, a água foi coletada com auxílio de uma garrafa de Van Dorn.

2.1.2. Reprodução de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos

Para o estudo de comunidades e populações de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos, coletas mensais estão sendo realizadas na foz do Rio Doce (Regência - Linhares/ES) e no estuário do rio São Mateus (Conceição da Barra/ES). As coletas iniciaram em outubro/2022 e serão realizadas até setembro/2023. Três espécies de peixes de interesse comercial, abundantes e amplamente distribuídas ao longo da costa do Espírito Santo foram selecionadas: *Centropomus parallelus* (robalo-peva), *Genidens genidens* (bagre-guri) e *Eugerres brasiliensis* (carapeba). Para a coleta de crustáceos foram selecionados: camarão sete-barbas - *Xiphopenaeus* spp. (Decapoda: Penaeidae) e siris estuarinos do gênero *Callinectes* (Decapoda, Portunidae).

Para coleta da espécie *G. genidens* são realizados arrastos exaustivos de fundo com portas (tipo “balão” ou “wing trawl”). Os peixes das espécies *E. brasiliensis* e *C. parallelus* são capturados com o auxílio de pescadores locais, através de petrechos como: redes de emalhe de diferentes malhas, linhas de mãos, etc. Após a coleta, os peixes são acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados quanto ao local e data de coleta. As amostras são mantidas em gelo e encaminhadas para o laboratório, onde permanecem resfriadas até o processamento.

As coletas para captura dos camarões sete-barbas são realizadas com auxílio de barco camaroeiro equipado com rede de arrasto de fundo com portas (tipo “balão” ou “wing trawl”). Quatro pontos amostrais, baseados nos transectos realizados nas coletas trimestrais, foram estabelecidos. Os arrastos são realizados por 15 minutos em cada ponto por campanha. Os camarões sete-barbas coletados em cada arrasto são ensacados, identificados de acordo com o ponto amostral e armazenados em gelo. Fêmeas maduras, em estágio II e III de maturação gonadal são fixadas em Boiun e identificadas de acordo com o ponto amostral para processamento em laboratório. A captura de siris estuarinos é realizada com auxílio de pescadores locais, através de armadilhas de pesca passiva (covos). Após a coleta os indivíduos são armazenados em gelo e encaminhados para o laboratório.

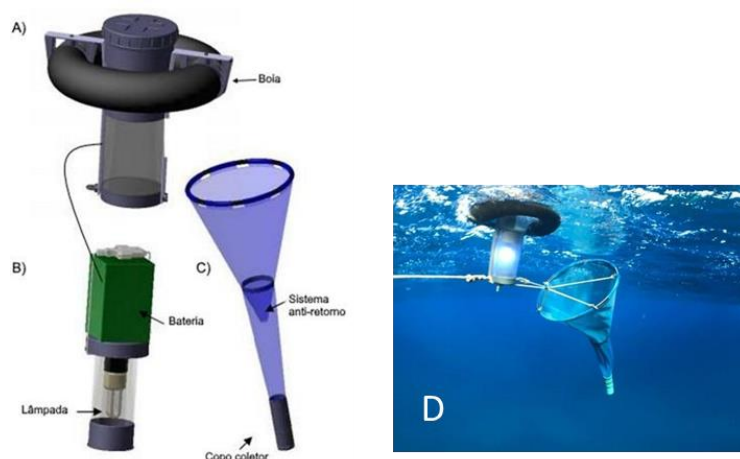
2.1.3. Recrutamento

Para o monitoramento do recrutamento larval de peixes nos ambientes estuarinos, quatro regiões marinhas foram amostradas: Rio Doce (zona Impacto), rio Piraquê-Açú (Controle 1), rio São Mateus (Controle 2) rio Mucuri (Controle 3). Para o monitoramento nos ambientes recifais, as amostragens foram realizadas nos Recifes de Coroa Vermelha e Nova Viçosa denominado como “CA”, Parcel das Paredes (PP), Arquipélago de Abrolhos (ABR) e Parcel dos Abrolhos (PAB).

Para a captura das pós-larvas de peixes, foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo CARE® (ECOCEAN, Figura 1). Essas armadilhas são compostas de três partes: sistema flutuante /

impermeável (que permite que a armadilha fique na superfície da água), parte de iluminação (18 horas de duração da luz, bateria recarregável de chumbo selada 12V/12, Temporizador de 12V), e a parte de coleta das pós-larvas (rede cônica de malha 2 x 2 mm, coletor de PVC fixado na extremidade da rede). Nove foram instaladas em pontos pré-estabelecidos dentro de cada local de amostragem. A instalação das armadilhas ocorreu antes do pôr do sol e sua recuperação ao amanhecer. A instalação das armadilhas luminosas ocorreu durante duas noites consecutivas em cada local por campanha, totalizando 18 amostras por local. As armadilhas foram instaladas na superfície em posição vertical com auxílio de uma âncora, ligadas por cabos e correntes a uma boia de sinalização (LECAILLON, 2004) e com uma distância de aproximadamente 300 m entre armadilhas (FÉLIX-HACKRADT et al., 2013; CATALÁN et al., 2014).

Figura 1: Representação dos componentes de uma armadilha luminosa tipo CARE® (ECOCEAN) indicando, (A) sistema flutuante/impermeável, (B) parte de iluminação e (C) rede cônica; D) armadilha em uso.

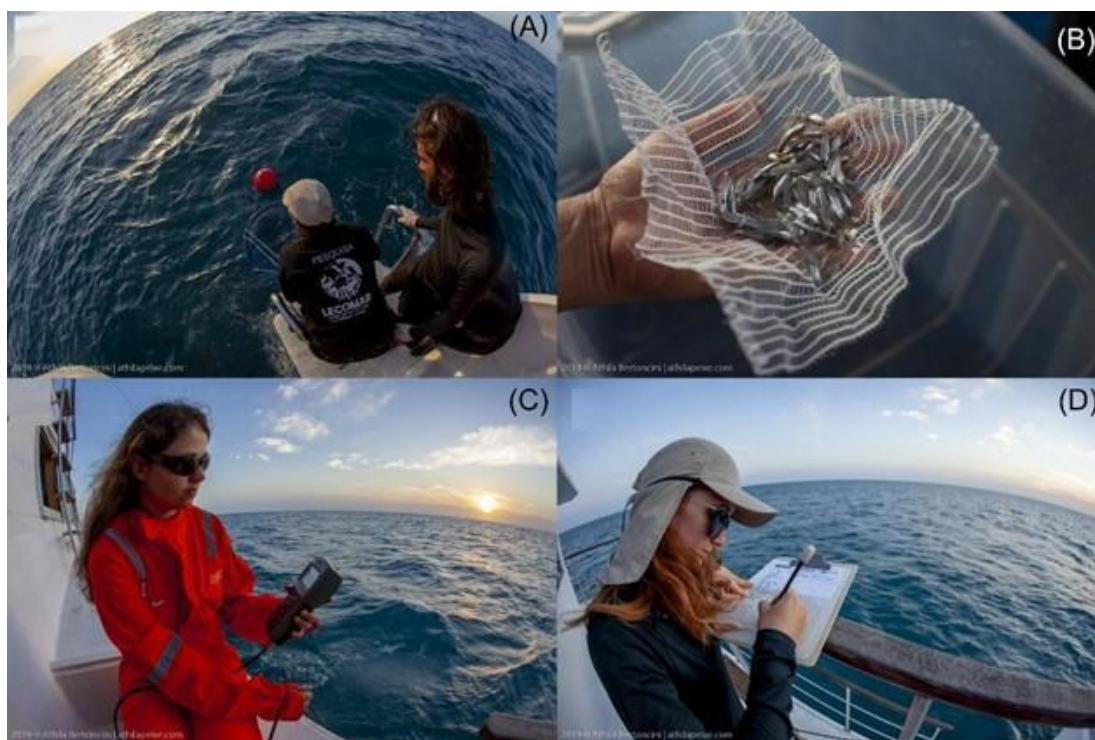


Após 12 horas de imersão, as armadilhas foram retiradas e as amostras coletadas foram transferidas para potes (devidamente etiquetados com informações sobre a data, hora e local da coleta) contendo álcool 70% para a sua preservação (FÉLIX-HACKRADT et al., 2013). Após a coleta, as amostras foram levadas até o laboratório de Ecologia e Conservação Marinha da UFSB, Porto Seguro, Bahia. Neste, as pós-larvas foram triadas, mensuradas, pesadas e identificadas segundo bibliografia atualizada (RICHARDS, 2006; BONECKER et al., 2006; BONECKER et al., 2014).

Concomitante às coletas de recrutamento larval, variáveis físico-químicas (temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e turbidez) foram mensuradas utilizando uma sonda multiparâmetros Horiba. A profundidade do local de instalação das armadilhas foi obtida com sonar da embarcação e as variáveis meteoceanográficas (altura de ondas, direção e intensidade do vento, direção e intensidade da corrente, % iluminada da lua etc.) foram obtidas através de visualização direta (Figura 2) ou extraídas no portal do Centro de Previsão de tempo e Estudos Climáticos (CPTEC: www.cptec.inpe.br) e Surf guru (www.surfguru.com.br). Devido a um possível problema de calibração do sensor de turbidez da sonda multiparâmetro, o coeficiente de atenuação difusa (KD490 nm) foi acessado via sensoriamento remoto e utilizado como proxy da turbidez. Para isso, os dados do sensor MODIS-Aqua (*Level-3, 8-day period*)

disponibilizado pelo portal Oceancolor da NASA (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/l3/order/>) foram processados no software SeaDAS (Seadas-7.5.3).

Figura 2: Registro fotográfico das amostragens. A) Armadilha luminosa sendo recolhida após 12 h de imersão. B) Representação das amostras coletadas. C e D) Mensuração e registro dos dados físico-químicos e meteoceanográficos.



2.1.4. Ecologia trófica

Diversidade trófica/isotópica e concentração de lipídeos em peixes: Para avaliar a evolução das métricas de diversidade trófica ao longo dos anos, foram selecionadas seis espécies de peixes coletadas no estuário do Rio Doce, antes (novembro de 2015) e depois (junho de 2016, novembro de 2019, julho de 2020, novembro de 2020, julho de 2021, novembro/dezembro de 2021 e junho de 2022) da chegada da lama de rejeitos de mineração em Regência, ES. As coletas de 2015 e 2016 foram realizadas previamente ao acordo de cooperação que originou o PMBA/Fest pelo Laboratório de Ictiologia-UFES. As espécies estudadas foram o amoré-flecheiro (*Ctenogobius* spp.), carapicu (*Eucinostomus argenteus*), amoré-lira (*Evorthodus lyricus*), bagre-guri (*Genidens genidens*) e o peixe-cachimbo (*Microphis lineatus*). Dados referentes à espécie amoré-preto (*Eleotris pisonis*) não estão apresentados no presente relatório, visto que o número de exemplares capturados nas últimas coletas foi insuficiente para estimar os parâmetros monitorados. Estas espécies pertencem a cinco famílias (Gobiidae, Eleotridae, Gerreidae, Ariidae e Syngnathidae) com características ecológicas distintas. Todos os peixes foram fixados em solução formalina 10% e posteriormente preservados em álcool 70% para evitar viés do método de preservação.

Dieta e condição corporal: Indivíduos do bagre-guri (*Genidens genidens*) foram coletados entre fevereiro e maio de 2022 no estuário do Rio Doce e em dois estuários controles (São Mateus e rio Itapemirim). Visto que a salinidade é um parâmetro chave para estruturação das comunidades estuarinas, em todos os locais as coletas ocorreram em áreas com valores de salinidade similares (cerca de 0–0,1). Os peixes foram coletados usando redes de arrasto com portas nos três estuários e conservados em gelo imediatamente após à captura.

2.1.5. Ictiofauna recifal

A fim de descrever a estrutura das comunidades de peixes recifais foi adotado um desenho de impacto ambiental, similar ao descrito para o recrutamento larval onde foram estabelecidas seis áreas de controle e uma de impacto: Recife dos Esquecidos (C1), Cassurubá (C2), Paredes (C3), PARNA Abrolhos (C4), Vitória (C5), Guarapari (C6) e APA Costa das Algas (I), respectivamente. As coletas foram realizadas anualmente com a exceção do primeiro ano de amostragem onde seguiu uma frequência semestral, apresentando uma campanha no período chuvoso (jan-fev/2019) e outra no seco (jun-jul/2019), porém nos demais anos de monitoramento a frequência anual com uma única campanha durante os meses chuvosos (verão) foi adotada.

Peixes recifais: Seguindo o desenho de impacto *beyond BACI* proposto por UNDERWOOD (1992), onde não há dados prévios ao impacto resultando em uma comparação ACI, estabelecemos múltiplos controles (n=6) a serem contrastados com a zona impacto (n=1). Em cada uma das sete zonas de estudo (C1=Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3=Paredes, C4=Abrolhos, C5=Vitória, C6=Guarapari e I=APA Costa das Algas) foram selecionados seis setores aleatórios. As zonas amostrais C5 e C6 foram inseridas no período de transição no intuito de ampliar as zonas Controle ao sul do Rio Doce, e ampliar a variabilidade de ambientes avaliada. Em cada setor são realizados seis

pontos fixos, sendo que cada um possui um raio de quatro metros, para peixes >20cm, e um raio de dois metros para peixes <20cm, adaptado de MINTE-VERA et al. (2008). Para realizar um censo uma trena é estendida sobre o fundo para auxiliar na delimitação do raio amostral que determina o volume do cilindro imaginário onde é realizada a identificação das espécies de peixes por um tempo total de cinco minutos. Em seguida são anotadas as abundâncias das espécies identificadas. O tamanho dos peixes é estimado em classes de dois em dois centímetros. Estas medidas diminuem o erro amostral e, portanto, aumentam a acurácia dos dados coletados.

Variáveis ambientais e cobertura bentônica: Em cada ponto fixo realizado para censos visuais (censo ou unidade amostral), os dados ambientais foram tomados para controle da variabilidade espacial entre setores e localidades amostradas. Ao finalizar o censo, o mergulhador estima em cada quadrante do cilindro os seguintes parâmetros: 1) Cobertura (através da realização de 2 fotoquadrados por censo); 2) Heterogeneidade do habitat – tipo de substrato (estimando visualmente em % de rocha, % de areia; % de cascalho, % de outros); 3) Complexidade (contagem do: número de blocos pequenos, medianos e grandes); 4) estimativa visual da rugosidade (1 a 4, sendo 1 o terreno liso e 5 o mais arrugado e alto possível); e 5) inclinação do terreno (em escala visual: 0-30°, 30-60°, 60-90 °) (cf.: FÉLIX-HACKRADT et al., 2014), além de profundidade e temperatura da água.

Para obtenção de dados de cobertura bentônica (% de organismos que recobriam o fundo), foi utilizada a metodologia de fotoquadrado anexada ao censo visual de peixes. Foram utilizados 2 quadrados feitos de tubo de PVC com as dimensões 70x80 cm. Os quadrados são subdivididos em 15 fotos de 22x15 cm, em que cada subdivisão serviu como referência para as fotografias de fundo (FRANCINI-FILHO, 2008). As imagens foram analisadas no software CPCe (*Coral Point Count with Excel extensions* 4.1) utilizando 30 pontos aleatórios por foto. Após a análise das fotos no CPCe, os dados de porcentagem de cobertura por grupo bentônico foram exportados para uma matriz de Excel. O conjunto de 15 fotos compuseram um fotoquadrado, e a média de cobertura obtida pelos dois fotoquadrados de cada ponto fixo do censo representaram uma unidade amostral.

Os organismos bentônicos foram classificados nos seguintes grupos: 1) Macroalgas; 2) Sedimento; 3) Filtradores; 4) Outros invertebrados; 5) Equinodermos; 6) Matriz de algas epilíticos (MAE); 7) Cianobactérias; 8) Alga calcária; 9) Octocorais; 10) Zoantídeo 11) Corais incrustante; 12) Corais massivos e 13) Corais ramificados.

Para a realização dos 36 pontos fixos em cada zona necessita-se de aproximadamente três a cinco dias embarcados (correspondente a uma campanha), a depender da quantidade de mergulhadores e das condições de navegação.

2.1.6. Genética populacional

Crustáceos marinhos: Para a determinação dos índices de diversidade e estruturação genética de crustáceos marinhos foram utilizadas pequenas porções de tecido muscular de crustáceos marinhos provenientes de campanha de coleta realizada em agosto de 2022 (período seco) pelo Laboratório de

Ecologia de Peixes Marinhos (CEUNES/UFES) em três unidades amostrais: Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. As coletas de tecido foram realizadas pelo Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES.

Os fragmentos de tecidos coletados foram preservados em álcool 96% e armazenados em microtubos identificados e etiquetados com todas as informações provenientes de cada indivíduo, como data e ponto de coleta. Os microtubos foram acondicionados a -20°C no banco de tecidos do LGCA.

Peixes estuarinos e recifais: Foram selecionadas oito espécies de peixes estuarinos e sete espécies de peixes recifais para estudos populacionais utilizando marcadores moleculares nucleares. Concomitantemente as coletas da ictiofauna estuarina/marinha, realizada pela equipe do CEUNES – UFES, um número mínimo de 30 indivíduos de cada espécie de peixes estuarinos foi amostrado em cada estuário visitado (rio Caravelas, rio São Mateus, rio Ipiranga e Rio Doce), dos quais uma amostra de tecido de 5 cm² oriundo da nadadeira caudal ou anal foi recolhida e acondicionada em um microtubos com álcool 100% pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal do CEUNES-UFES, em São Mateus-ES e conduzida até o laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFSB, em Porto Seguro. Todas as amostras se encontram acondicionadas em freezer -80°C no referido laboratório. Paralelamente às coletas de tecido das espécies recifais foi realizada através de visitas a desembarques de pesca e entrepostos pesqueiros ao longo do litoral capixaba e no sul da Bahia pela equipe do Laboratório de Ecologia e Conservação Marinha da UFSB, onde amostras referentes às espécies capturadas pelos pescadores nas áreas delimitadas (A1 a A4) eram obtidas. Todos os exemplares eram mensurados e esse dado era associado a amostra obtida.

2.1.7. Telemetria estuarina

O sistema de rastreamento utilizado da Telemetria Estuarina é composto por transmissores e receptores acústicos da VEMCO®. Na presente fase do monitoramento, foram utilizados transmissores codificados que emitem sinais acústicos singulares e identificáveis, e os receptores VR2W (fixo) e VR100 (ativo). Para avaliação do uso de habitat pelos robalos no Rio Doce, um total de 13 indivíduos (CENPAR 46 a 58) foram capturados entre março e maio de 2022. Os exemplares capturados foram marcados com transmissores acústicos codificados. Para o implante do transmissor acústico, todos os indivíduos foram anestesiados e uma incisão de 20 mm realizada na cavidade celomática.

Após a inserção e sutura do corte, os indivíduos foram observados por cerca de 30 minutos, sendo posteriormente devolvidos ao local de captura. Para o monitoramento dos robalos marcados, uma rede com nove receptores acústicos VR2W foi instalada em março de 2022 no Rio Doce. Para obtenção dos dados, os receptores VR2W fundeados no Rio Doce foram recuperados por meio de mergulho autônomo em outubro de 2022. Foram recuperados seis dos nove receptores instalados no Rio Doce. O monitoramento por telemetria ativa foi realizado através de campanhas intensivas, primeiramente, na região interna do estuário do Rio Doce, utilizando embarcação e um hidrofone multidirecional conectado ao receptor VR100. O monitoramento ativo no rio São Mateus foi iniciado em novembro de

2022, não entrando na série temporal deste relatório. Para maiores detalhes sobre a metodologia de coleta de dados ver Protocolo da Telemetria Estuarina.

2.1.8. Microquímica de otólitos

Com objetivo de determinar as concentrações dos elementos químicos ao longo do seu período de vida, antes e depois, do rompimento através de análise microquímicas de otólito, foram escolhidas três espécies de interesse comercial, abundantes e amplamente distribuídas ao longo da costa do Espírito Santo: *Centropomus parallelus* (robalo-peva), *C. undecimalis* (robalo-flecha) e *Genidens genidens* (bagre-guri). Os exemplares foram coletados utilizando redes de espera de diversas malhas, operadas por pescadores locais e equipe de campo. Além disso, exemplares também foram obtidos nas peixarias de cada região, certificando-se do local de origem dos mesmos. Após a coleta, os indivíduos foram medidos (comprimento total – CT, em mm), pesados (PT – g) e dissecados para retirada dos otólitos.

2.2 ANÁLISE DE DADOS

2.2.1. Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha

No laboratório, os peixes foram identificados até o menor nível taxonômico possível e medidos quanto ao comprimento total (CT, o mais próximo de 1 mm, tomado da ponta do focinho à extremidade da cauda) utilizando um ictiômetro. Para os camarões foram mensurados o comprimento da carapaça – CC (da região intraorbital à margem posterior) e o comprimento total – CT (da região da extremidade do rostro até a extremidade do telson) com auxílio de paquímetro (o mais próximo de 1 mm). Para os siris/caranguejos foram medidos o comprimento da carapaça – CC (do rostro à margem posterior da carapaça entre os últimos espinhos) e a largura da carapaça – LC (das margens da carapaça entre os últimos espinhos laterais), enquanto para os caranguejos, foram medidos LC e CC na porção mediana da carapaça, tanto longitudinalmente quanto transversalmente. Além disso, peixes e crustáceos foram pesados (o mais próximo de 0,01g). Exemplares representantes das espécies coletadas são armazenados para tombamento em coleção zoológica até que todas as espécies estejam representadas.

Posteriormente, foram calculadas a densidade (número de indivíduos - N) e biomassa (g) de peixes e crustáceos por unidade de área (CPUA - Captura por Unidade de Área), dividindo-se N ou biomassa pela área varrida pela rede, multiplicadas por 100. A área varrida pela rede foi calculada por $A=D*10,25m*0,5$, onde: A=área varrida em metros; D=distância percorrida pela rede; 10,25 é o comprimento da corda da parte inferior da rede; 0,5 é o fator equivalente a área varrida no arrasto, conforme BARLETTA et al. (2005). Assim, a densidade foi expressa em número de indivíduos/100m², enquanto a biomassa foi expressa em g/100m².

Foram calculadas médias por área (interna, pontos 0 - apenas para o Piraquê-Açú, 1 e 2 (exceto Piraquê-Açú); externa – pontos 3, 4, 5 e 6) para cada estuário (Rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú) dos indicadores da comunidade: densidade, biomassa e riqueza (número de espécies). Os períodos avaliados são constituídos como segue: Ano 1 = Chuvoso1 – C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019); Seco1 – S1 (maio e julho/2019); Ano 2 = Chuvoso2 – C2 (novembro/dezembro de 2019 e

fevereiro/2020); Seco2 – S2 (não amostrado devido à pandemia de COVID-19); Ano 3 = Chuvoso3 – C3 (janeiro/2021 – não incluído para não desequilibrar as análises); Seco3 – S3 (maio e julho/2021); Ano 4 = Chuvoso 4 – C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022); S4 (abril/2022 e agosto/2022).

Para detectar se houve diferenças espaço-temporais significativas nos indicadores das comunidades de peixes e crustáceos, os dados foram avaliados usando um modelo linear multifatorial de efeitos mistos (Análise de variância multivariada permutacional – PERMANOVA) (ANDERSON et al., 2008), a partir de matrizes de similaridade de Bray-Curtis (matriz multivariada) ou distância Euclidiana (matriz univariada). Para ambos, foram considerados quatro fatores: “Local” (fixo, Diretamente Impactado: Rio Doce; Indiretamente Impactado: São Mateus e Piraquê-Açú); “Estuário” (aleatório, Rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú, aninhados em Local); “Área”, (aleatório, Externa e Interna, aninhado em Estuário); e Período (fixo, C1, S1, C2, S3, C4 e S4). Utilizou-se nestas análises a soma dos quadrados do Tipo III (parcial) e 9999 permutações dos resíduos sob o modelo reduzido (ANDERSON, 2017). Quando diferenças significativas foram detectadas, o teste “*a posteriori*” pareado foi empregado usando a mesma rotina. Para as análises multivariadas de densidade e biomassa, os dados foram previamente transformados em raiz quarta, visando reduzir a influência de espécies dominantes no cálculo das matrizes de similaridade. Para as análises univariadas, os dados de densidade e biomassa foram transformados em Log (x+1).

As relações entre a estrutura de comunidade e as variáveis ambientais foram avaliadas por meio de modelos de regressão lineares baseados em distância (DistLM), seguindo a rotina Best para escolha da melhor combinação de variáveis preditoras e o critério ACCc para escolha do modelo com melhor ajuste. A visualização do resultado foi feita por meio de análise de redundância baseada em distância (dbRDA), baseada em uma matriz de abundância em termos de densidade (número de indivíduos/100 m²) e frequência de ocorrência das espécies (ANDERSON et al., 2001).

2.2.2. Reprodução de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos

Em laboratório, a identificação das espécies de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos são confirmadas e os dados biométricos obtidos. Após abertura da cavidade abdominal para retirada das gônadas nos peixes, os aspectos macroscópicos, como maturação, estádios gonadais e determinação do sexo são definidos utilizando escala adaptada por VAZZOLER (1996) e BROWN-PETERSON et al. (2011), através de características das gônadas, como cor, volume, grau de turgidez, irrigação periférica, tamanho em relação à cavidade celomática, presença ou ausência de sêmen ou ovócitos. São considerados os estágios: imaturo, em desenvolvimento, capaz de desovar (para fêmeas) e capaz de espermiar (para machos), hidratado (somente para fêmeas), regredindo e regenerando. Para os peixes são mensurados o comprimento total (CT), comprimento padrão (CP), peso total e peso das gônadas (o mais próximo de 0,01g).

Para os camarões são obtidos os pesos úmidos totais (em gramas) de cada arrasto. Em seguida, uma subamostra equivalente a 500g é retirada aleatoriamente e o número de indivíduos contados. Assim, com os dados da subamostra e de acordo com a biomassa total, determina-se a estimativa do número total de todos os indivíduos. Os indivíduos subamostrados mensalmente em cada ponto são

identificados quanto ao sexo (presença de petasma nos machos e télico nas fêmeas), pesados (g) e mensurados por meio de um paquímetro (precisão 0,1mm) em relação ao comprimento da carapaça (CC), correspondendo à distância linear do ângulo orbital até a margem posterior da carapaça. O estágio de maturação é identificado de acordo com a coloração das gônadas: estágio I (imatura), estágio II (em desenvolvimento), estágio III (madura) e estágio IV (vazia). Os machos são identificados por observação macroscópica do petasma, sendo os não fusionados considerados imaturos e os fusionados, maduros. As fêmeas fixadas em Bouin, em estágios de maturação II e III são dissecadas e pesadas para análise de índice gonadossomático (IGS).

Os siris são identificados de acordo com MELO (1996) e mensurados com paquímetro graduado (0,1mm), utilizando-se como medida padrão a largura da carapaça (LC), exceto o espinho lateral. O estágio de maturação morfológica externa é analisado de acordo com Haefner (1990), sendo a fase de maturação morfológica dos jovens (imaturos) e adultos (maduros) diferenciada pelo formato e a aderência do abdome ao esternito torácico, considerando juvenis àqueles indivíduos que possuem o abdome selado. Em seguida, os indivíduos são separados em cinco grupos demográficos: macho imaturo, macho adulto, fêmea imatura, fêmea adulta e fêmea ovígera. Para análise macroscópica das gônadas, as carapaças de machos e fêmeas foram recortadas e rebatidas, e os estágios de desenvolvimento gonadal determinados de acordo com a coloração e o tamanho em relação ao hepatopâncreas e à cavidade torácica. Quatro estágios de desenvolvimento são considerados: IM= imaturo, RU= rudimentar (adultos com gônadas não maduras), ED= em desenvolvimento e DE= desenvolvido. As fêmeas maduras com gônadas desenvolvidas e em desenvolvimento são pesadas e suas gônadas dissecadas para análise de índice gonadossomático e fator de condição.

O período reprodutivo, a fecundidade absoluta dos indivíduos, e a época de desova serão estimados. Para determinação do período reprodutivo, serão utilizados concomitantemente a análise da variação temporal da frequência de ovários nos distintos estádios de maturidade, classificados macroscopicamente, e indicadores quantitativos da fase em que a gônada se encontra dentro do processo de maturação. Para complementar a avaliação do período reprodutivo, será estimado, para cada indivíduo o fator de condição (K), que reflete as condições nutricionais recentes através da relação entre peso e comprimento e fator de condição somático (K') (VAZZOLER, 1996).

Para a descrição do ciclo reprodutivo serão analisadas as variações mensais do IGS (índice gonadossomático), o qual considera o peso dos ovários ou testículos e o peso total do indivíduo. O IGS será estimado para todos os indivíduos através da utilização do cálculo do RGS, sendo que um aumento desse indicador reflete um aumento no peso das gônadas, indicando assim atividade reprodutiva (VAZZOLER, 1996). Através do RGS, será calculado o RGS total (RGSt), que expressa a porcentagem em que as gônadas representam sobre o peso total (PT), e o RGS somático (RGSs), que expressa a porcentagem que a gônada representa em relação ao peso corporal (PC). A partir dos valores de RGSt e RGSs mensais de machos e fêmeas, será definido o valor de Δ RGS. A fecundidade total será estimada, conforme Vazzoler (1996), para o peso total dos ovários.

Análise morfológica das gônadas de peixes e crustáceos

Após análises macroscópicas, para a validação dos estádios de maturação gonadal realizada previamente, análises microscópicas serão realizadas. As gônadas serão fixadas em formalina 10% por 24 horas, lavadas em tampão fosfato e armazenadas em álcool 70%. Posteriormente, fragmentos da porção mediana das gônadas de machos e fêmeas serão processados para inclusão em parafina, cortes histológicos serão obtidos em micrótomo rotativo (5 a 7 μ m) e as lâminas histológicas serão coradas com Hematoxilina & Eosina. Cortes histológicos das gônadas serão examinados em microscópio óptico quanto ao desenvolvimento das células e organização interna do órgão (VAZZOLER, 1996). Análises morfológicas serão realizadas a fim de identificar alterações histopatológicas como necrose, infiltrado inflamatório, atrofia, alterações vasculares e nucleares, de acordo com o método proposto por Bernet e colaboradores (1999). Esse método, baseia-se na relevância patológica e na extensão das lesões observadas nos órgãos analisados. As alterações serão classificadas em cinco padrões de reação e cada lesão possui um grau de importância. O Índice de Lesão do Órgão (Iorg) representa o grau de dano apresentado pelo órgão. Já o Índice de Reação (Irp), avalia a gravidade das alterações identificadas.

2.2.3. Recrutamento

No intuito de compreender como as variáveis ambientais e meteoceanográficas influenciavam e definiam as localidades amostradas utilizou-se uma análise de componentes principais onde as variáveis foram escalonadas para terem 1 unidade de variância através do pacote “FactoMineR” para o programa estatístico R (LÊ et al., 2008). As variáveis com alta correlação aferida através do método de Spearman, foram removidas.

O delineamento amostral e analítico para as avaliações de impacto adotou o método *beyond-BACI* (UNDERWOOD, 1991, 1992, 1993, 1994). Para o método escolhido, a área marinha do Rio Doce (denominada “Zona Impacto”) teve sua variância comparada com áreas adjacentes semelhantes em estrutura e distantes da área de interesse (denominada “Controle”). Seguindo o desenho amostral e analítico adotado, as diferenças foram avaliadas através do contraste da variância da zona Impacto vs a somatória das variâncias das zonas Controle (ANDERSON et al., 2008).

Para avaliar o efeito do rompimento da barragem de fundão sobre os indicadores ecológicos utilizamos análises de variância por permutação (PERMANOVA), de maneira multivariada, para a estrutura da assembleia de peixes (composição e abundância de espécies), e de forma univariada para a abundância total, biomassa total, comprimento total (CT) médio, riqueza de espécies (S), diversidade de Shannon-Wiener (H'), equitatividade de Pielou (J), e diversidade alfa (0D, 1D e 2D). Todas as métricas univariadas são calculadas por amostra, ou seja, por unidade de esforço (CPUE), resultando em 18 amostras em cada local por campanha de campo. Contudo devido a alta variabilidade temporal no aporte larval entre noites consecutivas, se calcula a média da CPUE para cada armadilha entre as duas noites para ser utilizada nas análises subsequentes, totalizando 9 amostras por local/campanha de campo. Para as análises de variância, os valores de abundância e biomassa foram transformados por Log(x+1). As análises univariadas e multivariadas foram baseadas na matriz de similaridade de Bray-Curtis. Para ambos os modelos, a soma dos quadrados foi do tipo I (sequencial), no qual os efeitos

fixos somam zero para termos mistos. *P* valores foram obtidos usando 9999 permutações. Os fatores incluídos nos modelos foram: Tempo (3 níveis, aleatório) e Zona (Fixo, ortogonal com o Tempo, com 4 níveis). Para o ambiente estuarino foi adicionada uma análise de contraste (Impacto vs Controles) aos modelos delineados, onde a variância da zona Impacto foi comparada com a somatória das variâncias das zonas Controle. Considerando o objetivo dos indicadores, as interpretações das análises de variância foram baseadas, majoritariamente, no contraste Impacto vs Controles e suas interações com demais fatores analíticos (ANDERSON et al., 2008). As análises de variância por permutação foram feitas no software Primer (versão 6.1.13).

Para visualizar as diferenças na composição e abundância de espécies (*taxa*) de pós-larvas de peixes entre as zonas de monitoramento, foi utilizado o Diagrama de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), com base na matriz de similaridade de Bray-Curtis com os dados de abundância transformados por $\text{Log}(x+1)$. Adicionalmente, os dados ambientais e as espécies (*taxa*) foram correlacionados às dimensões da ordenação. Os vetores das variáveis contínuas foram ajustados à ordenação, com o comprimento da seta proporcional à correlação obtida. Nos gráficos foram apresentadas apenas as variáveis que exibiram correlação significativa ($P < 0,01$). Para as ordenações e análises de correlação (envfit) o pacote vegan (OKSANEN et al., 2019) foi utilizado no ambiente R (versão 4.0.1; R Core Team, 2020).

Buscando aprofundar o efeito do impacto sobre a diversidade das comunidades nos estágios de pós-larvas, aplicamos um índice de diversidade verdadeira (*sensu* JONES, 2006, 2007), considerando que o número efetivo de espécies é equivalente ao número de Hill (qD) (HILL, 1973) onde, a diversidade poder ser quantificada como espécies igualmente abundantes, com base no aumento do peso da abundância pela ordem de diversidade *q*. Quando *q* igual a 0 (0D) as abundâncias são desconsideradas, o que favorece a representatividade de espécies raras; quando *q* é igual a 1 (1D) o valor de diversidade gerado equivale a entropia de Shannon e espécies comuns na comunidade têm representação mais efetiva; e quando *q* é igual a 2 (2D) um peso desproporcional é dado para abundância e as espécies dominantes são mais representativas (JOST, 2007). Os índices de diversidade foram calculados utilizando o pacote Entropart (HÉRAULT, 2015) no ambiente R (versão 4.0.1; R CORE TEAM, 2020).

2.2.4. Ecologia trófica

Diversidade trófica/isotópica e concentração de lipídeos em peixes: Em laboratório, a identificação das espécies foi confirmada e os indivíduos foram mensurados em relação ao comprimento total (mm) e peso úmido (g). O tamanho e peso dos indivíduos analisados em cada amostragem foram similares, evitando assim um viés ontogenético nas comparações temporais entre indivíduos da mesma espécie.

Amostras do tecido da musculatura epaxial de cada indivíduo foram extraídas e dispostas em estufa (60°C) durante 24 horas. Posteriormente, o tecido foi macerado, encapsulado em cápsulas de estanho e usado para determinação de assinaturas isotópicas de carbono e nitrogênio. As análises isotópicas de ^{13}C e ^{15}N foram conduzidas usando um analisador elementar (FLASH 2000, Thermo Scientific) acoplado em um espectrômetro de massa de razão isotópica (Delta V Plus, Thermo Scientific, Bremen – Germany). Os resultados obtidos foram expressos em notação δ (‰) a partir dos valores de referência

em acordo a equação $\delta X = [(R_{amostra}/R_{referência}) - 1] \times 10^3$, onde X é ^{13}C ou ^{15}N , e R é a razão correspondente a $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ou $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$.

Posteriormente, as métricas de diversidade trófica foram estimadas por meio de inferência Bayesiana no pacote 'SIBER' do software R (JACKSON et al., 2011), sendo elas: amplitude de $\delta^{13}\text{C}$, amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ e nicho isotópico (*Standard Ellipse Area corrected for small sample size*, SEAc). A amplitude de $\delta^{13}\text{C}$ indica a distância entre os dois indivíduos com assinaturas de $\delta^{13}\text{C}$ mais enriquecidas e empobrecidas, o que fornece uma ideia da amplitude do uso de recursos basais pelas espécies estudadas e a diversificação do nicho na base da teia trófica em questão.

A amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ indica a distância entre os dois indivíduos com assinaturas de $\delta^{15}\text{N}$ mais enriquecidas e empobrecidas, fornecendo uma representação da estrutura vertical da diversidade trófica das espécies, ou seja, em quais níveis tróficos as espécies atuam como consumidoras (LAYMAN et al., 2007; JACKSON et al., 2011). O nicho isotópico (SEAc) corresponde a área ocupada no δ -espaço bidimensional pelas assinaturas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e é análogo ao nicho trófico Eltoniano, visto que as assinaturas de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ são indicadoras da origem dos recursos consumidos e da posição trófica ocupada pelos consumidores. Portanto, o nicho isotópico é um robusto indicador da largura do nicho trófico de uma espécie. Dessa forma, a evolução das métricas ao longo dos anos para estas cinco espécies estuarinas do Rio Doce, pode ajudar na compreensão das perturbações ecológicas na teia trófica causadas pelo Rompimento da Barragem de Fundão.

As assinaturas isotópicas de $\delta^{13}\text{C}$ utilizadas nas análises de diversidade trófica foram matematicamente corrigidas para remover o viés da elevada concentração de lipídeos sempre que a razão entre o carbono e o nitrogênio elementar (razão C:N) individual foi superior a 3,5, como proposto por (POST et al., 2007). Adicionalmente, a razão C:N foi investigada, visto que este é um importante indicador da concentração de lipídeos nos peixes (POST et al., 2007; FAGAN et al., 2011).

Dieta e condição corporal: Todos os indivíduos foram medidos (mm) e pesados (g) em laboratório. Para a análise da dieta do bagre-guri (*G. genidens*), os itens alimentares encontrados no estômago de cada indivíduo foram identificados e quantificados usando um estereomicroscópio. O número de indivíduos, o peso, o volume e a área ocupada por cada táxon identificado nos estômagos, foram registrados. Para calcular o volume, os itens foram colocados em provetas graduadas com álcool e o deslocamento do líquido foi registrado (ml). Para medir a área das presas, o conteúdo estomacal foi distribuído uniformemente sobre uma placa de Petri com uma grade milimetrada e a área (mm²) ocupada por cada presa foi registrada.

O índice de repleção, um indicador trófico que é análogo à intensidade e atividade alimentar, foi calculado para cada indivíduo por meio da razão entre o peso das presas consumidas e o peso eviscerado do indivíduo.

A condição corporal de *G. genidens* foi analisada usando o Índice de Massa Escalonado (PEIG & GREEN, 2009):

$$\text{Índice de Massa Escalonado (IMS)} = M_i \left[\frac{CT_0}{CT_i} \right]^{b_{EPR}}$$

no qual M_i e CT_i são a massa (em g) e o comprimento total (em mm) de cada espécime, respectivamente, CT_0 é o comprimento total médio e b_{EPR} é a inclinação da reta de uma regressão linear entre o logaritmo da massa e o logaritmo do comprimento total, calculada com o método do eixo principal reduzido. Este índice apresenta notável vantagem em comparação a outros métodos, como o coeficiente de condição relativo e o coeficiente de condição de Fulton, que geralmente são influenciados pelo tamanho dos indivíduos e, no caso do coeficiente de Fulton, assume uma relação isométrica entre o peso e o comprimento (ou seja, $b = 3$) que frequentemente não ocorre (PEIG & GREEN, 2010).

Para obter os valores de b_{EPR} , foram realizados três passos. Primeiro, foram identificados indivíduos cuja biomassa diferiu marcadamente daquela estimada por uma regressão linear entre o logaritmo da massa e o logaritmo do comprimento total. Todos os indivíduos com resíduos $> 1,5$ desvio padrão de cada lado da linha da regressão, foram descartados. Posteriormente, os resíduos foram novamente calculados e os valores discrepantes (*outliers*, i.e., resíduos acima do terceiro quartil ou abaixo do primeiro quartil, mais de 1,5 vezes a distância interquartilica) foram então identificados e descartados, para melhorar o ajuste do modelo. Por fim, a relação entre os dados de massa e comprimento total transformados foi modelada sem os *outliers* e o parâmetro b foi usado para calcular o IMS para cada indivíduo, após reintegrar os *outliers* à base de dados. Para aumentar o número de indivíduos e, por consequência, obter estimativas mais confiáveis de b_{EPR} , as regressões foram realizadas considerando tanto as capturas realizadas nas áreas internas quanto nas áreas externas aos estuários amostrados.

Visto que a relação entre a massa e o comprimento dos peixes pode mudar durante o desenvolvimento (FROESE, 2006), o teste de Davies foi usado para identificar se houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) no valor de b ao longo do crescimento (DAVIES, 2002). Devido à identificação de diferenças, uma regressão linear segmentada foi utilizada para estimar a localização do ponto de inflexão e os parâmetros da regressão antes e depois deste ponto (MUGGEO, 2003). Esses parâmetros foram então utilizados para identificar os valores discrepantes, *outliers* e para o cálculo do IMS para cada indivíduo nos diferentes segmentos da reta, como descrito acima.

Para testar a hipótese que a composição da dieta, a atividade alimentar e a condição corporal dos peixes no Rio Doce são diferentes dos locais de referência, foram utilizadas análises de variância assimétricas (PERMANOVAs; ANDERSON et al., 2008). As PERMANOVAs foram baseadas no índice de similaridade de Bray-Curtis (dieta) ou em matrizes de distância Euclidiana (atividade alimentar e condição corporal) e incluíram dois fatores: locais (fixo, com dois níveis: impacto e controles) e estuários (aleatório, com três níveis aninhados em locais: Rio Doce, rio Itapemirim e rio São Mateus). O índice de repleção foi transformado usando o arco cosseno e o IMS foi transformado em logaritmo natural para reduzir a heterogeneidade das variâncias, que foi avaliada por meio do teste de Levene. Os valores de “p” foram determinados usando 4999 permutações dos resíduos sob um modelo reduzido. Quando o número de permutações possíveis foi insuficiente para realizar o teste com um poder razoável, a significância das diferenças foi calculada usando o procedimento de Monte Carlo (ANDERSON et al., 2008).

Para comparar a amplitude do nicho alimentar do bagre-guri entre o Rio Doce e os estuários de referência, foram utilizadas análises multivariadas de homogeneidade das dispersões (PERMDISP; ANDERSON et al., 2008). As PERMDISPs foram baseadas em matrizes de similaridade de Bray-Curtis calculadas a partir do peso, volume e área ocupada pelas presas identificadas nos estômagos. Por fim, análises de coordenadas principais foram utilizadas para visualizar os dados de dieta em duas dimensões.

2.2.5. Ictiofauna recifal

Assembleias de peixes recifais: A biomassa dos indivíduos de peixes foi calculada causando as constantes *a* e *b*, obtidas no FishBase (FROESE & PAULY, 2019). Para caracterizar as comunidades de peixe em cada zona em termos de grupos tróficos, cada espécie foi classificada dentro de um dos seguintes grupos tróficos: Piscívoro-cefalopoda (PC), Herbívoro-detritívoro (HD), Herbívoro móvel (HM), Invertebrados sésseis (IS), Invertebrados móveis (IM), Onívoro (ONI) ou Planctívoro (PL) seguindo também a classificação do FishBase (FROESE & PAULY, 2019).

Para comparar a composição, abundância, riqueza, diversidade de Shannon-Wiener, biomassa, tamanho médio das espécies e índices de diversidade α de peixes recifais entre os fatores Zona e Setor, foi utilizado Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) de forma multivariada (composição de espécies) e univariada (demais variáveis), através do índice de similaridade de Bray-Curtis. Segundo o desenho amostral, foi realizado o contraste (I vs C), onde a variância da Zona Impacto foi comparada com a variância obtida entre todas as Zonas Controles. Para avaliar quais médias eram significantes entre si, o teste *pair-wise* foi utilizado quando os resultados da PERMANOVA eram significativos. Gráficos box-plots foram utilizados para visualizar as médias significativamente diferentes (incluindo o erro padrão como medida de dispersão). As variáveis ambientais obtidas em cada réplica: cobertura de organismos bentônicos, % de substrato (cascalho e recife), temperatura, rugosidade e inclinação do fundo e profundidade foram incluídas como co-variáveis dos dados de abundância, composição e biomassa de peixes nos testes estatísticos realizados (PERMANOVA).

Devido às diferenças de malha amostral entre os anos de 2019 e 2020, e que devido a pandemia as amostragens de 2020 estão incompletas, o fator “Tempo” não foi incluído como um fator fixo.

Adicionalmente as diferenças em abundância e biomassa dos grupos tróficos entre as zonas e setores amostrados foram testadas com PERMANOVA. As análises de PERMANOVA foram realizadas utilizando o software Primer v.6.1.15 com a extensão da PERMANOVA v.1.0.5, utilizando 9999 permutações e o nível de significância adotado foi de $p < 0,05$.

Para visualizar a similaridade de composição e abundância da ictiofauna entre as amostras obtidas em um espaço bidimensional, foi utilizado o Diagrama de Escalonamento Multidimensional Não-Métrico (NMDS), também utilizando índice de similaridade de Bray-Curtis através do software R (versão 4.0.0) através do pacote ‘vegan’ (OKSANEN et al., 2019). Os dados foram standardizados com o ‘vegdist’.

Buscando aprofundar o efeito do impacto sobre a diversidade das comunidades, aplicamos um índice de diversidade verdadeira (sensu JOST, 2006, 2007) considerando que o número efetivo de espécies

é equivalente ao número de Hill (qD) (HILL, 1973) onde, a diversidade poder ser quantificada como espécies igualmente abundantes, com base no aumento do peso da abundância pela ordem de diversidade q . Quando q igual a 0 (0D) as abundâncias são desconsideradas, o que favorece a representatividade de espécies raras; quando q é igual a 1 (1D) o valor de diversidade gerado equivale a entropia de Shannon e espécies comuns na comunidade têm representação mais efetiva; e quando q é igual a 2 (2D) um peso desproporcional é dado para abundância e as espécies dominantes são mais representativas (JOST, 2007). Os índices foram calculados no software R (versão 4.0.0) através o pacote 'entropart' (HÉRAULT, 2015).

Para entender quais fatores ambientais influenciam a composição de espécies, uma Análise de Redundância (RDA) foi feita, usando as variáveis ambientais como preditores e a assembleia de peixes como variável resposta. A distância para o Rio Doce foi incluída como um *proxy* do fator impacto. Os dados ambientais foram estandarizados, através do pacote 'vegan', com o fim de permanecerem em uma mesma escala. Os dados de abundância da ictiofauna foram transformados usando a transformação de Hellinger para diminuir a influência dos zeros (LEGENDRE & GALLAGHER, 2001). A significância dos eixos foi testada com a função 'anova.cca', e apenas foram mantidas as variáveis significativas que não tiveram autocorrelação.

Para algumas espécies foram avaliados os padrões populacionais de ocorrência e distribuição entre as zonas amostradas, sempre considerando o mesmo desenho amostral proposto (*beyond*-BACI; UNDERWOOD 1991, 1992, 1993, 1994). As espécies foram selecionadas por apresentarem alto grau de relevância ecológica e ou econômica, e por estarem listadas sob algum grau de ameaça segundo a lista da IUCN e/ou lista nacional de espécies ameaçadas.

Variáveis ambientais: As matrizes de dados foram organizadas segundo Tempo (Campanha 1-4), Zona (sete níveis), Setor (seis níveis) e Amostra (seis amostras). Campanha da estação chuvosa do Ano 1 (1C) foi realizada entre janeiro – março 2019, campanha da estação seca do Ano 1 (1S) durante junho – agosto 2019, campanha do Ano 2 (2) durante dezembro de 2019 – março 2020, Ano 3 (3) durante janeiro - março de 2021 e Ano 4 (4) durante janeiro - março de 2022.

As variáveis ambientais foram avaliadas quanto à existência de autocorrelação através do software R, com o pacote estatístico 'Performance Analytics', e suprimidas das análises posteriores quando correlacionadas (apresentando valores maiores do que 0.70). Com as variáveis restantes foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) com a finalidade de avaliar o grau de similaridade entre as amostras obtidas para cada campanha/Ano em função das variáveis ambientais através do pacote 'vegan' (OKSANEN et al., 2019). Adicionalmente gráficos box-plots e histogramas foram utilizados para ilustrar a flutuação dos parâmetros ambientais coletados em função do espaço e/ou tempo amostrado.

2.2.6. Genética populacional

Crustáceos marinhos: Os índices de diversidade e estruturação genética de crustáceos marinhos foram determinados a partir do material coletado e previamente identificado como *Xiphopenaeus kroyeri* (Camarão sete-barbas), via *Barcoding*, foram utilizados 103 indivíduos. Para tanto, o DNA das amostras

foi extraído a partir do protocolo de solução salina (BRUFORD et al., 1992) e quantificado em espectrofotômetro. As soluções de DNA extraído foram diluídas para 20 ng/μL para padronizar as reações e evitar possíveis erros de amplificação devido ao excesso de material genético.

Para a amplificação do Citocromo Oxidase Subunidade I (COI), foram utilizados os seguintes primers: FishF1- 5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3' e FishR2- 5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3' (Ward et al. 2005). Depois de amplificados, os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com Gelred, visualizados e foto-documentados sob UV. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, as reações foram purificadas utilizando a enzima ExoSap-IT e enviadas para sequenciamento em empresa terceirizada.

As sequências foram manualmente editadas e alinhadas com o algoritmo MUSCLE (ROBERT, 2004) no programa MEGA v.6 (TAMURA et al., 2013). No programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER et al., 2010) foram calculados os índices de diversidade molecular, tais como diversidade nucleotídica e $\Theta\pi$, além da Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre diferentes localidades, baseada no F_{ST} com 1000 permutações. Já o índice de diversidade haplotípica foi calculado no software DNAsp v6 (Rozas et al. 2017). As redes de haplótipos são construídas a partir do algoritmo TCS (CLEMENT et al., 2002) no programa PopArt.

Peixes estuarinos e recifais: A extração de DNA de todos os organismos coletados foi realizada seguindo o protocolo modificado de solução salina (BRUFORD et al., 1992) para peixes recifais e através de kits de extração (PureLink™ Genomic DNA Kit - Invitrogen, ThermoFisher Scientific™) para peixes estuarinos. Após a extração, a concentração de DNA foi avaliada no equipamento Qubit Fluorometric Quantitation (ThermoFisher Scientific™).

Para marcadores microssatélites, seis das quinze espécies utilizadas neste estudo não possuíam marcadores moleculares microssatélites descritos na literatura, desta forma, 12 novos locos para cada uma das 6 espécies, foram prospectados pela empresa Allgenetics (Espanha), durante o período de transição (outubro/2019 e março/2020), e foram incorporados ao trabalho de caracterização genética, trazendo assim resultados inéditos a respeito da diversidade genética na região. Para as demais espécies foram utilizados marcadores descritos na literatura e quando estes estavam abaixo de 10 locos, novos locos foram prospectados através de amplificação cruzada entre espécies do mesmo gênero ou da mesma família. Todos os locos usados nas amplificações para esse trabalho encontram-se descritos nas Tabela 1 e Tabela 2.

Cada locus foi avaliado em termos de valores ausentes e aqueles com mais de 20% foram removidos das análises. O software Micro-Checker, versão 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT et al., 2004) foi usado para verificar a presença de gagueira de microssatélites e grandes perdas de alelos, enquanto as frequências de alelos nulos foram determinadas usando o software FreeNA através do algoritmo *Excluding Null Alleles* (ENA), com base em 10.000 réplicas de bootstraps (CHAPUIS & ESTOUP, 2007). O número de alelos (NA), riqueza alélica média (AR), heterozigosidade observada (HO), heterozigosidade esperada (HE) e coeficiente de endogamia (Fis) por locus e por local de coleta foram avaliados usando a função divBasic de "diveRsity" pacote (KEENAN et al., 2013) no software R

(<http://www.r-project.org/>). Os intervalos de confiança de AR e Fis em 95% também foram calculados usando a função `divBasic` no pacote “`diveRsity`” R (KEENAN et al., 2013). Alelos privados e por local de coleta foram determinados usando os pacotes R “`poppr`” (KAMVAR et al., 2014). O teste geral de desequilíbrio de ligação é baseado na hipótese nula de que não há ligação entre os loci. Dois índices são calculados e testados: o índice de associação (I_a) e a medida de correlação (r_{barD}). A significância foi testada com base em 999 permutações e realizada usando as funções `ia` e `pair.ia` no pacote R “`poppr`” (KAMVAR et al., 2014). O desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) para cada local foi testado usando 2.000 permutações de Monte Carlo no pacote `DiveRsity` do pacote R por meio da função `divBasic` (KEENAN et al., 2013). Os níveis de significância foram ajustados aplicando a correção sequencial de Bonferroni sempre que múltiplos testes eram realizados. A probabilidade de cada locus estar sob seleção foi calculada usando o programa `BayeScan v.2.1` (FOLL, 2012), com base em probabilidades anteriores de 10, 20 execuções piloto com 5.000 interações cada e 100.000 interações com burn-in de 50.000. Uma probabilidade superior a 0,76 é considerada pela escala de evidências de Jeffreys para os fatores de Bayes como uma evidência substancial de seleção.

Os valores de diferenciação populacional foram estimados através do índice D (D_{est}) de Jost (JOST et al., 2018). A escolha desse índice, ao invés do clássico F_{st} , deve-se ao seu menor viés para marcadores altamente polimórficos como os microsatélites. O conjunto de medidas utilizado para verificar o grau relativo de diferenciação alélica do D de Jost, tornou-se um bom preditor da evolução da divergência genética real entre populações com pequenas diferenciações genéticas neste modelo. Foi implementado análise de agrupamento bayesiana baseada em modelo no `STRUCTURE v2.3.4` (PRITCHARD et al., 2000), usando 10 execuções para cada população inferida ($k = 1-10$), cada uma com um burn-in de 100.000 iterações e 1.000.000 Etapas do MCMC. O número provável de clusters (k) em execuções replicadas foi acessado usando o método de Evanno (EVANNO et al., 2005) em `Structure Harvester` (EARL & VONHOLDT, 2012). Ao contrário de `STRUCTURE`, o DAPC não requer um modelo genético de população a priori para identificar clusters, use um modelo no qual a variação genética se concentra principalmente na variabilidade entre grupos e não principalmente no componente dentro do grupo, e é mais rápido, resultando em dados de estrutura populacional muito complexos (JOMBART et al., 2010). Para a análise DAPC, a função `find.clusters` também de “`adegenet`” foi usada para determinar o número ótimo de clusters (k), que emprega um método de critério de informação Bayesiano (BIC) (JOMBART et al., 2010). Uma análise hierárquica de variância molecular (AMOVA) também foi realizada usando o pacote R “`poppr`” (KAMVAR et al., 2014), com base em 999 eventos de permutações, para avaliar a distribuição da variação genética para estuarinos entre os organismos amostrados no estuário do Rio Doce e dos demais estuários, pois o estuário do Doce foi a área mais impactada. Já para os peixes recifais a área 3 foi considerada a mais impactada por englobar a região de desembocadura do Rio Doce.

As taxas atuais de migração da população (m) e a direção do fluxo gênico (uni ou bidirecional) entre as populações estuarinas e marinhas foram estimadas usando o software `BayesAss v3.0.4` (WILSON & RANNALA, 2003). Três corridas independentes foram realizadas para cada análise utilizando 60 milhões de cadeias de Markov, sendo amostradas a cada 6000 passos, com um *burnin* de 10%. A

convergência das cadeias foi checada no Tracer v1.5 (valores de ESS > 200). Os intervalos de confiança (95%) foram estimados como a média das taxas de migração $\pm 1,96$ x desvio padrão. Valores que não incluíssem o zero foram considerados significativos (NAZARENO et al., 2018).

Tabela 1: Marcadores microssatélites das espécies recifais que se encontram descritos na literatura.

Espécie	Referência	Nº locos
<i>Mycteroperca venenosa</i> .	RENSHAW et al. (2011)	10 locos
<i>Lutjanus synagris</i> .	RENSHAW et al. (2007)	10 locos
<i>Epinephelus morio</i> .	CAI et al. (2016)	10 locos
<i>Mycteroperca bonaci</i>	ZATCOFF et al. (2002)	5 locos
<i>Lutjanus analis</i>	SHULZITSKI et al. (2009), RENSCHAW et al. (2007)	10 locos
<i>Ocyurus chrysurus</i>	RENSHAW et al. (2007)	8 locos
<i>Cephalopholis fulva</i> .	RENSHAW et al. (2010)	9 locos

Tabela 2: Marcadores microssatélites de seis espécies de peixes que foram prospectados pelo laboratório *Allgenetics* (Espanha), durante o período de transição (outubro/2019 e março/2020).

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
<i>Conodon nobilis</i>						
1	AG Cno 465	AG	95	CACAGCCAAAGCCCTTCC	GAGAGAGTGTGCTTGGGACA	FAM
	AG Cno 064	AC	197	CGGCTTCTCTTTGGAATCAG	CGGTCAGTAAGGGATATCAGC	FAM
	AG Cno 474	AC	92	TGGACTCCTCTTTGTATTGTGC	CTCCACACCCATCGTCAGA	HEX
2	AG Cno 436	AG	126	TCTTTCTTCAGAGAGCTGGGTT	AACTCGCAGGAGGTAAAGCA	FAM
	AG Cno 353	AC	99	AGAAGTCACAGAAGGCCAGC	TGATGCAGAGCTTTACACGG	NED
3	AG Cno 110	AC	110	GACGAAATCGTGACATTCCC	CACATCTCAGTGTGTGCTGC	FAM
	AG Cno 373	AG	241	TGACATGCTTAGATGAGCCCT	CAACAGGATACGTCTGCGTC	HEX
	AG Cno 014	AC	97	AATTCTTGGCAGTTGGATGG	CGCTCATTCATCTGTCTTTGTC	NED
4	AG Cno 275	AG	123	TGGATCTCAATAGGCTTCGG	TATTTATCACATCGCCTCCC	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
5	AG Cno 288	AC	127	CTCTCAGAGACGCGCACA	ACCTCACACCTGTAGCACCC	FAM
6	AG Cno 252	AC	90	CTGAGGTGTCACTCTCGCTC	ACAGTCTGAGAAGTTAGTTTGGACA	FAM
	AG Cno 164	AC	92	TAGCCAATCGCACCCCTAGTC	CGTGCTTTATTATTCCTGTCCTG	NED

Isopisthus parvipinnis

1	AG Ipa 150	AC	92	GTGCATATGAGGGTGACAT	GGGTATTTATGTGAGGTGGAAGA	FAM
	AG Ipa 001	AC	94	TTCTCCAGCTCCACCTCTCT	CAAAGTGCAGTGGTCTCCTG	HEX
	AG Ipa 134	AC	107	TGTACCGTAAGCAACATCCG	TGTCTCAAACGTGATCACACC	NED
2	AG Ipa 076	AC	114	GAAGTCAAGCTTTGTACGGTGAA	AAATGGGCCAGTGGTTGTAT	FAM
	AG Ipa 357	AC	110	TTCCGTCTCCACTAACTGGG	TGCGTGGAGTTTATCTCTGG	HEX
	AG Ipa 492	AG	92	GGAGAGAAGGAGAAAGAAGGG	GTGGTGCCTAGCCAGCTATC	NED
3	AG Ipa 214	AC	190	CAGTAATCTGAAGTCAGTGGAGCA	ATTAGGACTGACCTCCATCACTC	FAM
	AG Ipa 187	AC	294	TCCAGTGCCAGGAGAAGTAA	TCTCCTCCTTTATGGCTTGTTT	FAM
	AG Ipa 406	AC	149	ATCCTCACCCCTGCAGGAC	GTTTGGACTGCTCCTGCTG	HEX

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	AG Ipa 387	AG	249	CGCAAGGTCTGTTTGCTAGA	CGGGATCTTGACTGGACATC	HEX
4	AG Ipa 139	AC	95	GCGTTTGCCTACCTAAAGCA	TCATTCTGAGCAGATGGTCG	FAM
	AG Ipa 478	AC	140	ATCCTTAACGTGTGTAGCAAAC	ATAATCTTTGACATCACTTTTCATGAC T	HEX

Larimus breviceps

1	AG Lbr 175	AC	159	GCCACCAGGAAGTTGACATT	CCGCCTAACTGAAGGATCAC	FAM
	AG Lbr 092	AC	277	TGTCAGCTGTCTGAACCGTC	GCAAACCCATCTCCACATTT	FAM
	AG Lbr 345	AC	149	CATACTTTGCCAACGGAGGT	CAGGTGAATCTCATACCCGC	NED
2	AG Lbr 195	AC	104	TGTGCTCACACTTCCTCTGG	CCACAGTCTCCCACTCATCA	FAM
	AG Lbr 060	AC	128	CCTCTCGGCTAAGGCTCTTT	TTATGCAATTGGTCTGGCAA	HEX
	AG Lbr 443	AC	115	CTAGCATCATGGACAGCGAC	GCGACAGTCAGCAGGACATA	NED
3	AG Lbr 301	AG	154	TTGAAGGTCAGGAAGACGCT	CTCAACATCCCACAGTGCAT	FAM
	AG Lbr 076	AG	176	GGTCTCACTCTCAGGGTTGC	ACTACGACTCCCATGATGCC	HEX
	AG Lbr 332	AC	98	GCTGCAGTGACCAATGTCTG	CAGCGGCTAATAAAGCGAAC	NED
	AG Lbr 499	AAC	107	GCAGCATGCTATATTCCGCT	CTGCTTCGCTCCTCTGAAAT	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
4	AG Lbr 331	AG	210	CAGCCGTCAACCAGACAATA	GAGTGGCATTGATTGCTGAA	FAM
	AG Lbr 372	AG	91	TTCTGAATGGTGGCAAACCTG	GCTTTCAACAGGCCCTCATA	HEX

Pellona harroweri

1	AG Pha 427	AC	137	TGGTCTTTGAACCTGCCAAT	CTCACAAAGGAACATGCAGC	FAM
	AG Pha 205	AC	112	ACACTCAAAGAAGTGCCGCT	TGGCTGGTCTGGTGGTAGAT	HEX
	AG Pha 047	AC	111	AGTTTAGGTGTGCCTGGGTG	CAGCCTTGTTAGCTGCTCT	NED
2	AG Pha 097	AG	130	GGGATAAGGGAGTGGAGAGG	TGTTTCACTTGACTCCCACG	NED
	AG Pha 268	AC	249	CTTTGTGGGCAGAGTCTCGT	GTGGCCATGCAGTCAACTAA	NED
3	AG Pha 215	AC	137	AGAGGCACGTCTGCAATCTC	CCTATTGATTCACGGTGGCT	FAM
	AG Pha 050	AAAC	146	CTTTGGGCATTTAGCCATGT	CCTTGAGGGTGACCAATGAT	HEX
	AG Pha 353	AC	291	GGAGGAAGACCAGGTGTGAA	TTTGGGTGCTGTGTAAACCC	HEX

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	AG Pha 122	AC	97	CTCTGCCTTCTGCTCTTTG	GGCTGTAGGCACCACAGTTT	NED
4	AG Pha 300	AC	105	TCAGGCCTACTCATGCCATT	GATGCTTCCTCGGTGTTAGC	FAM
	AG Pha 365	AC	153	GAGAACATGGAGCCAAGCAT	GCGCAACATGTCAGTAGGTC	HEX
	AG Pha 231	AAC	109	TGGGTGGTCTAGCCCATTAG	CCTCAGATTCAGGAGGCAGT	NED

Trinectes paulistanus

1	AG Tpa 317	AC	114	ACAGTGTGGATCTGCCTCCT	CCCACCTCATTCACTTGCTT	FAM
	AG Tpa 402	AG	171	CACCAAGGACAGGAAGTGCT	TTTGGGAGCTTGTCACCTCT	HEX
	AG Tpa 421	AG	132	TCAAGCACGTAGCACGAGAC	TTCCTGATGGGATTACTGGG	NED
2	AG Tpa 035	AAC	121	ACCTTCATCACCTGGTCAGC	GCACGAGTTCAATCAGCAAA	FAM
	AG Tpa 458	AC	92	ATGAGCTGCCTCTGTCTCGT	TGAGAACCACAACCTCCATCG	HEX
	AG Tpa 231	AC	152	GGCCTACAGTAACGGCAGAG	GTGTGCCAGGAAAGGAAGAA	NED

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
3	AG Tpa 168	AG	169	TCACCCTCCTCTGCCACTAC	ATCCCACAGGAAGTGTGTC	HEX
	AG Tpa 251	AAC	101	TTGCCCTTGAAACAACATCA	CATTAAAGCGTCGCCAACT	NED
4	AG Tpa 472	AC	154	TTGTGGGTAATTTGGGCTGT	TACTGAGCAGCAGTGGAGGA	FAM
	AG Tpa 331	ATC	159	GTTTGTGTCGTTTGTGCGTC	TTGTGTTGTCACACCCTGCT	HEX
5	AG Tpa 144	AC	120	TTCGCTCTGCACAGACAGTT	ACCAGGGAGCGAAATTAGGT	HEX
	AG Tpa 395	AC	172	GACGAGGCGTTGTGTAGTGA	TTGGTCGTGAGGTTTGAAT	NED

Mycteroperca interstitialis

1	AG Min 436	AAC	96	CATAGAACAGAAGCCATGCAA	CCCAGTATGTACAGCATGTC	FAM
	AG Min 047	AC	134	CCAATCTGCAGCCCATAACT	TTGGTTCGTGGACATTTGTT	HEX
	AG Min 287	AC	98	GACCACAGAACCACATTCACC	TGTATGGTAACCTCGGCCAC	NED
2	AG Min	AC	100	TCACCTTCCTCTGTGTGTCCT	ACAAGCTCCACCGATCAAAT	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	360					
	AG Min 082	AC	148	GCAGCCTAGGATTTCAGTTCC	AGGAAGGCAGACTGAAAGGG	HEX
	AG Min 289	AC	91	GGGTTACTCTCACCCCTTAAATAAA	CTGTAGCGAGCTGGTCATTG	NED
	AG Min 019	AATG	192	GATAGTCTGGCGACCTGTCC	GAGGTAACATGTGCGCTGAA	NED
3	AG Min 497	AC	161	TATCAAACCTCGTTAGGCCGC	TTGTCGCCACTCTTTCTTGA	FAM
	AG Min 276	AC	90	TCTTTATAAGGTCACTTGAGTATCAGA	ATCAGCACCTGCATGCCT	NED
4	AG Min 341	AC	91	TGCTCCTCTGTCAGTGTGG	GCGCTTGAGACAGTCAGTTCT	FAM
	AG Min 344	AC	191	TCCTTGGTGGCTGGCTGT	CCCGCTTTGGACTGAAAGT	FAM
	AG Min 206	AC	95	CCATCTGTTAGTGTGCAGGC	TGTCTCAGTTGTGTGTGCCG	NED

2.2.7. Telemetria estuarina

Índices de residência (IR) e fidelidade (IF) foram estimados para verificar a permanência dos robalos na região de monitoramento. O índice de residência foi calculado considerando o número de dias com detecções sobre o número total de dias em liberdade (número de dias entre a soltura e última detecção) para cada indivíduo. O índice de fidelidade foi baseado no número de horas com detecções sobre o número total de horas em liberdade (número de horas entre a soltura e a última detecção) para cada indivíduo. O Mínimo Polígono Convexo (MPC) (MOHR, 1947) foi calculado para cada indivíduo, correspondendo à área do menor polígono possível incluindo todos os registros do animal. Para definição da área de vida foi utilizado o método de Densidade de Kernel (KUD) (WORTON, 1989). O método KUD é uma abordagem probabilística que oferece uma densidade de uso em toda a área de estudo. O uso do espaço é frequentemente apresentado como uma distribuição de probabilidades por uma função de distribuição do uso (VAN WINKLE, 1975), que dá a densidade de probabilidades de realocar os indivíduos em qualquer lugar conforme as coordenadas geográficas. Os dados registrados nos receptores foram obtidos através do software VUE - VEMCO®. As análises de distância percorrida, MCP e KUD foram realizadas através do website Zoatrack (<https://zoatrack.org>) através do pacote AdeHabitatHR.

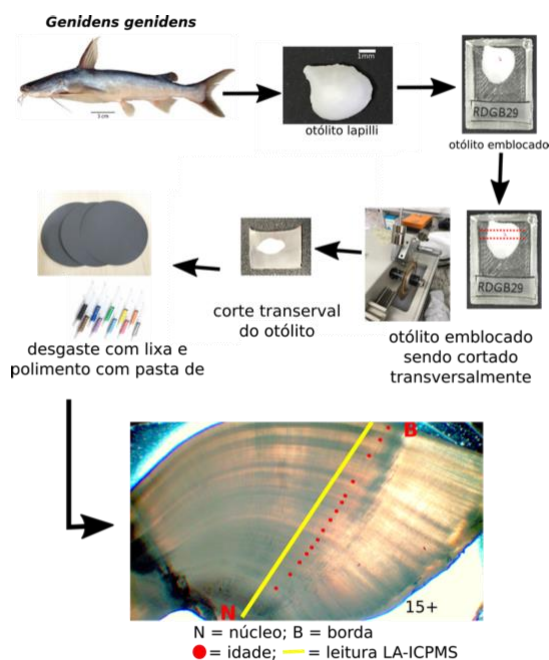
Para avaliar o efeito da turbidez sobre a presença e ausência dos robalos na região interna do estuário do Rio Doce, foram utilizados Modelos Aditivos Generalizados Mistos (GAMM), implementados com o pacote *gamm4* (WOOD e SCHEIPL, 2020) na linguagem de programação R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2023). A presença-ausência dos indivíduos foi examinada em uma base diurna-noturna ~12h, independente do receptor, usando uma estrutura de erro binomial e função de link logit. Os dados de turbidez foram obtidos da estação automática RDO-16, localizada na foz do Rio Doce (-19.644419 S, -39.819295 W) e disponibilizados online pelo Programa de Monitoramento Quali-quantitativo Sistemático de Água e Sedimento (PMPQQS, 2023). Para fins de normalização, a variável turbidez foi log-transformada (ZUUR et al., 2009). A avaliação foi feita a nível de unidade populacional, entretanto, a identificação dos indivíduos (ID) foi incluída como um efeito aleatório nos termos do intercepto e coeficiente angular dos GAMMs (BOLKER et al. 2009; WHORISKEY et al., 2019). Adicionalmente, o ano de monitoramento e período do dia foram incluídos como fatores fixos. Os dados do Ano 1 e 2 do monitoramento foram agrupados devido ao baixo número de detecções acústicas obtidas no Ano 2.

2.2.8. Microquímica de otólitos

No laboratório os otólitos foram limpos em câmara de ultrassom com água ultrapura para retirada dos tecidos aderentes. Posteriormente foram emblocados em resina epóxi, cortados em seções delgadas (200-300 µm), desbastados com lixas de carboneto de silício até o plano do núcleo, e finalmente polidos com pastas de diamantes e montadas em lâmina de vidro convencional com uma gota de resina epóxi (Figura 3). Após secagem e polimerização da resina, as lâminas foram descontaminadas com água ultrapura durante 3 minutos em ultrassom, lavadas abundantemente com água ultrapura e deixadas secar numa câmara de fluxo laminar. As análises químicas elementares, foram realizadas para diferentes fases do ciclo de vida dos peixes (do nascimento até a data da coleta), visando compreender

o uso das regiões estuarinas contempladas no monitoramento ao longo da vida da espécie. As análises químicas foram realizadas por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivo por ablação a laser (ICP-MS-LA). Serão obtidas as leituras de um conjunto de isótopos usualmente informativos nos otólitos (^7Li , ^{25}Mg , ^{55}Mn , ^{56}Fe , ^{88}Sr , ^{114}Cd , ^{138}Ba e ^{203}Hg e) conjuntamente com o cálcio (^{43}Ca), que funciona como um padrão interno.

Figura 3: Processamento dos otólitos para análises de microquímica.



A comparação das razões elemento/Ca na borda do otólito (momento de captura) foi realizada usando uma análise de variância não paramétrica de Kruskal Wallis e teste de pares de Dunn, com o pacote pgirmess em ambiente R, uma vez que os dados não apresentavam normalidade e homogeneidade. O nível de significância estatística (α) foi de 0,05. Os dados são apresentados como valores médios \pm desvio padrão. Os perfis cronológicos das razões elemento/Ca foram gerados através das médias de todos os exemplares para cada estuário, e comparados visualmente.

2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

Ao se tratar da metodologia dos indicadores relacionados à genética de populações de peixes estuarinos e recifais, a região de controle não codificante (*Dloop*) do DNA mitocondrial não se mostrou eficaz na resolução do indicador diversidade genética neste estudo. Possivelmente os iniciadores (*primer*) utilizados, amplificaram a região central conservada (CCD) o que impossibilitou a verificação do grau de variabilidade genética presente nas espécies e inferir sobre a diversidade, desta forma, optou-se por seguir o monitoramento apenas com os marcadores microssatélites, que se mostram eficazes na verificação da diversidade genética, estrutura genética populacional, diferenciação populacional e fluxo gênico. Em relação às análises estatísticas, estas foram concentradas no software R, com a utilização de pacotes estatísticos genéticos, visando facilitar e otimizar o tempo de obtenção de resultados.

3 RESULTADOS DOS INDICADORES

Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest e obtidos ao longo do monitoramento (setembro/2018 – setembro/2022) na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito clarificar e sintetizar a historicidade dos resultados, interpretação e conclusões do monitoramento, promovendo o acompanhamento espaço-temporal da qualidade ambiental e biodiversidade, além de configurarem importantes ferramentas de suporte a gestores ambientais. A partir destes indicadores, pode-se identificar os impactos com relação direta ou indireta ao rompimento da Barragem de Fundão, em Mariana (MG).

Os indicadores do PMBA/Fest vêm se consolidando ao longo de quatro anos de monitoramento, onde seus principais resultados foram discutidos em todos os relatórios técnicos entregues até o presente, entretanto a partir do novo modelo de relatório solicitado via ofício SEI nº 85/2022-CTBio/DIBIO/ICMBio, proposto via ofício FR.2023.0214 (SEI13515133) e aprovado via ofício SEI nº4/2023-CTBio/DIBIO/ICMBio, a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue:

3.1 COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES

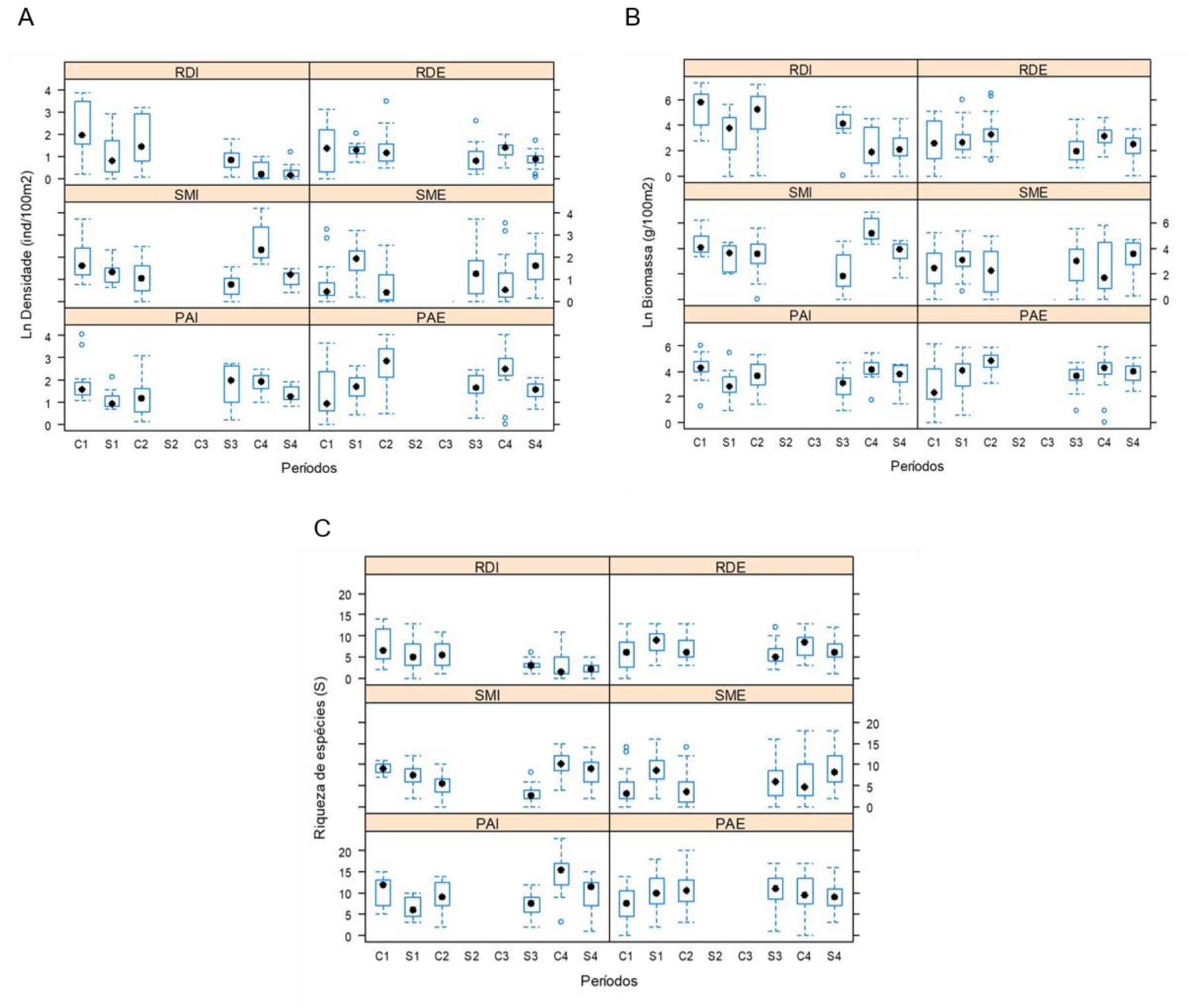
3.1.1. Ictiofauna estuarina/marinha

Tabela 3: Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m²) e biomassa (g/100m²) transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (Rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Período: chuvosos e secos dos 4 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (maio a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário); GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, Pseudo-F = valor da estatística, p = probabilidade associada ao teste (p<0,05 = valores significativos, em negrito).

Fatores	GL	Densidade			Biomassa			Riqueza		
		SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p
Local: I vs ID	1	19,522	1,1275	0,6625	9,8639	0,42918	0,6634	7,733	3,6658	0,3311
Período	5	25,297	1,5785	0,2992	58,386	2,5678	0,1572	3,4379	1,4301	0,3516
Estuário (Local)	1	17,314	5,1708	0,0233	22,983	0,76459	0,392	2,1095	1,4999	0,2307
Local x Período	5	33,978	2,1201	0,1962	85,002	3,7384	0,0838	1,3776	0,57306	0,7327
Área (Estuário (Local))	3	10,045	5,8721	0,0007	90,178	17,573	0,0001	4,2192	17,439	0,0001
Estuário (Local) x Período	5	16,026	0,61544	0,6853	22,738	0,4275	0,8203	2,404	1,2961	0,3134
Área (Estuário (Local)) x Período	15	78,12	9,1333	0,0001	159,56	6,2189	0,0001	5,5646	4,6001	0,0001
	612	348,98			1046,8			49,355		
	647	557,46			1490,7			76,384		

Com base nos resultados não significativos da interação entre os fatores Período x Local, não houve diferenças nos indicadores densidade, biomassa e riqueza entre os períodos analisados, demonstrando que o Rio Doce e estuários indiretamente impactados apresentaram distribuições espaço-temporais similares destes indicadores ao longo dos quatro anos de monitoramento. No entanto, os testes *a posteriori* demonstraram que há diferenças sazonais significativas nestes indicadores dentro de cada área. A ausência de diferenças significativas destes indicadores entre o Rio Doce e os estuários indiretamente impactados vem sendo observada desde o início das análises (RRDM, 2020; RRDM, 2021), porém não é possível afirmar que a ictiofauna estuarina/marinha não esteja sendo afetada pela lama de rejeitos, uma vez que os peixes apresentam relativa mobilidade e estão aptos a mudar de ambiente de acordo com as flutuações nas variáveis ambientais, incluindo aquelas causadas por agentes antropogênicos. Tais deslocamentos populacionais refletem em mudanças na composição e na estrutura das comunidades (MOLINA et al., 2020), porém tais mudanças foram mais conspícuas dentro de cada área de cada estuário (Figura 4).

Figura 4: Variação espaço-temporal da densidade (ind./100m²), biomassa (g/100m²) e riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinheiros coletados no estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM - São Mateus e PA - Piraquê-Açú); Períodos: chuvosos (C) e secos (S) dos 4 anos de monitoramento, sendo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (mai a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no boxplot indica o valor médio.



Apesar da ausência de diferenças significativas na PERMANOVA na comparação entre o Rio Doce e locais indiretamente impactados (Tabela 3), o teste *a posteriori* demonstrou que os valores de densidade, biomassa e riqueza apresentaram tendência significativa ($p < 0,05$) a diminuir entre C1 e S4 na área interna do Rio Doce (Figura 4). Nas áreas internas dos locais indiretamente impactados também foram observadas diferenças significativas entre as estações, entretanto, sem tendências sazonais. Quanto às áreas externas, os valores também variaram significativamente entre as estações tanto no Rio Doce quanto nos estuários impactados indiretamente, mas sem tendência sazonal conspícua.

O estuário do Rio Doce apresenta baixa salinidade, com valores médios próximos de zero durante o ano todo. Uma vez que maiores valores de salinidade podem propiciar a entrada de espécies de peixes marinhos nos estuários, seria então esperado que o estuário do Rio Doce apresentasse menores valores dos indicadores densidade, biomassa e riqueza (CONDINI et al., 2022). Porém, a tendência a diminuição dos valores ao longo do tempo observada neste estudo, pode ser consequência dos efeitos do rejeito de minério, como já foi observado por FERNANDES et al. (2020) na comunidade zooplânctônica costeira. CONDINI et al. (2022) já haviam observado menores valores de riqueza, porém, como não há estudos anteriores ao rompimento, apenas com o monitoramento dos últimos anos está sendo possível observar as tendências sazonais

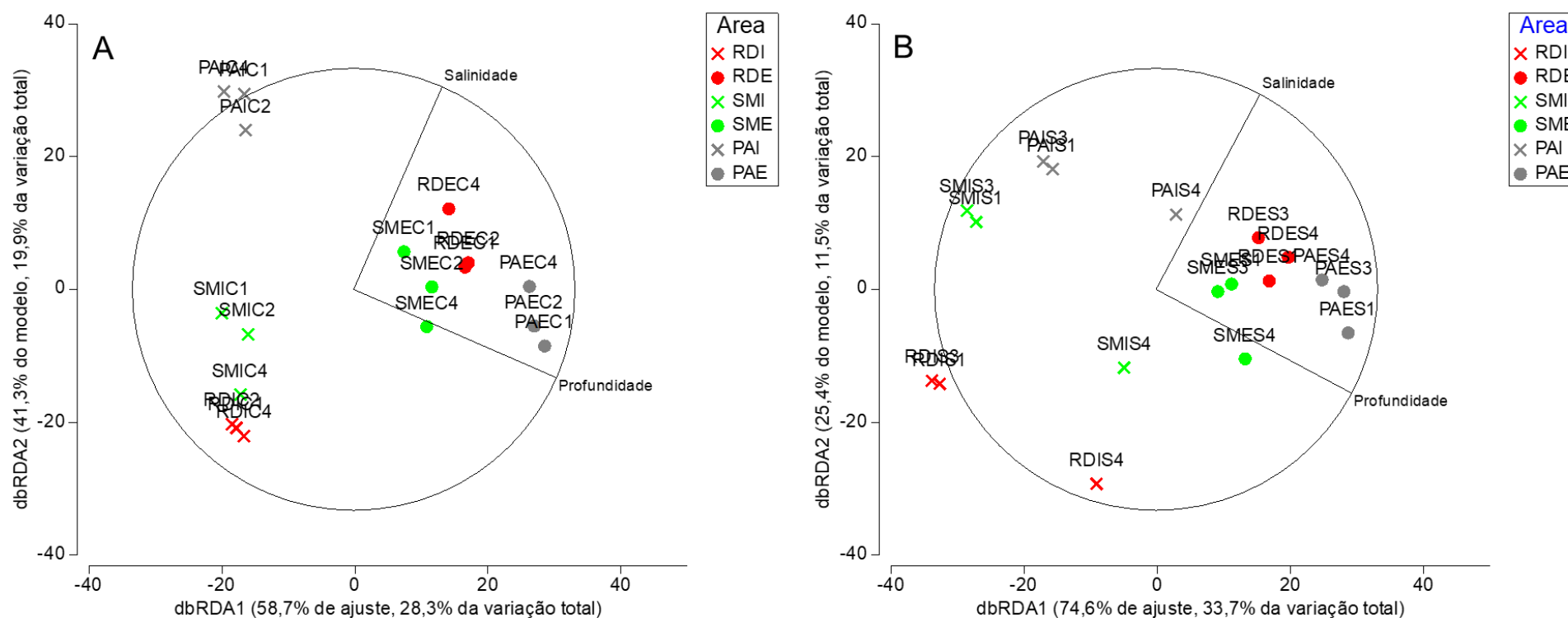
Tabela 4: Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura de comunidade (composição e densidade) de peixes estuarinos, e as variáveis abióticas preditoras para cada período (ver Figura 7).

Período chuvoso			Período seco		
Variáveis selecionadas	AICc	R ²	Variáveis selecionadas	AICc	R ²
salinidade; profundidade	123,55	0,48199	salinidade; profundidade	126,03	0,45203
temperatura; salinidade; profundidade	124,23	0,55365	profundidade	126,6	0,33521
salinidade; turbidez; profundidade	124,25	0,55324	oxigênio dissolvido	127,04	0,51929
pH; salinidade; profundidade	124,75	0,5408	oxigênio dissolvido; profundidade	127,11	0,41829
oxigênio dissolvido; salinidade; profundidade	124,8	0,53928	salinidade; turbidez; profundidade	127,14	0,51656
temperatura; turbidez; profundidade	125,11	0,53143	pH; salinidade; profundidade	127,31	0,51207
temperatura; salinidade; turbidez; profundidade	125,24	0,62049	turbidez; profundidade	127,65	0,4004
turbidez; profundidade	125,47	0,4237	pH; profundidade	127,88	0,39292
pH; salinidade; turbidez; profundidade	125,55	0,61386	temperatura; salinidade; profundidade	127,95	0,4944
oxigênio dissolvido; turbidez; profundidade	125,59	0,51879	temperatura; profundidade	128,03	0,38763

Todas as seis variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez e profundidade) avaliadas nas interações com a estrutura das comunidades de peixes estuarinos durante o período chuvoso apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$) com os padrões de distribuição espaço-temporal da densidade. No entanto, o teste marginal indicou a profundidade como a variável com maior correlação com a densidade (28%), enquanto o conjunto de salinidade e profundidade apresentou 48,2% (indicado pelo menor valor de AICc) de contribuição nesta distribuição no período chuvoso. No período seco, apenas pH, profundidade e salinidade apresentaram resultados significativos ($p < 0,05$) na distribuição espaço-temporal da densidade. Assim como no período chuvoso, o teste marginal indicou que a profundidade foi a variável com maior correlação com a densidade (33%), enquanto o conjunto de salinidade e profundidade apresentou contribuição de 45,2%, sendo os fatores que mais influenciaram na distribuição espaço-temporal deste indicador das espécies de peixes estuarinos.

Salinidade é uma variável conhecidamente limitante da distribuição espaço-temporal das comunidades ictiofaunísticas, onde a temperatura varia menos, como em estuários tropicais (MOLINA et al., 2020), sendo uma variável temporalmente influenciada pela entrada de água doce e salgada nos estuários, constituindo barreira fisiológica para peixes. Além disso, a profundidade é uma variável que pode influenciar na distribuição espacial ontogenética, onde os juvenis ocupam águas mais rasas enquanto os adultos são mais observados em águas mais profundas (JAUREGUIZAR et al., 2016). No entanto, a profundidade vem influenciando a distribuição de robalos-peva (*Centropomus parallelus*), peixes de importância comercial, que têm sido observados mais associados a águas mais profundas evitando áreas com acúmulo de rejeito (RRDM, 2021). Além disso, no primeiro ano do presente estudo, VILAR et al. (2022) observaram que as variáveis influenciadas diretamente pelo rompimento (por exemplo, turbidez, oxigênio dissolvido e pH) influenciaram mais na estruturação das comunidades ictiofaunísticas do Rio Doce, do que aquelas que variam sazonalmente. Desta forma, a ausência de estudos ictiofaunísticos anteriores ao rompimento, somada às evidências de declínio dos indicadores, notadamente no estuário do Rio Doce, reforçam a necessidade de um monitoramento espaço-temporal amplo e de longo prazo, visando conhecer as flutuações naturais da ictiofauna estuarina/marinha na área afetada pelo rompimento.

Figura 5: Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) para avaliação das relações entre a estrutura de comunidade de peixes estuarinos e as variáveis ambientais preditoras nos períodos chuvoso (A) e seco (B). Foram amostradas as áreas internas (I) e externas (E) dos estuários do Rio Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA), nos períodos chuvosos Período: chuvosos e secos dos 4 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (maio a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022), relacionando as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez e profundidade) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento *Best* e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m²) e frequência de ocorrência.



No período chuvoso (Figura 5A), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 100% da variação ajustada ao modelo, e 48,2% da variação total. Esta análise corroborou a hipótese de que a densidade não apresentou diferenças entre o Rio Doce e os estuários indiretamente impactados. As variáveis apontadas como responsáveis pela estruturação da ictiofauna estiveram mais relacionadas com as áreas dos estuários (maiores valores de salinidade e profundidade nas áreas externas). No período chuvoso, houve maior similaridade na densidade entre as áreas externas do Rio Doce e aquelas dos estuários indiretamente impactados, demonstrando que a área externa do Rio Doce foi mais similar às áreas externas dos estuários indiretamente impactados, do que à sua própria área interna. Neste período, as áreas internas do Rio Doce e do São Mateus foram mais similares entre si, estando associadas a menores valores de salinidade.

No período seco (Figura 5B), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 100% da variação ajustada ao modelo, e 45,2% da variação total dos dados de densidade. De forma semelhante ao período chuvoso, observou-se maior similaridade na distribuição da densidade nas áreas externas entre o Rio Doce e os estuários indiretamente impactados, sendo estas densidades mais influenciadas por maiores valores de profundidade e salinidade. Porém, neste período, as áreas internas tanto do Rio Doce quanto dos estuários indiretamente impactados, apresentaram-se menos similares entre si, principalmente no período S4.

O aporte de água doce decorrente do período chuvoso altera a salinidade, alterando a densidade das espécies de peixes estuarino/marinhos fazendo com que neste período as áreas internas tanto do Rio Doce quanto dos estuários indiretamente impactados sejam mais similares entre si. Porém, neste período, as áreas externas aparecem mais separadas do que no período seco, indicando menor similaridade. Por outro lado, a maior homogeneidade da densidade nas áreas externas no período seco, reflete os maiores valores de salinidade observados tanto no Rio Doce quanto nos estuários indiretamente impactados.

As variações espaço-temporais dos indicadores da ictiofauna não são conhecidas no período pré-impacto, então não é possível afirmar que o decréscimo dos valores observados ao longo do monitoramento é diferente do esperado. Por outro lado, o monitoramento permitiu observar este decréscimo na área interna do Rio Doce, e esta área, dentre as analisadas, foi a mais atingida diretamente pelo rejeito, enquanto nas demais áreas (indiretamente impactadas), não foram observadas estas tendências sazonais, indicando que a área interna do Rio Doce apresenta variações espaço-temporais diferentes das demais áreas.

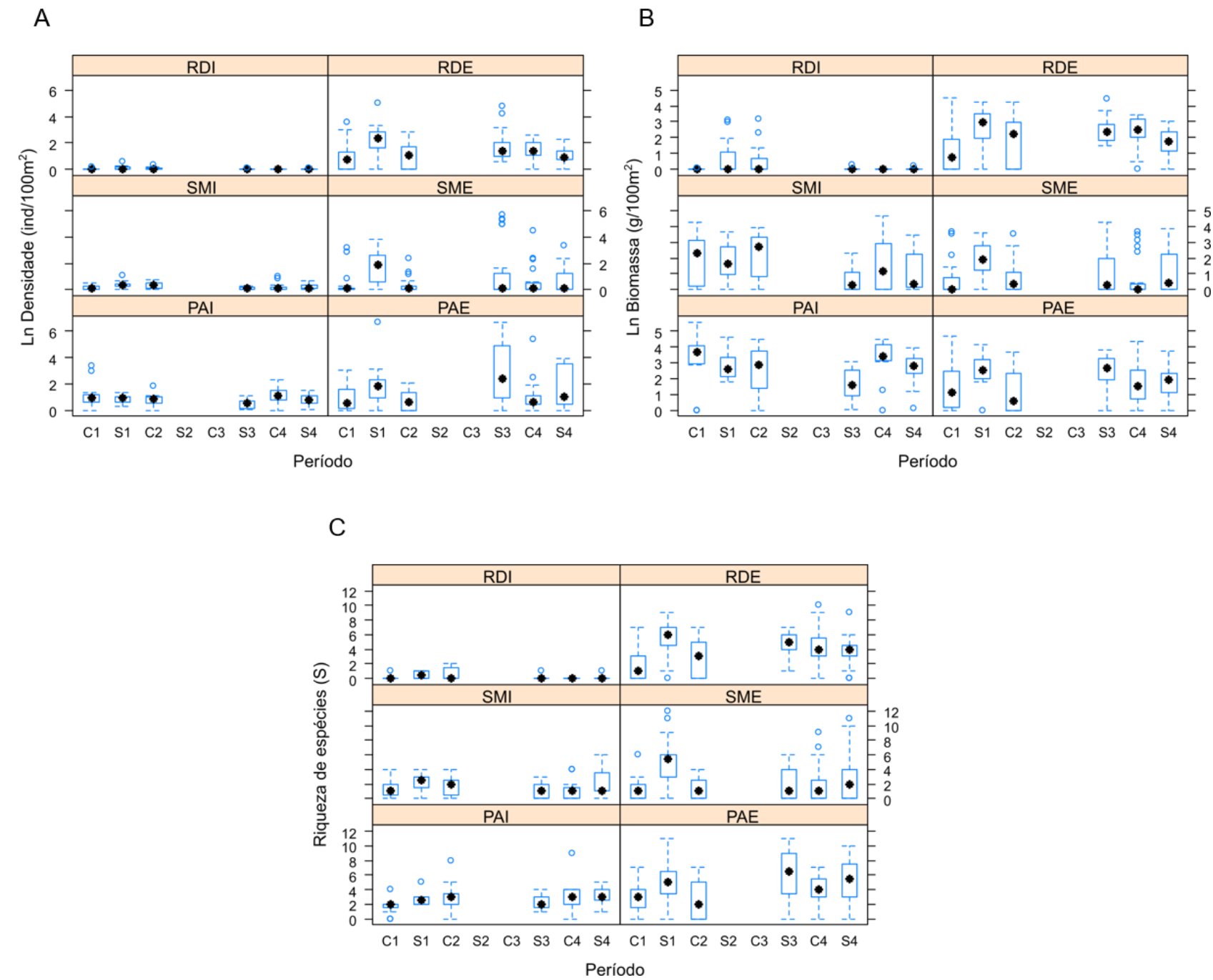
3.1.2. Carcinofauna estuarina/marinha

Tabela 5: Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m²) e biomassa (g/100m²) transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) de crustáceos estuarinos/marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (Rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Período: chuvosos e secos dos 4 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (maio a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário); GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, Pseudo-F = valor da estatística, p = probabilidade associada ao teste (p<0,05 = valores significativos, em negrito).

Fatores	GL	Densidade (ind./100m ²)			Biomassa (g/100m ²)			Riqueza (S)		
		SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p
Local: I x ID	1	2,2902	0,05748	0,8489*	55,875	0,61611	0,5797*	59,199	0,27052	0,6966*
Período	5	31,667	5,6097	0,0442	34,714	3,5618	0,1062	186,8	3,2599	0,1121
Estuário (Local)	1	39,748	0,95709	0,403*	90,327	1,3797	0,3167*	218	0,81144	0,4352*
Local x Período	5	3,2424	0,5776	0,7263	14,417	1,4809	0,331	23,818	0,41698	0,8309
Área (Estuário (Local))	3	124,84	43,034	0,0001	196,81	50,358	0,0001	807,62	63,914	0,0001
Estuário (Local) x Período	5	5,6251	0,26976	0,9225	9,7133	0,37347	0,858	57,093	0,78149	0,5899
Área (Estuário (Local)) x Período	15	62,658	4,3198	0,0001	78,149	3,9992	0,0001	219,5	3,4742	0,0001
Resíduos	612	591,8			797,27			2577,8		
Total	647	919,48			1253,5			4435,3		

As análises da variação espaço-temporal mostraram que não houve diferença significativa na variação da densidade, biomassa e riqueza de espécies de crustáceos entre a área impactada (Rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açu) ao longo de todo monitoramento, o que é evidenciado pela ausência de significância na interação entre os fatores Local x Período (Tabela 5). O padrão de estruturação espaço-temporal da comunidade ocorre na interação entre Área x Período, com diferenças significativas na composição e distribuição das assembleias de crustáceos que ocorrem nas áreas internas e externas relacionadas aos períodos chuvosos e secos. A visualização gráfica da variação espaço-temporal dos índices ecológicos analisados para a fauna de crustáceos está apresentada na Figura 6.

Figura 6: Composição e estrutura da comunidade de crustáceos estuarinos e marinhos. Variação espaço-temporal da densidade (ind./100m²), biomassa (g/100m²) e riqueza de espécies (S) de crustáceos estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM - São Mateus e PA - Piraquê-Açú); Períodos: chuvosos (C) e secos (S) dos 4 anos de monitoramento, sendo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (mai a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no boxplot indica o valor médio.



As análises mostraram uma variação da densidade (ind./100m²) de crustáceos (Figura 6A) semelhante entre a área impactada (Rio Doce) e áreas indiretamente impactadas (rio São Mateus e rio Piraquê-Açu), com as áreas internas (estuarinas) apresentando menores médias em relação às áreas externas. Ainda assim, os menores valores foram obtidos na área interna do Rio Doce, com pouca variabilidade em torno da média próxima a zero, tal como observado nos rios São Mateus e Piraquê-Açu. A área externa do Rio Doce apresentou variação da densidade semelhante nos três primeiros períodos em todos os locais amostrados, indicando homogeneidade na composição e distribuição das espécies, porém com um diferente padrão em comparação aos demais rios nos últimos três períodos, com aumento do valor médio no período C4, e uma tendência de decréscimo no valor médio para o último período seco (S4).

As análises em termos da biomassa (g/100m²) de crustáceos (Figura 6B) apresentaram o mesmo padrão da densidade, com uma variação semelhante na área impactada e nas áreas indiretamente impactadas, com as áreas estuarinas apresentando menores médias em relação às áreas externas. Os menores valores foram sempre obtidos no estuário do Rio Doce, com maior variabilidade no período S1, porém média geral próxima a zero. A área externa do Rio Doce apresentou variação da biomassa semelhante nos três primeiros períodos em todos os locais amostrados, indicando homogeneidade na composição e distribuição das espécies, porém com um diferente padrão em comparação aos demais rios nos últimos três períodos, com aumento do valor médio no período C4, que levou a diferença não significativa entre os três últimos períodos amostrados.

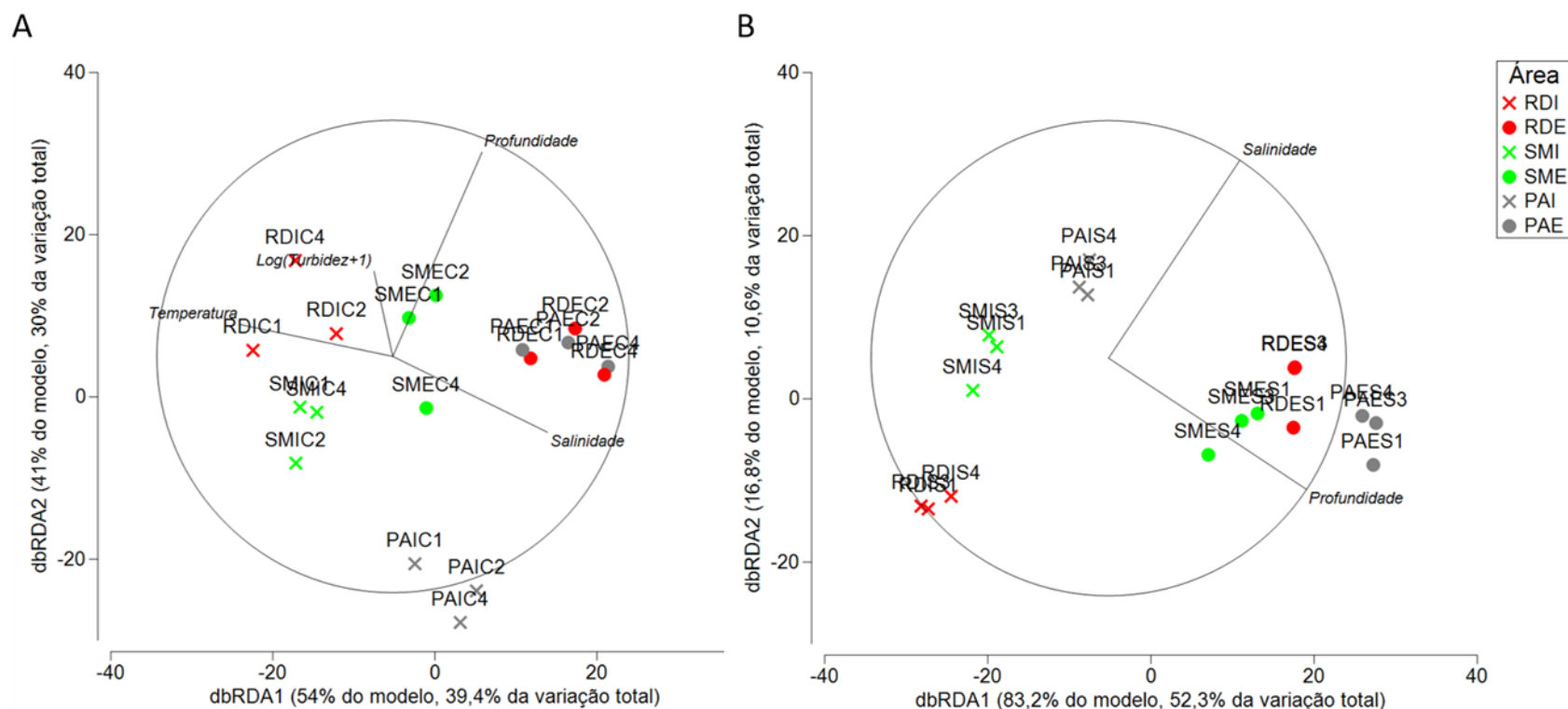
Quanto à riqueza de espécies (S) de crustáceos (Figura 6C), as análises também mostraram uma variação semelhante da área impactada e nas áreas indiretamente impactadas, com as áreas estuarinas apresentando menores médias em relação às áreas externas e menores valores obtidos na área interna (estuário) do Rio Doce, com média próxima a zero. A área externa do Rio Doce apresentou variação da riqueza de espécies semelhante nos três primeiros períodos em todos os locais amostrados, indicando homogeneidade na composição e distribuição das espécies, porém com aumento do valor médio no período C4, que levou a diferença não significativa entre os três últimos períodos amostrados. A área externa do rio Piraquê-Açu foi a única que apresentou um padrão sazonal ao longo do tempo, com maiores valores médios obtidos no período seco.

Tabela 6: Composição e estrutura da comunidade de crustáceos estuarinos e marinhos. Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura das assembleias (composição e densidade) de crustáceos e as variáveis abióticas preditoras para cada período (ver Figura 7).

Período Chuvoso			Período seco		
Seleção	AICc	R ²	Seleção	AICc	R ²
Temperatura, Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	103,08	0,73	Salinidade, Profundidade	108,90	0,62
Temperatura, Salinidade, Profundidade	103,63	0,65	Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	110,40	0,66
Salinidade, Profundidade	103,90	0,57	Profundidade	110,89	0,51
Temperatura, Log (Turbidez), Profundidade	104,45	0,63	Temperatura, Salinidade, Profundidade	111,58	0,64
Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	104,51	0,61	OD, Salinidade, Profundidade	111,83	0,63
pH, Salinidade, Profundidade	105,55	0,61	pH, Salinidade, Profundidade	112,06	0,63
pH, Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	106,32	0,67	Log (Turbidez), Profundidade	112,45	0,54
Temperatura, pH, Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	106,39	0,74	OD, Profundidade	112,53	0,54

A análise visando determinar as relações entre a variação na estrutura das assembleias e a variação das variáveis abióticas mensuradas foi realizada separadamente para os períodos chuvosos e secos de amostragem. No período chuvoso, o melhor modelo ($AICc = 103,08$) incluiu quatro variáveis (temperatura, salinidade, turbidez e profundidade), cuja contribuição para explicar os padrões espaciais observados foi bastante elevada ($R^2 = 0,73$). No período seco, o melhor modelo ($AICc = 108,90$) incluiu apenas duas variáveis (salinidade e profundidade), mas ainda assim com elevada contribuição ($R^2 = 0,62$) para os padrões observados. Em geral, as análises demonstraram um grande efeito de fatores ambientais naturais na composição e distribuição das espécies de crustáceos na área amostrada.

Figura 7: Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) para avaliação das relações entre a estrutura de comunidade de crustáceos e as variáveis ambientais preditoras no período chuvosos (C) e secos (S). Foram amostradas as áreas internas (I) e externas (E) dos estuários do Rio Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA), nos períodos chuvosos Período: chuvosos e secos dos 4 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (maio a junho/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio-jun/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022), relacionando as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez e profundidade) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento Best e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m²) e frequência de ocorrência.



No período chuvoso (Figura 7A), os dois primeiros eixos da análise de redundância baseada em distância (dbRDA) capturou 95% da variação ajustada ao modelo e 69,4% da variação total. Isto indica que há também outros fatores não mensurados influenciando a composição e distribuição da fauna de crustáceos nas áreas amostradas. O primeiro eixo foi correlacionado positivamente com a salinidade e negativamente com a temperatura, mostrando uma clara homogeneidade das assembleias de crustáceos que ocorre nas áreas externas do Rio Doce e rio Piraquê-Açu associada ao aumento da salinidade, enquanto as áreas internas do Rio Doce e São Mateus relacionadas com a redução da salinidade e o aumento da temperatura. O segundo eixo foi associado principalmente às variações de profundidade e turbidez, mostrando que as assembleias de crustáceos são bastante influenciadas pelo aumento da profundidade e turbidez na área interna do Rio Doce e nas áreas externas dos três locais amostrados durante o período chuvoso.

No período seco (Figura 7B), os dois primeiros eixos da análise de redundância baseada em distância (dbRDA) capturou 100% da variação ajustada ao modelo e 62,9% da variação total. Isto também indica que há outros fatores não mensurados influenciando a composição e distribuição dos crustáceos nas áreas amostradas. O primeiro eixo foi correlacionado positivamente com profundidade e salinidade, mostrando uma maior semelhança das assembleias nas áreas externas dos três locais amostrados, e uma certa homogeneidade nas áreas internas relacionada com peculiaridades de cada estuário quanto à variação da salinidade: Rio Doce com níveis de salinidade muito baixos, rio São Mateus com influência intermediária entre a drenagem fluvial e influxo da cunha salina proveniente da zona marinha costeira, e rio Piraquê-Açu com grande influência marinha no período seco.

As variações de salinidade constituem um dos principais fatores ambientais que influenciam a distribuição da macrofauna bentônica em estuários e ecossistemas costeiros adjacentes (BERNARDINO et al., 2018), incluindo a fauna de crustáceos. Com isso, na ausência de dados pretéritos, as diferenças observadas na área interna do Rio Doce (estuário) não podem ser exclusivamente atribuídas ao impacto do rompimento, uma vez que a característica de baixa salinidade da área pode naturalmente refletir em menores valores de densidade, biomassa e riqueza de espécies em comparação com ambientes marinhos adjacentes ou mesmo com outros estuários que estão sob maior influência marinha. É, portanto, fundamental e necessária a continuidade do monitoramento a longo prazo, visando compreender a dinâmica natural das variações espaço-temporais da fauna de crustáceos, para que sirva de subsídio na determinação dos potenciais efeitos do rompimento e um diagnóstico das medidas de mitigação na área de impacto.

3.1.3. Ictiofauna recifal

Tabela 7: Abundância, biomassa, composição específica, diversidade verdadeira (0D, 1D e 2D) para área norte. Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) na área norte (zona Impacto, C1-C4) comparando a biomassa, abundância, composição e diversidade de alfa (0D, 1D e 2D) dos peixes recifais entre as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C), setores (S) estudados. Legenda: GL = grau de liberdade, Pseudo-F = estatística F; P(perm) = valor de significância. Valores significativos em negrito.

Fontes de variação	GL	Biomassa		Abundância		Composição		0D		1D		2D	
		Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)
T	3	4.5198	0.002	3.7395	0.006	3.4665	0.001	7.3913	0.001	8.5675	0.001	6.778	0.001
Z	4	3.5828	0.007	2.17	0.063	6.4575	0.001	1.8972	0.134	4.4165	0.011	5.2556	0.005
I vs. C	1	1.0217	0.4	8.2306	0.004	11.244	0.001	2.9951	0.12	1.0984	0.361	2.3564	0.163
S (Z)	24	7.0488	0.001	8.4348	0.001	5.3054	0.001	9.3764	0.001	3.1358	0.001	2.7938	0.001
S (I vs. C)	9	13.773	0.001	11.274	0.001	4.6123	0.001	15.53	0.001	2.437	0.008	1.5541	0.113
T(Z)	11	2.2077	0.011	1.2573	0.241	1.8863	0.001	0.9842	0.486	0.6007	0.86	0.6625	0.787
T(I vs. C)	3	3.1636	0.042	1.4363	0.203	2.7871	0.003	1.0997	0.381	2.2481	0.106	1.8958	0.151
T(S(Z))	60	1.7457	0.002	1.8318	0.001	1.9507	0.001	2.3828	0.001	1.894	0.001	1.6416	0.002
T(S(I vs. C))	20	2.5076	0.001	1.6596	0.011	1.6791	0.001	2.1908	0.001	1.8529	0.015	1.6827	0.021
Resíduo	494												
Total	604												

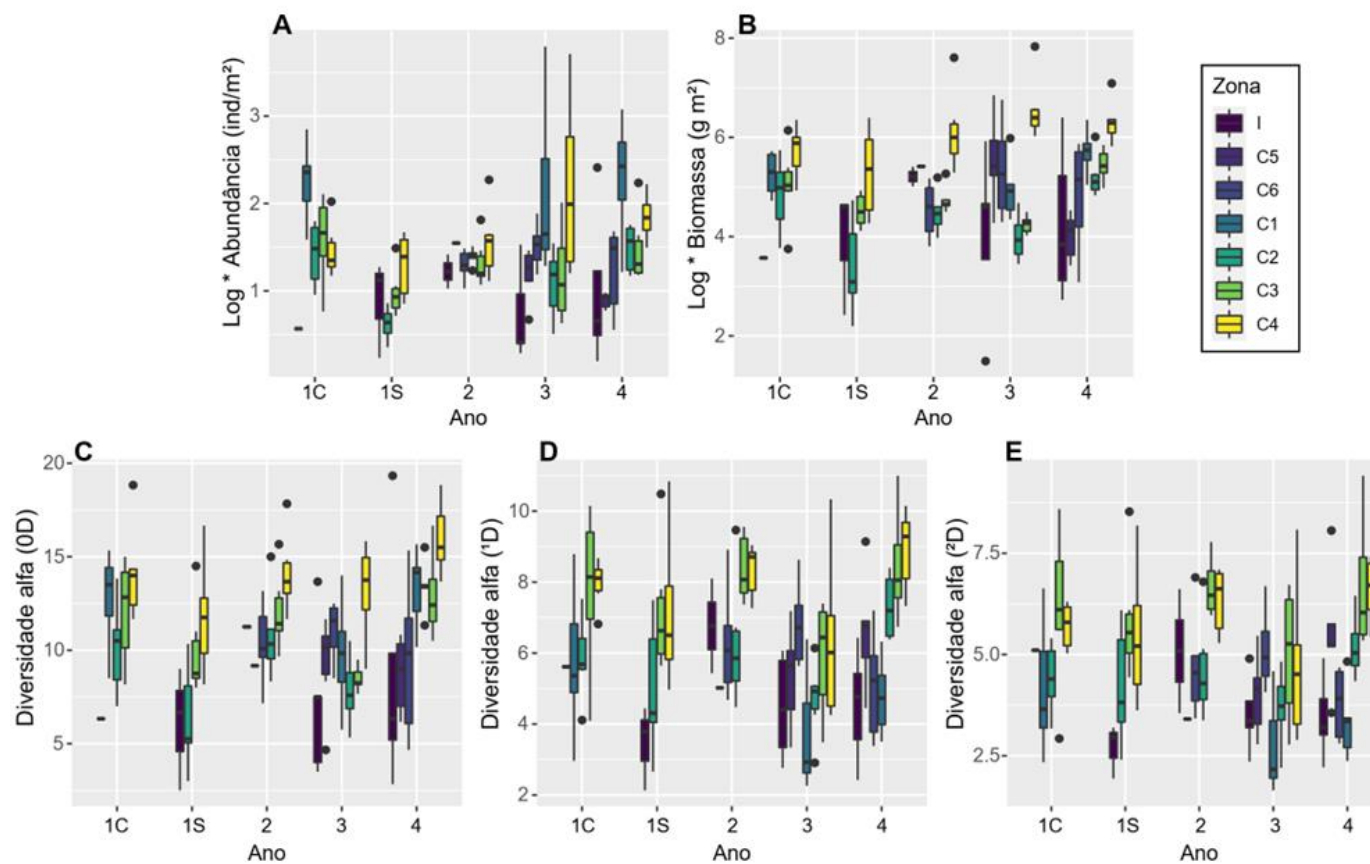
Para a área norte, as assembleias de peixes recifais amostradas na zona Impacto apresentaram diferenças significativas para abundância e composição de espécies quando comparado com as zonas Controle C1-C4, indicado pelo contraste (I vs. C). Especificamente, a zona Impacto possui uma menor abundância de peixes (Figura 8A) e uma composição diferenciada de espécies. A biomassa de peixes não apresentou diferenças significativas na zona Impacto quando comparada às zonas Controle C1-C4 (contraste I vs. C), indicando que, apesar da menor abundância, o tamanho corporal dos peixes promove valores de biomassa similares entre a zona Impacto e as zonas Controle quando analisado todos os anos de forma conjunta. No entanto, a interação do contraste I vs. C com os setores (S(I vs. C)) e com o ano (T(I vs. C)), indicam diferenças significativas nos valores de biomassa, indicando que a diferença de biomassa a zona Impacto e as zonas Controle depende do setor (S) e do ano (T). Os valores de diversidade alfa 0D , (menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras), 1D (valores de diversidade verdadeira) e 2D (Maior peso para espécies dominantes) não apresentaram diferenças significativas para o contraste I vs C, apesar dos menores valores destes três indicadores serem observados na zona Impacto (Figura 8C,D,E). Todos os indicadores (biomassa, abundância, composição de espécies e diversidade alfa) apresentaram diferenças significativas entre os anos (T). Quando comparado entre cada zona (Z), a biomassa, a composição de espécies e a diversidade 1D e 2D apresentaram diferenças significativas.

Tabela 8: Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) na área sul (zona Impacto, C5-C6) comparando a biomassa, abundância, composição e diversidade de alfa (α_0 , α_1 e α_2) dos peixes recifais entre as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C), setores (S) estudados. Legenda: GL = grau de liberdade, Pseudo-F = estatística F; P(perm) = valor de significância. Valores significativos em negrito.

Fontes de variação	GL	Biomassa		Abundância		Composição		α_0		α_1		α_2	
		Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)
T	2	3.0256	0.034	1.573	0.17	1.7117	0.015	2.4839	0.078	1.3928	0.208	0.4258	0.646
Z	2	0.8879	0.498	2.1753	0.122	1.604	0.042	1.6956	0.224	1.738	0.209	1.6718	0.215
I vs. C	1	0.8864	0.408	1.8011	0.198	1.4384	0.178	1.3943	0.275	2.2842	0.17	2.6421	0.134
S (Z)	14	7.4354	0.001	7.8609	0.001	3.9094	0.001	9.5804	0.001	3.6413	0.001	1.902	0.033
S (I vs. C)	9	9.2308	0.001	8.7337	0.001	4.0903	0.001	9.5185	0.001	3.7155	0.001	1.9133	0.045
T(Z)	4	1.7202	0.141	1.1408	0.361	1.0698	0.335	0.5581	0.721	1.9241	0.136	2.6589	0.047
T(I vs. C)	2	1.5157	0.234	2.204	0.087	1.4832	0.126	0.9417	0.388	3.4954	0.052	4.5764	0.024
T(S(Z))	19	2.369	0.001	2.1784	0.002	2.4991	0.001	3.4658	0.001	2.6567	0.001	2.2434	0.002
T(S(I vs. C))	15	2.4766	0.002	1.7186	0.016	2.1446	0.001	2.1638	0.008	1.6584	0.055	1.493	0.1
Resíduo	186												
Total	235												

Para a área sul, onde estão as zonas mais próximas à zona Impacto, não foram detectadas diferenças significativas nos indicadores (biomassa, abundância, composição de espécies e diversidade alfa 0D , (menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras), 1D (valores de diversidade verdadeira) e 2D (Maior peso para espécies dominantes)) entre a zona Impacto com as zonas Controle C5-C6 (contraste I vs. C). No entanto, verificou-se que as diferenças entre a zona Impacto e as zonas Controle C5-C6 depende dos setores analisados, indicado pela interação S(I vs. C), o qual apresentou diferenças significativas para todos os indicadores. Os indicadores biomassa e composição de espécies apresentaram diferenças significativas entre os anos (T), e apenas a composição de espécies apresentou diferença significativa entre as zonas (Z).

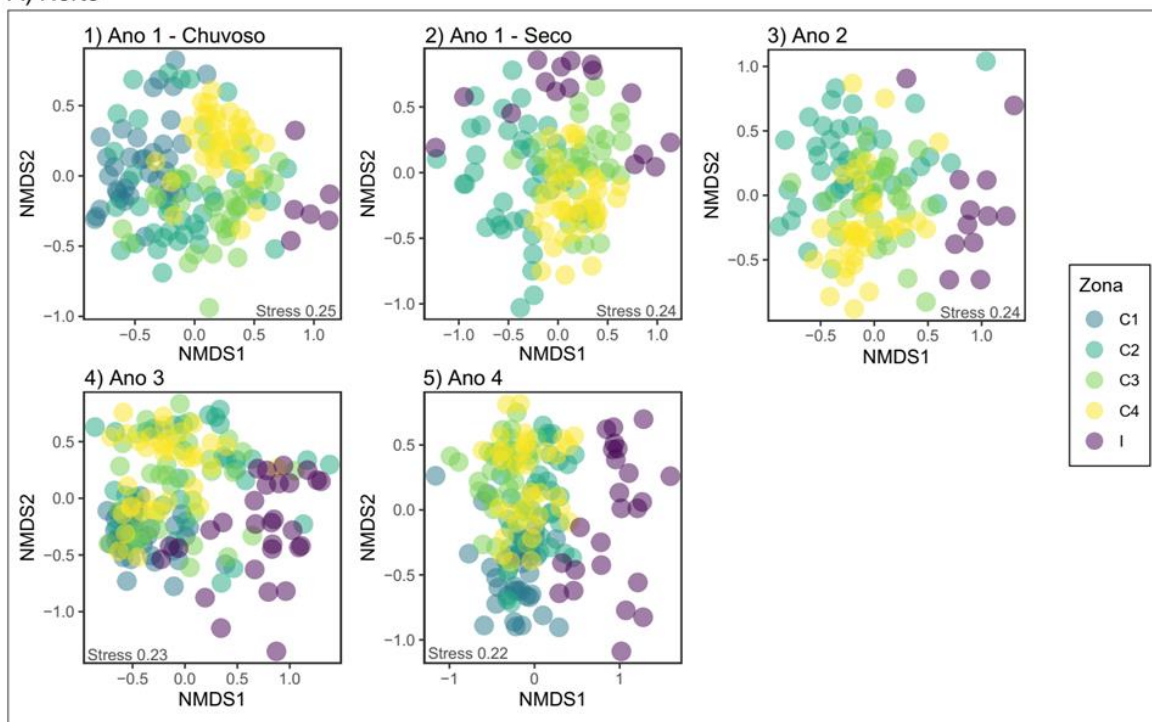
Figura 8: Abundância (A), biomassa (B), e diversidade alfa (D α) de peixes recifais nas zonas amostradas durante as campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 1S (Estação seca Ano 1), 2 (Estação chuvosa Ano 2), 3 (Estação chuvosa Ano 3), e 4 (Estação chuvosa Ano 4). C) 0D – Menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras; D) 1D – Valores de diversidade verdadeira; E) 2D – Maior peso para espécies dominantes, calculadas para as seis zonas estudadas. I= Impacto-APA Costa das Algas, C1= Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3= Paredes, C4= Abrolhos, C5= Vitória e C6= Guarapari.



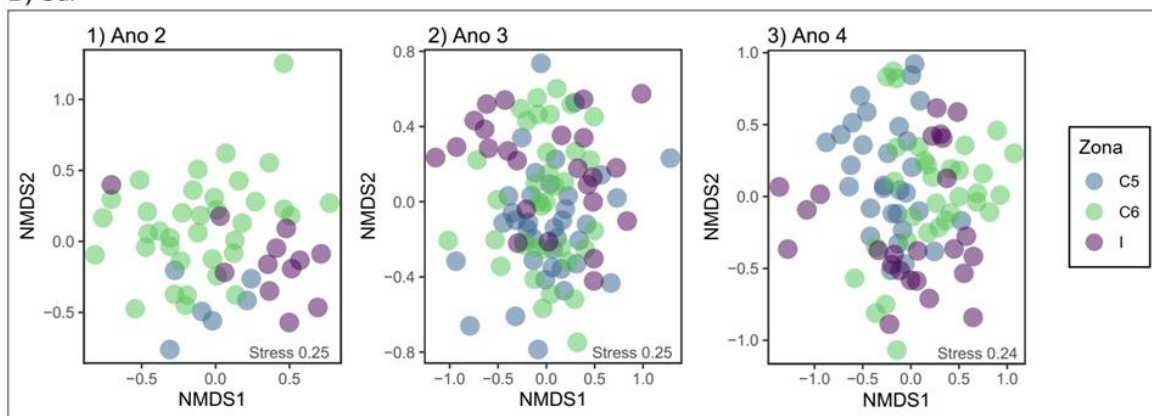
A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante. No geral, a zona Impacto e as zonas mais próximas à zona de Impacto (C5 e C6) apresentaram os menores valores de abundância, biomassa, e diversidade alfa para espécies raras (0D), espécies no geral (1D) e espécies dominantes (2D), de peixes recifais, padrão que se manteve ao longo dos quatro anos de amostragem.

Figura 9: Distribuição das assembleias de peixe recifal em espaço multi-dimensional (Non-metric multi dimensional scaling) nas zonas amostradas na área norte (A) e sul (B), mostrando as campanhas 1) Estação chuvosa Ano 1; 2) Estação seca Ano 1; 3) Estação chuvosa Ano 2; 4) Estação chuvosa Ano 3; e 5) Estação chuvosa do Ano 4. Cada ponto representa uma réplica (UVC). I= Impacto-APA Costa das Algas, C1= Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3= Paredes, C4= Abrolhos, C5 = Vitória e C6= Guarapari.

A) Norte



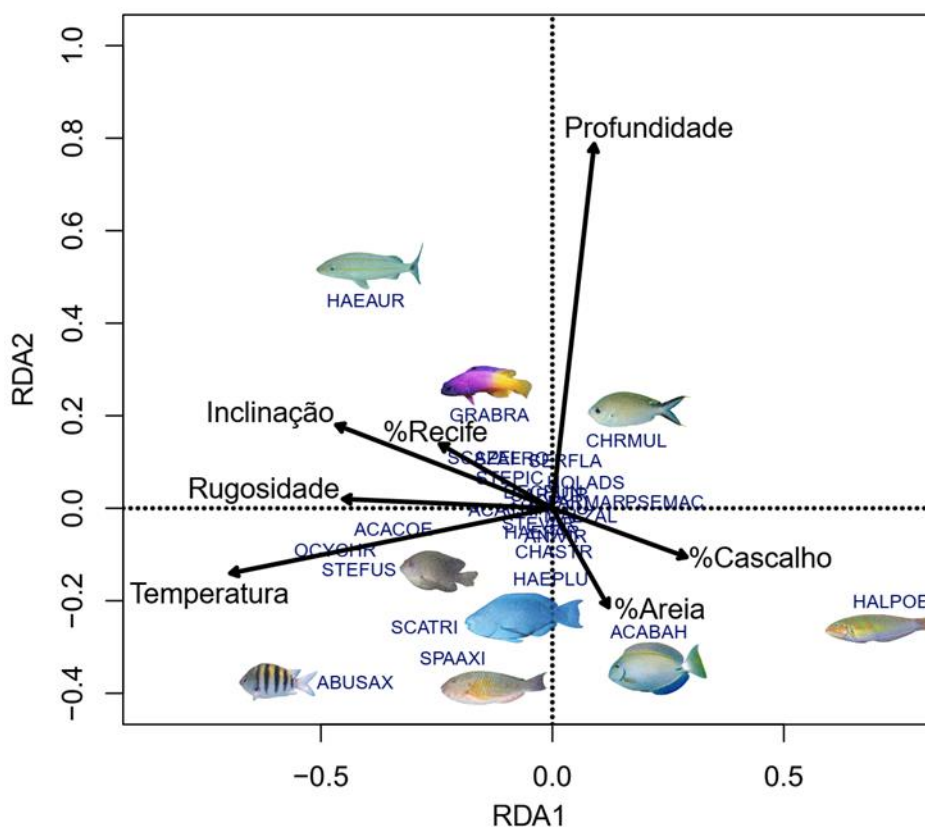
B) Sul



Quanto mais perto um ponto do outro, mais parecido em composição de comunidade. Considerando a composição das assembleias de peixes recifais, a zona Impacto (círculos roxos) permaneceu mais

homogênea entre si na área norte (A) em comparação às zonas controle C1-C4, e relativamente homogênea com as demais zonas na área sul (B) em comparação com as zonas controle C5-C6, padrão que se manteve ao longo dos quatro anos de amostragem.

Figura 10: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais (influência das variáveis ambientais). Distribuição das espécies de peixe recifal e das variáveis abióticas nas seis zonas amostradas visualizadas em espaço multi-dimensional. Os vetores mostram as variáveis preditoras significativas para o modelo final ($p < 0,05$). O comprimento do vetor indica o peso da variável. Apenas as espécies de peixes que foram influenciadas pelas variáveis preditoras foram incluídas na figura. ABUSAX = *Abudefduf saxatilis*, ACABAH = *Acanthurus bahianus*, ACACHI = *Acanthurus chirurgus*, ACACOE = *Acanthurus coeruleus*, ANIVIR = *Anisotremus virginicus*, CHASTR = *Chaetodon striatus*, CHRMUL = *Chromis multilineata*, DECPUN = *Decapterus punctatus*, GRABRA = *Gramma brasiliensis*, HAEAUR = *Haemulon aurolineatum*, HAEPAR = *Haemulon parra*, HAEPLU = *Haemulon plumieri*, HALPOE = *Halichoeres poeyi*, HARCLU = *Harengula clupeiola*, HOLADS = *Holocentrus adscensionis*, MALZAL = *Malacoctenus zualari*, OCYCHR = *Ocyurus chrysurus*, PARMAR = *Parablennius marmoreus*, PSEMAC = *Pseudupeneus maculatus*, SARAUR = *Sardinella aurita*, SCATRI = *Scarus trispinosus*, SCAZEL = *Scarus zelindae*, SERFLA = *Serranus flaviventris*, SPAAXI = *Sparisoma axillare*, SPAFRO = *Sparisoma frondosum*, STEFUS = *Stegastes fuscus*, STEPIC = *Stegastes pictus*, STEVAR = *Stegastes variabilis*.



As variáveis de temperatura, rugosidade e porcentagem de substrato recifal foram importantes preditoras da diversidade de peixes recifais considerando todas as zonas em conjunto. Nas zonas amostradas, uma das espécies mais comuns, *Halichoeres poeyi* (Labridae) foi influenciada positivamente pela cobertura de Cascalho, *Sparisoma axillare*, *Scarus trispinosus* (Labridae: Scarinae) e *Abudefduf saxatilis* (Pomacentridae) pela Temperatura, enquanto o também abundante *Haemulon aurolineatum* foi influenciado pela porcentagem e inclinação do recife.

Tabela 9: Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) comparando a abundância e a biomassa dos grupos tróficos piscívoro/cefalópode, herbívoro-detrítivo, herbívoro de macroalga, invertívoro móvel, invertívoro-piscívoro, invertívoro sésil, invertívoro móvel e sésil, onívoro, onívoro-planctívoro e planctívoro de peixes recifais entre as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), setores (S) estudados na área **norte** (zona I e C1-C4). Legenda: Pseudo F = estatística F. * = Significância estatística.

Fontes de variação	GL	Piscívoro/cefalópode		Herbívoro-detrítivo		Herbívoro macroalga		Invertívoro móvel		Invertívoro-piscívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	3	1.186	1.772	4.362*	3.075*	1.475	1.071	1.521	3.931*	0.257	0.153
Z	4	6.984*	12.82*	3.948*	4.503*	8.892*	9.525*	3.585*	1.052	1.675	2.120
I vs. C	1	17.490*	3.003	4.133	1.167	22.478*	21.05*	23.584*	4.422	0.285	0.090
S (Z)	24	2.921*	1.537*	7.217*	6.849*	5.901*	4.633*	6.326*	5.178*	1.722*	1.379
S (I vs. C)	9	2.938*	0.837	9.174*	10.994*	1.840*	1.417	4.743*	6.783*	1.914	1.229
T(Z)	11	0.816	1.109	1.709	1.801	2.638*	2.689*	0.747	1.194	1.146	0.951
T(I vs. C)	3	0.416	0.232	3.662	2.890	1.999	1.420	0.636	0.442	0.260	0.159
T(S(Z))	60	1.316	1.468*	1.681*	2.258*	1.212	1.000	2.054*	1.836*	1.632*	1.513*
T(S(I vs. C))	20	1.088	1.298	1.537	2.103	0.788	0.606	1.919*	2.313*	1.195	1.133
Resíduo	496										
Total	606										
		Invertívoro sésil		Invertívoro móvel-sésil		Onívoro		Onívoro-planctívoro		Planctívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	3	1.455	1.106	1.703	2.715*	0.990	0.867	0.798	0.995	4.644*	2.936*
Z	4	3.044*	3.963*	22.166*	14.865*	0.623	0.312	1.779	2.156	0.632	1.014
I vs. C	1	1.462	4.100	0.396	0.050	1.065	1.360	0.221	2.894	3.823	5.923
S (Z)	24	4.887*	5.181*	2.430*	2.398*	3.335*	3.041*	4.668*	5.143*	9.583*	7.863*
S (I vs. C)	9	7.055*	8.766*	2.969*	3.746*	3.152*	2.777*	2.082*	2.326*	22.28*	18.04*
T(Z)	11	1.576	1.863	0.657	0.906	2.372*	2.941*	1.164	1.449	1.755	1.344
T(I vs. C)	3	0.354	0.683	0.522	0.380	0.791	1.038	0.132	0.061	3.075	3.652
T(S(Z))	60	1.570*	1.465*	1.339*	1.056	0.895	1.030	2.345*	2.321*	1.008	1.393*
T(S(I vs. C))	20	1.270	1.172	0.820	0.895	1.232	1.502	1.469	1.464	2.068*	2.871*
Resíduo	496										
Total	606										

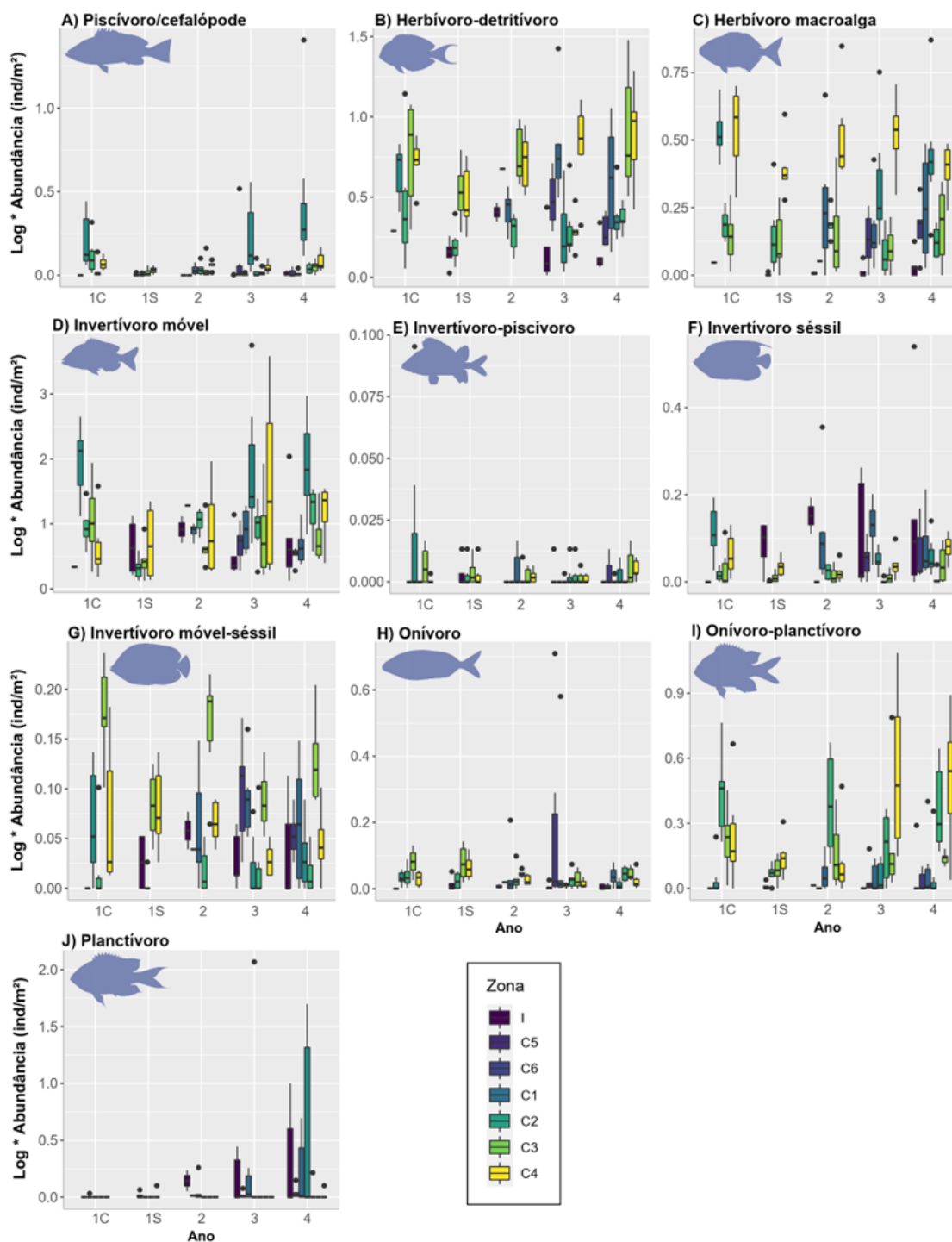
Para a área norte, os grupos tróficos que apresentaram diferenças significativas na zona Impacto foram Piscívoro/cefalópode para abundância, Herbívoro de macroalga para abundância e biomassa e Invertívoro móvel para abundância, indicadas pelo contraste I vs. C. Os três grupos, considerados grupos tróficos-chave para os ambientes recifais (i.e., predadores, herbívoros e consumidores secundários de alta biomassa, respectivamente), apresentaram baixos valores de abundância na zona Impacto (Figura 11A,C,D). Quando observada a interação entre setores e contraste (S (I vs. C)), todos os grupos tróficos diferiram significativamente em abundância e/ou biomassa, com exceção do grupo Invertívoro-piscívoro, indicando que as diferenças entre a zona Impacto e as zonas Controle C5-C6 depende dos setores analisados (Tabela 9).

Tabela 10: Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) comparando a abundância e a biomassa dos grupos tróficos piscívoro/cefalópode, herbívoro-detritívoro, herbívoro de macroalga, invertívoro móvel, invertívoro-piscívoro, invertívoro sésil, invertívoro móvel e sésil, onívoro, onívoro-planctívoro e planctívoro de peixes recifais entre as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), setores (S) estudados na área sul (zona I e C5-C6). Legenda: Pseudo-F = estatística F. * = Significância estatística.

Fontes de variação	GL	Piscívoro/cefalópode			Herbívoro-detritívoro		Herbívoro macroalga		Invertívoro móvel		Invertívoro-piscívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	3	0.251	0.081		2.596	2.785	0.508	0.431	1.139	1.234	0.599	0.507
Z	4	2.189	1.278		3.042	1.553	1.489	0.976	0.583	0.441	0.208	0.209
I vs. C	1	4.790*	3.114		4.112*	1.491	1.566	1.042	0.746	0.829	0.126	0.255
S (Z)	24	1.885*	1.410		3.109*	3.700*	3.190*	4.456*	4.017*	4.743*	0.578	0.642
S (I vs. C)	9	1.604	1.010		3.231*	4.220*	3.045*	4.562*	3.656*	3.760*	0.617	0.668
T(Z)	11	1.537	1.397		1.121	1.667	0.675	0.449	0.581	0.992	1.656	1.066
T(I vs. C)	3	2.335	2.720		2.773	2.031	2.081	1.095	0.825	1.274	1.511	0.596
T(S(Z))	60	1.527	1.677*		3.400*	2.395*	1.915*	2.831*	2.346*	3.137*	0.655	0.936
T(S(I vs. C))	20	1.069	1.155		2.239*	1.642*	1.168	2.118*	1.840*	3.140*	0.644	0.586
Resíduo	496											
Total	606											
		Invertívoro sésil			Invertívoro móvel-sésil		Onívoro		Onívoro-planctívoro		Planctívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	3	1.612	1.828		1.359	0.557	1.084	1.888	1.413	0.988	0.517	0.474
Z	4	4.361*	4.481		1.651	1.974	1.863	2.125	1.072	0.459	0.467	0.419
I vs. C	1	2.809	1.431		3.528	3.507	5.272*	5.598*	0.397	0.291	0.016	0.026
S (Z)	24	4.000*	3.973*		2.906*	3.255*	2.080*	1.815*	2.112*	2.422*	4.209*	4.228*
S (I vs. C)	9	5.717*	5.331*		2.702*	3.089*	1.281	1.296	2.575*	3.276*	6.177*	6.046*
T(Z)	11	0.782	0.606		1.092	1.897	1.070	1.344	1.464	1.558	0.648	0.959
T(I vs. C)	3	0.764	0.879		0.800	1.400	1.047	1.048	2.047	2.072	0.415	0.879
T(S(Z))	60	1.710*	1.365		1.546	1.478	1.080	0.830	1.147	1.672*	1.683*	1.404
T(S(I vs. C))	20	2.290*	1.726*		1.068	1.075	0.934	0.819	1.434	2.090*	1.985*	1.719*
Resíduo	496											
Total	606											

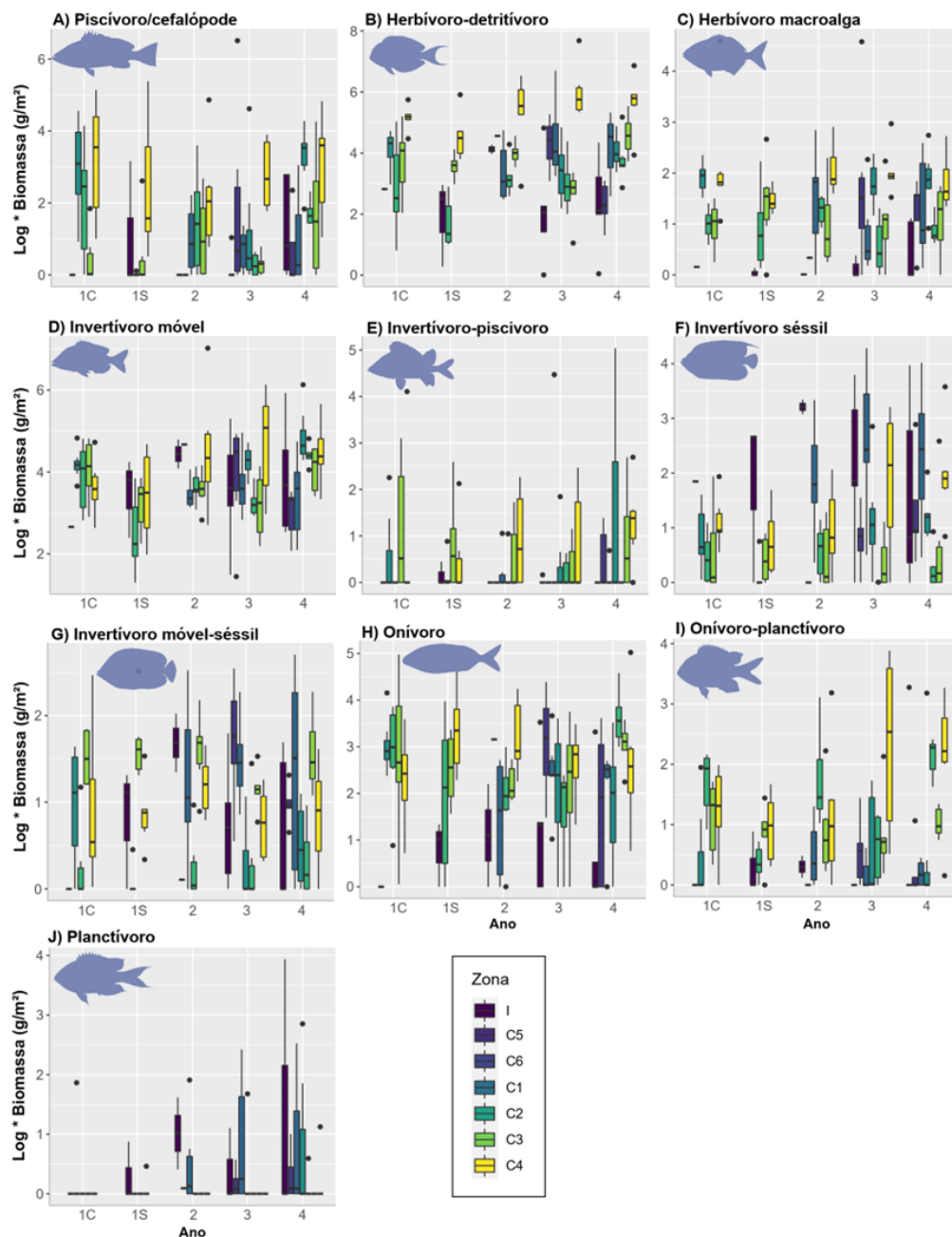
Para a área sul, os grupos tróficos que apresentaram diferenças significativas na zona Impacto foram Piscívoro/cefalópode para abundância, Herbívoro-detritívoro para abundância e Onívoro para abundância, indicadas pelo contraste I vs. C. Os três grupos, dentre dois considerados grupos tróficos-chave para os ambientes recifais (i.e., predadores e herbívoros), apresentaram baixos valores de abundância na zona Impacto (Figura 11 A,B,I). Quando observada a interação entre setores e contraste (S (I vs. C)), os grupos tróficos Herbívoro-detritívoro, Herbívoro de macroalga, Invertívoro móvel, Invertívoro sésil, Invertívoro móvel e sésil, Onívoro e Onívoro-planctívoro diferiram significativamente em abundância e/ou biomassa, indicando que as diferenças entre a zona Impacto e as zonas Controle C5-C6 depende dos setores analisados (Tabela 10).

Figura 11: Abundância ($\log(\text{ind./m}^2)$) dos grupos tróficos A) Piscívoros; B) Herbívoros-detrítivos; C) Herbívoros de macroalga; D) Invertebrados móveis; E) Invertebrados móveis-Piscívoros; F) Invertebrados sésseis; G) Invertebrados sésseis-móveis; H) Onívoros; I) Onívoros-Planctívoros; e J) Planctívoros nas zonas de controle e impacto mostrado campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 2S (Estação seca Ano 1), 3 (Estação chuvosa Ano 2), 4 (Estação chuvosa Ano 3), e 5 (Estação chuvosa Ano 4). Abreviações: I = APA Costa das Algas, C1 = Recife dos Esquecidos, C2 = Cassurubá, C3 = Paredes, C4 = PARNA Abrolhos, C5 = Vitória e C6 = Guarapari). As linhas horizontais representam a média e as caixas o erro padrão.



A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante. Todos os grupos tróficos apresentaram menores valores médios de abundância na zona Impacto (barras roxas) em comparação com as zonas controle, com exceção dos Invertívoros sésseis, grupo formado por uma baixa diversidade de espécies, incluindo espécies do gênero *Acanthostracion*, *Holacanthus* e *Holocentrus*, e do grupo Planctívoros no ano 2 e 3. O grupo trófico Invertívoro móvel, o qual apresenta a maior diversidade de espécies, apresentou uma diferença significativamente menor na abundância de peixes na zona Impacto quando comparado o contraste com as zonas controle (I vs. C; Tabela 10). Este padrão se manteve ao longo dos quatro anos de amostragem.

Figura 12: Biomassa ($\log(g/m^2)$) dos grupos tróficos A) Piscívoros; B) Herbívoros-detrítivos; C) Herbívoros de macroalga; D) Invertívoros móveis; E) Invertívoros móveis-Piscívoros; F) Invertívoros sésseis; G) Invertívoros sésseis-móveis; H) Onívoros; I) Onívoros-Planctívoros; e J) Planctívoros nas zonas de controle e impacto mostrado campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 2S (Estação seca Ano 1), 3 (Estação chuvosa Ano 2), 4 (Estação chuvosa Ano 3), e 5 (Estação chuvosa Ano 4). Abreviações: I = APA Costa das Algas, C1 = Recife dos Esquecidos, C2 = Cassurubá, C3 = Paredes, C4 = PARNA Abrolhos, C5 = Vitória e C6 = Guarapari). As linhas horizontais representam a média e as caixas o erro padrão.



A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante. No geral, os grupos tróficos apresentaram menores valores médios de biomassa na zona Impacto (barras roxas) em comparação com as zonas controle, com exceção do grupo Invertívoro sésil no ano 1 (amostragem no período seco), e dos planctívoros no ano 1 (seco), ano 2 e ano 4. Os valores de biomassa dos grupos tróficos flutuaram de forma considerável ao longo dos anos, contudo, os padrões temporais dos grupos mais diversos (Piscívoro/cefalópode e Invertívoro móvel) se mantiveram mais estáveis, com menores valores na zona Impacto.

3.2 COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES RECIFAIS E ESTUARINOS

Tabela 11: Composição Abundância de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. (espacial e temporal). Abundância total por espécie (taxa) de pós-larvas de peixe capturada com armadilha de luz nas referidas zonas marinhas (Impacto= Rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) durante as campanhas (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022 e maio/2022).

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>					2								2	
Albulidae	<i>Albula</i> sp.	1												1	
	<i>Albula vulpes</i>				8				1			4	6	1	
Apogonidae	<i>Astrapogon puncticulatus</i>				11	1		1	1	2		5	1	3	4
	<i>Astrapogon stellatus</i>				1		1			1		1		1	
	<i>Phaeoptyx pigmentaria</i>					1						1			
Ariidae	<i>Genidens genidens</i>						1					1			
Atherinopsidae	<i>Atherinella brasiliensis</i>						28		5		210	3		32	203
	<i>Atherinella</i> sp.	2		20						10					22
	<i>Atherinomorus stipes</i>		3			8						1		3	7
	<i>Atherinopsidae</i> spp.				1							1			
	<i>Membras dissimilis</i>								4						
Balistidae	<i>Canthidermis maculata</i>										1	1			
Blenniidae	<i>Blenniidae</i> spp.	3				3							3		3
	<i>Entomacrodus vomerinus</i>									2					
	<i>Hypleurochilus pseudoaequipinnis</i>					2				1					2
	<i>Hypleurochilus</i> sp.				2							2			
	<i>Hypsoblennius invemar</i>					1	4	1				1	1		4
	<i>Hypsoblennius</i> sp.				1									1	
	<i>Parablennius marmoreus</i>	4		4		3		3			1	2	7	1	5
	<i>Scartella cristata</i>	2			5						1	1	1	5	1

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
Bothidae	<i>Bothus lunatus</i>	1					3					4			
	<i>Bothus ocellatus</i>	4				1	8					12		1	
	<i>Bothus</i> sp.					1						1			
Carangidae	<i>Carangidae</i> sp.						1			2	1	4			
	<i>Carangoides bartholomaei</i>		38	2	3	39				19	1	1	1	43	38
	<i>Caranx crysos</i>				87			1	1	21		7	77	4	
	<i>Caranx hippos</i>		1		1	10		1		3		3	6	3	1
	<i>Caranx latus</i>	1	2			13					2	3	9	5	1
	<i>Caranx ruber</i>				1				2					1	
	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	274	13	8		48	803	43	235		39	23	272	879	54
	<i>Decapterus macarellus</i>				2			1		178		1	2		
	<i>Decapterus punctatus</i>					2						1	1		
	<i>Decapterus</i> sp.														
	<i>Naucrates ductor</i>								1	2					
	<i>Oligoplites saurus</i>				1	9						10			
	<i>Oligoplites</i> sp.									1					
	<i>Selene vomer</i>					2				2		2			
	<i>Trachinotus goodei</i>								1						
Centropomidae	<i>Centropomus undecimalis</i>	1										1			
Clupeidae	<i>Clupeidae</i> spp.	3066	418	34	1286	4003	9	57	10		13	39	80	4089	4678
	<i>Harengula clupeola</i>										10		1		9
	<i>Sardinella aurita</i>										2		2		
Congridae	<i>Ariosoma</i> sp.								1	333					
	<i>Congridae</i>									1	3	4			
Coryphaenidae	<i>Coryphaena equiselis</i>										1		1		
Cynoglossidae	<i>Symphurus plagusia</i>	1	5		68				1	4		63	5	1	5

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
	<i>Symphurus</i> sp.					2							2		
Dactylopteridae	<i>Dactylopterus volitans</i>		2										1	1	
Eleotridae	<i>Eleotris pisonis</i>				2					2	4	6	2		
Elopidae	<i>Elops saurus</i>							7			1	5	2		1
	<i>Elops</i> sp.	3				4			4	5		4	1	2	
Engraulidae	<i>Anchoa filifera</i>										19	1	17	3	27
	<i>Anchoa cubana</i>										2	1	1		
	<i>Anchoa tricolor</i>										65	2	55		8
	<i>Anchoa</i> sp.									29					5
	<i>Anchoviella lepidentostole</i>									5					2
	Engraulidae spp.	400	195	129	1725	9927	7		132	2	386	109	478	10738	1866
Epinephelidae	<i>Epinephelus morio</i>						1			203		1			
Ephippidae	<i>Chaetodipterus faber</i>				1		4					8		1	
Exocoetidae	<i>Parexocoetus brachypterus</i>									4			1		
Fistularidae	<i>Fistularia petimba</i>						1			1			1		
Fistulariidae	<i>Fistularia tabacaria</i>					1	2	1				2	3		
Gerreidae	Gerreidae spp.	2310	223	174	352	277	80	57	263	1	59	598	716	2544	371
	<i>Eucinostomus</i> sp.										1				1
Gobiidae	<i>Bathygobius</i> sp.						1	2		432		1		2	
	Gobiidae spp.	1					1					2			
	<i>Gobiosoma hemigymnum</i>														1
	<i>Gobius</i> sp.								1	1		1			
	<i>Gobionellus</i> sp.						2					2			
Gonostomatidae	<i>Gonostoma</i> sp.	2										1	1		
Haemulidae	<i>Haemulon</i> sp.					1									3
	<i>Orthopristis chrysoptera</i>	1								2		1			

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
Hemiramphidae	<i>Hemiramphus brasiliensis</i>			1		4						3		11	
	<i>Hyporhamphus</i> sp.					1				9				1	
Kyphosidae	<i>Kyphosus sectatrix</i>		1									1			
Labridae	<i>Doratonotus megalepis</i>					1	1					2			
	<i>Halichoeres brasiliensis</i>	1											1		
	<i>Halichoeres poeyi</i>			1	2							1	1		1
	<i>Halichoeres</i> sp.				1							1			
	Labridae spp.													1	
Labrisomidae	<i>Gobioclinus kalisherae</i>			1	3					1		4			
	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	3		1	3	2						4	3	6	2
	<i>Malacoctenus delalandii</i>					3				6					3
	<i>Malacoctenus zaluari</i>	3			5	1	1	1				5	1	4	1
Lutjanidae	<i>Lutjanus alexandrei</i>					9					1	1	1	1	10
	<i>Lutjanus analis</i>					9			1	3		1		1	8
	<i>Lutjanus cyanopterus</i>							1				1			
	<i>Lutjanus griseus</i>	2					1							1	2
	<i>Lutjanus jocu</i>				1	8		1					5	1	4
	<i>Lutjanus</i> sp.	1	18		2		1					2	1	17	2
	<i>Lutjanus synagris</i>				1	2		1	2			3	2		2
	<i>Ocyurus chrysurus</i>			1	1	12			1	1		1	1	1	12
Microdesmidae	<i>Microdesmus bahianus</i>		1											1	
Monacanthidae	<i>Aluterus heudeloti</i>											2		1	
	<i>Aluterus monocerus</i>					1				3					1
	<i>Aluterus schoepfi</i>					1							2		
	<i>Aluterus scriptus</i>						2	2		1			2		2

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
	<i>Cantherhines macrocerus</i>						4	2	3			1	8		
	<i>Cantherhines pullus</i>					3	1	3	44			4	46	1	
	<i>Stephanolepis hispidus</i>						1		3		8	3		3	6
Mugilidae	<i>Mugil brevisrostris</i>								1	8				1	
	<i>Mugil curema</i>	14		5	41	101	6	2				4	161	2	2
	<i>Mugil sp.</i>	29	3	13	14	64					7	78	30	36	7
Mullidae	<i>Mulloidichthys martinicus</i>					2				21		1	1		
	<i>Mullus auratus</i>					1								1	
	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	2				7						4	3	2	2
Muraenidae	<i>Gymnothorax moringa</i>						1		1	2		2			
	<i>Gymnothorax nigromarginatus</i>					1			1			2			
	<i>Gymnothorax ocellatus</i>					2	1					3			
	<i>Gymnothorax sp.</i>	2			12	2						16			
Ophichthidae	<i>Ahlia egmontis</i>						3					2	1		
	<i>Myrophis punctatus</i>					2			1			3			
	Ophichthidae spp.		1									1			
Ostraciidae	<i>Acanthostracion polygonius</i>			1								1			
	<i>Acanthostracion quadricornis</i>					1						1			
	<i>Acanthostracion sp.</i>	1			28	34	17		5			63	9	9	4
	Ostraciidae spp.											2			
Paralichthyidae	<i>Etropus crossotus</i>						1			2		1			
Paralichthyidae	<i>Paralichthyidae spp.</i>					1					1	5	2		
Pempheridae	<i>Pempheris schomburgkii</i>				1					6		1			
Pimelodidae	<i>Pimelodidae spp.</i>											1			
Polynemidae	<i>Polydactylus oligodon</i>		3							1					3

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
	<i>Polydactylus virginicus</i>	1	1	3	5	8					1	1	1	3	14
Pomacanthidae	<i>Pomacanthus paru</i>		1				2			2			1		2
Pomacentridae	<i>Abudefduf saxatilis</i>	1		8		16						16	1	17	2
	<i>Chromis flavicauda</i>			1						11				1	
Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>											2		3	
Pristigasteridae	<i>Chirocentrodon bleekermanus</i>									5	4	2	2		5
	<i>Odontognathus mucronatus</i>								6	4		6			
	<i>Pellona harroweri</i>								38		10	38	3	3	4
Rachycentridae	<i>Rachycentron canadum</i>						1			1		3			
Scaridae	<i>Scaridae spp.</i>					2			1	1		3			
	<i>Scarus sp.</i>				2									2	
Sciaenidae	<i>Corvula batabana</i>						8	2				8		2	
	<i>Cynoscion sp.</i>						1	2	10			13			
	<i>Isopisthus parvipinnis</i>						2		2					4	
	<i>Larimus sp.</i>		1									1			
	<i>Larimus breviceps</i>											4			
	<i>Lonchurus elegans</i>					1	1	1		4		2		1	
	<i>Macrodon ancylodon</i>										182	182			
	<i>Menticirrhus americanus</i>					2						1	1		
	<i>Menticirrhus sp.</i>							1				2			
	<i>Micropogonias sp.</i>				1					1		1			
	<i>Odontoscion dentex</i>					1						1			
	<i>Paralonchurus brasiliensis</i>						2	1				1	1	1	
	<i>Sciaenidae spp.</i>					7	2		16		3	23		5	
	<i>Stellifer sp.</i>	8				1		2	20	6		27	3	1	

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
	<i>Umbrina coroides</i>								3			3			
Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>														4
	<i>Sarda sarda</i>			4		19	2			4				19	6
	<i>Scomberomorus brasiliensis</i>	9	52			1								61	2
	<i>Scomberomorus cavalla</i>					7				1	3			6	5
	<i>Scomberomorus regalis</i>						1			4				1	
	<i>Scomberomorus</i> sp.								1		3	3			1
	<i>Scombridae</i> sp.			1							4	4		1	
Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>					1				1	1	1	2		
	<i>Scorpaena</i> sp.								1	2		1			
Serranidae	<i>Epinephelus morio</i>						1					1			
	<i>Diplectrum</i> sp.						1					1			
Sparidae	<i>Archosargus probatocephalus</i>								2		2	2			2
	<i>Archosargus</i> sp.	1	1							1			1	1	
	<i>Calamus</i> sp.										3				3
	<i>Diplodus argenteus</i>										1				1
	<i>Sparidae</i> spp.											2			
Stromateidae	<i>Peprilus paru</i>				1					2			1		
	<i>Peprilus</i> sp.	4											4		
Syngnathidae	<i>Anarchopterus</i> sp.						1					1			
	<i>Bryx dunkeri</i>							1				2			
	<i>Hippocampus erectus</i>	2								1		2			
	<i>Hippocampus reidi</i>			1	6						1	5	1		1
	<i>Syngnathidae</i> spp.													1	
Synodontidae	<i>Saurida caribbaea</i>	2								1					2

Família	Espécie	Campanha										Localidade			
		dez/18	mai/19	dez/19	dez/20	fev/21	abr/21	jul/21	dez/21	mar/22	mai/22	I	C1	C2	C3
	<i>Synodus foetens</i>	10			2	9								14	7
	<i>Synodus intermedius</i>	1							1						2
	<i>Synodus</i> sp.			1									1		
	<i>Lagocephalus laevigatus</i>								1			1			
Tetraodontidae	<i>Lagocephalus lagocephalus</i>			1											1
	<i>Sphoeroides</i> sp.					12			2			14	5	2	
	<i>Sphoeroides spengleri</i>			2			1			7		3			
Trichiuridae	<i>Trichiurus lepturus</i>										1	1			
Triglidae	<i>Prionotus punctatus</i>	21	8			11	1			33	1	62	10	2	1
	<i>Prionotus roseus</i>	9										9			
	Triglidae spp.						1							1	
Tripterygiidae	<i>Enneanectes altivelis</i>					1						1			
Uranoscopidae	<i>Astroscopus</i> cf. <i>ygraecum</i>										3	3			
	Total	6204	991	417	3691	14735	1026	198	828	1425	1092	1633	2056	18621	7454
	Riqueza	40	22	24	39	66	48	27	41	61	41	165	151	151	154

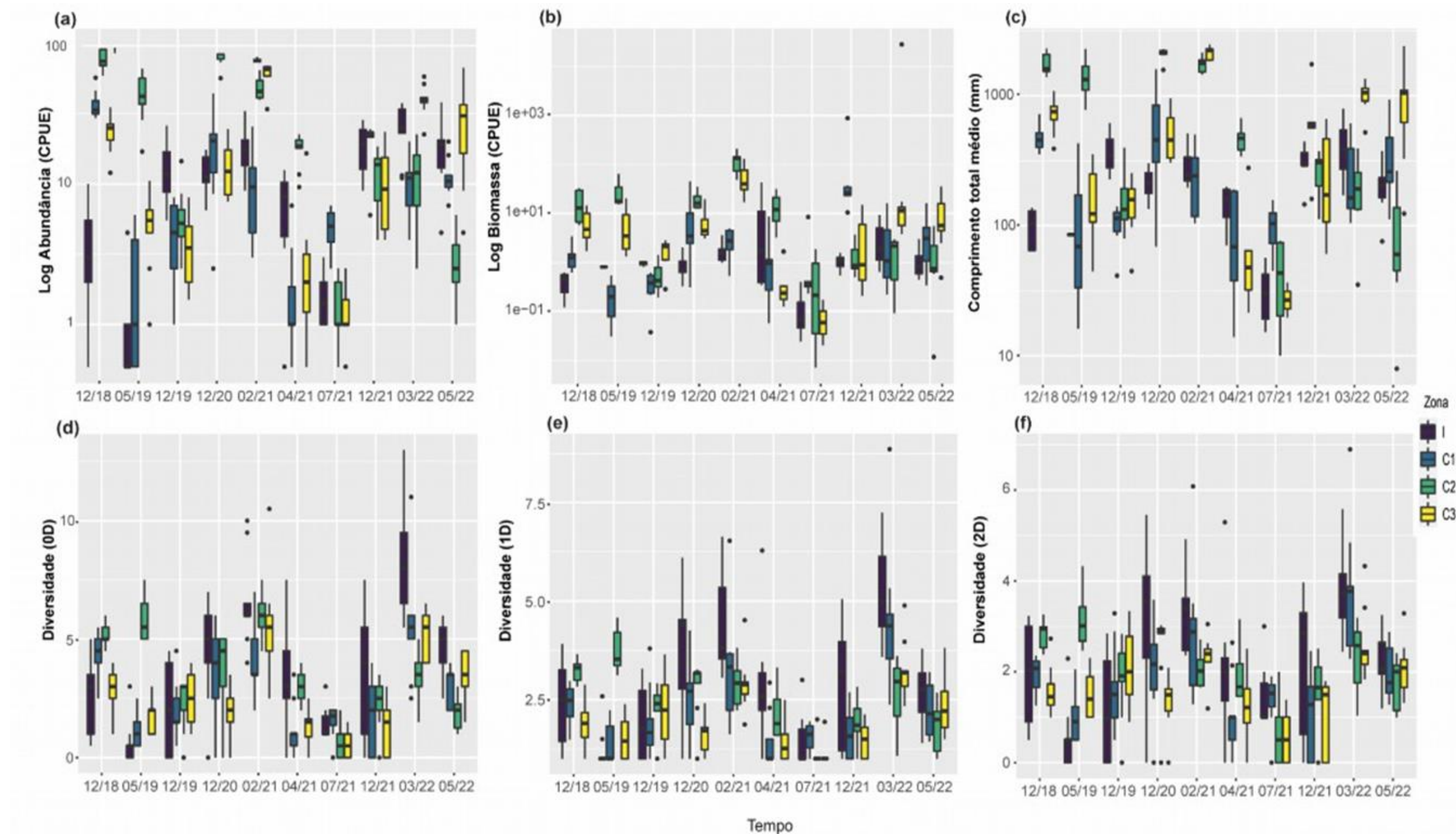
Comparado ao último relatório RT42 (FEST, 2023), um total de 5 novas espécies foram acrescentadas na composição de espécies registradas nas áreas monitoradas. Durante os anos de monitoramento nos ambientes estuarinos foram realizadas 10 campanhas, as quais somaram 29.764 indivíduos (classe Actinopterygii), distribuídas em 167 espécies (taxa) pertencentes a 63 famílias, sendo as famílias Engraulidae, Clupeidae e Gerreidae as mais abundantes. A área controle 2 segue sendo a localidade de maior abundância de pós-larvas (18.621), enquanto a área de impacto contém o menor número de indivíduos registrados (2.056). Temporalmente, a maior abundância ocorreu na amostragem de fevereiro/2021, onde foram coletadas 14.735 indivíduos e a menor na amostragem de julho/2021, com 198 pós-larvas. Entretanto, o maior valor de riqueza absoluta de espécies (165) foi registrado na localidade Impacto, seguido da área controle 3 (157), área controle 2 (151) e área controle 1 (151). Aproximadamente 88% das espécies identificadas foram registradas na zona de impacto (Rio Doce), apesar dos altos valores de turbidez atuando como um fator limitante para o desenvolvimento dos primeiros estágios de vida dos peixes marinhos. Contudo, a singularidade da região marinha externa do Rio Doce (em forma de delta) sustenta um alto dinamismo populacional de peixes marinhos e continentais, mesmo apesar da redução da vazão do rio nas últimas décadas por conta dos diversos impactos antrópicos (RRDM - RT39, 2022). A região funciona como um ecótono, havendo contribuições de diferentes tipos de peixes associados a distintos regimes de salinidades (fauna estuarina e marinha) e habitats (lamoso, arenoso e recifal), promovendo uma maior diversidade de espécies de pós-larvas (RRDM - RT39, 2022).

Tabela 12: Resultado da análise de variância por permutação entre as zonas marinhas (Impacto= Rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) e períodos de amostragem (dezembro2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022 e maio 2022), baseadas em matrizes de similaridade de Bray-Curtis da abundância total [Log(x+1)], biomassa total [Log(x+1)] comprimento total médio e composição de espécies [abundância Log(x+1)] e índices de diversidade verdadeira de pós-larvas de peixes estuarinos (0D,1D e 2D). Fatores: Tempo (dez níveis, aleatório); Zona (Fixo, ortogonal com o tempo, quatro níveis, zona impacto (1) e controles (3)). Contraste Impacto vs Controles (IvsC), GL = graus de liberdade; Valores significativos ($P < 0,05$) em negrito.

Fonte de Variação	GL	Abundância		Biomassa		Comprimento		Composição		Diversidade (⁰ D)		Diversidade (¹ D)		Diversidade (² D)	
		Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P
Tempo = Te	9	2.582	0.115	12.106	0.006	3.7254	0.06	2.9289	0.009	1.8643	0.199	3.0295	0.109	1.3675	0.248
Zona = Zo	3	30.62	0.001	30.407	0.001	15.239	0.001	38.726	0.001	27.086	0.001	23.245	0.001	15.604	0.001
I vs C	1	1.6492	0.182	5.3222	0.003	2.1991	0.09	2.1804	0.003	1.5778	0.19	2.4053	0.071	1.506	0.226
Zo x Te	27	8.3163	0.001	10.563	0.001	5.0392	0.001	9.8672	0.001	5.8676	0.001	5.1639	0.001	4.418	0.001
IvsC x Te	9	7.0572	0.001	5.3091	0.001	6.0665	0.001	8.0591	0.001	5.6751	0.001	5.0497	0.001	5.1867	0.001
Residuo	634														
Total	673														

Por meio das análises de variância dos índices ecológicos foi possível identificar uma resposta significativa do impacto [I vs C] do Rompimento da Barragem de Fundão sobre a biomassa e a composição de espécies na área marinha do Rio Doce, enquanto para todos os demais índices essa resposta ao impacto variou significativamente ao longo do tempo [I vs C x Tempo] e na interação entre zonas e tempo (Zo x Te), demonstrando um efeito temporal significativo em todos os descritores.

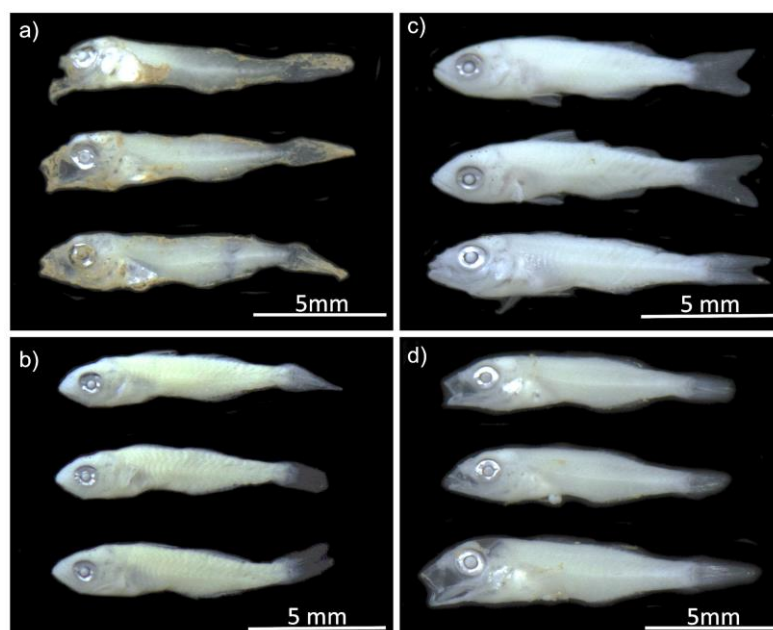
Figura 13: Abundância (a), Biomassa (b), comprimento total (c) e valores de diversidade alfa, representados pela ordem de diversidade (d) 0D = abundâncias desconsideradas, maior representatividade de espécies raras; (e) 1D – Valores de diversidade verdadeira; (f) 2D– Maior peso para espécies dominantes. de pós-larvas de peixes nas zonas marinhas (I= Rio Doce, C1= rio Piraquê-Açú, C2= rio São Mateus e C3= rio Mucuri) e períodos (Tempo) de amostragem (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022 e maio/2022). CPUE= Captura por unidade de esforço.



A flutuação temporal de todos os descritores analisados (Tabela 12) pelos fatores contraste (IvsC x Te) e pela interação (Zo x Te) foram ocasionados, principalmente, pela reduzida abundância de pós-larvas de peixes na zona de impacto em comparação aos controles, sendo essa diferença mais marcante durante os meses de altas temperaturas (verão), apresentando médias reduzidas também durante os meses de temperaturas mais baixas. Durante o ano 4, observou-se um aumento significativo da abundância e dos descritores de diversidade alfa (0D , 1D e 2D) na zona de impacto. Contudo, apesar de não significativo, o aumento dos índices de diversidade alfa na área de impacto aponta uma tendência de recuperação das assembleias de pós-larvas nas áreas amostradas, assim como ocorreu no ano 3. O maior número de espécies e indivíduos nas zonas amostradas ocorreram durante os verões. A tendência de pós-larvas de menores tamanhos na zona de impacto, citado no relatório anterior, principalmente durante os meses de maior recrutamento (12/18, 12/19, 12/20 e 02/21), não foi observada com a integração dos dados do Ano 4, onde os comprimentos totais médios não apresentaram diferenças significativas para esse período.

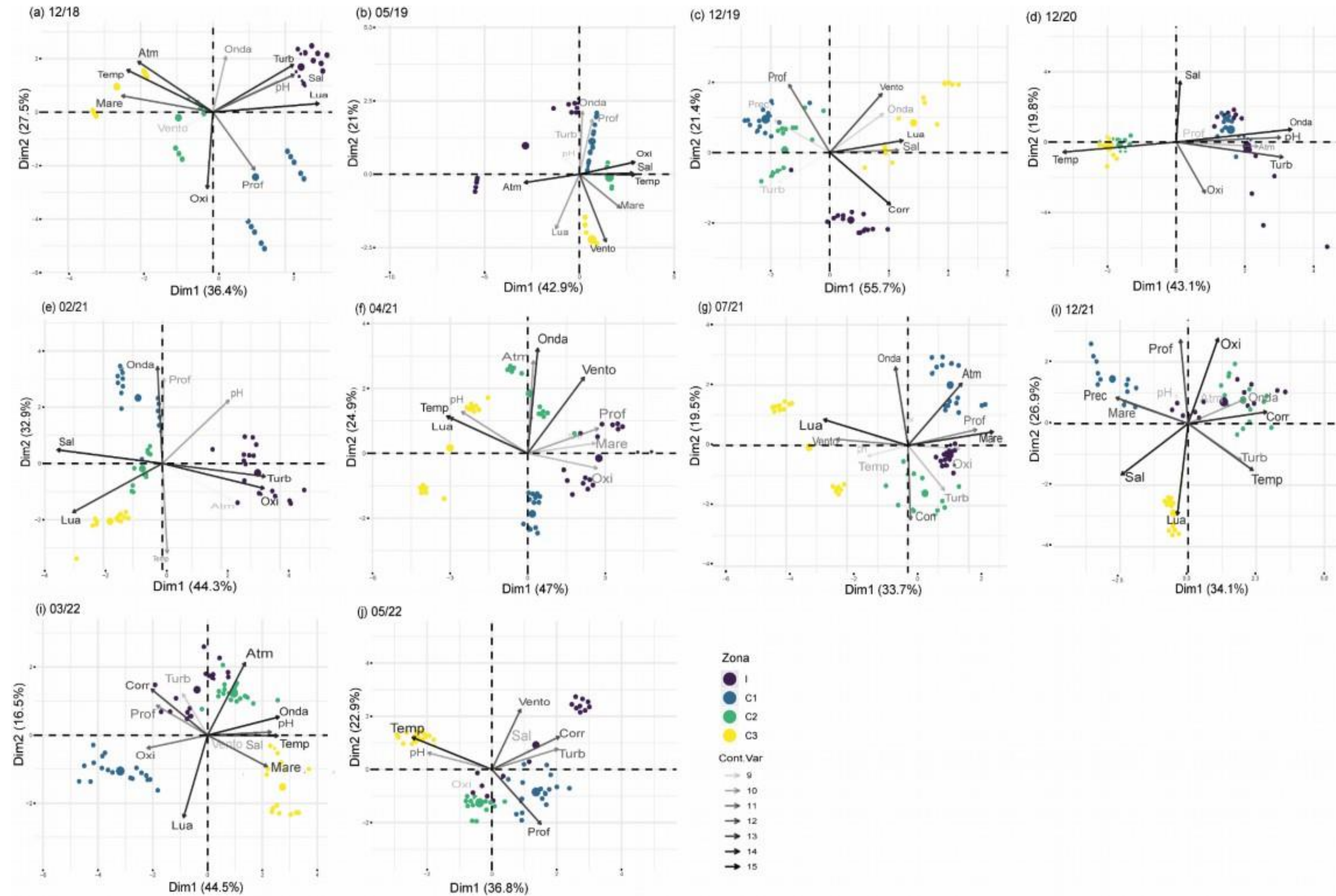
Por fim, há uma tendência de uma menor biomassa na zona de impacto quando comparado com as zonas controles, sendo esse indicador significativo para todos os fatores analisados. A biomassa é um importante parâmetro da assembleia de peixes, pois reflete de forma conjunta da variação do número de indivíduos e o seu tamanho, além de indicar a estrutura de um ambiente. Ambientes perturbados podem ser representados por espécies numericamente abundantes, mas que contribuem pouco em biomassa (BLANCHARDT et al., 2004; MARIN et al., 2023). Apesar de uma tendência de recuperação das assembleias de pós-larvas ao longo do Ano 3 no Rio Doce (RRDM - RT-39D, 2022), observadas também nas variáveis de riqueza e abundância, nota-se, até o momento, um efeito temporal significativo em todos os descritores, especialmente quando analisados pelo contraste (IvsC x Te) e pela interação (Zo x Te).

Figura 14: Pós-larvas de Gerreidae (*Eucinostomus* sp.) capturadas na Zona impacto (a), e nas áreas controles: rio Piraquê-Açu (b), rio São Mateus (c) e rio Mucuri (d).



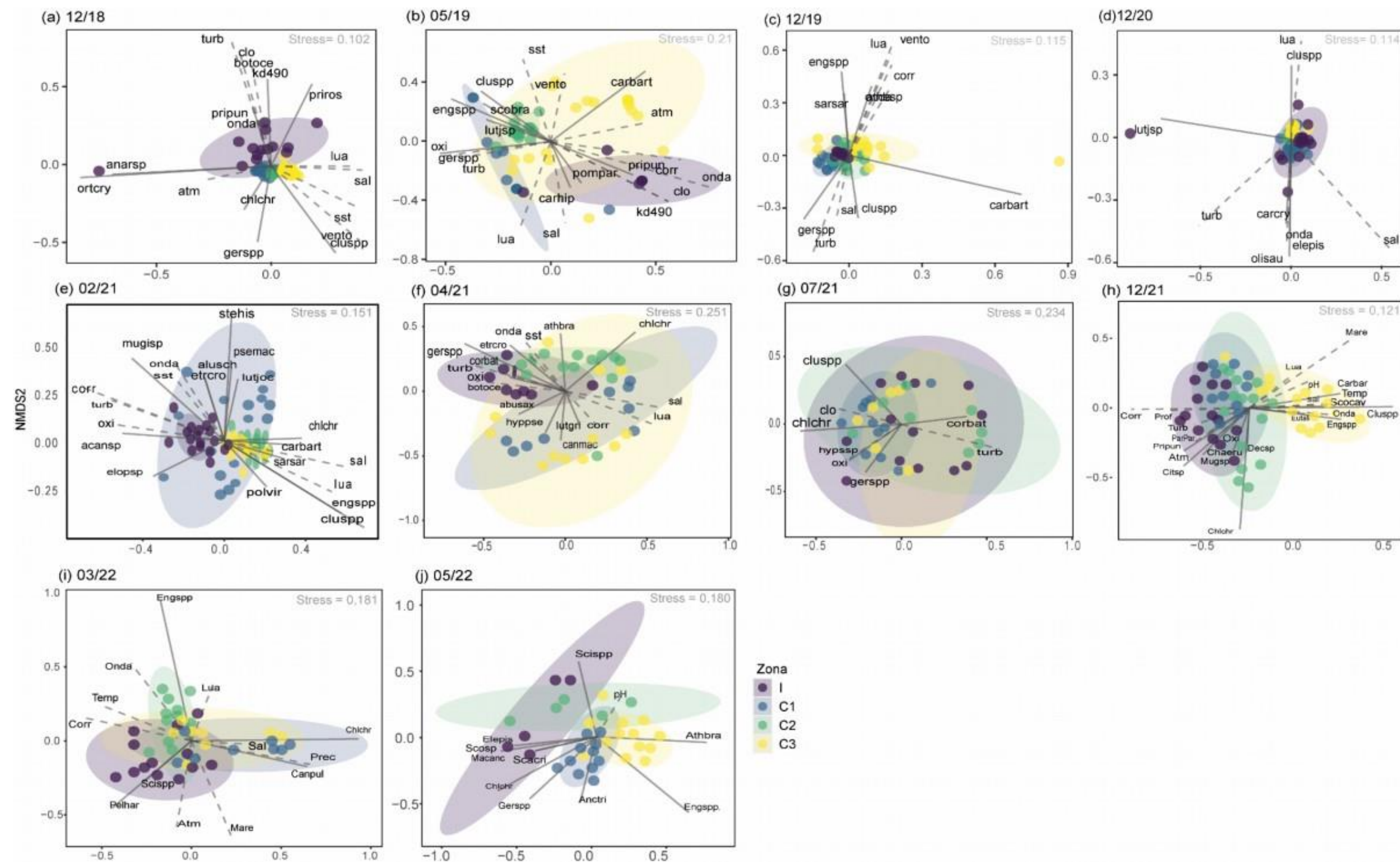
Somado aos indicadores testados que evidenciam possíveis efeitos da lama sobre a assembleia de pós-larvas de peixes, encontra-se o fato de que recorrentemente espécimes coletados na área marinha do Rio Doce e adjacências apresentaram lama aderida a superfície corpórea como já mencionado em relatórios anteriores. Nesses locais, pós-larvas de Sciaenidae, Tetraodontidae, Monacanthidae, Carangidae, Pomacentridae e Serranidae foram coletadas com deformidades e trato digestório destruído. Neste relatório apresentamos registros de pós-larvas da família Gerreidae, evidenciando a persistência do efeito da lama de rejeito ao longo do desenvolvimento larval. Contaminantes tóxicos, como os níveis elevados de metais, representam um potencial estressor das assembleias de larvas de peixes, como já registrado para a região marinha do estuário do Rio Doce e Costa das Algas (BONECKER et al., 2022). Nesses locais, pós-larvas de Sciaenidae, Tetraodontidae, Monacanthidae, Carangidae, Pomacentridae e Serranidae foram coletadas com deformidades e trato digestório destruído (RT-19H RRDM, 2019). Níveis elevados de metais na área marinha do Rio Doce também induziram respostas negativas na comunidade zooplânctônica, com perda de diversidade e aumento na abundância de espécies oportunistas (RRDM – RT39, 2022). Em relatórios anteriores foram apresentadas pós-larvas das famílias Monacanthidae (i.e., *Catherhines pullus*) e Gerreidae, assim como ovos não identificados, com lama aderida à superfície, corroborando os efeitos encontrados para o Ictioplâncton, evidenciando a persistência do efeito da lama de rejeito ao longo do desenvolvimento larval (RRDM – RT39, 2022).

Figura 15: Ordenação de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais amostradas nas regiões marinhas da zona Impacto (Rio Doce), Controle 1 (rio Piraquê-Açú), Controle 2 (rio São Mateus) e Controle 3 (rio Mucuri) ao longo do período de amostragem - dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), (e) fevereiro/2021, (f) abril/2021, (g) julho 2021, (h) dezembro/2021, (i) março/2022 e (j) maio/2022, indicando a contribuição de cada variável (Cont.Var) para a ordenação das amostras. Códigos: Temperatura superficial da água (sst), Clorofila (clo), claridade da água (KD490), Salinidade (sal), Oxigênio dissolvido (oxi), Turbidez (turb), Intensidade corrente (corr), Altura de onda (onda), Iluminação da lua (lua), Pressão atmosférica (atm) e Intensidade vento (vento).



A análise de componentes principais (PCA) indicou que a variável mais representativa na zona de impacto foi a claridade da água (KD490) ou da turbidez (PSU). Nos locais de controle, as variáveis mais representativas foram temperatura superficial da água e salinidade. Os resultados do local Impacto foram ocasionados principalmente pelo registro de altos valores de turbidez e/ou partículas em suspensão na água, medida pela claridade da água (KD490), indicando o contínuo aporte de lama de rejeito ao sistema costeiro ao longo dos anos de monitoramento. A turbidez é relevante no monitoramento ambiental, já que faz o papel de indicador de poluição, pois o aporte fluvial e a variação da maré podem deslocar sedimentos de locais próximos.

Figura 16: Ordenação de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da composição e abundância de espécies de pós-larvas de peixes baseado na matriz de similaridade de Bray-Curtis, com as correlações (r^2) significativas (envfit, $p < 0,01$) das variáveis ambientais (linha pontilhada) e espécies (linha sólida) com os eixos da ordenação para dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), fevereiro/2021 (e), abril/2021 (f), julho/2021 (g), dezembro 2021 (h), março 2022 (i), maio 2022 (j). A elipse representa um intervalo de confiança de 95% (distribuição (t) dos dados) para cada uma das zonas marinhas de coleta (I= Rio Doce, C1= rio Piraquê-Açu, C2= rio São Mateus e C3= rio Mucuri). Códigos ambientais: lua=porção iluminada da lua, atm= pressão, sal=salinidade, corr= velocidade corrente, oxi= oxigênio dissolvido, mare= amplitude de variação da maré no período de coleta, turb= turbidez, vento= velocidade vento. Códigos das espécies: abusax = *Abudefduf saxatilis*, acansp = *Acanthurus* sp., alusch = *Aluterus schoepfi*, anarsp = *Anarchopterus* sp., athbra = *Atherinella brasiliensis*, botoce= *Bothus ocellatus*, canmac = *Cantherhines macrocerus*, carbart = *Carangoides bartholomaei*, carhip = *Caranx hippos*, chlchr = *Chloroscombrus chysurus*, cluspp= Clupeidae spp., corbat = *Corvula batabana*, elepis = *Eleotris pisonis*, engspp = Engraulidae spp., etrocro = *Etropus crossotus*, gerspp= Gerreidae spp., hyppse = *Hyleurochilus pseudoaequipinnis*, hypssp = *Hyporhamphus* sp., lutjsp = *Lutjanus* sp., lutjoc = *Lutjanus jocu*, lutgri = *Lutjanus griseus*, Macanc = , macrodon ancydon, mugisp = *Mugil* sp., olisau = *Oligoplites saurus*, ortcry = *Orthopristis chrysoptera*, polvir = *Polydactylus virginicus*, pompar = *Pomacanthus paru*, priors = *Prionotus roseus*, pripun= *Prionotus punctatus*.



As ordenações nMDS realizadas evidenciaram as diferenças na composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos nas localidades amostradas, revelando alta variabilidade espaço- temporal na região de monitoramento. A presença e abundância das espécies de pós-larvas repetiu o mesmo padrão apresentado nos relatórios anteriores, sendo maiores durante os meses mais quentes e reflexo da intensa atividade reprodutiva da maioria das espécies amostradas. Além disso, os resultados obtidos indicam que em períodos e condições específicas (ex., baixa energia de ondas e reduzida turbidez) a área marinha adjacente ao Rio Doce ainda pode sustentar assembleias de pós-larva de peixes similar às zonas controles, porém vulnerável aos eventos de ressuspensão de sedimento que são recorrentes dessa região. Por fim, a ocorrência das famílias Clupeidae, Engraulidae e Gerreidae contribuem com a similaridade entre as amostras por serem comuns entre as áreas estudadas.

Tabela 13: Abundância total por espécie (taxa) de pós-larvas de peixe capturada com armadilha de luz nas referidas zonas (ABR= Arquipélago dos Abrolhos, PAB= Parcel dos Abrolhos, CA= Cassurubá e PP= Parcel das Paredes) e períodos de amostragem (janeiro/2019, agosto/2019, março 2020, janeiro/2021 e janeiro/2022).

Família	Espécies	ABR	CA	PAB	PP	TOTAL	jan/19	ago/19	mar/20	jan/21	jan/22	TOTAL
Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>	2	3	1	38	44	44					44
	<i>Acanthurus coeruleus</i>			3	4	7		3	3	1		7
Apogonidae	<i>Apogon</i> sp.				1	1				1		1
	Apogonidae spp.				1	1				1		1
	<i>Astrapogon puncticulatus</i>	92	4	70		166	100	1	1	64	15	181
	<i>Astrapogon stellatus</i>	1				1				1		1
Atherinopsidae	<i>Atherinopsidae</i> spp.	1				1		1				1
	<i>Atherinella brasiliensis</i>	1	1			2					2	2
Blenniidae	Blenniidae spp.	16		5	1	22				12	10	22
	<i>Hypleurochilus</i> sp.				1	1				1		1
	<i>Omobranchus punctatus</i>	1				1			1			1
	<i>Parablennius marmoreus</i>	25	7	2	2	36	18		2	15	1	36
	<i>Scartella cristata</i>	42	2			44	17		2	7	18	44
Bothidae	<i>Bothus ocellatus</i>	1			2	3				3		3
	<i>Bothus</i> sp.				1	1				1		1
Carangidae	<i>Carangoides bartholomaei</i>		20	31	46	104	38	31	25	9	1	104
	<i>Caranx crysos</i>	10	4	19	13	46	20		25		1	46
	<i>Caranx latus</i>	15	1		4	20	15	3		2		20
	<i>Caranx ruber</i>	2		2	5	9	1	6		2		9
	<i>Caranx</i> sp.	1				1			1			1
	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	2	5	1	13	21	2	7	6	4	2	21
	<i>Decapterus macarellus</i>	23		114	6	143	18	1	29	5		53
	<i>Decapterus punctatus</i>	17		38	1	56	55	1				56
Carangidae	<i>Elagatis bipinnulata</i>		1			1				1		1

Família	Espécies	ABR	CA	PAB	PP	TOTAL	jan/19	ago/19	mar/20	jan/21	jan/22	TOTAL
	<i>Selar crumenophthalmus</i>			2		2		2				2
	<i>Trachurus lathami</i>	3				3	3					3
Clupeidae	Clupeidae spp.	8873	15931	2148	3026	29978	20747	788	291	7632	81	29758
	<i>Harengula clupeola</i>	3	1			4	1				3	4
Coryphaenidae	<i>Coryphaena hippurus</i>	1				1	1					1
Cynoglossidae	<i>Symphurus plagusia</i>	1	1			2				2		2
Dactylopteridae	<i>Dactylopterus volitans</i>	2		2		4	1	2			1	4
Engraulidae	<i>Anchoa lyolepis</i>	12	52	0	372	436	0	387	3		46	436
	<i>Anchoviella lepidentostole</i>		1			1					1	1
	Engraulidae spp.	138	837	244	1133	2352	992	1111	38	211	13	2365
Fistulariidae	<i>Fistularia tabacaria</i>			1		1					1	1
Gerreidae	Gerreidae spp.	337	101	75	103	616	339	99	23	155	73	689
Gobiesocidae	<i>Tomicodon australis</i>	2				2			2			2
Gobiidae	<i>Microgobius meeki</i>		1			1	1					1
Haemulidae	<i>Anisotremus virginicus</i>	1		1		2	2					2
	Haemulidae spp.	8				8			1	7		8
	<i>Haemulon aurolineatum</i>	5				5				5		5
	<i>Haemulon parra</i>	4		3		7			1	6		7
	<i>Haemulon plumieri</i>			4		4				4		4
	<i>Haemulon</i> sp.	87		10		97	24			72	1	97
Hemiramphidae	<i>Hemiramphus brasiliensis</i>	1	1		3	5	3				2	5
	<i>Hyporhamphus roberti</i>	1		2		3	2			1		3
	<i>Hyporhamphus</i> sp.		1			1					1	1
	<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>				2	2		1		1		2
Holocentridae	<i>Holocentrus adscensionis</i>			5		5	2				1	3
Labridae	<i>Halichoeres poeyi</i>	10	7	56		73	1			72		73

Família	Espécies	ABR	CA	PAB	PP	TOTAL	jan/19	ago/19	mar/20	jan/21	jan/22	TOTAL
	<i>Halichoeres</i> sp.	2				2				2		2
Labrisomidae	<i>Gobioclinus guppyi</i>	2				2	2					2
	<i>Gobioclinus kalisherae</i>	1	1	2	5	9				9		9
	Labrisomidae spp.	1	2	2		5					5	5
	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	5	7	5	9	26	6	3		15	2	26
	<i>Labrisomus</i> sp.			2		2					2	2
	<i>Malacoctenus</i> sp.	1				1	1					2
	<i>Malacoctenus triangulatus</i>	2	3	11	2	16			17			17
	<i>Malacoctenus zaluari</i>	1	5	1	2	9				9		9
Lutjanidae	<i>Lutjanus alexandrei</i>	4		26		30	3	2	25			30
	<i>Lutjanus analis</i>	96	2	9		107	98			9		107
	<i>Lutjanus cyanopterus</i>	111	1	57	3	172	169	2			1	172
	<i>Lutjanus jocu</i>	173	8	72		253	232			21		253
	<i>Lutjanus</i> sp.	3		20		23	20	1		2		23
	<i>Lutjanus synagris</i>	50		8		58	56			2		58
	<i>Ocyurus chrysurus</i>	60	25	26	1	112	74		11	27		112
Monacanthidae	<i>Aluterus monóceros</i>				1	1	1					1
	<i>Stephanolepis hispidus</i>	62	8	5	7	82	12	7	5	64		88
Mugilidae	<i>Mugil curema</i>			1		1			1			1
	<i>Mugil</i> sp.		10	2	12	24	1	8		4	11	24
Mullidae	Mullidae spp.				8	8		8				8
	<i>Mulloidichthys martinicus</i>	1	20			21	20	1				21
Mullidae	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	1	17		1	19	17	1		1		19
	<i>Upeneus parvus</i>	3	6	1	6	16	6	1				7
Muraenidae	<i>Gymnothorax</i> sp.	2				2				2		2
Ogcocephalidae	<i>Ogcocephalus vespertilio</i>	1				1			1			1

Família	Espécies	ABR	CA	PAB	PP	TOTAL	jan/19	ago/19	mar/20	jan/21	jan/22	TOTAL
Ophichthidae	<i>Ahlia egmontis</i>	2		4	1	7		2	3	2		7
Paralichthyidae	<i>Citharichthys</i> sp.	2	3			5					5	5
	<i>Etropus crossotus</i>				1	1				1		1
	Paralichthidae spp.		7			7					7	7
Polynemidae	<i>Polydactylus virginicus</i>	35	5	23	39	102	1	47	35	4	15	102
Pristigasteridae	<i>Chirocentrodon bleekermanus</i>	29	1		4	34					34	34
	<i>Pellona harroweri</i>		1			1					1	1
Pomacentridae	<i>Abudefduf saxatilis</i>	5	6	6	9	26	1		16	7	2	26
	Pomacentridae spp.	1				1				1		1
	<i>Stegastes fuscus</i>	13		21		34	28			6		34
	<i>Stegastes pictus</i>	44		6		50	32			17	1	50
	<i>Stegastes</i> sp.	14		7	1	22				22		22
	<i>Stegastes variabilis</i>	319	4	45	6	374	185			186	3	374
Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>			11		11	11					11
	<i>Sarda sarda</i>	1				1		1				1
	<i>Scomberomorus brasiliensis</i>	30	29	27	1	87	85	2				87
	<i>Scomberomorus cavala</i>	2	4	1	5	12	8	1		3		12
	<i>Scomberomorus regalis</i>			1		1	1					1
Sciaenidae	Sciaenidae spp.				1	1					1	1
Serranidae	<i>Rypticus</i> sp.				1	1					1	1
Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>		1			1					1	1
	<i>Scorpaena</i> sp.	1			1	2				1	1	2
	Scorpaenidae spp.		3			3	2				1	3
Sparidae	<i>Archosargus probatocephalus</i>	11		2		13				13		13
	<i>Calamus penna</i>	14		6		20	20					20
	<i>Calamus</i> sp.	1		1		2					2	2

Família	Espécies	ABR	CA	PAB	PP	TOTAL	jan/19	ago/19	mar/20	jan/21	jan/22	TOTAL
	Sparidae spp.	19				19				19		19
Sphyraenidae	<i>Sphyraena barracuda</i>	3		4		7	3		1	3		7
	<i>Sphyraena guachancho</i>			3		3	3					3
Syngnathidae	<i>Anarchopterus criniger</i>	1				1				1		1
	<i>Hippocampus reidi</i>		2			2	1			1		2
	<i>Micrognathus crinitus</i>				1	1	1					1
Synodontidae	<i>Saurida</i> sp.	2				2				2		2
	Synodontidae spp.	9	1			10		1		9		10
	<i>Synodus foetens</i>	43	23	12	2	80	43	23	7	7		80
	<i>Synodus intermedius</i>	1		5		6	2		4			6
	<i>Synodus poeyi</i>	1				1				1		1
	<i>Synodus</i> sp.	2		3		5	5					5
	<i>Synodus synodus</i>	2				2	2					2
	<i>Trachinocephalus myops</i>	4		7	2	13	1	1		2		4
Tetraodontidae	<i>Sphoeroides</i> sp.	1		1		2					2	2
	<i>Sphoeroides spengleri</i>	2	3	6	1	12	2	1	8	1		12
Tripterygiidae	<i>Enneanectes altivelis</i>				28	28				28		28
	<i>Enneanectes</i> sp.				1	1			1			1
Uranoscopidae	<i>Astroscopus y-graecum</i>		1			1		1				1
	Não ID	1	2	1	4	8				8	1	9
	Abundância Total	10945	17193	3292	4944	36372	23882	2558	589	8530	373	34653
	Riqueza	90	56	69	57	124	69	43	39	70	45	124

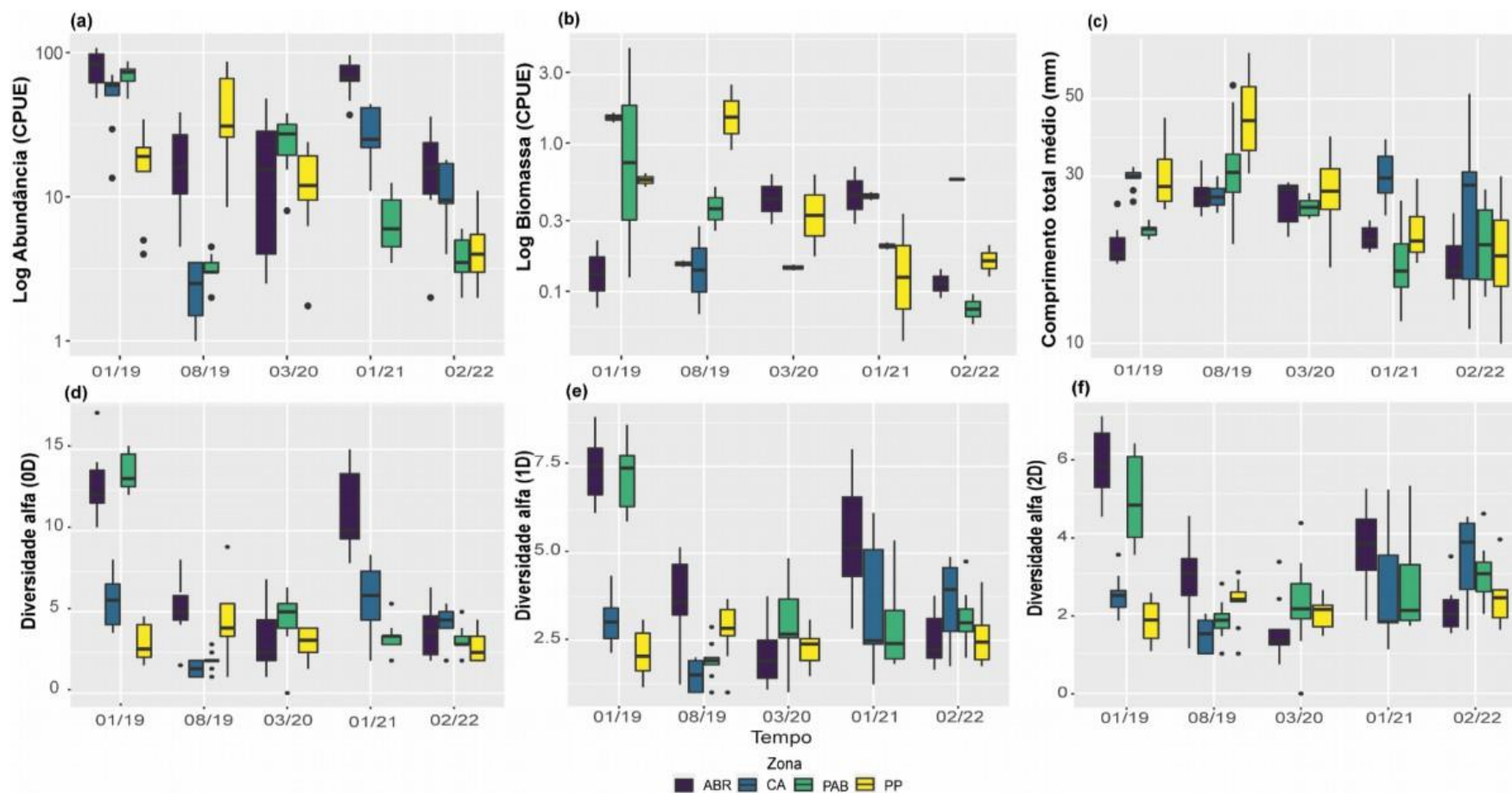
Com a integração do ano 4 aos dados de monitoramento, o total de táxons registrados até o momento é de 124 espécies, distribuídas entre 42 famílias. Nos recifes costeiros de Cassurubá se capturaram as maiores quantidades de pós-larvas (17.193), enquanto as menores abundâncias foram observadas no Parcel de abrolhos (3.292). Por outro lado, a maior riqueza de espécies foi registrada nas ilhas de Abrolhos (90), enquanto a menor riqueza foi observada em Cassurubá (56). Temporalmente as maiores capturas ocorreram no Ano 1 (01/19) e as menores no Ano 4 (01/22), sendo o Ano 3 o período em que se capturou o maior número de espécies de pós-larvas (70) e, o ano 2, o menor entre eles. As famílias mais abundantes foram Clupeidae e Engraulidae, sendo mais frequentemente coletadas no Parcel das Paredes e no Parcel dos Abrolhos. Adicionalmente, as famílias Lutjanidae, Gerreidae, Pomacentridae, Carangidae e Scombridae estiveram dentre as mais abundantes, onde a maioria dos seus exemplares foram capturados em Abrolhos.

Tabela 14: Resultado da análise de variância por permutação entre as zonas (ABR= Arquipélago dos Abrolhos, PAB= Parcel dos Abrolhos, CA= Cassurubá e PP= Parcel das Paredes) e períodos (tempo) de amostragem (janeiro/2019, agosto /2019, março/2020, janeiro/2021, janeiro/2022) baseadas em matrizes de similaridade de Bray-Curtis da abundância total $[\log(x+1)]$, biomassa total $[\log(x+1)]$ e comprimento total, composição de espécies, diversidade alfa (0D, 1D e 2D) de pós-larvas de peixes coletadas nos ambientes recifais. Fatores: Tempo (cinco níveis, aleatório); Zona (Fixo, ortogonal com o tempo, quatro níveis). Códigos adicionais; Pseudo-F = estatística F por permutações. Valores significativos ($P < 0,05$) em negrito.

Fonte de Variação	GL	Abundância		Biomassa		Comprimento		Composição		Diversidade ⁰ D		Diversidade ¹ D		Diversidade ² D	
		Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P	Pseudo-F	P
Tempo = Te	5	30,937	0,001	49,541	0,001	43,498	0,001	30,973	0,001	27,001	0,001	10,586	0,001	10,106	0,001
Zona = Zo	4	1,0613	0,408	1,9757	0,149	1,9741	0,131	1,2055	0,303	1,3534	0,325	0,74658	0,596	0,61629	0,685
Te x Zo	9	11,995	0,001	36,228	0,001	7,1273	0,001	9,6744	0,001	12,745	0,001	4,4911	0,001	5,1894	0,001
Res	327														
Total	345														

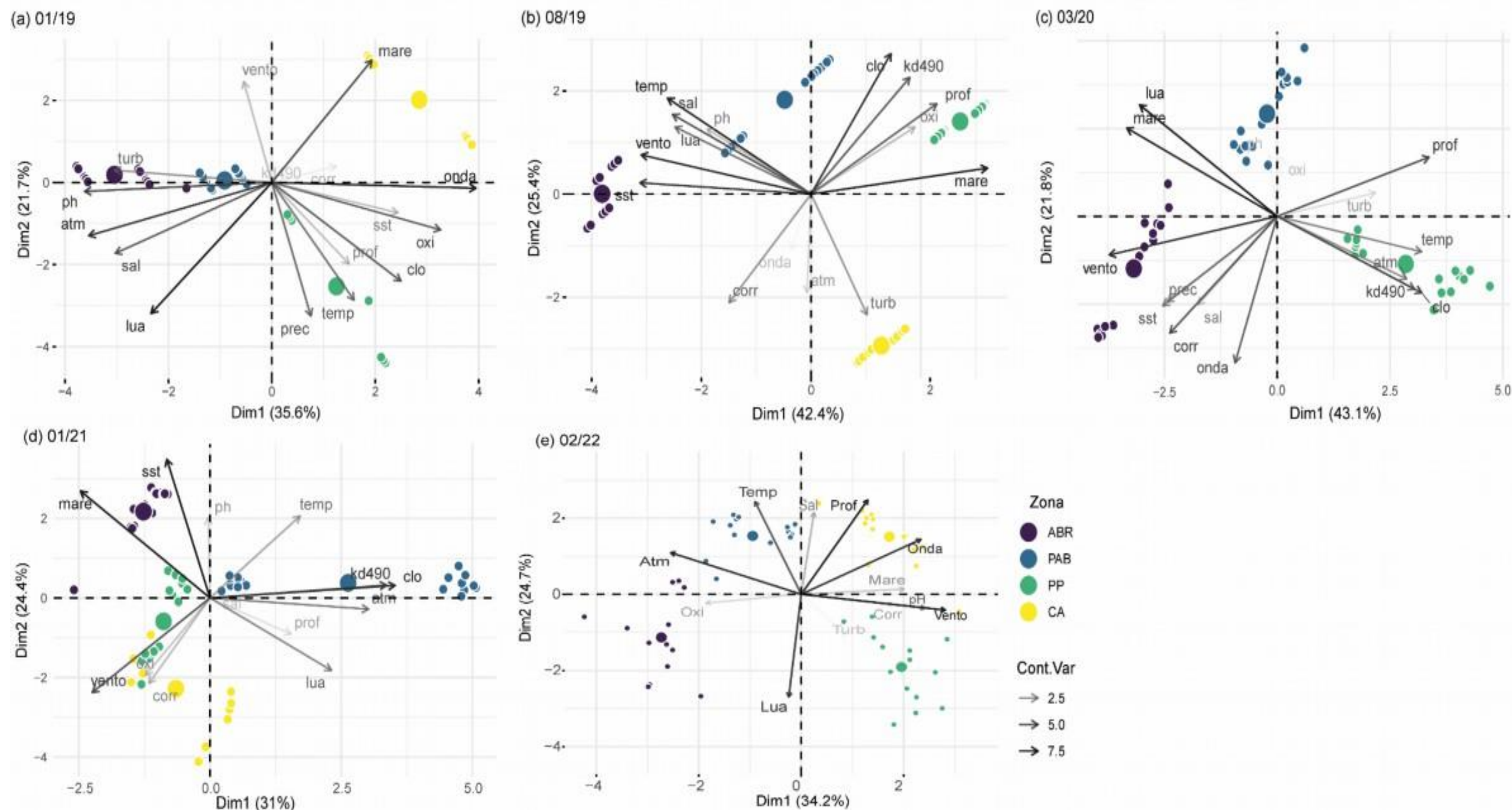
Todos os descritores ecológicos não apresentaram diferenças significativas entre as zonas, sendo significativos na interação zona x tempo (Te x Zo), indicando forte influência temporal nesses indicadores.

Figura 17: Abundância (a), Biomassa (b) e comprimento total (c), e valores de diversidade alfa representados pela ordem da diversidade: (d) 0D –abundâncias desconsideradas, maior representatividade de espécies raras; (e) 1D – Valores de diversidade verdadeira; (f) 2D– Maior peso para espécies dominantes. de pós-larvas de peixes por zona de pós-larvas de peixes por zona recifal (ABR= Arquipélago dos Abrolhos, PAB= Parcel dos Abrolhos, CA= Cassurubá e PP= Parcel das Paredes) e período (tempo) de amostragem (janeiro/2019, agosto/2019, março 2020, janeiro/2021, fevereiro/2022). CPUE= Captura por unidade de esforço.



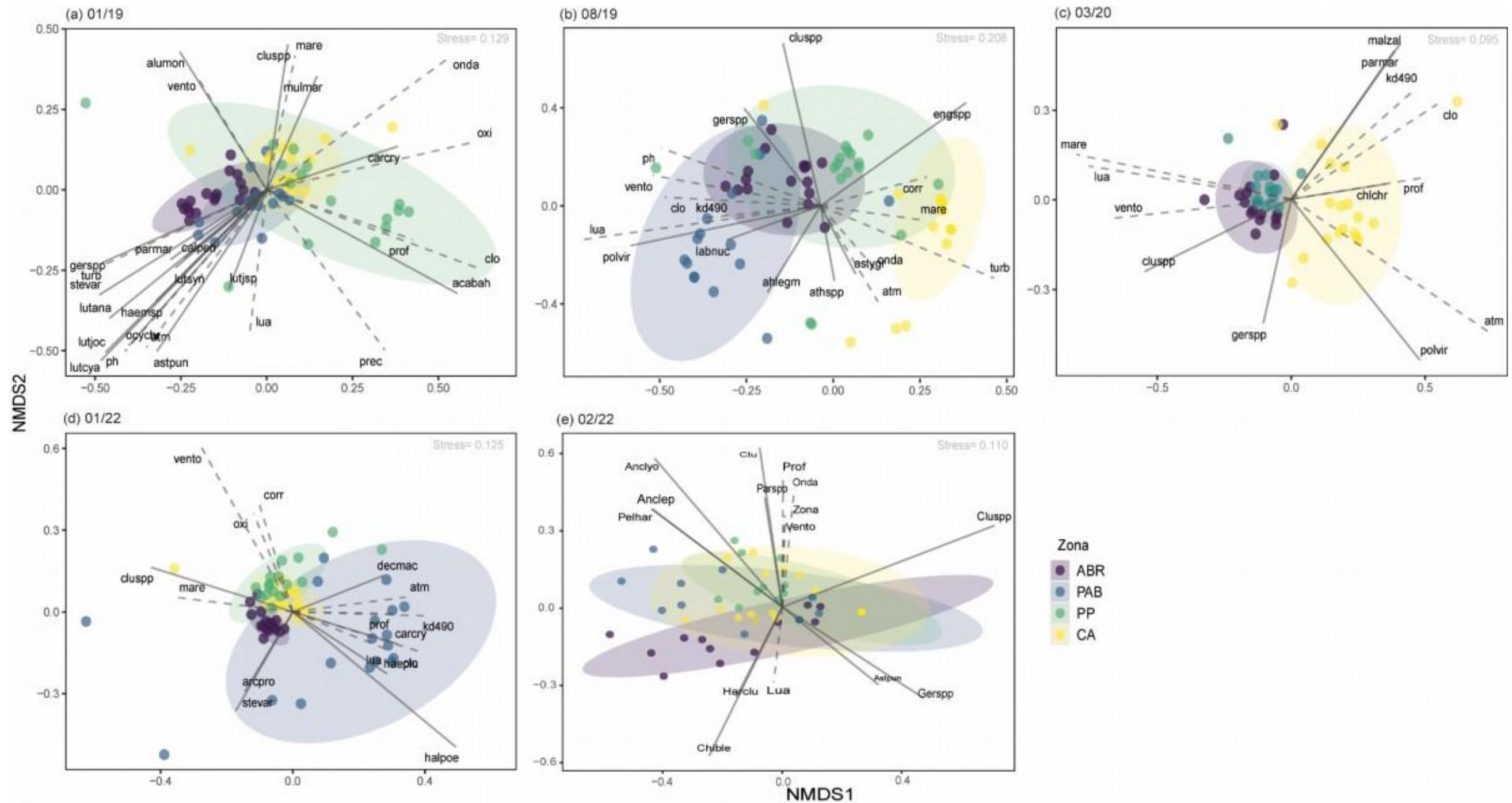
Os indicadores de abundância diversidade 1D e 2D registraram maiores valores no Ano 1 (01/19) no arquipélago em abrolhos, sendo também menores no Ano 1 (08/19) em Cassurubá. Os maiores valores de comprimento e biomassa foram registrados no Ano 1 para o Parcel de paredes, enquanto os menores foram registrados para Parcel dos abrolhos no Ano 3. Contudo, as diferenças entre os indicadores não foram significativas apenas em relação as zonas, sendo o fator tempo e a interação entre zona e tempo uma forte influência temporal na variação dos dados.

Figura 18: Ordenação de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais nas referidas zonas amostradas (ABR= Arquipélago dos Abrolhos, PAB= Parcel dos Abrolhos, CA= Cassurubá e PP= Parcel das Paredes) e períodos de amostragem (janeiro/2019, agosto/2019, março 2020, janeiro/2021 e janeiro/2022), indicando a contribuição de cada variável (Cont.Var) para a ordenação das amostras. Códigos: Temperatura superficial da água (sst), Clorofila (clo), claridade da água (KD490), Salinidade (sal), Oxigênio dissolvido (oxi), Turbidez (turb), Intensidade corrente (corr), Altura de onda (onda), Iluminação da lua (lua), Pressão atmosférica (atm) e Intensidade vento (vento).



Quanto as variáveis ambientais mensuradas, nos ambientes recifais foi possível observar uma separação espacial constante ao longo dos anos, e que manteve no monitoramento do ano 4, onde as zonas mais costeiras (PP - Parcel das Paredes e CA - recifes de Cassurubá) sofrem maior influência de variáveis como turbidez, maré, claridade da água (KD490) e oxigênio dissolvido, se assemelhando mais entre si que com as demais localidades mais distantes da costa, Parcel dos Abrolhos (PAB) e Arquipélago dos Abrolhos (ABR).

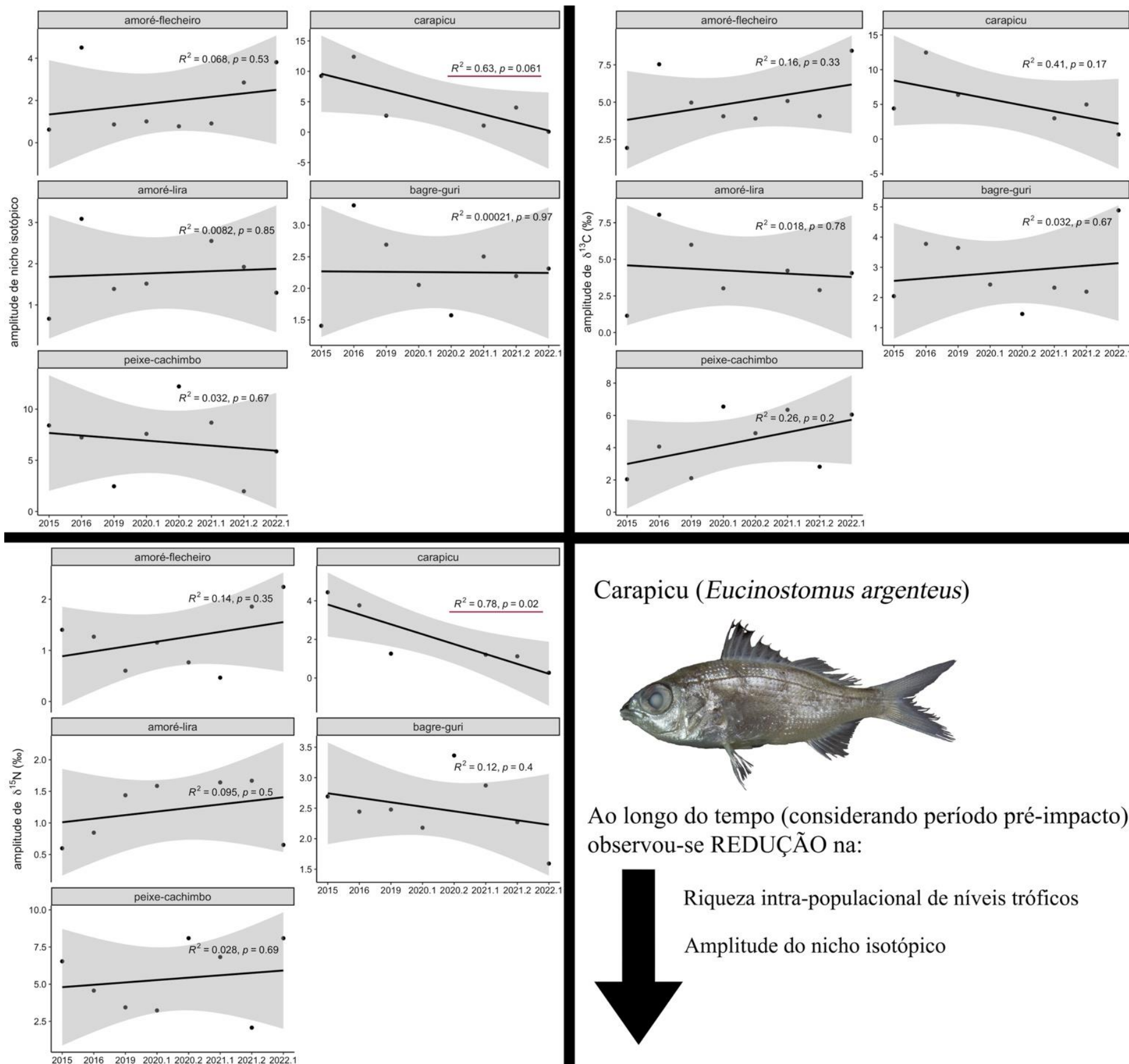
Figura 19: Ordenação de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da composição de espécies de pós-larvas de peixes baseado na matriz de similaridade de Bray-Curtis (abundância (Log(x+1))), com as correlações (r²) significativas (envfit, p<0,05) das variáveis ambientais (linha pontilhada) e espécies (linha sólida) com os eixos da ordenação, para janeiro/2019 (a), agosto/2019 (b), março/2020 (c), janeiro/21, (d) janeiro/22. A elipse representa o intervalo de confiança de 95% da distribuição (t) dos dados para cada uma das zonas de coleta (ABR= Arquipélago de Abrolhos, PAB= Parcel dos Abrolhos, CA= Cassurubá e PP= Parcel das Paredes). Códigos ambientais: lua= porção iluminada da lua, temp= temperatura, turb= turbidez, vento= velocidade vento. Códigos espécies: acabah= *Acanthurus bahianus*, ahlegm = *Ahlia egmontis*, alumon= *Aluterus monoceros*, arcpro = *Archosargus probatocephalus*, aspun= *Astrapogon punctulatus*, astygr = *Astroscoptes y-graecum*, calpen= *Calamus penna*, carcry= *Caranx crysos*, chlchr= *Chloroscombrus chrysurus*, cluspp= *Clupeidae spp.*, decmac = *Decapterus macarellus*, engspp= *Engraulidae spp.*, gerspp= *Gerreidae spp.*, haemsp= *Haemulon sp.*, haeplu = *Haemulon plumieri*, halpoe = *Halichoeres poyei*, labnuc = *Labrisomus nuchipinnis*, lutana= *Lutjanus analis*, lutcyu= *Lutjanus cyanopterus*, lutjoc= *Lutjanus jocu*, lutsyn= *Lutjanus synagris*, lutjsp= *Lutjanus sp.*, ocychr= *Ocyurus chrysurus*, parmar= *Parablennius marmoratus*, malzal = *Malacoctenus zualari*, mulmar = *Mulloidichthys martinicus*, polvir= *Polydactylus virginicus*, stevar= *Stegastes variabilis*.



A Análise de Escalonamento Multidimensional (NMDS) realizada evidenciou as diferenças na composição de espécies nas localidades amostradas, revelando alta variabilidade espaço temporal na região de monitoramento. A presença e abundância das espécies de pós-larvas repetiu o mesmo padrão apresentado no relatório anterior, apresentando uma maior homogeneidade entre áreas em detrimento da maioria das coletas serem realizadas nos meses quentes, onde há um maior número de pós-larvas utilizando essas áreas para a reprodução. Contudo, uma tendência espacial pode ser discretamente percebida em relação a assembleia de pós-larvas amostradas nos ambientes costeiros vs aquelas registradas mais distantes da costa, evidenciando um efeito cross-shore importante na estruturação das assembleias. Nesse sentido, as maiores diferenças na composição de espécies (taxa) foram observadas entre as zonas próximas (CA e PP) e distantes (ABR e PAB) da costa. Por fim, a alta representatividade das famílias Clupeidae, Engraulidae e Lutjanidae nas amostras ao longo dos anos contribuíram para a similaridade entre as amostras.

3.3 DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA

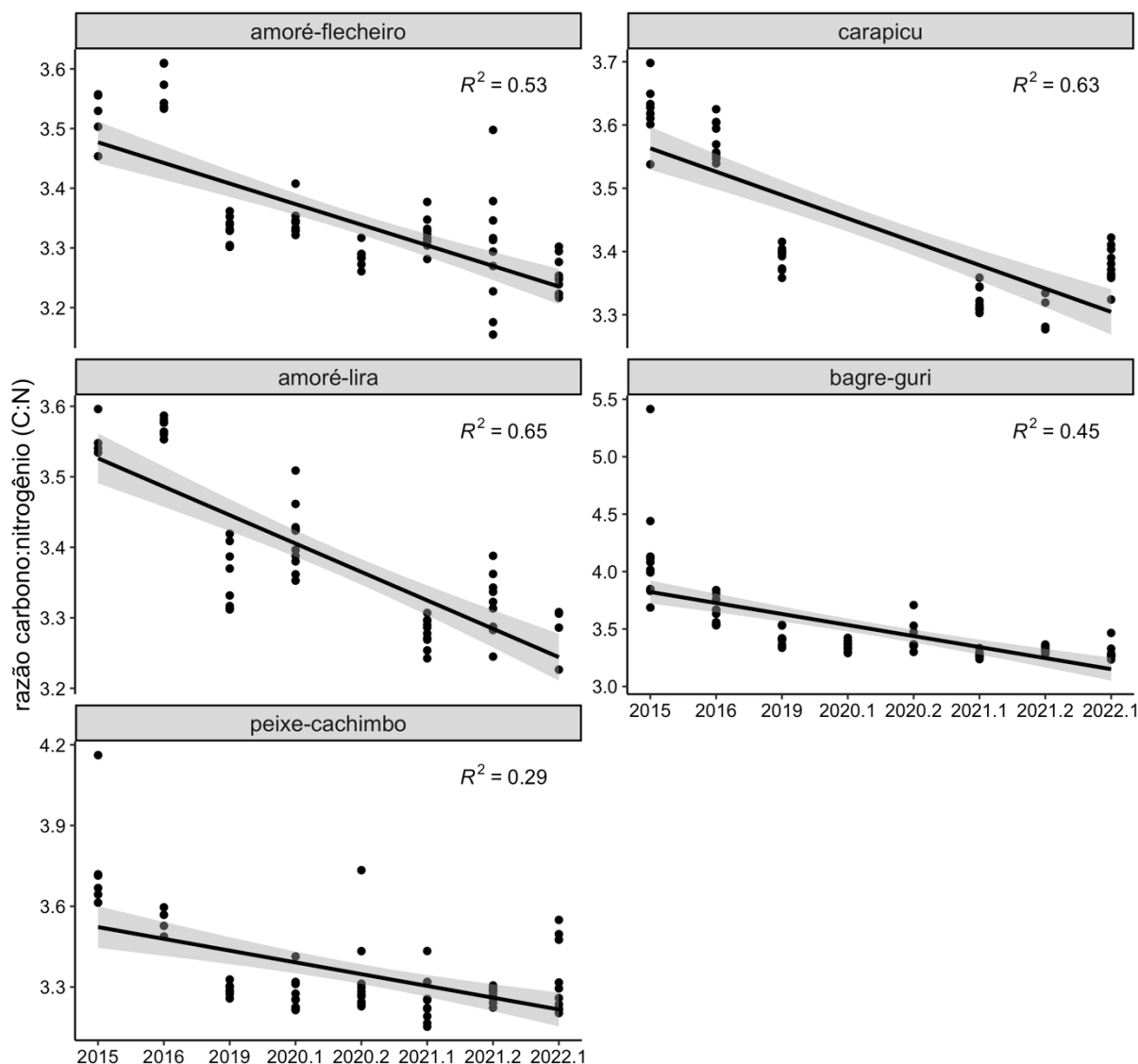
Figura 20: Amplitude dos descritores de diversidade isotópica [nicho isotópico (área da elipse corrigida), $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ de cinco espécies de peixes estuarinos do Rio Doce ao longo das campanhas.



Entre as seis espécies estuarinas monitoradas, o carapicu (*Eucinostomus argenteus*) apresentou tendência significativa (valores sublinhados de vermelho) de diminuição da amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ e do nicho isotópico, ainda que significância marginal para este último. As demais espécies não apresentaram padrões na evolução destes indicadores até o presente momento. O carapicu se alimenta geralmente de pequenos organismos presentes no sedimento, como poliquetas e moluscos (VASCONCELLOS et al., 2018). A fauna que vive no sedimento do estuário do Rio Doce foi afetada pelo rompimento da barragem e, consequente, contaminação de metais em escalas aguda e crônica (GOMES et al., 2017; COPPO et al., 2023). Por exemplo, vários táxons de poliquetas que habitavam o estuário do Rio Doce no período pré-impacto não foram registrados após a chegada da lama de rejeitos (GOMES et al., 2017). Portanto, a diminuição da amplitude do nicho e de níveis tróficos na população de carapicu pode estar relacionada à escassez dos recursos-alvo da espécie no estuário do Rio Doce.

3.4 CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS EM PEIXES

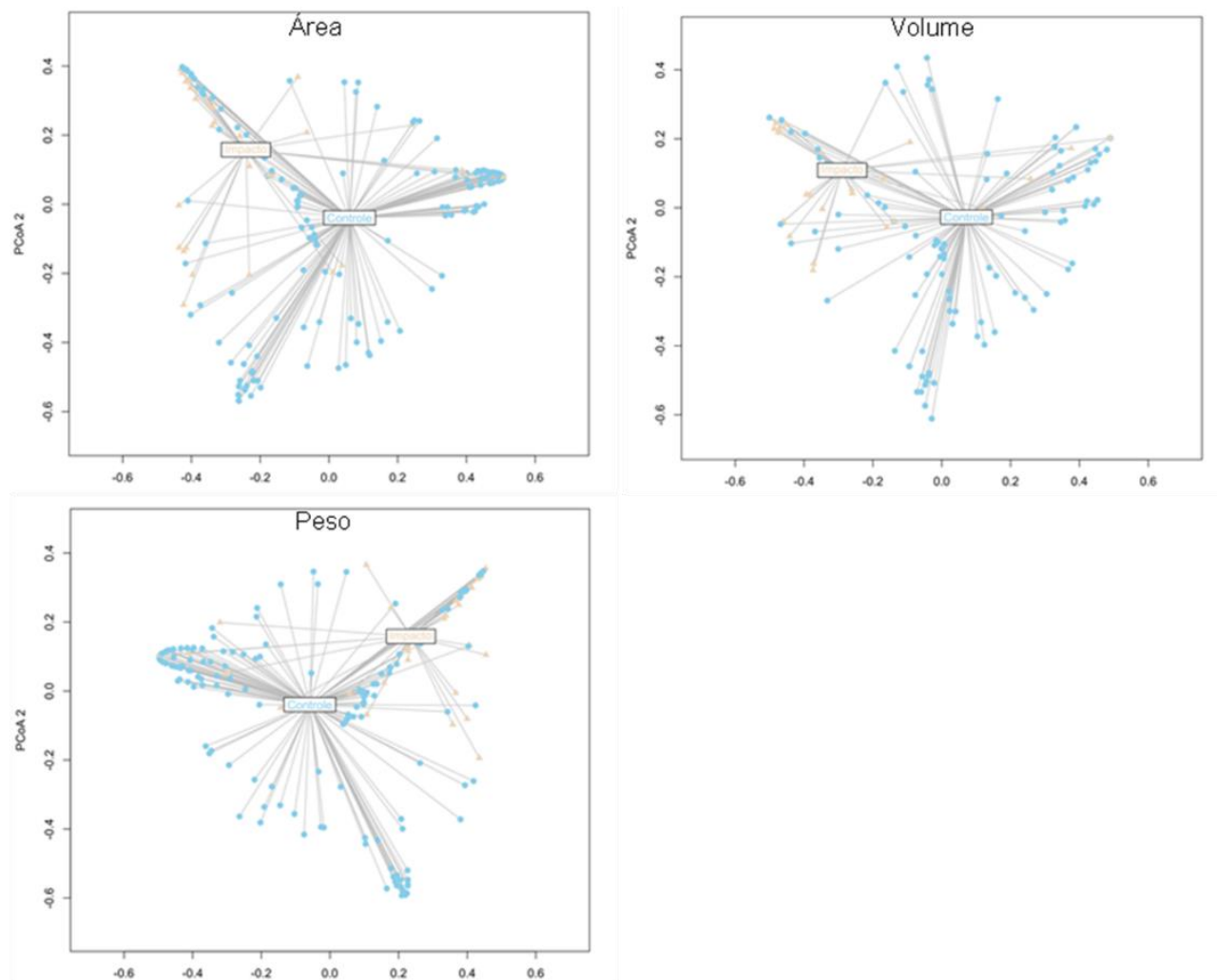
Figura 21: Regressões lineares da razão carbono: nitrogênio de cinco espécies de peixes estuarinos do Rio Doce ao longo das campanhas.



A razão C:N é um parâmetro bioquímico que serve como indicador da concentração de lipídeos em tecidos de peixes e outros animais. A razão carbono–nitrogênio (C:N) evidenciou um padrão uniforme entre as espécies ao longo das amostragens. As regressões lineares indicaram diminuição significativa ($p < 0,05$) das concentrações de lipídeos em função do tempo (i.e., amostragens, a qual pode estar associada a um efeito crônico do rompimento da barragem na estocagem de energia (lipídeos) pelos peixes. Isso pode ocorrer em função de menor disponibilidade de presas consideradas “ótimas” no estuário do Rio Doce ao longo do tempo.

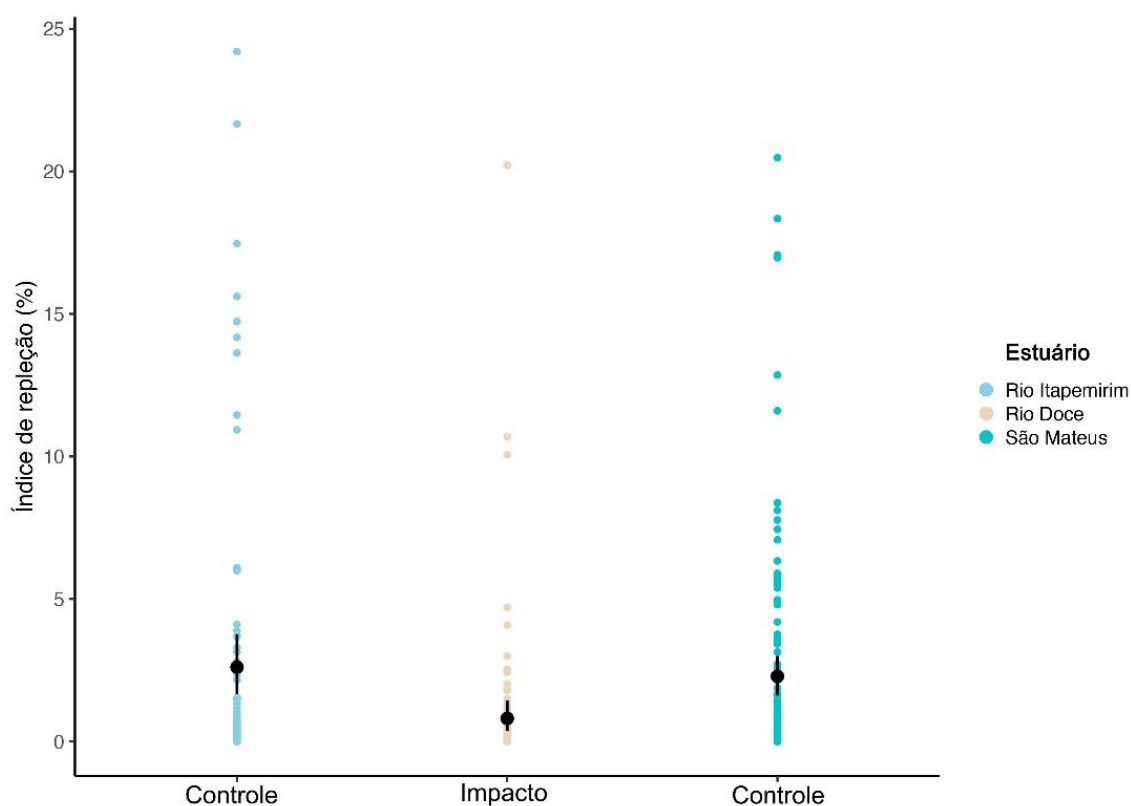
3.5 DIETA E CONDIÇÃO CORPORAL DE ESPÉCIES SENTINELAS

Figura 22: Amplitude do nicho alimentar baseado na dieta do bagre-guri (*Genidens genidens*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022.



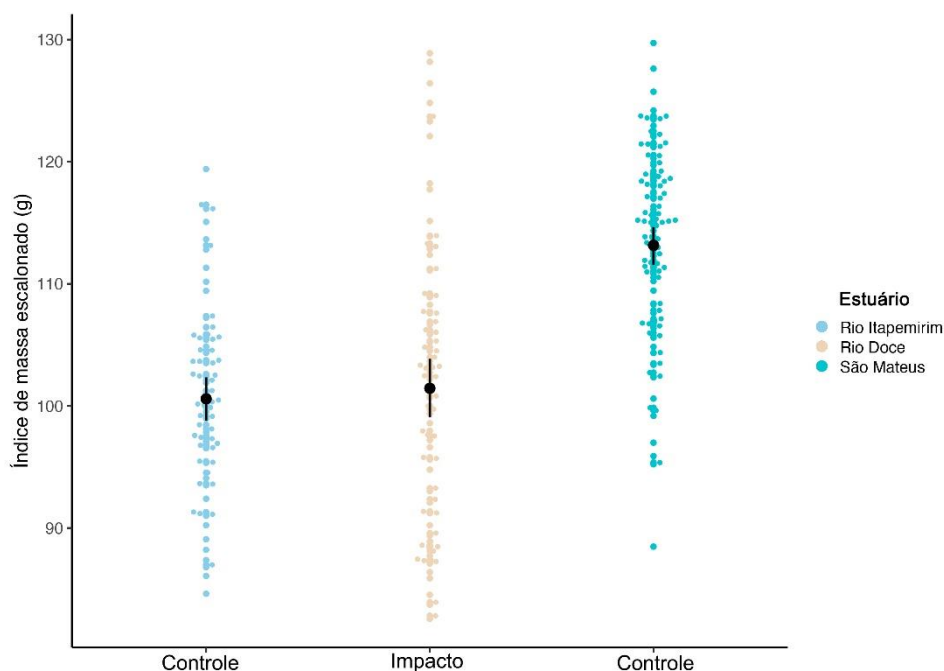
A composição da dieta do bagre-guri não variou significativamente entre o local impactado e os controles, seja considerando a área (PERMANOVA: $F = 2,120$; $P(\text{MC}) = 0,177$), o peso (PERMANOVA: $F = 2,265$; $P(\text{MC}) = 0,120$) ou o volume (PERMANOVA: $F = 2,481$; $P(\text{MC}) = 0,184$) das presas. No entanto, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) no local impactado foi significativamente menor do que nos controles, considerando a área (PERDISP: $F = 24,118$; $P = 0,0004$), o peso (PERDISP: $F = 20,74$; $P = 0,0002$) e o volume (PERDISP: $F = 55,577$; $P = 0,0002$) das presas consumidas. O presente resultado fornece evidências de uma dieta menos diversa no Rio Doce em comparação às áreas não afetadas pelos rejeitos de mineração.

Figura 23: Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do bagre-guri (*Genidens genidens*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022.



O Índice de repleção mede a quantidade de alimento no estômago de cada indivíduo, ponderada pela sua respectiva massa, e foi utilizado para investigar o potencial efeito da poluição por rejeitos de mineração na atividade alimentar de *G. genidens*. Apesar dos impactos do rompimento na disponibilidade de presas consumidas pela ictiofauna (GOMES et al., 2017; COPPO et al., 2023), não foi identificada diferença significativa no índice de repleção entre o Rio Doce e os controles (PERMANOVA: $F= 11,533$; $P(MC)= 0,183$, sugerindo que a intensidade alimentar de *G. genidens* neste período amostral não foi afetada de forma crônica pelo aporte de rejeitos. Além disso, não houve diferença significativa entre os controles (PERMANOVA: $F= 1,681$; $P(MC)= 0,200$). Somente a continuidade do monitoramento e a evolução deste parâmetro nos próximos anos e, consequentemente, o acúmulo de dados em diferentes anos indicará se, de fato, a atividade alimentar do bagre-guri não foi afetada pelo rompimento da barragem.

Figura 24: Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do bagre-guri (*Genidens genidens*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022.



O Índice de Massa Escalonado (IMS), que padroniza o comprimento dos indivíduos e ajusta suas massas com base em uma relação peso-comprimento (PEIG & GREEN, 2010), tem sido amplamente utilizado como indicador de condição corporal e de distúrbios antrópicos na saúde dos ecossistemas aquáticos e terrestres (e.g. BÓKONY et al., 2012; MACEDA-VEIGA et al., 2014; SEBASTIANO et al., 2021). Existem fortes evidências que a poluição e outros distúrbios humanos afetam negativamente a condição corporal dos indivíduos, incluindo desde peixes (MACEDA-VEIGA et al., 2014; PIERCE et al., 2020) até aves (SEBASTIANO et al., 2021) e mamíferos (WILLEMS et al., 2021). No presente estudo, porém, não foram identificadas diferenças significativas na condição do bagre-guri (*G. genidens*) entre o Rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA: $F = 0,247$; $P(MC) = 0,704$), considerando indivíduos coletados cerca de seis anos após o Rompimento da Barragem de Fundão. Por outro lado, houve diferença significativa no IMS entre os controles (PERMANOVA: $F = 83,764$; $P(MC) = 0,0002$), o que sugere que as condições ambientais locais (como vazão fluvial, aporte de nutrientes e produtividade primária e secundária) podem exercer uma maior influência sobre as reservas de energia (i.e., lipídios) e, portanto, o *fitness* dos indivíduos, do que os poluentes oriundos do rejeito.

3.6 ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA

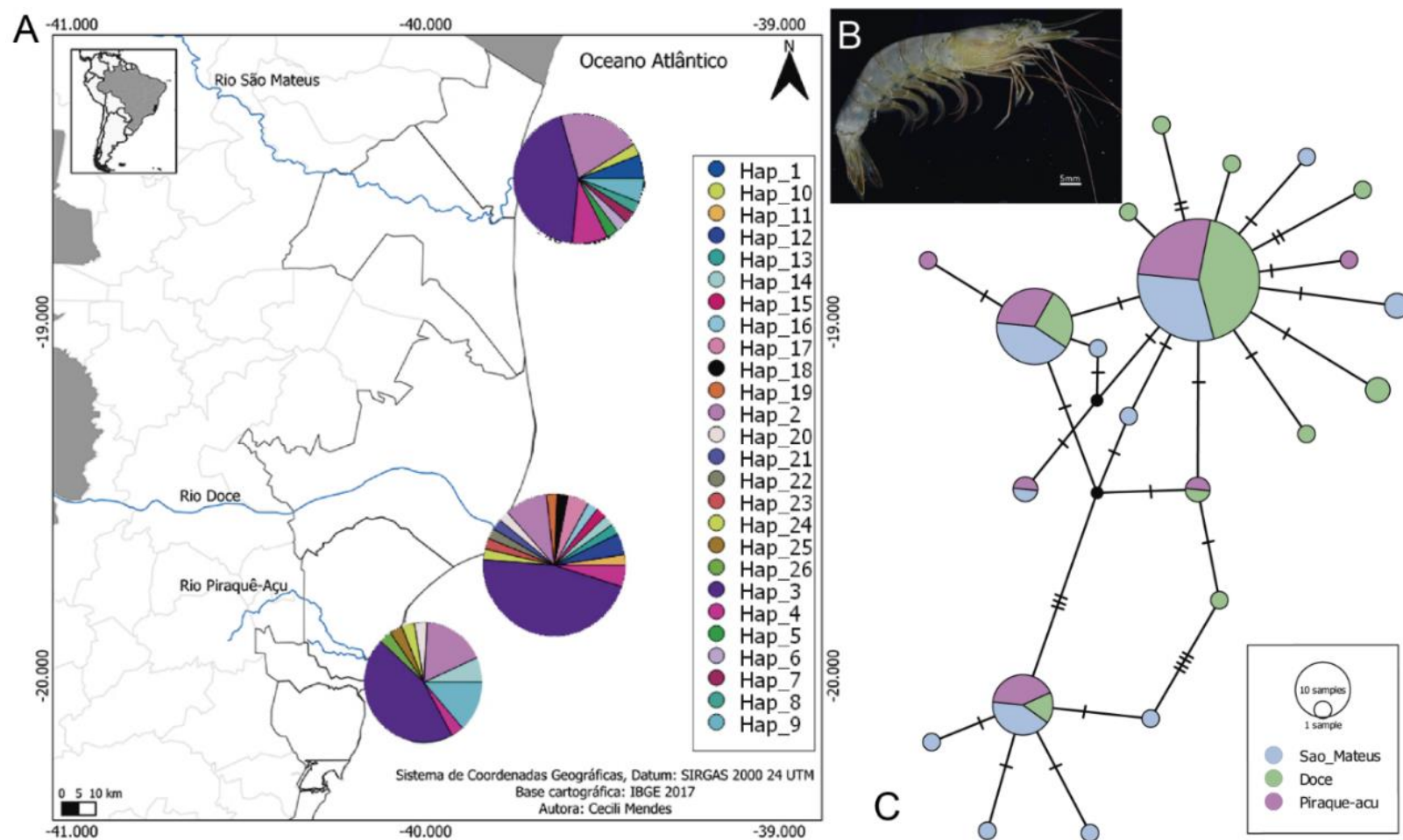
3.6.1 Crustáceos marinhos

Tabela 15: Número amostral, índices de diversidade molecular e teste de neutralidade para 103 indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* das três localidades de coleta (Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu) avaliados com o marcador molecular COI (656 pb). N = número de amostras; h = diversidade haplotípica; $\Theta\pi$ = estimativa do número médio de diferenças par a par entre sequências da mesma localidade, levando em conta o tamanho dos fragmentos.

	N	h	Número médio de diferenças par a par (π)	Diversidade nucleotídica	$\Theta\pi$	Fs de Fu
São Mateus	38	0,8028	2.842 +/- 1,531	0.0044 +/-0,0026	2,842	-26.40846*
Doce	37	0,7197	1.617 +/- 0,979	0.0025 +/-0,0017	1,471	-27.55320*
Piraquê-Açu	28	0,7377	2.127 +/- 1,220	0.0034 +/-0,0022	2,127	-1.21368

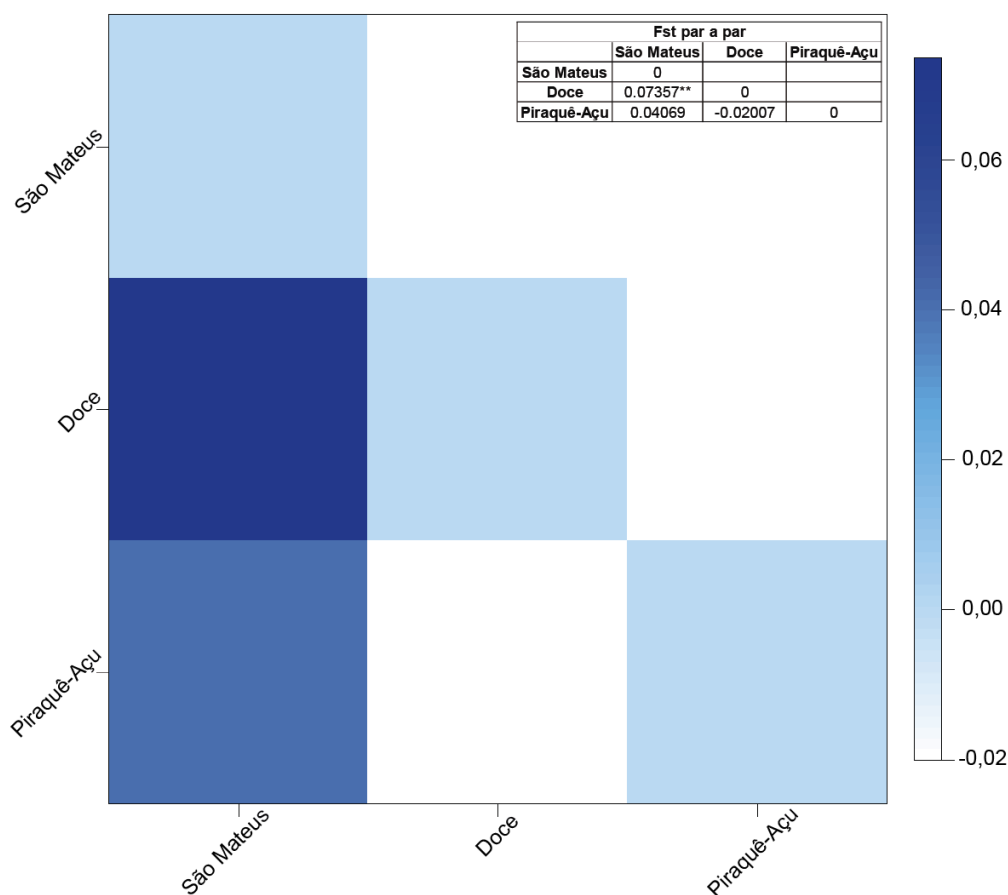
Os resultados demonstram valores de diversidade genética moderados, sendo o rio São Mateus a localidade que apresenta maiores valores de diversidade, enquanto o Rio Doce apresenta os valores mais baixos para todos os índices analisados. Os resultados do teste de neutralidade Fs de Fu apresenta valores negativos indicando expansão populacional recente nas localidades de São Mateus e Rio Doce, assim como indicado pelo padrão de estrela apresentado na rede de haplótipos da Figura 25. Asteriscos indicam valores estatisticamente significativos ($p < 0,005$).

Figura 25: Análise genética populacional de 103 amostras *Xiphopenaeus kroyeri* provenientes dos Rios São Mateus, Doce e Piraquê-Açu, avaliadas com o marcador molecular COI (656pb). A: mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos, diferentes cores representam os diferentes haplótipos B: imagem demonstrativa da espécie *X. kroyeri* adaptada a partir de Carvalho-Batista et al. 2019. C: rede de haplótipos.



É possível observar a presença de 31 haplótipos delimitados nas três localidades, ocorrendo a dominância de um mesmo haplótipo (haplótipo 3) em todas as localidades. Há três haplótipos comuns compartilhados entre os três rios avaliados (indicando presença de fluxo gênico) e presença de haplótipos únicos em todas as localidades. A rede haplotípica apresenta haplogrupos com formatos “de estrela” indicando recente expansão populacional, possivelmente após um evento de gargalo. Diferentes cores representam as diferentes localidades.

Figura 26: Valores de FST par a par calculados no software Arlequin a partir de 103 sequências parciais de COI de *Xiphopenaeus kroyeri* (656 pb).



As comparações com o rio São Mateus apresentam os maiores valores de FST indicando um maior isolamento genético desse rio, quando comparado aos Rios Doce e Piraquê-Açu. Este isolamento, entretanto, é apenas parcial, uma vez que os valores de FST foram baixos, indicando presença de fluxo gênico. A AMOVA apresenta a maior parte da variação genética dentro de cada localidade (96,60%), com apenas 3,4% da variação presente entre elas. Esse é um indicativo, juntamente com os baixos valores de FST e a rede de haplótipos, de que existe alto fluxo gênico entre as populações dos três rios. Asteriscos na tabela indicam significância estatística ($p < 0,001$). Intensidade de azul em cada quadrado refletem os valores de FST conforme escala lateral e evidenciam baixa estruturação genética.

3.6.2 Peixes estuarinos e recifais

Tabela 16: Médias dos índices de diversidade genética estimados para todas as populações das espécies estuarinas e recifais.

Número de amostras genotipadas (N), número de alelos (A), riqueza alélica (Ar), número de alelos efetivos (Ae), número de alelos privados (Ap), heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He), coeficiente de endogamia (Fis), tamanho populacional efetivo (Ne) e índice de Garza-Williamson (M-ratio). Caravelas = Estuário do rio Caravelas, São Mateus= Estuário do rio São Mateus, Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga, Doce: Estuário do Rio Doce. Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma; Área 4 = Marataizes e norte do Rio de Janeiro.

Espécies estuarinas					
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Pellona harroweri</i>	N	27	26	22	28
	A	6,29	7,29	6,14	7,00
	Ar	5,38	45052,00	45051,00	5,88
	Ae	3,41	3,54	4,03	3,38
	Ap	2,33	1,00	4,00	0,67
	Ho	0,61	0,7	0,64	0,66
	He	0,68	0,7	0,75	0,68
	Fis (95% IC)	0,11 (0,00 - 0,20)	0,00 (-0,10 - 0,11)	0,14 (0,01 - 0,25)	0,03 (-0,07 - 0,12)
	Ne (95% IC)	Inf. (59,2 - Inf.)	Inf. (61,8 - Inf.)	67,7 (18,7 - Inf.)	28,7 (16,3 - 70)
	M-ratio	0,23	0,22	0,20	0,20
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Lycengraulis grossidens</i>	N	19	26	23	30
	A	8,86	11,43	9,86	11,14
	Ar	7,31	8,63	4,52	8,57
	Ae	6,08	6,93	6,02	6,48
	Ap	3,57	2,43	0,29	2,43
	Ho	0,45	0,54	0,6	0,55
	He	0,75	0,79	0,76	0,79
	Fis (95% IC)	0,40 (0,26 - 0,53)	0,32 (0,23 - 0,41)	0,27 (0,11 - 0,30)	0,30 (0,21 - 0,38)
	Ne (95% IC)	Inf. (52,9 - Inf.)	37,4 (23,4 - 76,7)	175,4 (45,9 - Inf.)	12396 (92 - Inf.)
	M-ratio	0,17	0,28	0,35	0,31
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Trinectes paulistanus</i>	N	24	9	13	17
	A	6,18	3,82	5,36	5,45
	Ar	4,12	3,31	4,02	4,04
	Ae	3,91	3,35	3,41	3,41
	Ap	2,09	3,00	0,73	0,73
	Ho	0,5	0,51	0,55	0,57
	He	0,59	0,53	0,63	0,58
	Fis (95% IC)	0,15 (0,04 - 0,2)	0,02 (-0,18 - 0,17)	0,11 (-0,03 - 0,25)	0,01 (-0,09 - 0,10)
	Ne (95% IC)	87,5 (30 - Inf.)	36,1 (7,6 - Inf.)	239,7 (19 - Inf.)	33,6 (14,8 - 923,7)
	M-ratio	0,21	0,17	0,20	0,20
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Larimus breviceps</i>	N	28	30	30	30
	A	4,42	3,75	3,50	4,42
	Ar	3,70	3,20	3,00	3,90
	Ae	3,27	3,34	4,13	4,50
	Ap	0,67	0,17	0,67	2,08
	Ho	0,32	0,32	0,33	0,33

Espécies estuarinas					
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
	He	0,39	0,35	0,35	0,52
	Fis (95% IC)	0,06 (-0,05 - 0,18)	0,06 (-0,09 - 0,23)	0,19 (0,01 - 0,33)	0,36 (0,26 - 0,46)
	Ne (95% IC)	2,2 (1,8-2,6)	8,1 (4,9 -12,6)	13,7 (7,6-27,1)	2,1 (1,8-2,6)
	M-ratio	0,33	0,37	0,41	0,35
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Conodon nobilis</i>	N	31	29	30	30
	A	4,91	4,83	4,08	3,83
	Ar	4,63	4,70	3,94	3,70
	Ae	2,18	2,47	1,96	1,99
	Ap	1,00	1,00	0,42	0,50
	Ho	0,37	0,41	0,30	0,34
	He	0,40	0,53	0,34	0,36
	Fis (95% IC)	0,02 (0,11 - 0,30)	0,30(0,20 - 0,38)	0,27 (0,19 - 0,35)	0,03 (-0,07 - 0,12)
	Ne(95% IC)	138,3 (45,9-Inf)	54 (27,7-382,7)	70,9 (24,9-Inf)	23,3 (14,4-43,6)
	M-ratio	0,28	0,26	0,28	0,27
Espécie	Variável	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Isopisthus parvipinnis</i>	N	30	32	33	31
	A	4,64	4,91	5,64	4,91
	Ar	3,91	4,22	4,88	4,18
	Ae	1,73	2,22	2,74	2,47
	Ap	0,64	2,36	1,73	1,55
	Ho	0,17	0,25	0,22	0,25
	He	0,35	0,50	0,56	0,47
	Fis (95% IC)	0,52 (0,36 - 0,64)	0,49 (0,38 - 0,58)	0,61 (0,52 - 0,69)	0,47 (0,35 - 0,58)
	Ne (95% IC)	1,4 (1,1 - 1,6)	2 (1,6 - 2,6)	1,5 (1,3 - 1,7)	1,5 (1,3 - 1,8)
	M-ratio	0,34	0,32	0,36	0,35

Espécies recifais					
Espécie	Variável	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Lutjanus analis</i>	N	30	28	27	30
	A	6,6	8	9,2	8,6
	Ar	5,64	6,78	8,06	7,37
	Ae	3,28	4,21	5,56	5,24
	Ap	0,4	0,8	1,2	1,4
	Ho	0,74	0,77	0,71	0,79
	He	0,67	0,73	0,77	0,78
	Fis(95% IC)	-0,09 (-0,23 - 0,03)	-0,04 (-0,14 - 0,05)	0,08 (-0,00 - 0,17)	-0,01 (-0,11 - 0,09)
	Ne(95% IC)	5,1 (2,6 - 10)	24,6 (11,7 - 109,1)	51,9 (21,9 - Inf.)	25,9 (14,1 - 68,6)
	M-ratio	0,22	0,25	0,33	0,27
Espécie	Variável	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Cephalopholis fulva</i>	N	33	31	34	6
	A	5,67	4,67	4,33	2,67
	Ar	2,83	2,61	2,64	2,4
	Ae	2,51	2,48	2,52	2,21
	Ap	2,33	0,67	0,83	0
	Ho	0,45	0,35	0,43	0,47
	He	0,46	0,4	0,38	0,35

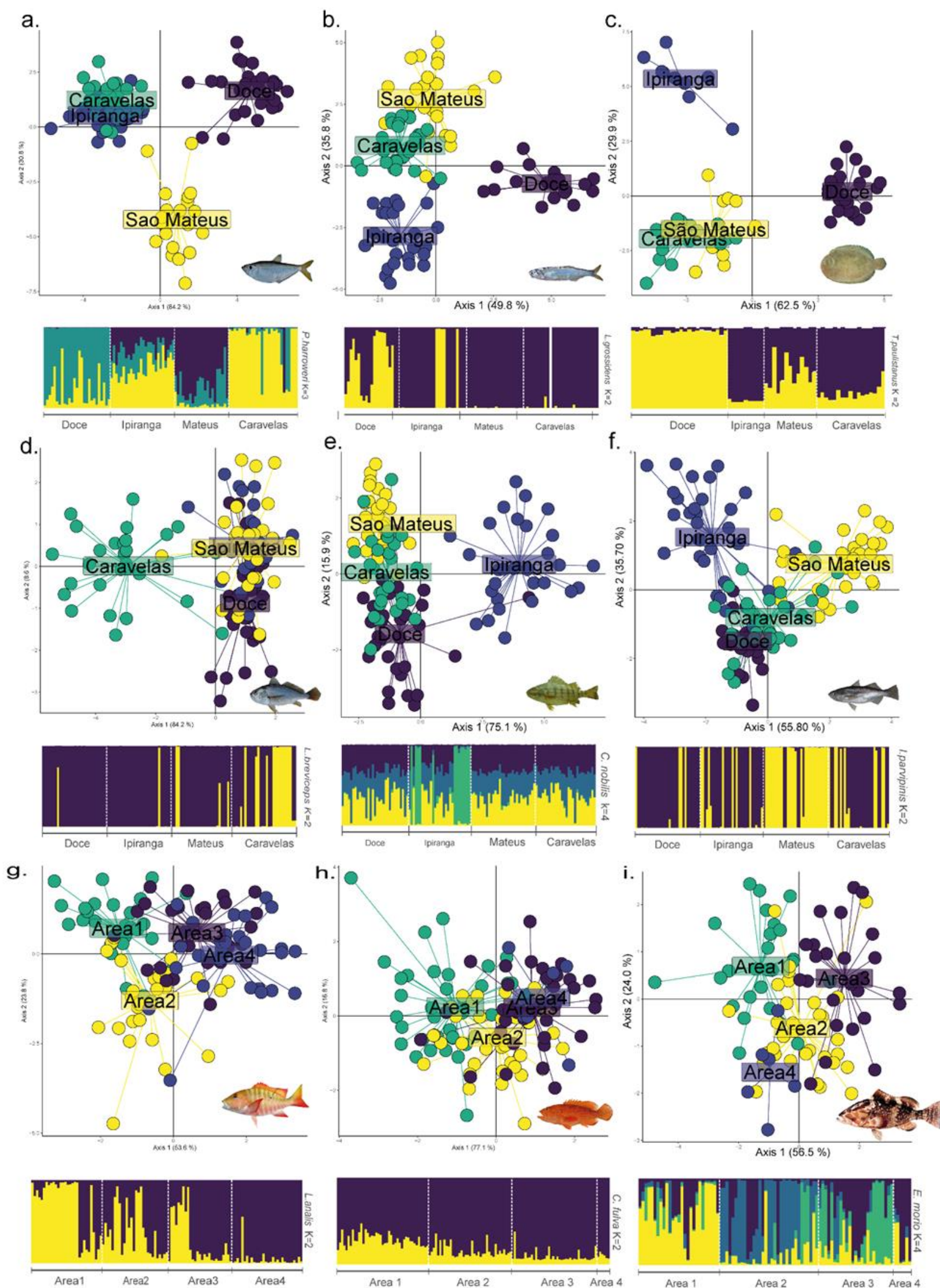
Espécies recifais					
Espécie	Variável	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
	Fis(95% IC)	0,01 (-0,09 - 0,12)	0,13 (-0,00 - 0,25)	-0,11 (-0,20 - -0,02)	-0,35 (-0,55 - -0,21)
	Ne(95% IC)	Inf. (40,9 - Inf.)	80,9 (16,5 - Inf.)	Inf. (35,7 - Inf.)	Inf. (0,8 - Inf.)
	M-ratio	0,25	0,19	0,18	0,12
Espécie	Variável	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Epinephelus morio</i>	N	27	33	25	6
	A	7,67	8,11	7	3
	Ar	4,27	4,23	4,2	2,57
	Ae	4,23	4,29	4,35	2,41
	Ap	0,44	1,67	0,22	0,33
	Ho	0,46	0,5	0,45	0,41
	He	0,73	0,73	0,75	0,5
	Fis(95% IC)	0,36 (0,27 - 0,44)	0,31 (0,22 - 0,40)	0,40 (0,30 - 0,50)	0,19 (-0,19 - 0,41)
	Ne(95% IC)	51,3 (29,1 - 147,7)	25 (18 - 37,3)	27,1 (17,2 - 51,6)	Inf. (1,7 - Inf.)
	M-ratio	21	0,21	0,19	0,08

Os níveis médios de diversidade genética foram estimados a partir de diferentes métricas comumente observadas na literatura: número de alelos, riqueza alélica, número de alelos efetivos, número de alelos privados e heterozigotidade observada e esperada. O número de alelos corresponde ao número de variantes encontradas para cada locus. Entre as espécies estuarinas, destacam-se *P. harroweri* e *L. grossidens* com valores acima de 6. Entre as recifais, apenas *L. analis* possui número de alelos acima de 6. Entretanto, essa métrica é dependente do tamanho amostral e por isso não é indicado comparar populações com diferentes tamanhos, como acontece em algumas espécies aqui apresentadas. Nesse sentido, a riqueza alélica é um melhor indicador de diversidade genética. Contudo, *P. harrowei*, *L. grossidens* e *L. analis* continuam apresentando maiores índices de diversidade genética. Apenas a espécie estuarina *L. grossidens* e a recifal *L. analis* possuem valores altos de alelos efetivos. As heterozigotidades observadas (H_o - proporção de heterozigotos observados) e esperadas (H_e - proporção de heterozigotos esperados estimados a partir das frequências alélicas) foram consideradas moderadas ($0,5 < x < 0,8$) para as espécies estuarinas *P. harroweri*, *L. grossidens* (exceto população do Rio Doce) e *T. paulistanus*, e a espécie recifal *L. analis*. As demais espécies apresentaram valores baixos de H_o e H_e . Ao comparar os níveis de diversidade genética entre as populações de uma mesma espécie, não foi observado, até o momento, um padrão de redução da diversidade genética em uma localidade em particular.

Ainda dentro da caracterização genética da população temos o coeficiente de endogamia (F_{is}) que para as populações de espécies estuarinas foi significativamente positivo indicando excesso de homozigotos nas populações, provavelmente atribuídas ao acasalamento não-aleatório entre indivíduos relacionados. Valores positivos também foram observados para as populações da espécie recifal *E. morio*. Entretanto, para as populações da área 1, 2 e 4 de *L. analis* e populações 3 e 4 de *C. fulva* os valores foram negativos indicando excesso de heterozigotos. Esse excesso pode ser decorrente do acasalamento não aleatório entre indivíduos não relacionados, ou ser consequência de um efeito conhecido como “quebra do isolamento” (mistura entre populações isoladas - WAHLUND, 1928), que geralmente persiste por algumas gerações até um novo equilíbrio ser restabelecido. Esse último padrão será mais bem avaliado nas próximas etapas.

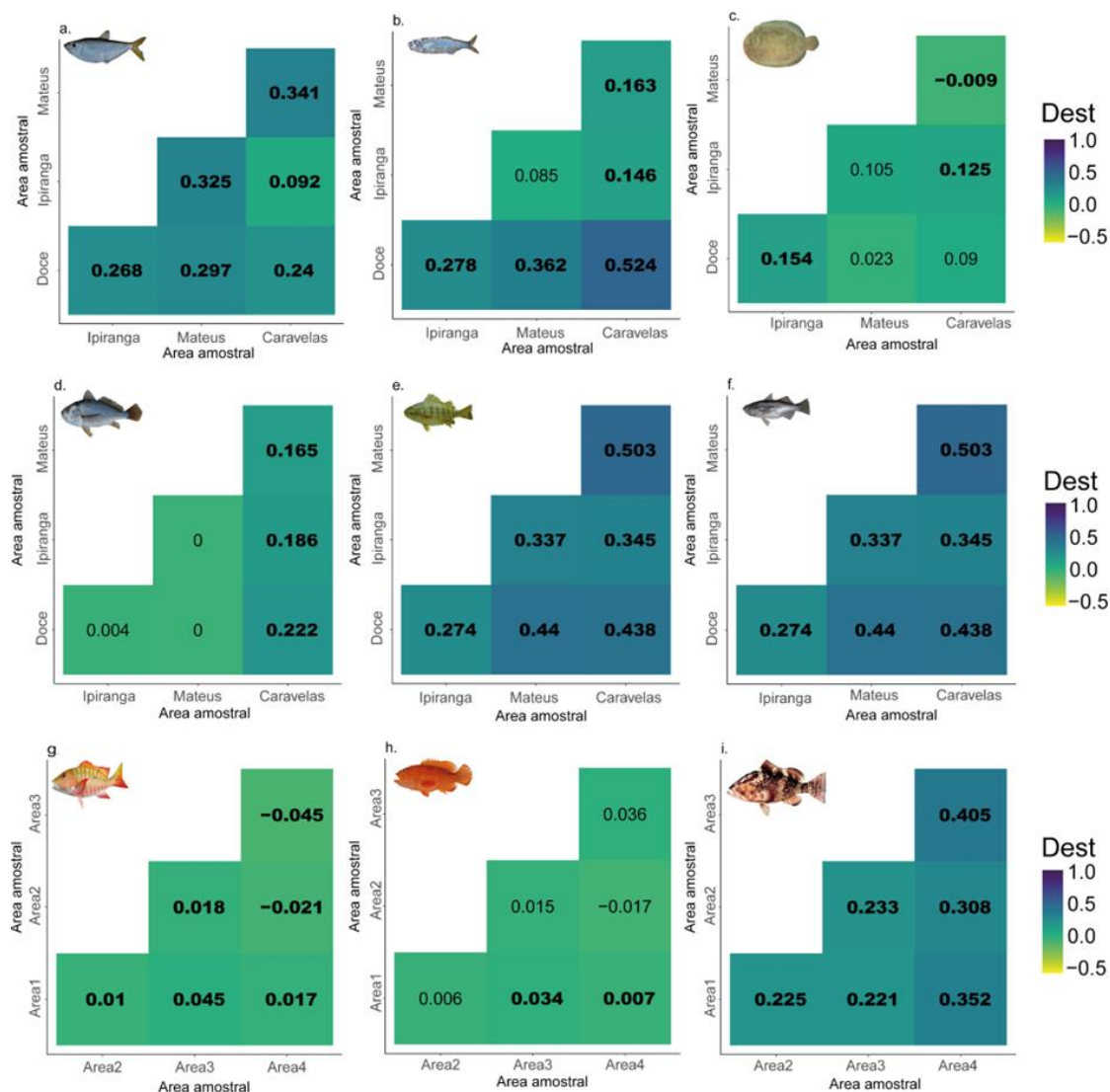
Quanto às análises demográficas, foi detectado um tamanho populacional muito baixo para as espécies *L. breviceps* e *I. parvipinnis*. Além disso, todas as populações amostradas de todas as espécies apresentaram valores de M-ratio abaixo do valor crítico de 0,68, especialmente *P. harroweri* e *T. paulistanus*, ambas espécies estuarinas, sendo *T. paulistanus* uma espécie bentônica, sugerindo que vivenciaram ou estão vivenciando redução recente em seu tamanho populacional, o que inspira cuidados quanto a sua viabilidade populacional a longo prazo.

Figura 27: Estrutura genética das populações estimadas a partir da análise discriminante de componentes principais (DAPC) e STRUCTURE. Estrutura genética das populações das espécies estuarinas (a-f) e recifais (g-i). Na DAPC, as cores representam os locais de coleta, enquanto para o STRUCTURE, observamos barras verticais que indicam a proporção de atribuição de cada espécime a um agrupamento genético. O número de grupos genéticos (K) determinados para essa última análise foi definido a partir do método de Evanno. As espécies estuarinas analisadas são *Pellona harroweri* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e) e *Isopisthus parvipinis* (f). As espécies recifais são: *Lutjanus analis* (g), *Cephalopholis fulva* (h) e *Epinephelus morio* (i). Caravelas = Estuário do rio Caravelas, São Mateus= Estuário do rio São Mateus, Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga, Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro.



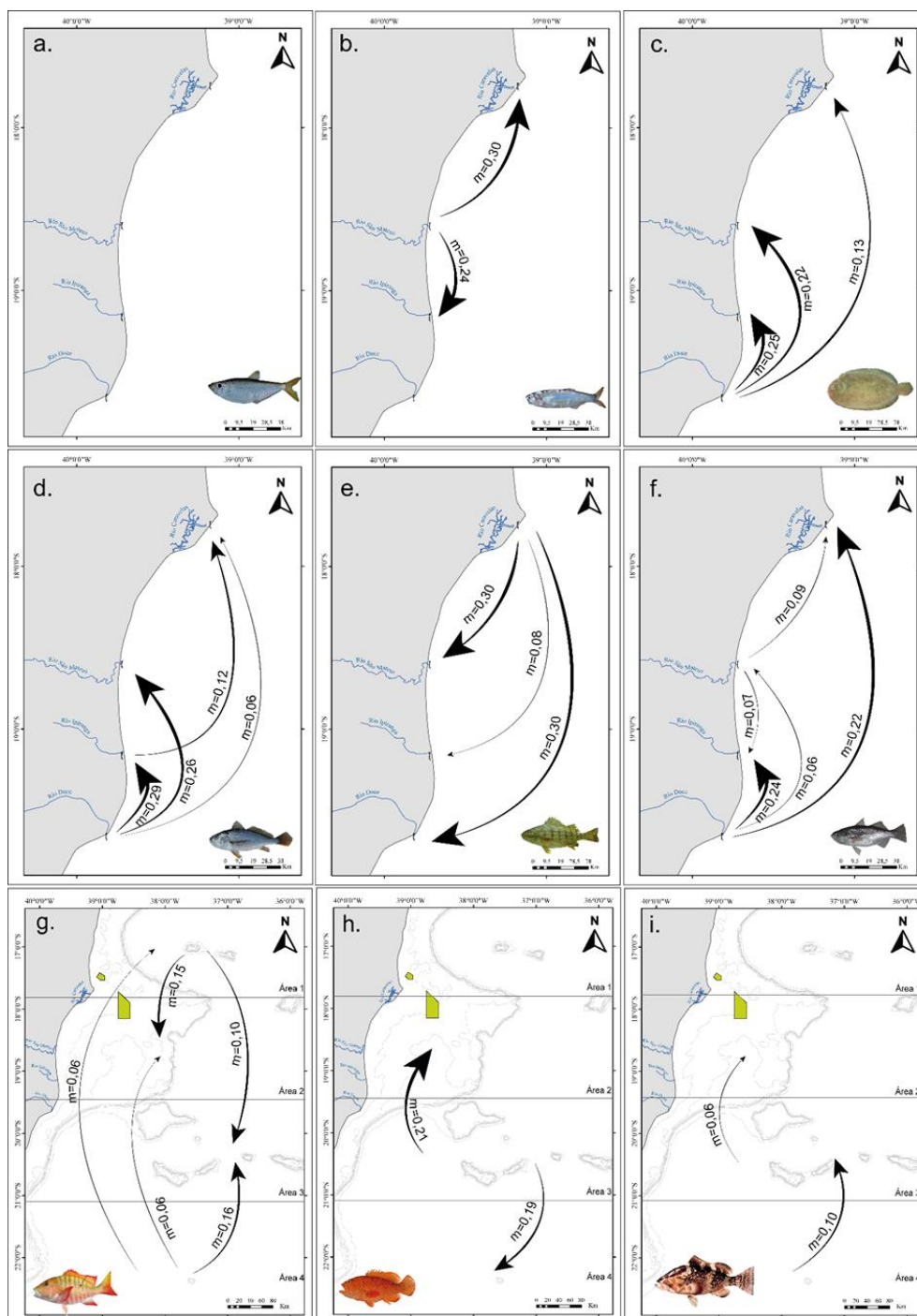
A estrutura genética das espécies foi avaliada utilizando diferentes algoritmos como STRUCTURE e Análise discriminante de componentes principais (DAPC). Nenhuma das espécies estuarinas foi considerada panmítica. *Lycengraulis grossidens* (Figura 27b), *T. paulistanus* (Figura 27c), *L. breviceps* (Figura 27d) e *I. parvipinnis* (Figura 27f) apresentaram dois grupos, enquanto *P. harroweri* (Figura 27a) e *C. nobilis* (Figura 27e) apresentaram 3 e 4 grupos, respectivamente, de acordo com o STRUCTURE. Como o DAPC utiliza uma estatística multivariada onde a variação na amostra é dividida dentro e entre grupos, a análise minimiza a variação dentro de grupos e maximiza a variação entre grupos resultando em um número mais provável de subgrupos. Essa abordagem evidencia uma estruturação em uma escala mais fina que a observada pelo STRUCTURE. Aliando as duas análises, podemos observar que *P. harroweri* possui três grupos (Caravelas/Ipiranga + Doce + São Mateus), *L. grossidens* e *T. paulistanus* apresentam três grupos (Caravelas/São Mateus + Ipiranga + Doce), estas três espécies possuem em comum o Rio Doce com distinção moderada entre as populações, fato possivelmente ligado a biologia das espécies que ocorrem em ambientes salobros e fundos lamacentos (MAI et al., 2014; CONTENTE et al., 2009; CRIALES-HERNANDEZ, 2003; CERVIGÓN et al., 1992). *Larimus breviceps* mostrou dois grupos (Caravelas + São Mateus/Ipiranga/Doce), *C. nobilis* também possui dois grupos (Ipiranga + Caravelas/São Mateus/Doce) e por fim, *I. parvipinnis* com dois grupos (Ipiranga + São Mateus/Doce/Caravelas). Para essa última espécie, embora a população do estuário do rio Ipiranga pareça ser distinta no DAPC, a análise de diferenciação (próximo indicador a ser avaliado) evidencia a proximidade genética com as populações do Rio Doce, isso se deve possivelmente à proximidade entre os estuários. Entre as espécies recifais, *C. fulva* (Figura 27h) foi possível detectar duas populações com uma leve diferenciação da população da área 1, em relação às áreas 2, 3 e 4, resultado corroborado pela análise de diferenciação genética (Djost). *Lutjanus analis* (Figura 27g) apresentou a populações da área 1 e 2 diferentes entre si e daquelas encontradas na área 3 e 4. Por fim, as populações de *E. morio* (Figura 27i) possui 4 diferentes populações moderadamente distintas entre si, sendo que a área 4 possui poucos exemplares coletados até o momento.

Figura 28: Gráfico de calor da matriz de diferenciação par-a-par baseado no índice D entre as quatro populações estuarinas (a-f) e as quatro áreas recifais (g-i). As cores escuras (azul e roxa) refletem alta diferenciação genética e as cores mais claras (verdes e amarelas) refletem baixa diferenciação genética. Estuarinas: *Pellona harroweri* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e), *Isopisthus parvipinnis* (f). Recifais: *Lutjanus analis* (g), *Cephalopholis fulva* (h), *Epinephelus morio* (i). Caravelas = Estuário do rio Caravelas, São Mateus= Estuário do rio São Mateus, Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga, Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro. Valores em negrito representam valores significativos.



Para o presente projeto, foram estimados o índice D proposto por Jost e a análise de variância molecular (AMOVA). A diferenciação populacional estimada através do índice D (Dest), ao invés do clássico Fst, deve-se ao seu menor viés para marcadores altamente polimórficos como os microssatélites. Entre as espécies estuarinas, *P. harroweri* (Figura 28a), *C. nobilis* (Figura 28e) e *I. parvipinnis* (Figura 28f) apresentaram valores significativos considerados de moderados a altos entre as populações dos quatro estuários. *Lycengraulis grossidens* (Figura 28b) também apresentou valores altos e significativos, exceto entre as populações de São Mateus e Ipiranga. Entre as populações de *T. paulistanus* (Figura 28c), apenas foram significativas as comparações feitas entre Doce e Ipiranga, Doce e Caravelas, e Ipiranga e Caravelas. Por fim, *L. breviceps* (Figura 28d) apresentou valores significativos apenas entre a população do estuário do rio Caravelas e demais áreas. Para os recifais, a diferenciação populacional foi menor do que aquela encontrada nas espécies estuarinas, exceto para *E. morio* (Figura 28i), cujos valores de Dest foram altos e significativos. *L. analis* (Figura 28g) apresentou valores significativos e baixos entre as populações das quatro áreas, enquanto *C. fulva* (Figura 28h) apresentou valores significativos entre a área 1 e 3 e 1 e 4. Esses resultados corroboram com a análise de estrutura populacional obtida anteriormente. Considerando as espécies estuarinas, a análise AMOVA foi significativa para *T. paulistanus*, *L. breviceps*, *C. nobilis* e *I. parvipinnis*, que apresentaram uma alta variação genética dentro das populações (81,43%, 88,99%, 93,01% e 84,33%, respectivamente) e moderada diferenciação genética entre as populações (18,57%, 11,01%, 6,99% e 15,67%, respectivamente). A moderada diferenciação entre as populações dessas espécies deve ser resultado do fluxo gênico, conforme será visto no próximo indicador. Ao observarmos as espécies recifais, *L. analis* e *E. morio* apresentaram valores significativos para a variação genética entre (1,1% e 8,49%, respectivamente) e dentro das populações (98,9% e 91,51%, respectivamente). Assim como o Dest, a AMOVA indicou menor diferenciação populacional para as espécies recifais. A análise de teste de Mantel não indicou nenhuma correlação entre essas variáveis para nenhuma das espécies, o que indica que a distância genética observada entre as populações não é fruto da distância geográfica entre elas.

Figura 29: Fluxo gênico entre as populações das espécies estuarinas (a-f) e recifais (g-i) estimadas no software BayesAss v3.04. Apenas as taxas e a direção da migração que foram significativas (com intervalos de confiança acima de zero) estão sendo evidenciadas. A intensidade da seta indica a taxa de migração entre as áreas sendo classificada de baixa ($<0,1$), moderada ($0,1 \leq x \leq 0,2$) e alta ($>0,2$). Espécies estuarinas: *Pellona harroweri* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e), *Isopisthus parvipinnis* (f). Espécies recifais: *Lutjanus analis* (g), *Cephalopholis fulva* (h), *Epinephelus morio* (i). Caravelas = Estuário do rio Caravelas, São Mateus= Estuário do rio São Mateus, Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga, Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos (Evidenciado no mapa); Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro.



O fluxo gênico, já evidenciado no relatório anterior (RSE2022), foi novamente analisado devido a sua importância na manutenção do potencial evolutivo de uma espécie, regulando a sua diversidade genética, evitando a diferenciação populacional ou os padrões de adaptação local e propagando genes adaptativos entre as populações. Nenhuma das espécies analisadas apresentaram o mesmo padrão de taxa e direção do fluxo gênico, provavelmente devido às particularidades de suas histórias de vida, habitat e nicho ecológico. Com relação a intensidade do fluxo, esta é maior entre populações adjacentes do que aquelas mais distantes (salvo algumas exceções, como *C. nobilis* (Figura 29e) e *I. parvipinnis* (Figura 29f)). Entre as espécies estuarinas, *P. harroweri* (Figura 29a) foi a única que não apresentou fluxo gênico significativo entre as populações, enquanto *I. parvipinnis* (Figura 29f) é a espécie com maior troca gênica entre os ambientes estuarinos (Figura 29a-f). No contexto geral, três das seis espécies estuarinas (*T. paulistanus* (Figura 29c), *L. breviceps* (Figura 29d) e *I. parvipinnis* (Figura 29f)) analisadas até o momento, é possível evidenciar a importância do estuário do Rio Doce como populações fonte. Como a análise pode detectar assinatura de fluxo gênico atual ou de poucas gerações atrás é necessário utilizar outros algoritmos para identificar se esse padrão é histórico ou se foi uma consequência das alterações sofridas pela área de impacto que podem estar repelindo as espécies da região. Entre as espécies recifais, *L. analis* (Figura 29g) foi a que apresentou maior número de populações envolvidas no fluxo gênico estimado, sendo a área 4 considerada fonte. Tanto para *C. fulva* (Figura 29h) quanto *E. morio* (Figura 29i) observamos fluxo gênico entre as populações da área 3 (área de impacto) com as áreas 2 e 4. A diferença entre elas está na intensidade do fluxo, maior para *C. fulva* (Figura 29h), e na direção da troca de indivíduos entre as áreas 3 e 4. De forma geral, esperava-se um fluxo gênico maior entre as espécies recifais do que as estuarinas, uma vez que a diferenciação genética foi menor nas espécies recifais. Essa resposta provavelmente deve ser consequência da subamostragem da área 4 para as espécies *C. fulva* (Figura 29h) e *E. morio* (Figura 29i), afetando as estimativas de fluxo gênico. Para a próxima etapa, o foco é melhorar a representatividade de marcadores polimórficos e tamanho amostral.

3.7 USO DE HABITAT DO ROBALO-PEVA

Tabela 17: Uso de habitat do robalo-peva. Informações gerais de todos os indivíduos marcados durante o monitoramento por telemetria passiva e ativa nos Rios Doce e São Mateus. Siglas:

CENPAR, *Centropomus parallelus*; SD, sem detecção; RD, Rio Doce; SM, rio São Mateus.

ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	N° total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR01	15/03/2019	Contínuo	RD	42,5	10439	23/03/2019	8	0,88	-	5,31	0,041	0,001	0,012
CENPAR02	15/03/2019	Codificado	RD	34,5	347	17/03/2019	3	0,67	0,26	-	-	-	-
CENPAR03	16/03/2019	Codificado	RD	29,5	32263	12/01/2020	303	0,85	0,35	-	-	-	-
CENPAR04	16/03/2019	Contínuo	RD	29,5	5369	23/03/2019	8	0,88	-	7,31	0,181	0,017	0,082
CENPAR05	16/03/2019	Contínuo	RD	35,5	10075	23/03/2019	8	0,75	-	11,05	0,589	0,158	0,745
CENPAR06	17/03/2019	Contínuo	RD	36,0	11920	23/03/2019	7	0,86	-	5,52	0,013	0,000	0,004
CENPAR07	17/03/2019	Contínuo	RD	30,0	4750	19/03/2019	7	0,57	-	10,11	1,740	0,426	1,874
CENPAR08	17/03/2019	Contínuo	RD	30,0	5164	23/03/2019	7	0,71	-	5,63	0,220	0,021	0,182
CENPAR09	18/03/2019	Codificado	RD	30,0	416	20/03/2019	3	1,00	0,28	-	-	-	-
CENPAR10	19/03/2019	Codificado	RD	30,0	795	19/04/2019	32	0,44	0,06	2,28	-	0,001	0,014
CENPAR11	27/05/2019	Contínuo	RD	40,0	18286	07/06/2019	11	1,00	-	14,54	0,465	0,048	0,358
CENPAR12	27/05/2019	Contínuo	RD	41,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR13	30/05/2019	Contínuo	RD	31,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR14	01/06/2019	Contínuo	RD	31,0	6114	07/06/2019	7	0,57	-	4,41	0,207	0,001	0,012
CENPAR15	02/06/2019	Codificado	RD	36,0	6141	05/02/2020	248	0,33	0,07	92,00	4,200	0,130	0,935
CENPAR16	02/06/2019	Codificado	RD	43,5	2978	16/06/2019	15	0,93	0,43	44,68	0,602	0,449	2,326
CENPAR17	02/06/2019	Codificado	RD	37,5	1962	08/08/2019	68	0,56	0,09	45,71	4,802	0,100	0,781

ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	N° total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR18	02/06/2019	Codificado	RD	34,5	2354	27/07/2019	56	0,50	0,10	37,409	4,200	0,672	2,956
CENPAR19	02/06/2019	Codificado	RD	34,0	665	12/07/2019	41	0,61	0,08	3,05	-	0,099	0,586
CENPAR20	06/07/2019	Contínuo	SM	31,0	3977	15/07/2019	9	0,22	-	3,36	0,526	0,139	0,870
CENPAR21	06/07/2019	Contínuo	SM	30,6	5295	15/07/2019	9	0,44	-	8,92	1,144	0,007	0,077
CENPAR22	06/07/2019	Contínuo	SM	30,5	1236	15/07/2019	9	0,11	-	0,44	0,002	0,001	0,004
CENPAR23	06/07/2019	Contínuo	SM	29,5	9065	15/07/2019	9	0,78	-	14,03	2,262	0,114	0,672
CENPAR24	06/07/2019	Contínuo	SM	31,5	11048	15/07/2019	9	0,78	-	5,90	0,010	0,000	0,003
CENPAR25	07/07/2019	Codificado	SM	33,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR26	07/07/2019	Codificado	SM	32,5	1717	14/07/2019	8	0,75	0,35	12,56	3,242	0,700	4,933
CENPAR27	07/07/2019	Codificado	SM	34,0	4953	31/01/2020	209	0,08	0,03	11,19	2,352	0,010	0,087
CENPAR28	14/07/2019	Codificado	SM	50,0	89	22/08/2019	40	0,13	0,01	2,07	-	0,056	0,345
CENPAR29	14/07/2019	Codificado	SM	49,5	4793	03/02/2020	205	0,61	0,15	165,52	2,352	0,166	0,889
CENPAR30	14/07/2019	Codificado	SM	46,5	40	18/07/2019	5	0,60	0,06	2,41	-	0,285	1,506
CENPAR31	02/09/2019	Codificado	SM	39,7	202	07/09/2019	6	0,83	0,16	7,93	2,352	2,001	9,760
CENPAR32	21/09/2019	Contínuo	SM	34,8	11570	30/09/2019	10	0,90	-	14,36	1,165	0,072	0,363
CENPAR33	21/09/2019	Contínuo	SM	36,0	1285	30/09/2019	10	0,70	-	11,72	0,684	0,000	0,005
CENPAR34	21/09/2019	Contínuo	SM	38,0	11469	30/09/2019	10	0,90	-	9,74	0,204	0,014	0,089
CENPAR35	22/09/2019	Contínuo	SM	29,5	11804	30/09/2019	9	1,00	-	7,80	0,195	0,004	0,033
CENPAR36	22/09/2019	Contínuo	SM	31,0	10764	30/09/2019	9	1,00	-	7,02	0,548	0,163	0,692
CENPAR37	22/09/2019	Contínuo	SM	30,5	2676	30/09/2019	3	0,67	-	1,19	0,018	0,007	0,031
CENPAR38	28/09/2019	Codificado	SM	28,0	106	09/10/2019	12	0,33	0,04	4,66	2,352	2,228	10,579

ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	N° total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR39	28/09/2019	Codificado	SM	28,5	25	29/09/2019	2	1,00	0,08	4,66	2,352	4,145	16,889
CENPAR40	29/09/2019	Codificado	SM	35,0	523	03/02/2020	128	0,11	0,02	18,65	2,352	1,854	7,724
CENPAR41	30/04/2021	Contínuo	RD	37,0	25738	27/05/2021	29	1,00	-	28,64	1,412	0,073	0,878
CENPAR42	30/04/2021	Contínuo	RD	36,0	23664	27/05/2021	29	0,92	-	25,45	1,064	0,089	0,722
CENPAR43	01/05/2021	Contínuo	RD	41,0	8466	26/05/2021	26	0,33	-	16,27	1,476	0,010	0,434
CENPAR44	01/05/2021	Contínuo	RD	46,0	3789	02/05/2021	2	-	-	0,76	0,010	0,003	0,020
CENPAR45	02/05/2021	Contínuo	RD	34,0	20144	27/05/2021	26	0,92	-	30,88	1,478	0,113	0,981
CENPAR46	29/03/2022	Codificado	RD	37,0	327	17/08/2022	142	0,10	0,01	9,40	0,785	0,024	0,136
CENPAR47	30/03/2022	Codificado	RD	28,5	82	27/09/2022	182	0,11	0,01	11,33	0,766	0,526	2,833
CENPAR48	05/04/2022	Codificado	RD	34,0	46	28/09/2022	177	0,04	0,00	5,49	0,043	0,026	0,115
CENPAR49	12/04/2022	Codificado	RD	37,5	113	05/05/2022	24	0,54	0,06	2,63	0,809	0,109	0,803
CENPAR50	12/04/2022	Codificado	RD	38,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR51	12/04/2022	Codificado	RD	30,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR52	12/04/2022	Codificado	RD	29,0	9	28/09/2022	170	0,03	0,00	0,85	0,006	0,014	0,054
CENPAR53	12/04/2022	Codificado	RD	29,5	33	28/09/2022	170	0,04	0,00	5,32	0,066	0,096	-
CENPAR54	12/04/2022	Codificado	RD	28,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR55	12/04/2022	Codificado	RD	30,0	8	17/08/2023	128	0,03	0,00	0,66	0,007	0,030	-
CENPAR56	10/05/2022	Codificado	RD	38,5	1954	28/09/2022	142	0,36	0,05	24,75	2,745	0,035	0,210
CENPAR57	10/05/2022	Codificado	RD	32,5	6	10/05/2022	1	1,00	0,01	-	-	-	-
CENPAR58	10/05/2022	Codificado	RD	28,5	218	14/05/2022	5	1,00	0,39	2,69	-	-	-

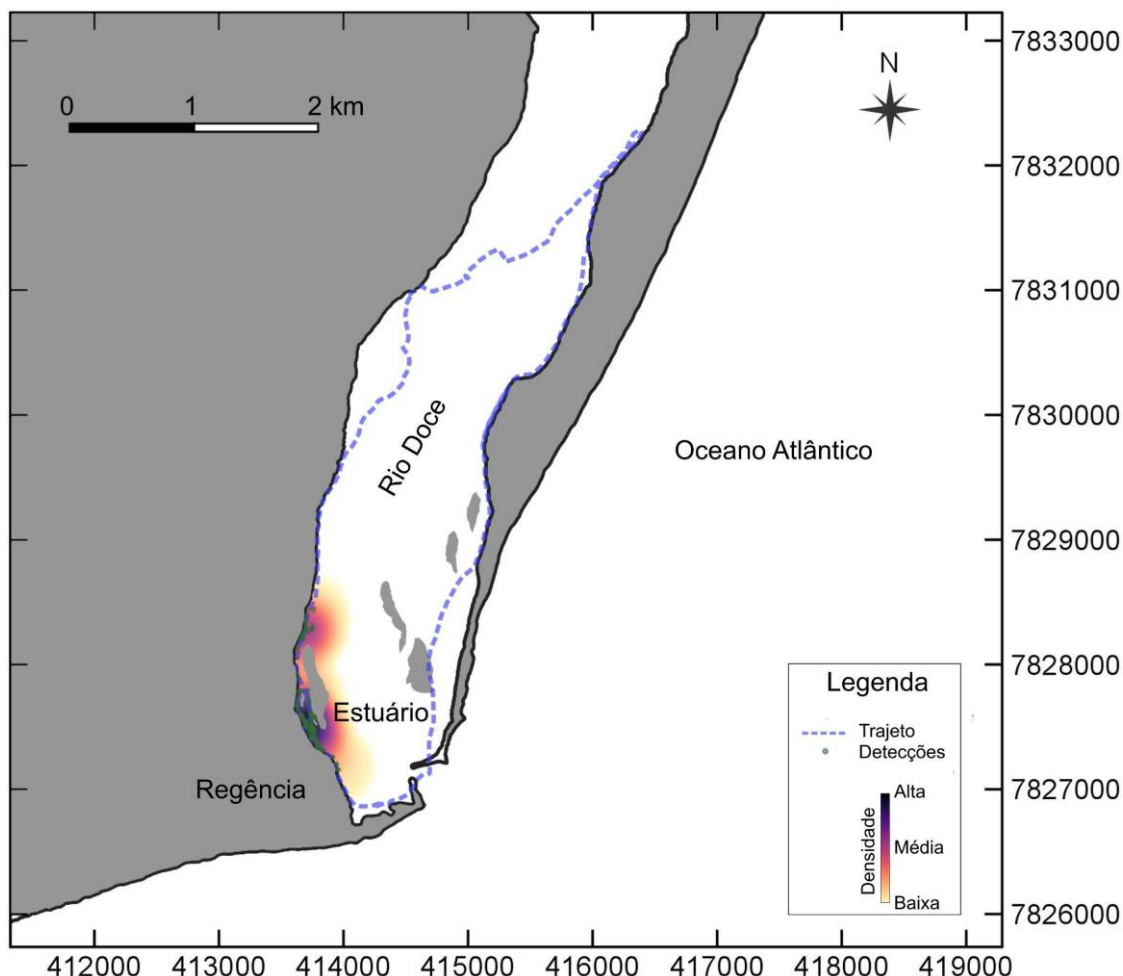
Durante todo o período de monitoramento por telemetria acústica um total de 58 indivíduos de robalo-peva, *Centropomus parallelus*, foram marcados com transmissores acústicos, 37 no Rio Doce e 21 no rio São Mateus. O comprimento total dos robalos marcados variou de 28 a 50 cm. O período de detecção variou de 1 a 303 dias. O índice de residência variou de 0,03 a 1. O índice de fidelidade variou de 0 a 0,43. A distância percorrida variou de 0,44 a 165,52 km. A área do mínimo polígono convexo (MCP) variou de 0,002 a 2,352 km². A área de vida KUD50 variou de 0 a 2,228 km². A área de vida KUD95 variou de 0,003 a 16,889 km².

Tabela 18: Modelo Aditivo Generalizado Misto ($R^2\text{-adj} = 0,345$) para os efeitos da Turbidez (log-transformada), Ano de monitoramento e Período do dia na probabilidade de detecção (i.e., proxy da presença) dos robalos na região interna do estuário do Rio Doce. O ano de monitoramento e período do dia foram incluídos como fatores fixos, enquanto a ID dos indivíduos monitorados foi incluída como um efeito aleatório no intercepto α [s(ID, bs="re")] e declive β [s(ID, turbidez, bs="re")] do modelo. O valor de K foi estabelecido em cinco para o termos suavizados (s). Os dados do Ano 1 e 2 do monitoramento foram agrupados devido ao baixo número de detecções acústicas obtidas no Ano 2. Siglas: EP, erro padrão; Gle, graus de liberdade estimado; Gl.Ref, graus de liberdade referência; χ^2 , qui-quadrado.

Termos paramétricos	Coeficientes			
	Estimativa	EP	Z valor	p-valor
(Intercepto)	-0,8441	0,4991	-1,691	0,0908
Ano (4)	-1,5403	0,7905	-1,949	0,0513
Período (noite)	0,6633	0,1103	6,012	$1,83^{-09}$
Termos suavizados (s)	Coeficientes			
	Gle	Gl.Ref	χ^2	p-valor
s(ID)	6,537	8	9030,08	$2,00^{-16}$
s(ID, Turbidez)	3,694	8	1954,98	0,00130
s(Turbidez): Ano 1 e 2	2,864	2,864	19,51	0,00013
s(Turbidez): Ano 4	1	1	16,51	0,00005

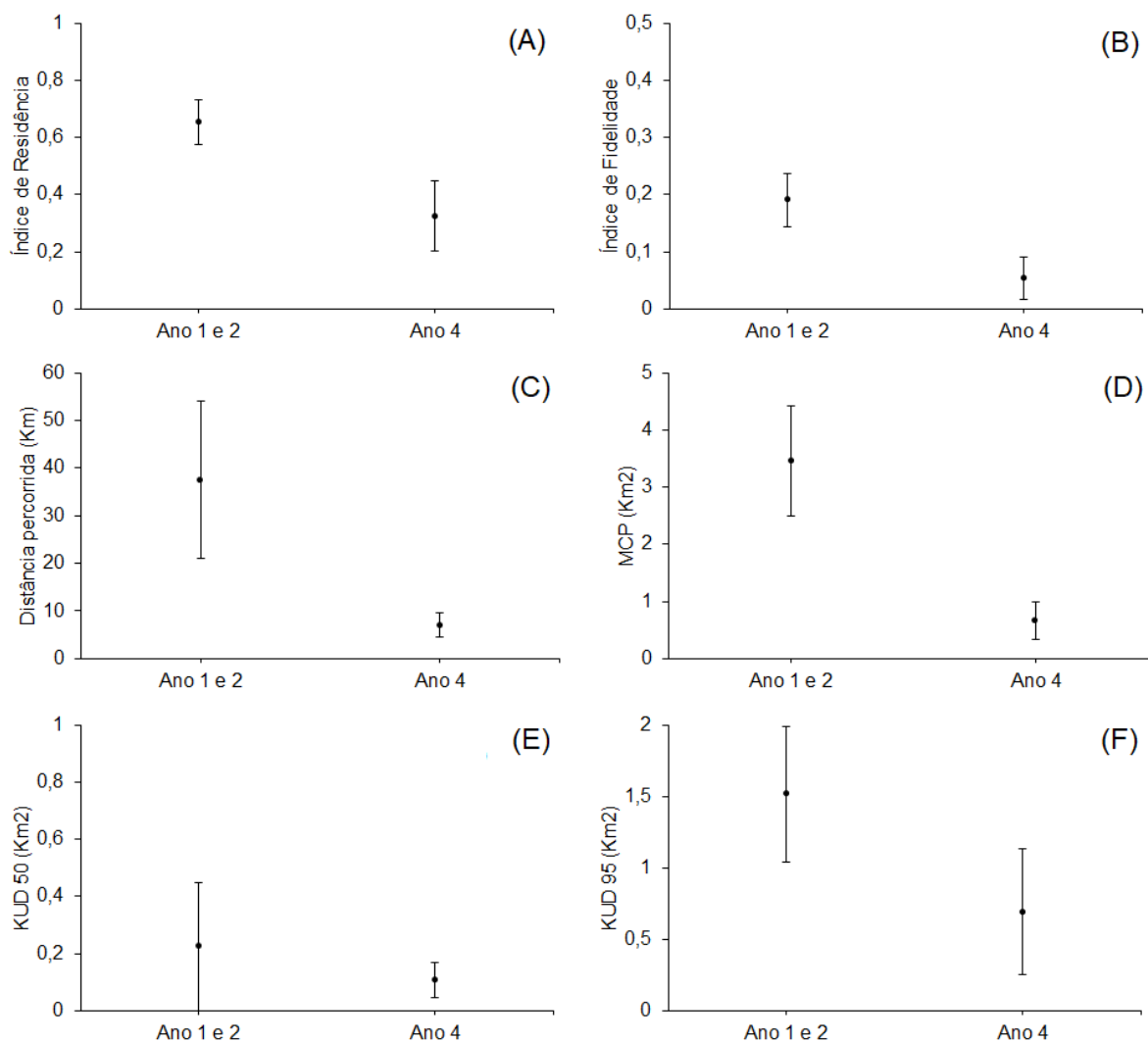
A probabilidade de presença dos robalos marcados acusticamente no estuário do Rio Doce foi marginalmente menor no Ano 4 em comparação ao Ano 1 e 2 (p-valor = 0,0513). Todavia, a diferença na probabilidade de detecção entre os anos de monitoramento pode ser uma consequência da diminuição da área de cobertura dos receptores na região interna do estuário do Rio Doce. Em relação ao período do dia, a probabilidade de presença foi significativamente maior no período noturno (p-valor = $1,83^{-09}$). O fator aleatório ID teve um efeito significativo no intercepto (p-valor = $2,00^{-16}$) e declive (p-valor = 0,00130) do modelo e indicou alta variabilidade interindividual na probabilidade de presença. Todavia, o GAMM destacou que a presença dos robalos no estuário do Rio Doce foi afetada significativamente pelos níveis de turbidez, de forma que a ocorrência dos indivíduos é negativamente afetada pelo aumento da turbidez. O padrão geral identificado foi significativo e consistente a nível de unidade populacional monitorada no Ano 1 e 2 (p-valor = 0,00013) e Ano 4 (p-valor = 0,00005).

Figura 30: Mapa indicando o trajeto do rastreamento (~16 km) e detecções por telemetria ativa dos robalos marcados acusticamente no Ano 4. A densidade das detecções (Kernel) também é apresentada.



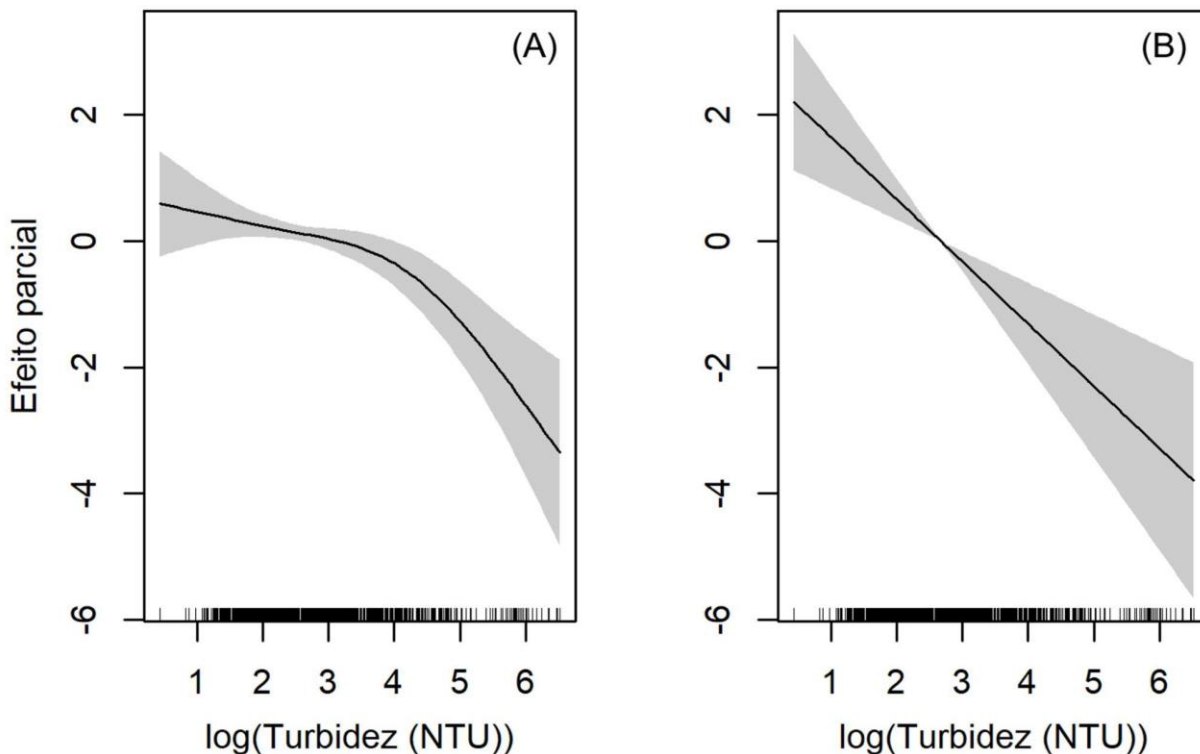
Mapa indicando o trajeto do rastreamento (~16 km) e detecções por telemetria ativa dos robalos marcados acusticamente no Ano 4. A densidade das detecções (Kernel) também é apresentada. No monitoramento por telemetria ativa, foi observada maior ocorrência dos robalos marcados em canais profundos ou marginais, principalmente na porção sul do estuário do Rio Doce. Nessa região, a profundidade média (\pm DP) de ocorrência dos indivíduos monitorados foi de $1,89 \pm 0,97$ m. Não ocorreram detecções dos robalos marcados em áreas rasas e assoreadas do rio, o que indica que os robalos utilizam habitats mais restritos, onde naturalmente há uma maior hidrodinâmica e menor deposição de sedimento. Esse padrão observado sugere que o assoreamento do Rio Doce reduz a área de habitats essenciais para a espécie, o que pode acarretar maior adensamento dos indivíduos e competição intraespecífica por recursos. Adicionalmente, no contexto pesqueiro, a restrição de habitats e adensamento facilita a captura dos indivíduos da espécie, fatores que estão relacionados a sobreexploração e extirpação de diversas populações de espécies estuarinas (WOLFF, 2000; COWLEY et al., 2022).

Figura 31: Valores médios dos atributos dos robalos marcados com transmissores acústicos codificados no Rio Doce durante todo o período de monitoramento. (A) Índice de residência, (B) Índice de fidelidade, (C) Distância percorrida, (D) MCP - Mínimo Polígono Convexo, (E) KUD 50 e (F) KUD 95.



De modo geral, todos os atributos analisados apresentaram durante o Ano 4 valores menores do que no Ano 1 e 2. Tal diferença entre os anos de monitoramento pode ser explicada pela alteração no tamanho e extensão da rede de receptores instalada no Rio Doce. Durante o Ano 4 a rede de receptores foi expandida até a ponte de Linhares para verificar a possível migração a montante dos robalos, entretanto, como nenhum indivíduo foi detectado nos receptores rio acima, houve detecções apenas nos três receptores da região estuarina, diminuindo de forma geral os valores dos atributos de cada indivíduo monitorado.

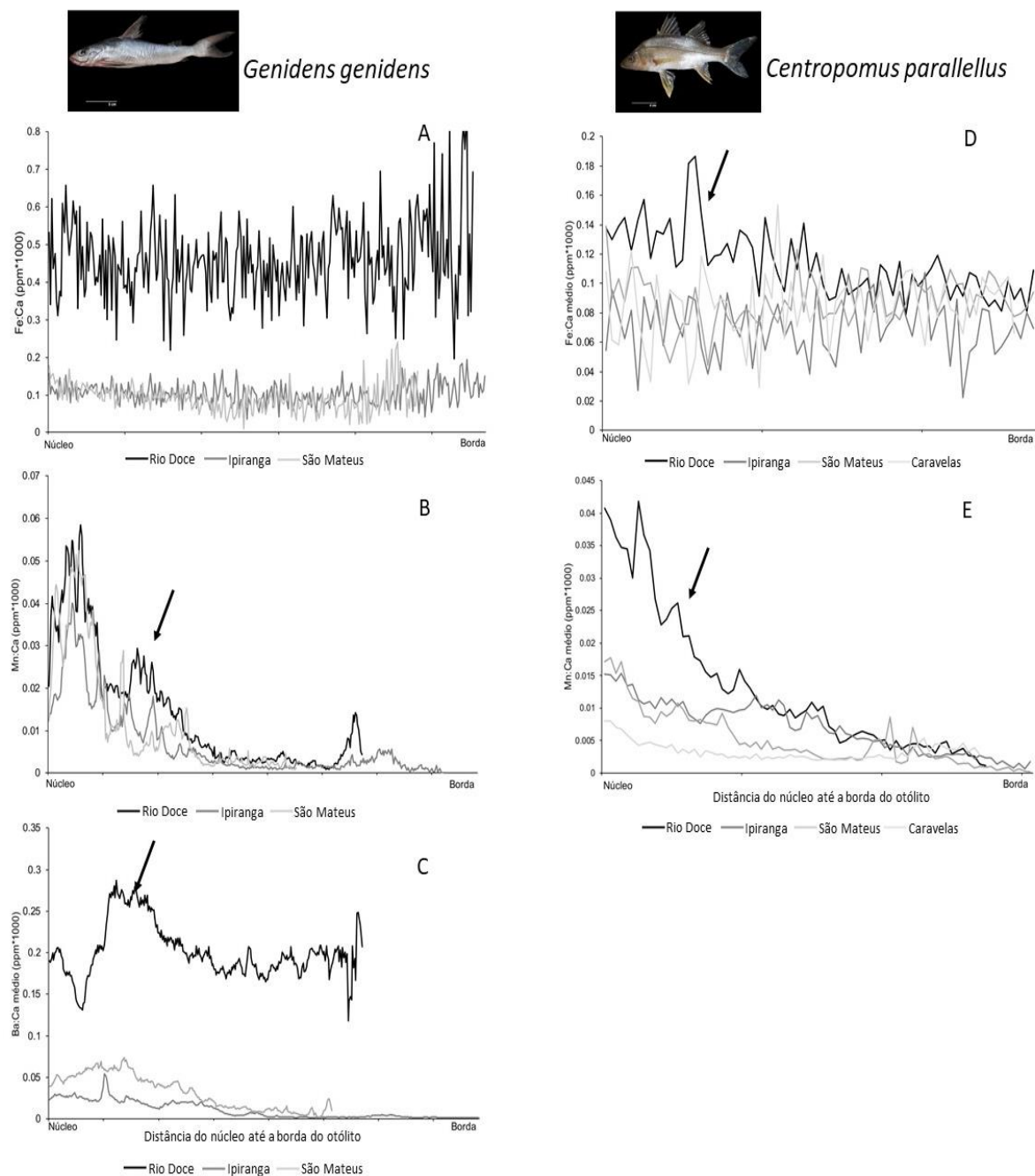
Figura 32: Predição do Modelo Aditivo Generalizado Misto para o efeito da turbidez (log-transformada) sobre a probabilidade da presença dos robalos marcados acusticamente no estuário do Rio Doce durante o Ano 1 e 2 (A) e Ano 4 (B). As predições foram baseadas na presença-ausência dos robalos e nas médias de turbidez em uma base diurna-noturna (~12h).



Os resultados obtidos pela Telemetria Estuarina indicaram que a probabilidade de presença dos robalos na foz do Rio Doce é influenciada negativamente por níveis elevados de turbidez. Os níveis de sedimento em suspensão na foz do Rio Doce podem estar atuando fortemente sobre a dinâmica populacional dos robalos, devido aos efeitos diretos (ex., estresse respiratório e redução na eficiência visual na predação) e indiretos (ex., aumento da temperatura da água e redução do oxigênio dissolvido) (WARD, 1992; WENGER et al., 2017; KJELLAND et al., 2015). Atualmente, uma fase de impacto crônico é sustentada pelos rejeitos assentados ao longo do rio, que continuam a ser ressuspensos durante os períodos de maior vazão do Rio Doce, o que é previsto para perdurar durante os próximos anos (HATJE et al., 2017; MAGRIS et al., 2019; AGUIAR et al., 2020). Em geral, os peixes são mais propensos a sofrer estresse subletal dos sedimentos suspensos em vez de letalidade, por causa da capacidade em evitar regiões com elevadas concentrações de sedimentos suspensos (KJELLAND et al., 2015). Neste cenário, é importante entender como os sedimentos suspensos e os elevados níveis de turbidez no Rio Doce afetam o comportamento, os padrões migratórios e a resiliência populacional dos robalos em curto e longo prazo.

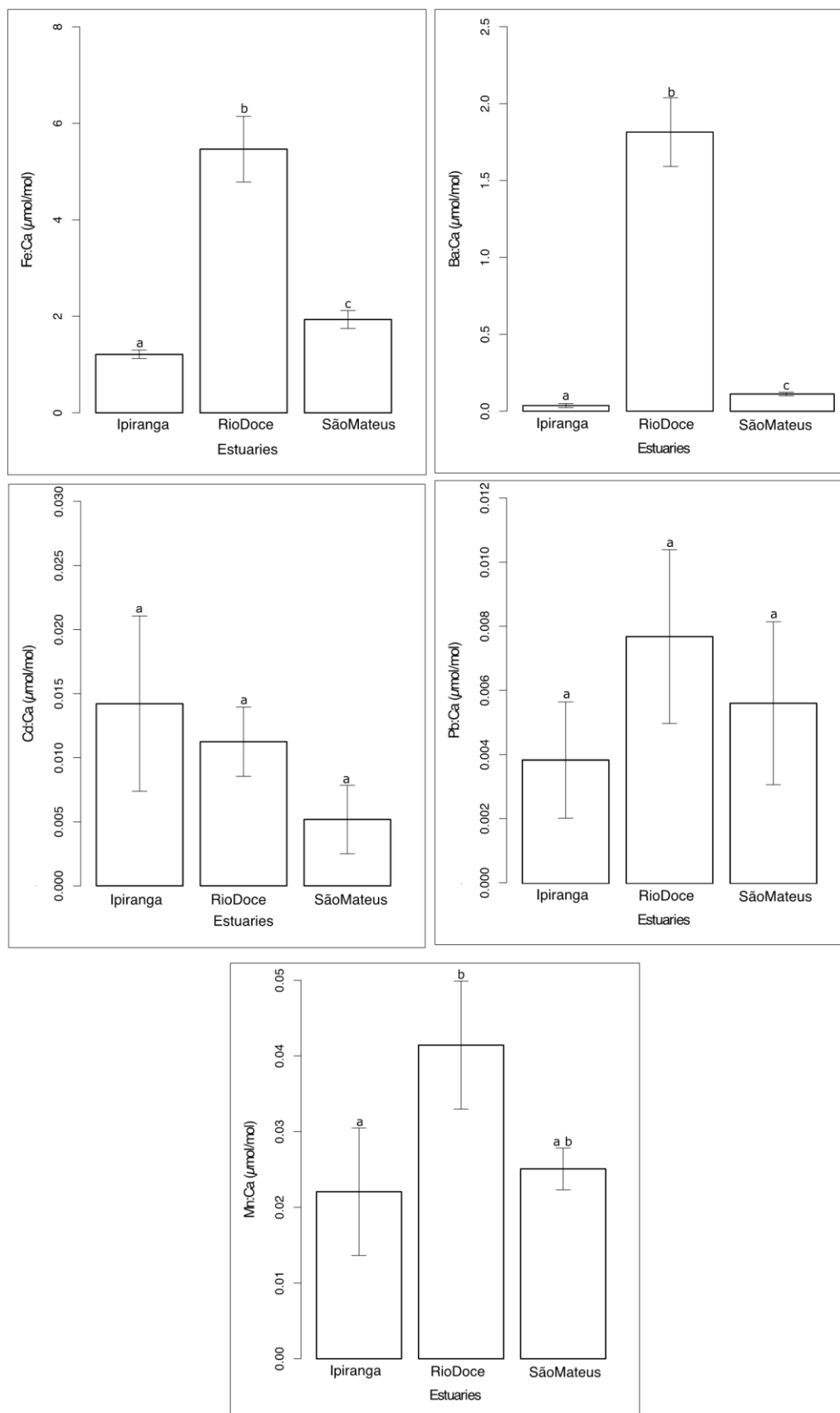
3.8 MICROQUÍMICA DE OTÓLITO

Figura 33: Perfis cronológicos das razões médias elementos:Ca nos otólitos de *Genidens genidens* e *Centropomus parallelus* coletados nos estuários dos Rios Doce, Ipiranga, São Mateus e Caravelas. Setas pretas indicam momento da chegada da lama de rejeito no estuário do Rio Doce.



Através das análises de dados obtidos no ano 1, foi possível observar através dos perfis cronológicos dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), as concentrações de alguns elementos químicos indicativos da presença da lama de rejeito da Barragem do Fundão. Através das análises cronológicas das matrizes dos otólitos do bagre-guri (*G. genidens*), entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Fe:Ca, Mn:Ca e Ba:Ca mostraram ser bons indicadores desses elementos nos otólitos, uma vez que apresentou aumento de suas concentrações na área diretamente afetada (Rio Doce). O ferro (Fe), um dos elementos mais presentes na lama de rejeito da Barragem de Fundão, apresentou maior concentração média, nos otólitos provenientes do Rio Doce, aproximadamente cinco vezes maior que os otólitos analisados nos rios Ipiranga e São Mateus (Figura 33 A). Outro elemento presente na lama do rejeito, é o manganês (Mn), o qual apareceu de forma consistente, através de dois picos de elevadas concentrações, sendo que o primeiro pico ocorreu próximo ao núcleo, sendo esse referente a transferência materna na fase de óvulo, o que é comumente encontrado em diversas espécies de peixes (STURROCK et al., 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, se faz referente ao evento de rompimento da barragem em 2015. Além de refletir a concentração presente no ambiente, o aumento do manganês pode estar relacionado hipóxia, ou seja, a falta de oxigênio no ambiente aquático (LIMBURG et al., 2015), gerado pelo abrupto acúmulo de sedimento na desembocadura do Rio Doce (Figura 33B). Por fim, o bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON et al., 2008; Soeth et al., 2020), uma vez que é um elemento químico proveniente da lixiviação do leito dos rios. Nos bagres analisados na região do Rio Doce apresentou um aumento acentuado de bário nos perfis dos otólitos analisados, sendo superior a quatro vezes a concentrações encontradas nos rios Ipiranga e São Mateus (Figura 33C), indicando assim, provavelmente, a presença da chegada da lama na foz do Rio Doce. Para os otólitos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), cronologicamente analisados entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Fe:Ca e Mn:Ca, assim como para o bagre-guri, mostraram-se bons indicadores, uma vez que os indivíduos analisados, provenientes do Rio Doce, apresentaram aumento em suas concentrações na área diretamente afetada pelo rompimento da barragem. O ferro encontrado nos otólitos analisados do Rio Doce, apresentaram concentrações médias superiores aos analisados nas regiões do rio Ipiranga, São Mateus e Caravelas (Figura 33D). Quanto as análises de manganês, foi possível, novamente, determinar os dois picos de elevadas concentrações do elemento, sendo o primeiro de origem fisiológica, intrínseca a diversas espécies (Sturrock et al., 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, referente ao rejeito gerado pelo Rompimento da Barragem de Fundão (Figura 33E).

Figura 34: Razão elemento/Ca (média \pm SD) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*. Os locais marcados com a mesma letra, acima das barras de erro, são semelhantes estatisticamente.



Através das razões elemento:Ca da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) do bagre-guri, *Genidens genidens*, representa o local de onde os exemplares foram coletados. Foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Rio Doce, Ipiranga e São Mateus), onde as razões médias de Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca apresentaram diferenças estatísticas entre os locais ($X^2 = 120,49$; $df = 2$; p valor = 0,001, $X^2 = 49,06$; $df = 2$; p valor = 0,001 e $X^2 = 53,83$; $df = 2$; p valor = 0,001 respectivamente). O estuário do Rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, apresentou as maiores médias nas razões Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca ($0,02 \pm 0,009$ mmol/mol, $0,05 \pm 0,03$ mmol/mol e $0,0004 \pm 0,0004$ mmol.mol respectivamente), elementos estes, relacionados com o aporte da lama de rejeito da barragem no Rio Doce. Já as razões médias de Cd:Ca e Pb:Ca não apresentaram diferenças estatísticas entre os locais, com as maiores médias no rio Ipiranga para razão Cd:Ca e no Rio Doce para razão Pb:Ca. Estes elementos não apresentam a relação causa e efeito com o efeito da lama de rejeito despejada no Rio Doce, área diretamente afetada. As relações dos elementos presentes nas bordas dos otólitos, local onde ocorre a deposição na matriz dos otólitos mais recente dos elementos presentes na água, seguem as mesmas premissas apresentadas na Figura 33.

4 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

4.1. REPRODUÇÃO DE PEIXES E CRUSTÁCEOS ESTUARINOS/MARINHOS

A obtenção de dados referente a meta 3 – Reprodução de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos, iniciou-se em outubro/2022, em período contido no “Novo Ciclo” e sendo assim, encontra-se fora do período a que se refere o presente documento. Desta forma, os resultados referentes a esta meta ainda não estão sendo apresentados neste relatório, mas serão inseridos no próximo relatório.

4.2. ICTIOFAUNA RECIFAL

A meta 7 - Estudos de telemetria de peixes recifais, foi prevista e totalmente realizada, porém é inserida aqui em consonância ao Ofício FEST/CE-SUP- 199/2022 em resposta ao Ofício SEI nº 84/2022-CTBio/DIBIO/ICMBio. Estas atividades foram dadas como concluídas ao final do Ano 3 do PMBA, visto que todos os objetivos e ações relacionados à mesma foram cumpridos seguindo as diretrizes propostas descritas no Plano de trabalho do Ano 1 e dados brutos inseridos nas planilhas de dados brutos, bem como em relatórios prévios. Ademais, por não ser um indicador do PMBA, não está sendo apresentado neste relatório.

4.3. GENÉTICA POPULACIONAL

Para o indicador “Índices de diversidade e estruturação genética de peixes estuarinos e crustáceos” foram apresentados os resultados somente de crustáceos. A primeira coleta de peixes do Novo Ciclo ocorreu em agosto de 2022 e, para as espécies de peixes estuarinos, estão sendo realizados testes de amplificação de marcadores moleculares para a seleção dos marcadores a serem utilizados e seleção das espécies a serem avaliadas. Assim, os resultados das espécies de peixes estuarinos selecionadas serão apresentados no próximo relatório.

4.4. TELEMETRIA ESTUARINA

Após o início do Novo Ciclo da Telemetria Estuarina, novos transmissores e receptores acústicos foram adquiridos para continuidade do monitoramento dos robalos. Contudo, tais equipamentos são importados e fabricados sob encomenda específica. O processo de fabricação e envio dos equipamentos acústicos pode demorar alguns meses. Em razão disso o monitoramento dos robalos no rio São Mateus iniciou-se em novembro de 2022, após o fechamento da série temporal deste relatório.

5 REFERÊNCIAS

AGUIAR, V. M. C.; NETO, J. A. B.; QUARESMA, V. S.; BASTOS, A. C.; ATHAYDE, J. P. M. Bioavailability and ecological risks of trace metals in bottom sediments from Doce river continental shelf before and after the biggest environmental disaster in Brazil: The collapse of the Fundão dam. **Journal of Environmental Management**, v. 272, n. 15, p. 111086, 2020.

ANDERSON, M. J. **Permutational Multivariate Analysis of Variance (PERMANOVA)**. Wiley StatsRef: Statistics Reference Online, 2017.

ANDERSON, M. J.; GORLEY, R. N.; CLARKE, K. R. **PERMANOVA + for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods**. United Kingdom: Primer-E. Ed. Plymouth, 2008.

BARLETTA, M.; BARLETTA-BERGAN, A.; SAINT-PAUL, U. The role of salinity in structuring the fish assemblages in a tropical estuary. **Journal of Fish Biology**, v. 66, p. 45–72, 2005.

BERNARDINO, A. F.; REIS, A.; PEREIRA FILHO, A. C. D.; GOMES, L. E. O.; BISSOLI, L.B.; BARROS JR, F. C. R. **Benthic estuarine assemblages of the Eastern Marine Brazilian Ecoregion (EME)**. In: Lana, P. C.; BERNARDINO, A. F. (Ed.) *Brazilian Estuaries, Brazilian Marine Biodiversity*. Springer International Publishing AG, Springer Nature, New York, p. 95–116, 2018.

BLANCHARD, F.; LELOC'K, F.; HILY C.; BOUCHER J. Fishing effects on diversity, size and community structure of the benthic invertebrate and fish megafauna on the Bay of Biscay coast of France. **Marine Ecology Progress Series**, v. 280, p. 249-260, 2004.

BÓKONY, V.; SERESS, G.; NAGY, S.; LENDVAIC, Á. Z.; LIKER, A. Multiple indices of body condition reveal no negative effect of urbanization in adult house sparrows. **Landscape and Urban Planning**, v. 104, p. 75–84, 2012.

BONECKER, A. C. T. & CASTRO, M. S. **Atlas de larvas de peixes da região central da Zona Econômica Exclusiva brasileira**. Rio de Janeiro: Museu Nacional, v. 19, 2006. 216 p.

BONECKER, A. C. T.; NAMIKI, C. A. P.; CASTRO, M. S.; CAMPOS, P. N. **Catálogo dos estágios iniciais de desenvolvimento dos peixes da bacia de Campos**. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia. Zoologia: guias e manuais de identificação series. 2014. 295p.

BONECKER, A. C. T. et al. Monitoring of ichthyoplanktonic community at the Doce River mouth and adjacent marine region in Southeast Brazil after Fundão dam collapse. **Journal of Sea Research**, v. 189, p. 102284, 2022.

BOUCEK, R.; TROTTER, A.; BLEWETT, D.; RITCH, J.; SANTOS, R.; STEVENS, P.; MASSIE, J.; REHAGE, J. Contrasting River migrations of common snook between two Florida rivers using acoustic telemetry. **Fisheries Research**, v. 213, p. 219–225, 2019.

BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: HOELZEL, A. R. (Ed). **Molecular genetic analyses of populations: A Practical Approach**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 219–225.

CAI, Z.; CAO, W.; CHEN, J.; DAI, J.; DING, G.; GRAY, S.; HAO, J.; JIANG, X.; LI, B. B.; LI, Y.; LI, Z. B. **Microsatellite records** v. 9, n. 4.

CATALÁN, I. A.; DUNAND, A. NASH, R. An evaluation of sampling methodology for assessing settlement of temperate fish in seagrass meadows. **Mediterranean Marine Science**, v. 15, n. 2, p. 338–349, 2014.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.; ROBAINA, G. B.; RODRIGUEZ, B. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. **Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América**. Rome -Italy: FAO, 1992.

CHAPUIS, M. P.; ESTOUP, A. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n.3, p.621–631. 2007.

CLEMENT, M.; SNELL, Q.; WALKER, P.; POSADA, D.; CRANDALL, K. TCS: estimating gene genealogies. In: International Parallel and Distributed Processing Symposium, 2002. **IEEE Computer Society**, 2002, v. 3, p. 184.

CONDINI, M. V.; PICHLER, H. A. OLIVEIRA-FILHO, R. R.; CATTANI, A. P.; ANDRADES, R.; VILAR, C. C.; JOYEUX, J.-C.; SOETH, M.; DE BIAIS, J. B.; EGGERTSEN, L.; DIAS, R.; HACKRADT, C. W.; FÉLIX-HACKRADT, F. C.; CHIQUIERI, J.; GARCIA, A. M.; HOSTIM-SILVA, M. Marine fish assemblages of Eastern Brazil: an update after the world's largest mining disaster and suggestions of functional groups for bio-monitoring long lasting effects. **Science of the Total Environment**, v. 807, n. 2, p. 150987, 2022.

CONTENTE, R.; STEFANONI, M.; SPACH, H. Size-related changes in diet of the slipper sole *Trinectes paulistanus* (Actinopterygii, Achiridae) juveniles in a subtropical Brazilian estuary. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**, v.4, n.1, p.63–69, 2009.

COPPO, G.; PAIS, F. S.; BERNARDINO, A. F. Transition of an estuarine benthic meiofauna assemblage 1.7 and 2.8 years after a mining disaster. **PeerJ**, v. 11, p. E14992, 2023.

COWLEY, P. D.; TWEEDLEY, J. R.; WHITFIELD, A. K. Conservation of Estuarine Fishes. **Fish and Fisheries in Estuaries**. 2022.

CRIALES-HERNANDEZ, M. I. Composición de la Dieta de *Pellona harroweri* (Fowler) (Pisces: Pristigasteridae) en la Guajira, Caribe Colombiano. **Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras**, v. 32, n.1, p. 279–282, 2003.

DAVIES, R. B. Hypothesis testing when a nuisance parameter is present only under the alternative: linear model case. **Biometrika**, v. 89, p. 484–489, 2002.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v. 4, p. 359–361, 2012.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611–2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular ecology resources**, v. 10, n. 3, p. 564–567. 2010.

FAGAN, K. A.; KOOPS, M. A.; POWER, M. Assessing the utility of C:N ratios for predicting lipid content in fishes. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 68, n. 2, p. 374–385, 2011.

FÉLIX-HACKRADT, F. C.; HACKRADT, C.; GARCIA-CHARTON, J. A. Environmental determinants on fish post-larval distribution in coastal areas of south-western Mediterranean Sea. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 129, p. 59–72, 2013.

FERNANDES, L. F. L.; PAIVA, T. R. M.; LONGHINI, C. M.; PEREIRA, J. B.; GHISOLFI, R. D.; LÁZARO, G. C. S.; DEMONER, L. E.; LAINO, P. S.; Da CONCEIÇÃO, L. R.; SÁ, F.; RODRIGUES NETO, R.; DIAS JUNIOR, C.; LEMOS, C. N.; QUARESMA, V. S.; OLIVEIRA, K. S.; GRILO, C. F.; ROCHA, G. M. Marine zooplankton dynamics after a major mining dam rupture in the Doce River, southeastern Brasil: Rapid response to a changing environment. **Science of the Total Environment**, 736, 139621, 2020.

FEST - Fundação Espírito-santense de Tecnologia. **Relatório Semestral de Evolução do PMBA/Fest - Síntese Integrativa entre Ambientes. RT-42. Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia**, 2023. 204p.

FOLL M. BayeScan v2.1 user manual. **Ecology**, v. 20, n. 10, p. 1450–1462, 2012.

FROESE, R. Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 22, p. 241–253. 2006.

FROESE, R.; D. PAULY. Editors. FishBase. **World Wide Web electronic publication**. 2019. Disponível em: www.fishbase.org. Acesso em: dez. 2019.

GOMES, L. E. O.; CORREA, L. B.; SÁ, F.; NETO, R. R.; BERNARDINO, A. F. The impacts of the Samarco mine tailing spill on the Rio Doce estuary, Eastern Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 120, p. 28–36, 2017.

HATJE, V.; PEDREIRA, R. M. A.; DE REZENDE, C. E.; SCHETTINI, C. A. F.; DE SOUZA, G. C.; MARIN, D. C.; HACKSPACHER, P. C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, p. 1–13, 2017.

HÉRAULT, M. E. B. Entropart: An R Package to Measure and Partition Diversity. **Journal of Statistical Software**, v. 67, n.8, p. 1–26, 2015.

HILL, M. O. Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. **Ecology**, v. 54, n. 2, p. 427–432, 1973.

JACKSON, A. L.; INGER, R.; BEARSHOP, S. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER - Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, n. 3, p. 595–602, 2011.

JAUREGUIZAR, A. J.; SOLARI, A.; CORTÉS, F.; MILESSI, A. C.; MILITELLI, M. I.; CAMIOLO, M. D.; CLARA, M. L. GARCÍA, M. Fish diversity in the Río de la Plata and adjacent waters: an overview of environmental influences on its spatial and temporal structure. **Journal of Fish Biology**, s/v, p. 2-32, 2016.

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC Genetics**, v. 11, n. 1, p.1–5, 2010.

JOST, L.; ARCHER, F.; FLANAGAN, S.; GAGGIOTTI, O.; HOBAN, S.; LATCH, E. Differentiation measures for conservation genetics. **Evolutionary Applications**, v. 11, n. 7, p. 1139–1148, 2018.

JOST, L. Partitioning diversity into independent alpha and beta components. **Ecology**, v. 88, n. 10, p. 2427–2439, 2007.

JOST, L. Entropy and diversity. **Oikos**, v. 113, n. 2, p. 363–375, 2006.

KAMVAR, Z. N.; TABIMA, J. F.; GRÜNWALD, N. J. Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction. **PeerJ**, v. 4, n. 2, p. e281, 2014.

KEENAN, K.; MCGINNITY, P.; CROSS, T.F.; CROZIER, W.W.; PRODÖHL, P.A. diveRsity: An R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 4, n. 8, p. 782–788. 2013.

KJELLAND, M. E.; WOODLEY, C. M.; SWANNACK, T. M.; SMITH, D. L. A review of the potential effects of suspended sediment on fishes: potential dredging-related physiological, behavioral, and transgenerational implications. **Environment Systems and Decisions**, v. 35, p. 334–350, 2015.

LAYMAN, C. A.; ARRINGTON, D. A., MONTAÑA, C. G., POST, D. M. Can stable isotope ratio provide for community-wide measures of trophic structure? **Ecology**, v. 88, n. 1, p. 42–48, 2007.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. **Journal of Statistical Software**, v. 25, n. 1, p. 1–18, 2008.

LECAILLON, G. The "Care" system as a method of producing farmed marine animals for the aquarium market: an alternative solution to collection in the wild. **Spc Bulletin**, v. 12, 2004.

LEGENDRE, P.; GALLAGHER, E. D. Ecologically meaningful transformations for ordination of species data. **Oecologia**, v. 129, n. 2, p. 271–280, 2001.

MACEDA-VEIGA, A.; GREEN, A. J.; DE SOSTOA, A. Scaled body-mass index shows how habitat quality influences the condition of four fish taxa in north-eastern Spain and provides a novel indicator of ecosystem health. **Freshwater Biology**, v. 59, p. 1145–1160, 2014.

MAGRIS, R. A.; MARTA-ALMEIDA, M.; MONTEIRO, J. A. F.; BAN, N. C. A modelling approach to assess the impact of land mining on marine biodiversity: Assessment in coastal catchments experiencing catastrophic events (SW Brazil). **Science of The Total Environment**, v. 659, p. 828-840, 2019.

MAI, A.; CONDINI, M.; ALBUQUERQUE, C.; LOEBMANN, D.; SAINT'PIERRE, T. D.; MIEKELEY, N.; VIEIRA, J. P. High plasticity in habitat use of *Lycengraulis grossidens* (Clupeiformes, Engraulididae). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 141, p. 17–25, 2014.

MARIN, V.; ARRANZ, I.; GRENOILLET, G.; CUCHEROUSSET, J. Fish size spectrum as a complementary biomonitoring approach of freshwater ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 146, 2023.

McARDLE, B. H.; ANDERSON, M. J. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. **Ecology**, v. 82, p. 290–297, 2001.

MINTE-VERA, C. V.; DE MOURA, R. L.; FRANCINI-FILHO, R. B. Nested sampling: an improved visual-census technique for studying reef fish assemblages. **Marine Ecology Progress Series**, v. 367, p. 283–293, 2008.

MOHR, C. O. Table of Equivalent Populations of North American Small Mammals. *Americ. Midland Natural*, v. 37, n. 1, p. 223–249, 1947.

MOLINA, A.; DUQUE, G.; COGUA, P. Influences of environmental conditions in the fish assemblage structure of a tropical estuary. **Marine Biodiversity**, v. 50, n. 5, p. 2-13, 2020.

MUGGEO, V. M. Estimating regression models with unknown break-points. **Statistics in Medicine**, v. 22, p. 3055–3071, 2003.

NAZARENO, A. G.; DICK, C. W.; LOHMANN, L. G. Tangled banks: A landscape genomic evaluation of Wallace's riverine barrier hypothesis for three amazon plant species. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 5, p. 980–997, 2018.

OKSANEN, J. F. et al. **Vegan: Community Ecology Package**. R package version 2.5-6. 2019. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>

PEIG, J.; GREEN, A. J. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. **Oikos**, v. 118, p. 1883–1891, 2009.

PEIG, J.; GREEN, A. J. The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. **Functional Ecology**, v. 24, p. 1323–1332, 2010.

PIERCE, R. M.; LIMBURG, K. E.; HANACEK, D.; VALIELA, I. Effects of urbanization of coastal watersheds on growth and condition of juvenile alewives in New England. **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 77, p. 594–601, 2020.

PMPQQS. **Programa de Monitoramento Quali-quantitativo Sistemático de Água e Sedimento. Fundação Renova**. 2023. Disponível em: <https://portal-de-monitoramento-rio-doce-fundacaorenova.hub.arcgis.com/pages/pa-download>. Acesso em: 02 de fev. 2023.

POST, D. M.; LAYMAN, C. A.; ARRINGTON, D. A.; MONTAÑA, C. G. Getting to the fat of the matter: models, methods and assumptions for dealing with lipids in stable isotope analyses. **Oecologia**, v. 152, n. 1, p. 179–189, 2007.

PRITCHARD J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 55, n. 2, p. 945–959, 2000.

R CORE TEAM. **A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2020. Disponível em: <https://www.R-project.org/>.

REED, D. H.; FRANKHAM, R. Correlation between fitness and genetic diversity. **Conservation Biology**, v. 17, n. 1, p. 230–237, 2003.

RENSHAW, M. A.; KARLSSON, S.; GOLD, J. R. Isolation and characterization of microsatellites in lane snapper (*Lutjanus synagris*), mutton snapper (*Lutjanus analis*), and yellowtail snapper (*Ocyurus chrysurus*). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 6, p. 1084–1087, 2007.

RENSHAW, M. A.; NEMETH, R. S.; GOLD, J. R. Isolation and characterization of microsatellite markers from yellowfin grouper, *Mycteroperca venenosa*. **Conservation Genetics Resources**, v. 3, p. 341–344, 2011.

RENSHAW, M. A.; PORTNOY, D. S.; GOLD, J. R. PCR primers for nuclear-encoded microsatellites of the groupers *Cephalopholis fulva* (coney) and *Epinephelus guttatus* (red hind). **Conservation Genetics**, v. 11, p. 1197–1202, 2010.

RICHARDS, W. J. **Early stages of Atlantic fishes: an identification guide for the Western North Atlantic**. Boca Raton, Florida: CRC Press, v. I and II, 2006. 2640 p.

ROZAS, J.; FERRER-MATA, A.; SÁNCHEZ-DELBARRIO, J. C.; GUIRAO-RICO, S.; LIBRADO, P.; RAMOS-ONSINS, S. E.; SÁNCHEZ-GRACIA, A. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. **Molecular biology and evolution**, v. 34, n. 12, p. 3299–3302, 2017.

RRDM, Rede Rio Doce Mar. **Relatório Anual – Anexo 3 Marinho – Ictioplâncton. RT-19H, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia.** 2019. 194 p.

RRDM, Rede Rio Doce Mar. **Relatório Anual do PMBA/Fest-RRDM – Ambiente Marinho. RT-36D, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia.** 2020.1600 p.

RRDM, Rede Rio Doce Mar. **Relatório Semestral de Evolução (RSE). RT-37, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia.** 143 pag. 2021.

RRDM, Rede Rio Doce Mar. **Relatório Anual do PMBA/Fest-RRDM – Ambiente Marinho. RT-39D, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia.** 2022. 1410 p.

RUDORFF, N.; RUDORFF, C. M.; KAMPEL, M.; ORTIZ, G. Remote sensing monitoring of the impact of a major mining wastewater disaster on the turbidity of the Doce River plume off the eastern Brazilian coast. **ISPRS Journal of Photogrammetry Remote Sensing** v. 145, p. 349–361, 2018.

SEBASTIANO, M.; JOUANNEAU, W.; BLÉVIN, P.; ANGELIER, F.; PARENTEAU, C.; GERNIGON, J.; LEMESLE, J. C.; ROBIN, F.; PARDON, P.; BUDZINSKI, H.; LABADIE, P.; CHASTEL, O. High levels of fluoroalkyl substances and potential disruption of thyroid hormones in three gull species from SouthWestern France. **Science of the Total Environment**, v. 765, p. 144611, 2021.

SHULZITSKI, K.; MCCARTNEY, M. A.; BURTON, M. L. Population connectivity among Dry Tortugas, Florida, and Caribbean populations of mutton snapper (*Lutjanus analis*), inferred from multiple microsatellite loci. **Fishery Bulletin**, v. 107, n. 4, p. 501–509, 2009.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.

UNDERWOOD, A. J. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. **Marine and Freshwater Research**, v. 42, n. 5, p. 569–587, 1991.

UNDERWOOD, A. J. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 161, n. 2, p. 145–178, 1992.

UNDERWOOD, A. J. On Beyond BACI. **Ecological Society of America**, v. 4, n. 1, p. 3–15, 1994.

UNDERWOOD, A. J. The mechanics of spatially replicated sampling programs to detect environmental impacts in a variable world. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, n. 1, p. 99–116, 1993.

VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P.; SHIPLEY, P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 3, p. 535–538, 2004.

VAN WINKLE, W. Comparison of Several Probabilistic Home-Range Models. **Journal of Wildlife Management**, v. 39, n. 1, p. 118–123, 1975.

VASCONCELLOS, R. M.; GOMES-GONÇALVES, R. S.; SANTOS, J. N. S.; ARAUJO, F. G. Do closely related species share of feeding niche along growth? Diets of three sympatric species of the mojarra (Actinopterygii: Gerreidae) in a tropical bay in southeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 101, n. 6, p. 949–962, 2018.

WAHLUND S. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. **Hereditas**, v. 11, p. 65–106, 1928.

WARD, N. The problem of sediment in water for fish. Northwestern Ontario boreal forest management technical notes (TN-21). **Ministry of Natural Resources**, Ontario, 1992.

WARD, R. D.; ZEMLAK, T. S.; INNES, B. H.; LAST, P. R.; HEBERT, D. N. DNA barcoding Australia's fish species. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 360, p. 1847–1857, 2005.

WENGER, A. S.; HARVEY, E.; WILSON, S.; RAWSON, C.; NEWMAN, S.J.; CLARKE, D.; SAUNDERS, B.J.; BROWNE, N.; TRAVERS, M.J.; MCILWAIN, J.L.; ERFTEMEIJER, P.L.A.; HOBBS, J.P.A., MCLEAN, D., DEPCZYNSKI, M., EVANS, R.D. A critical analysis of the direct effects of dredging on fish. **Fish and Fisheries**, v. 18, p. 967–985, 2017.

WILLEMS, J. S.; PHILLIPS, J. N.; VOSBIGIAN, R. A.; VILLABLANCA, F. X.; FRANCIS, C. D. Night lighting and anthropogenic noise alter the activity and body condition of pinyon mice (*Peromyscus truei*). **Ecosphere**, v. 12, n. 3, 2021.

WILSON, G. A.; RANNALA, B. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics**, v. 163, n. 3, p. 1177–1191, 2003.

WOLFF, W. J. Causes of extirpations in the Wadden Sea, an estuarine area in the Netherlands. **Conservation Biology**, v. 14, p. 876–885, 2000.

WORTON, B. Kernel Methods for Estimating the Utilization Distribution in Home-Range Studies. **Ecology**, v. 70, n. 1, p. 164–168, 1989.

ZATCOFF, M. S.; BALL, A. O.; CHAPMAN R. W. Characterization of polymorphic microsatellite loci from black grouper, *Mycteroperca bonaci* (Teleostei: Serranidae). **Molecular Ecology Notes**, v. 2, n. 3, p. 217–219, 2002.

ZUUR, A. F.; IENO, E. N.; WALKER, N.; SAVELIEV, A. A.; SMITH, G. M. **Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R**. New York, NY: Springer (2009th ed., Statistics for Biology and Health), 2009.