

**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: Aves Marinhas**

**RT- 46/ JUN 24**

**RA2023 PMBA/Fest**

Vitória,

Junho de 2024

## **EQUIPE TÉCNICA**

Leandro Bugoni

Guilherme Tavares Nunes

Márcio Amorim Efe

Júlia Jacoby de Souza

Bruno de Andrade Linhares

Fernanda Pinto Mota

Olga Lucia Herrera Trujillo

Gustavo da Rosa Leal

Igor Acosta

Leonardo Marques Furlanetto

Cynthia Campolina de Melo Vianna

Maicon Pegoraro de Lara

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL .....</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>4</b>
2.1	COLETA .....	4
2.1.1	Distribuição espacial e uso dos recursos alimentares por aves marinhas na área atingida pelos rejeitos da barragem de fundão .....	4
2.1.2	Concentrações de elementos-traço nas aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação.....	9
2.1.3	Condições sanitárias, demográficas e genéticas das aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação .....	9
2.2	ANÁLISE.....	11
2.2.1	Distribuição espacial e uso dos recursos alimentares por aves marinhas na área atingida pelos rejeitos da barragem de fundão .....	11
2.2.2	Concentrações de elementos-traço nas aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação.....	13
2.2.3	Condições sanitárias, demográficas e genéticas das aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação .....	14
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	21
<b>3</b>	<b>RESULTADOS DOS INDICADORES .....</b>	<b>22</b>
3.1	DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E USO DOS RECURSOS ALIMENTARES POR AVES MARINHAS NA ÁREA ATINGIDA PELOS REJEITOS DA BARRAGEM DE FUNDÃO .....	23
3.2	CONCENTRAÇÕES DE METAIS E ARSÊNIO NAS AVES MARINHAS E PRESAS QUE UTILIZAM A FOZ DO RIO DOCE E ADJACÊNCIAS PARA ALIMENTAÇÃO .....	89
3.3	CONDIÇÕES SANITÁRIAS, DEMOGRÁFICAS E GENÉTICAS DAS AVES MARINHAS QUE UTILIZAM A FOZ DO RIO DOCE E ADJACÊNCIAS PARA ALIMENTAÇÃO .....	115
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO .....</b>	<b>182</b>
<b>5</b>	<b>ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS .....</b>	<b>186</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>189</b>

## 1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

A malha e frequência amostral do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) passou por modificações ao longo do tempo, visando seu aperfeiçoamento para atendimento 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 continuidade do monitoramento, apresentadas e aprovadas em 2022, visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest”.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) MS – Malha e Frequência amostral, 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 histórica referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais monitoradas 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 monitoradas a partir de agosto de 2022, à exceção do grupo da Ecotoxicologia, que iniciou a amostragem referente ao Novo Ciclo em janeiro de 2023.

## 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 agosto de 2022 (e dezembro de 2022 para o Tema Ecotoxicologia). 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 Distribuição espacial e uso dos recursos alimentares por aves marinhas na área atingida pelos rejeitos da barragem de fundão

##### *Rastreamento remoto*

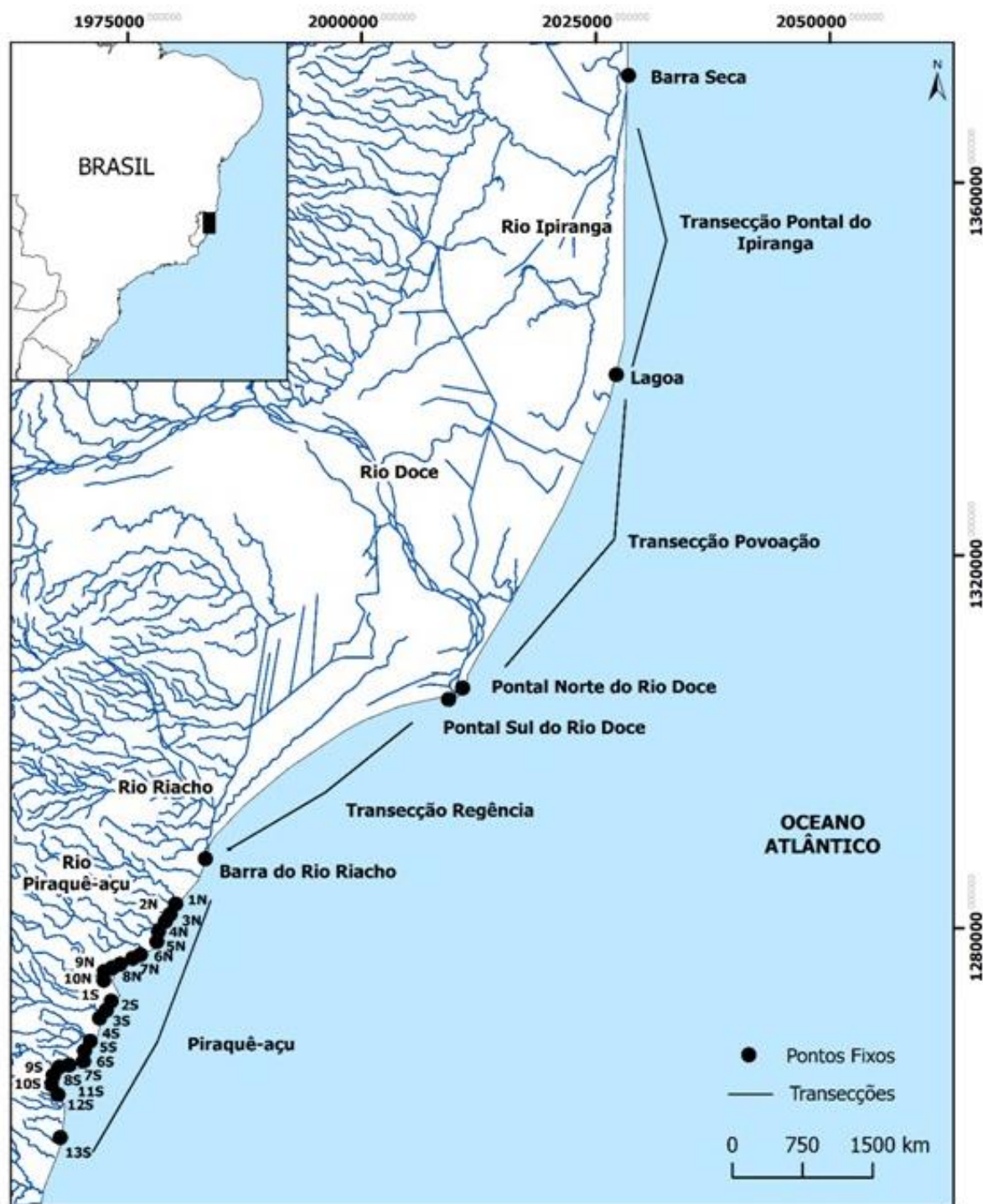
Para gerar os mapas das áreas de alimentação de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* foram realizadas expedições para rastreamento remoto das aves com equipamentos miniaturizados multisensores no arquipélago dos Abrolhos. Dados destas espécies coletadas nos anos de 2012 e 2013, e pertencentes ao Laboratório de Aves Aquáticas e Tartarugas Marinhas da FURG, também foram analisadas com o intuito de verificar alguma mudança que poderia ter sido ocasionada pelo

rompimento da barragem. Em Abrolhos as aves foram rastreadas durante o período reprodutivo, com equipamentos registradores de posição satelital (modelos igot-U e Axy-trek) com frequência de amostragem de 1 posição a cada 10 segundos no caso de *Sula leucogaster*, e a cada 15 minutos no caso de *Phaethon aethereus*. Inicialmente, os ninhos das espécies são identificados com fitas coloridas como forma de facilitar a localização noturna dos ninhos e organização do desenho amostral. As aves são capturadas quando estão no ninho, manualmente ou com auxílio de varas equipadas com rede ou laço, dependendo da necessidade de cada caso. Os equipamentos de GPS são acoplados nas quatro penas centrais da cauda dos adultos utilizando fita especial da marca TESA, modelo 4651. Os adultos selecionados têm ninhegos de aproximadamente uma semana de idade, os quais são caracterizados pela ausência de rêmiges e retrizes e corpo coberto apenas por plumas (Nelson, 2005). Os equipamentos (mais fita adesiva e anilha) totalizam cerca de 15 g para *P. aethereus* e 25 g para *S. leucogaster*, o que corresponde a uma medida abaixo dos 3% da massa corporal média das respectivas espécies, o que é considerado seguro e sem efeitos adversos para aves marinhas. Após o processo de fixação do aparelho, que dura aproximadamente 5 minutos, a ave é solta no ninho onde foi capturada. A recaptura para recuperação dos aparelhos segue o mesmo procedimento referido acima, quando a ave retorna da viagem de alimentação e está novamente no ninho. Os instrumentos colocados nas aves podem ser facilmente recuperados e reutilizados, logo após a transferência dos dados para um computador portátil e recarga da bateria.

#### *Identificação e contagem de aves nas praias*

O monitoramento das aves nas praias do litoral do Espírito Santo é executado utilizando o método do “Itinerário Fixo” em trechos que a fisionomia da praia permite o tráfego de veículo, e “Pontos Fixos” em trechos nos quais a fisionomia da praia não permita o tráfego de veículo (Branco et al., 2010), a ser percorrido por veículo motorizado e estabelecido pelo menos quatro trilhas a serem percorridas na praia, pelo menos uma vez a cada campanha mensal. Para as transecções de praia é preferível realizar as amostragens mensais, pois há maior variação das espécies presentes entre os dias. Cada trilha tem, no mínimo, 30 km. Duas seguem ao norte da foz, até o Degredo (Povoação) e do Degredo até Barra Seca (Pontal do Ipiranga, outra ao sul da foz até Barra do Riacho (Regência) e uma última mais ao sul, 15 km ao norte e 15 km ao sul da foz do Rio Piraquê-Açu (Piraquê-Açu). Também é usado o método de “Contagem em Descanso” (Branco et al., 2010), haja vista existência de bancos de areia às margens da foz e no estuário, que são utilizados como dormitório e área de descanso pelas aves. A metodologia de censo é complementada pelas metodologias internacionalmente aceitas, descritas em Bibby et al. (1992).

Figura 1: Área de realização das contagens de aves aquáticas nos quatro setores de costa: Pontal do Ipiranga, Povoação, Regência e Piraquê-açu.



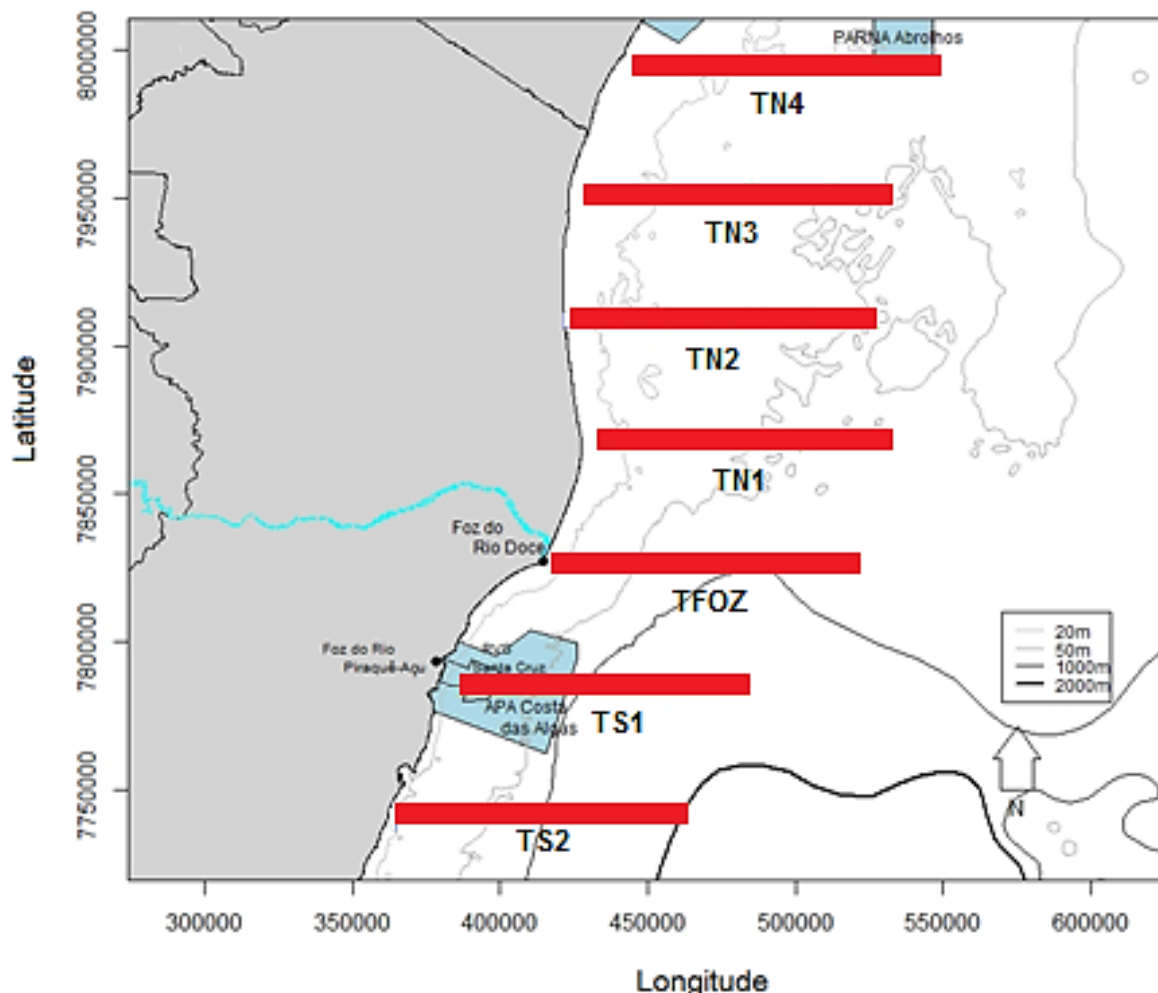
#### *Identificação e contagem de aves no mar*

A metodologia para contagem das aves marinhas segue a de censo contínuo e instantâneo utilizando embarcação (Tasker et al., 1984), pois oferece as melhores estimativas de densidade relativa e absoluta das aves encontradas no mar (voando ou pousadas). Esse método fornece uma estimativa valiosa da abundância de aves marinhas que forrageiam em uma determinada área ou estão



associadas a colônias próximas. Também fornece uma medida de circunstâncias dos locais de alimentação, bem como de variações no uso destes locais. A distribuição e abundância das aves marinhas são obtidas através de censos embarcados trimestrais. As aves marinhas são identificadas através de guias específicos (Harrison, 1985; Onley e Scofield, 2007) e contadas através de censos contínuos e instantâneos segundo Tasker et al. (1984) e Gould e Forsell (1989), incluindo as aves seguidoras. Sete transecções com 100 km de extensão são percorridas (2 ao sul, 4 ao norte e 1 na foz), preferencialmente, em linha reta na área monitorada, ao longo das horas de luz do dia. Cada estação de contagem inclui as seguintes atividades em ordem de execução: (1) contagem de aves seguidoras na popa da embarcação; (2) tomada de informações sobre variáveis espaciais, temporais e ambientais (data, hora, latitude e longitude, rumo e velocidade da embarcação, profundidade, tipo de atividade desenvolvida pelo barco, estado do mar conforme escala Beaufort, temperatura e salinidade da água, temperatura do ar, direção e intensidade do vento); (3) censo contínuo; e (4) censo instantâneo. Os censos são realizados por pelo menos um ornitólogo com experiência na identificação das espécies de aves marinhas da região, sempre do mesmo local, ou do melhor lado da embarcação de acordo com condições de luz e vento no momento. Ao final de uma sequência de censo, outra é iniciada após intervalo de 10 minutos. Aves seguidoras são aquelas que acompanham a embarcação durante a navegação, geralmente voando atrás do barco, e são contadas da popa. O censo contínuo abrange as aves que, durante um período fixo, aparecem dentro de uma faixa de 300 m de largura, medida a partir do bordo da embarcação em ângulo reto com a derrota do navio, excluindo as aves seguidoras. No censo instantâneo o tempo de contagem é dividido em intervalos consecutivos de duração fixa. Ao início de cada intervalo são contadas as aves presentes dentro do raio de 300 m entre o rumo do barco e a linha perpendicular a este, varrendo-se assim a quarta parte de um círculo. Os censos contínuos têm duração de 10 minutos, e os censos instantâneos têm 10 intervalos consecutivos de 1 minuto. A posição do limite externo da faixa de censo é determinada segundo Heinemann (1981), através de uma triangulação envolvendo a largura da faixa de censo de 300 m, a altura do observador acima da superfície do mar e a distância entre os olhos do observador e a ponta superior de um paquímetro colocada na linha do horizonte. A densidade de aves (número de aves/km<sup>2</sup>) é calculada com base nos resultados obtidos nos censos instantâneos, com referência à área total coberta em cada censo, sendo esta igual a 10 vezes a área varrida em cada contagem instantânea.

Figura 2: Área de realização das contagens de aves no mar. Duas transecções ao sul da foz do Rio Doce (TS1 e TS2), uma perpendicular à foz do Rio Doce (TFOZ) e quatro ao norte da foz do Rio Doce (TN1, TN2, TN3 e TN4). Unidades de Conservação estão representadas: Refúgio da Vida Silvestre de Santa Cruz (RVS Santa Cruz), Área de Proteção Ambiental Costa das Algas (APA Costa das Algas), e Parque Nacional Marinho dos Abrolhos (PARNA Abrolhos).



### Ecologia trófica

Para realização das análises de uma forma abrangente, foram utilizadas duas técnicas complementares: análise de isótopos estáveis de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) e análise de material regurgitado de *P. aethereus* e *S. leucogaster* no Arquipélago dos Abrolhos. Em Abrolhos, *P. aethereus* e *S. leucogaster* foram amostrados no período reprodutivo nas suas colônias. Foram coletadas amostras de sangue e penas das aves vivas durante seu período reprodutivo, e músculo das presas das aves marinhas regurgitadas durante o manuseio das aves. Além disso, amostras destas espécies coletadas no ano de 2011 e pertencentes ao Laboratório de Aves Aquáticas e Tartarugas Marinhas (LAATM) da FURG também foram analisadas com o intuito de compor um banco de dados pré-rompimento da barragem do Fundão. Também foram adicionados dados de junho de 2018, anteriores ao início do PMBA, pertencentes ao LAATM. A partir do dezembro/2022, também foram coletadas amostras de aves da subfamília Sternidae capturadas na foz do Rio Doce e adjacências. O material regurgitado espontaneamente foi coletado no momento da amostragem biológica ou de forma



oportuna a partir de indivíduos do entorno do local da amostragem, acondicionado e identificado em sacos plásticos individualmente (*i.e.* um regurgito por saco plástico), congelado a -4º C, e transportado para o laboratório.

### 2.1.2 Concentrações de elementos-traço nas aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação

As coletas de amostras de sangue e penas de *Sula leucogaster* e de *Phaethon aethereus* ocorreram no arquipélago dos Abrolhos, no período pré-rompimento da barragem do Fundão (fevereiro e agosto de 2011), pré-PMBA (junho de 2018) e no período pós-rompimento, com início do monitoramento no Ano 1 chuvoso e seco (fevereiro e junho de 2019), Ano 2 chuvoso (fevereiro de 2020), Ano 3 chuvoso e seco (fevereiro e agosto de 2021), Ano 4 chuvoso e seco (março e setembro de 2022), Ano 5 chuvoso e seco (março e outubro de 2023) e Ano 6 chuvoso (janeiro de 2024). Adicionalmente, foram coletadas amostras de cascas de ovos ( $n=13$ ) e presas ( $n=140$ ) de forma oportunística, ou seja, quando foram encontrados ovos e quando as aves regurgitaram espontaneamente no momento da amostragem. Amostras de presas regurgitadas são provenientes do Ano 1 chuvoso ( $n=10$ ), Ano 3 seco ( $n=68$ ), Ano 4 chuvoso ( $n=21$ ) e seco ( $n=10$ ) e Ano 5 chuvoso ( $n=15$ ) e seco ( $n=18$ ); amostras de cascas de ovos são provenientes do Ano 4 chuvoso ( $n=6$ ) e seco ( $n=4$ ), Ano 5 seco ( $n=11$ ) e Ano 6 chuvoso ( $n=3$ ).

No período chuvoso e seco do Ano 5 (dezembro de 2022 e setembro de 2023) e no período chuvoso do Ano 6 (dezembro de 2023) foi realizada a amostragem de trinta-réis (Sternidae) na foz do Rio Doce (Regência). Neste período, foram coletadas amostras de sangue e penas de 51 indivíduos, sendo estes das espécies *Sterna hirundo*, *Thalasseus acuflavidus*, *T. maximus* e *Sternula superciliaris*. Essas aves não foram capturadas na área reprodutiva, e, portanto, não foram coletadas cascas de ovos, e o comportamento de regurgitar as presas não foi observado.

As amostras de sangue foram armazenadas em tubos plásticos, congelados (-20 °C), enquanto as amostras de penas foram armazenadas em sacos plásticos em temperatura ambiente. Amostras de cascas de ovos e presas regurgitadas foram mantidas congeladas. Todas as amostras coletadas foram processadas e encaminhadas ao Laboratório de Determinações 2 da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Mediram-se as concentrações dos elementos arsênio (As), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), mercúrio (Hg), manganês (Mn), chumbo (Pb) e zinco (Zn) nos diferentes tipos amostrais.

### 2.1.3 Condições sanitárias, demográficas e genéticas das aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação

#### *Tamanho populacional e biologia reprodutiva*

A variação interanual no tamanho populacional de *P. aethereus* foi obtida para o período pré-rompimento (1991 a 2012), a partir de dados de anilhamento de indivíduos durante projetos de pesquisas realizados pelos pesquisadores do PMBA nas ilhas do arquipélago dos Abrolhos. De forma semelhante, a variação interanual no tamanho populacional de *S. leucogaster* no período pré-rompimento foi obtida com base na literatura (Alves et al., 1997, Mancini et al., 2016). A partir de 2018, os dados foram coletados em parceria ou disponibilizados pela equipe do PARNAM Abrolhos. Nesse

período, o tamanho populacional foi definido com base nas contagens do número de ninhos ativos em todas as ilhas do arquipélago nos meses de picos da reprodução das espécies. Geralmente em maio e outubro para *P. aethereus* e maio para *S. leucogaster*. Diferentemente, em 2018, os dados foram coletados em junho e novembro para ambas as espécies. O total de ninhos ativos foi multiplicado por dois para gerar o número de indivíduos adultos reprodutores em ambas as espécies.

A variação interanual no tamanho populacional de *S. hirundinacea* foi obtida inicialmente no período pré-rompimento (1981 a 2015), a partir de dados de anilhamento realizados por pesquisadores nas Ilhas Itatiaia (Vila Velha – ES), os quais foram disponibilizados pelo CEMAVE/ICMBio. A partir de 2019, os dados foram obtidos com base nas contagens do número de ninhos ativos nas ilhas Itatiaia e outras ilhas costeiras de Vitória (Galhetas, Cabritos, Morro do Moreno, do Boi) nos meses de junho e julho, pico de postura dos ovos da espécie.

A variação interanual no sucesso reprodutivo de *P. aethereus* e *S. leucogaster* no arquipélago dos Abrolhos foi obtida a partir dos dados de monitoramento de uma amostra de ninhos ativos no arquipélago dos Abrolhos em parceria com a equipe do ICMBio do PARNAM Abrolhos. Este monitoramento consistiu na coleta quinzenal do conteúdo dos ninhos (ovos e filhotes), os quais permitem avaliar o sucesso reprodutivo nas fases de incubação e desenvolvimento dos filhotes, bem como gerar as taxas de sucessos de eclosão e de reprodução. Ao longo dos anos de monitoramento a quantidade de ninho de *P. aethereus* monitorados em cada expedição variou entre 27 e 139 ninhos, atingindo um total de 200 ninhos. Para *S. leucogaster* a quantidade de ninho monitorados em cada expedição variou entre 16 e 36 ninhos.

A variação interanual no sucesso reprodutivo de *Sterna hirundinacea* nas ilhas do Espírito Santo consistiu na avaliação dos ninhos ativos e seus conteúdos (ovos e filhotes) em uma única expedição em 2019, 2021 e 2022 e em expedições quinzenais entre junho e agosto em 2023.

#### *Diversidade genética*

O monitoramento dos possíveis impactos do rompimento da barragem sob o aspecto genético das aves marinhas foi realizado entre os anos de 2018 e 2023 com *S. leucogaster* e *P. aethereus*, ambas populações do arquipélago dos Abrolhos. Para isso, as aves foram capturadas nas áreas reprodutivas utilizando puçá ou manualmente, e foram coletadas amostras de 0,2 mL, as quais foram armazenadas em microtubos plásticos contendo etanol absoluto e refrigeradas a -4°C. Amostras destas espécies coletadas no ano de 2011 e pertencentes ao Laboratório de Aves Aquáticas e Tartarugas Marinhas da FURG também foram analisadas com o intuito de verificar alguma mudança em relação à diversidade genética que poderia ter sido ocasionada pelo rompimento da barragem.

#### *Saúde*

Após umedecer levemente a área com álcool 70%, as amostras de sangue foram obtidas por venopunção realizada na veia metatársica medial por meio de contenção física, utilizando-se microtubos de 0,5 mL, microtubos de 1,5 (com álcool absoluto), seringas de 1 mL e 3 mL com agulha de 25 x 7 mm, procedimento comum para a coleta de sangue em aves de porte pequeno, médio ou

grande. A quantidade de sangue colhido foi proporcional ao tamanho da ave, sendo utilizada como regra o volume de 1% do peso do corpo. Para evitar hemólise, o sangue foi cuidadosamente transferido da seringa para os microtubos. Os tubos com as amostras, então, foram mantidos em caixas refrigeradas e encaminhados ao laboratório. As amostras de sangue fresco foram usadas para a confecção de lâminas de esfregaço e então, em laboratório, transferidas para um tubo um contendo heparina de sódio para realização do hemograma. A confecção do esfregaço sanguíneo foi feita por meio da disposição de uma pequena gotícula de sangue (cerca de 10  $\mu$ L) na lâmina de vidro limpa e seca e rapidamente uma lâmina extensora foi deslizada sobre ela, antes do sangue secar ou coagular. A lâmina foi mantida em temperatura ambiente até secar, fixada por imersão em metanol absoluto por alguns segundos e, após a secagem, foram acondicionadas em caixas específicas para lâminas de vidro para assegurar sua conservação até a etapa de coloração (Peirce et al., 1980).

## 2.2 ANÁLISE

### 2.2.1 Distribuição espacial e uso dos recursos alimentares por aves marinhas na área atingida pelos rejeitos da barragem de fundão

#### *Rastreamento remoto*

Uma vez que os dados de localização foram baixados dos equipamentos, foi realizada uma revisão rigorosa dos dados para eliminar pontos errôneos e identificar viagens anormais. Além disso, caso uma ave tenha realizado mais de uma viagem, estas foram separadas utilizando como referência um raio de 2 km ao redor do arquipélago. Posteriormente, foi realizada uma interpolação linear dos dados de posicionamento de cada uma das viagens, com o objetivo de ter intervalos de tempo regulares, considerando o intervalo de tempo de 1 minuto para *S. leucogaster* e 15 minutos para *P. aethereus*. A partir das matrizes de dados regularizados, foram extraídas informações que descreveram cada viagem, como a distância máxima percorrida, a distância máxima da colônia, a duração da viagem e a sinuosidade dos movimentos. Além disso, a partir dos dados interpolados, foi calculado o *step length*, que se refere à distância percorrida entre dois pontos de posição GPS consecutivos, ou à distância euclidiana entre duas localizações sucessivas registradas pelo GPS, bem como o *turning angle*, que descreve a direção em que uma ave se desloca entre dois pontos de posição consecutivos em sua trajetória e é medido como a mudança na direção do movimento entre duas localizações. Tanto o *step length* quanto o *turning angle* foram posteriormente utilizados como variáveis para ajustar modelos ocultos de Markov para identificar pontos com comportamento de alimentação no mar, conforme descrito em Michelot et al. (2016), os quais são interpolados para identificar áreas potenciais de alimentação. Além disso, foram estimadas e comparadas as áreas de alimentação antes e após o rompimento a partir da densidade de kernel (KDE - Kernel Density Estimator), uma forma não paramétrica de estimar a função de densidade de probabilidade de uma variável aleatória.

#### *Identificação e contagem de aves nas praias*

Foi calculada a frequência de ocorrência relativa das espécies, expressa em porcentagem do número de meses com registros da espécie, considerando-se o número de total de meses amostrados durante o período. O índice de diversidade de Shannon-Weiner foi calculado para os quatro setores de costa a cada mês de amostragem. Para o cálculo do índice, foi utilizado, para cada setor e mês, o número total de espécies registradas e a abundância relativa de cada espécie na comunidade. Os mapas de distribuição da assembleia de aves marinhas e costeiras nas praias são elaborados a partir de contagens mensais de aves em 130 km de praias ao sul e norte da Foz do Rio Doce.

#### *Identificação e contagem de aves no mar*

Os cálculos de esforço, frequência de ocorrência, abundância e densidade de aves marinhas foram realizadas através de manipulação de planilhas utilizando o pacote *dplyr*. A frequência numérica (FN) e frequência de ocorrência (FO%) foram definidas como a porcentagem de cada espécie de ave em relação ao total e o número de estações ou transectos contendo determinada espécie, respectivamente (Pinkas et al., 1971). Os mapas foram confeccionados através da utilização de diferentes funções dos pacotes: *dplyr*, *GISTools*, *sp*, *maptools*, *rgdal* e *shapes*. Os mapas de esforço amostral e densidade de aves foram construídos a partir da utilização da função *rasterize* disponível no pacote *raster*. A análise de Shannon foi realizada através da função *diversity* disponível no pacote *vegan*. Todos os pacotes foram utilizados em ambiente R v. 4.2.1 (R Core Team, 2022).

#### *Ecologia trófica*

As amostras de músculo das presas foram lavadas em solução de clorofórmio:metanol 2:1 no condensador tipo Soxhlet para extração de lipídios, durante 3 sessões de 6h cada. Após a secagem em um liofilizador por 8h, as amostras de músculo das presas e sangue das aves foram maceradas até a obtenção de um pó homogêneo. Cerca de 0,9 mg de amostra foi pesada e envelopada em cápsula de estanho. A determinação da composição isotópica dos elementos foi feita em um espectrômetro de massa de razão isotópica acoplado a um analisador elementar para C e N. As razões isotópicas foram expressas pela notação delta em partes por mil, de acordo com:  $\delta X = [(R_{amostra} / R_{padrão}) - 1] \times 1000$ , onde X é  $^{13}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}$  e R é a razão correspondente  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ . As razões isotópicas do carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) e nitrogênio ( $\delta^{15}\text{N}$ ) são expressas em relação ao padrão V-PDB (Vienna Pee dee Belemnite) e ao nitrogênio atmosférico, respectivamente. Foram utilizados materiais certificados de referência em todas as análises. Para análise de dados isotópicos das aves, foram calculadas médias e desvio padrão para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  em cada um dos períodos analisados. Além disso, foram testadas diferenças univariadas entre os valores isotópicos entre os anos de monitoramento utilizando o teste de Kruskal-Wallis e o teste U de Mann-Whitney como *post-hoc* utilizando *False Discovery Rate* para ajuste de *p*-valor (Benjamini & Hochberg, 1995). Posteriormente, foram estimados nichos isotópicos de cada uma das espécies em cada período através de uma abordagem Bayesiana implementada através do pacote SIBER (Jackson et al. 2011), além do cálculo de sobreposição área de nicho. Por fim, foi estimada a contribuição de cada fonte de presa para a dieta das aves através de modelos de mistura Bayesianos no pacote *simmr* (Govan & Parnell, 2023). Os fatores discriminantes utilizados nos modelos de mistura foram  $-0.18 \pm 0.1\text{‰}$  para  $\delta^{13}\text{C}$  e  $1.72 \pm 0.1\text{‰}$  para  $\delta^{15}\text{N}$ , estimados para o Atlantic puffin *Fratercula arctica*.

(Jenkins et al., 2020). A escolha das presas a serem inseridas nos modelos foi feita com base nas informações de regurgitos, onde presas mais frequentemente detectadas no material regurgitado foram inseridas nos modelos. Fontes de presas inseridas que demonstraram valores isotopicamente similares nas análises preliminares, sem diferença estatisticamente significativa, foram combinadas (Parnell & Inger, 2023). Nesse sentido, as famílias de peixes Scombridae e Exocoetidae, bem como lulas da família Ommastrephidae, foram agrupadas em uma única fonte devido à valores isotópicos similares e melhor ajuste do modelo; seguindo recomendações descritas por Phillips et al. (2014).

No laboratório, as presas coletadas a partir do regurgito espontâneo foram identificadas através de guias de identificação específicos (e.g. Menezes & Figueiredo, 1978; Szpilman, 2000; Marceniuk et al., 2021), a fim de conferir identificação ao menor nível taxonômico possível. Em seguida, os indivíduos foram medidos (milímetros) em relação às seguintes variáveis morfológicas: comprimento total, comprimento furcal, altura do pedúnculo caudal, e distância entre nadadeiras anal e caudal. A reconstituição da massa corporal das presas foi realizada através de uma abordagem Bayesiana que relaciona tamanho e massa corporal das presas, seguindo padrões de forma do corpo (Froese et al., 2014). Os dados obtidos a partir da análise do material regurgitado foram compilados em tabelas separadas para os períodos pré e pós rompimento da barragem. Os dados do pré rompimento da barragem foram retirados de trabalhos prévios referentes à dieta de aves marinhas no arquipélago de Abrolhos para *S. leucogaster* e *P. aethereus* (Alves et al., 2004; Nascimento & Azevedo-Júnior, 2005).

As amostras do período pós rompimento da barragem foram coletados nos anos de 2018, 2019, 2021, 2022 e 2023. As interpretações matemáticas foram baseadas em cálculos da frequência de ocorrência (%FO), que se refere ao número de vezes em que determinado item alimentar ocorreu nas amostras, e a porcentagem numérica (%N) de cada item alimentar em relação ao total de presas. A importância de cada item alimentar na dieta do período pós rompimento foi determinada para as duas espécies a partir das amostras obtidas utilizando-se o índice de importância relativa presa-específica (%PSIRI), conforme Brown et al. (2012). Para cada predador, foi realizada uma análise por família e uma análise por espécie, a fim de otimizar o aproveitamento de amostras para as quais não foi possível a identificação no nível de espécie. O valor de %PSIRI foi obtido a partir da seguinte equação:

$$\%PSIRI_i = \frac{(\%FO_i * (\%PN_i + \%PM_i))}{2},$$

na qual  $PSIRI\%$  = índice de importância relativa presa-específica do item alimentar  $i$ ,  $FO\%$  = frequência de ocorrência da presa  $i$  nas amostras,  $PN\%$  = contribuição numérica presa-específica da presa  $i$ ;  $PM\%$  = contribuição presa-específica em massa reconstituída da presa  $i$ .

## 2.2.2 Concentrações de elementos-traço nas aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação

As amostras de material biológico das aves foram previamente secas em estufa (45-60°C) até peso seco constante e digeridas em ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) ultrapuro (Suprapur, Merck, Darmstadt, Alemanha) na proporção de 1 g de peso seco de material biológico para 2 mL de ácido nítrico. As amostras foram então submetidas à digestão ácida em tubos plásticos tipo Eppendorf devidamente lacrados e mantidos



em estufa incubadora (45-60°C) até sua completa digestão. As amostras de material biológico digerido foram avolumadas a 1 ml com água tipo milli-q. Imediatamente antes da análise da concentração dos metais, as amostras foram diluídas, conforme a necessidade, utilizando-se água tipo milli-q. As amostras de material biológico, preparadas conforme descrito acima, foram analisadas, em triplicata, por espectrometria de absorção atômica de alta resolução com forno de grafite acoplado (HR-CS- AAS; ContrAA 700 Analytik Jena, Alemanha). As concentrações dos metais no material biológico foram expressas em µg/g de peso úmido (mg/kg de peso úmido). Para verificar a acurácia e exatidão das análises, foram realizados controles de qualidade analíticos. Para tal, foram analisados "brancos", com os quais todos os procedimentos para a preparação e análise das amostras foram realizados, porém na ausência da amostra. Além disso, foram utilizadas soluções padrões dos metais analisados (SpecSol®, QuimLab Química & Metrologia, Jacareí, SP, Brasil) rastreadas ao *National Institute of Standards and Technology* (NIST, Gaithersburg, MD, EUA), para verificar a acurácia das medidas. Por sua vez, a exatidão dos resultados obtidos foi avaliada utilizando-se os seguintes materiais de referência certificados para análise de metais traços: proteína de peixe DORM-4 (*National Research Council, Canadá*) e tecido de mexilhão ERM-CE278 (*European Reference Material*). Amostras destes materiais de referência certificados foram tratadas e analisadas da mesma forma que as amostras do material biológico coletado, conforme descrito anteriormente.

Foi realizada uma Análise de Componentes Principais separadamente para penas e sangue das duas espécies de aves marinhas de Abrolhos, com o objetivo de analisar relações entre os elementos e a variação temporal nas concentrações. Todos os elementos foram mantidos e padronizados para a análise. Também foram construídos Modelos Lineares Generalizados (GLMs) para cada elemento separadamente para cada tecido (sangue e penas) das aves marinhas de Abrolhos, considerando como variáveis explicativas a Espécie, a Campanha de amostragem e a interação Espécie:Campanha. Foi utilizada a família de distribuições Gama e função de ligação inversa, devido ao melhor ajuste dos modelos quanto à análise dos resíduos. Foram utilizadas tabelas de Análise de Deviância dos modelos para avaliar quais variáveis foram significativas e para computar a porcentagem da deviância explicada por cada variável em cada modelo. Os valores de metais e Arsênio dos Sternidae amostrados foram analisados graficamente, em comparação com as estatísticas descritivas das espécies de Abrolhos amostradas simultaneamente, tendo em vista a menor abrangência temporal da amostragem de Sternidae na foz do Rio Doce (Ano 5 – Ano 6). Amostras de presas e cascas de ovos também foram analisadas quanto às suas estatísticas descritivas, em comparação ao sangue e penas das aves de Abrolhos amostradas durante os mesmos períodos em que foram obtidas amostras de presas regurgitadas. As análises estatísticas foram conduzidas em ambiente R v.3.6.1 (R Core Team, 2020).

### **2.2.3 Condições sanitárias, demográficas e genéticas das aves marinhas que utilizam a foz do rio doce e adjacências para alimentação**

#### *Tamanho populacional e biologia reprodutiva*

A variação interanual no tamanho populacional e do sucesso reprodutivo de *S. leucogaster* e *P. aethereus* no arquipélago dos Abrolhos foi analisada em gráficos de tendência construídos com a base



temporal de dados coletados. O sucesso reprodutivo aparente foi calculado usando o método tradicional. O sucesso de eclosão foi calculado dividindo o número de ovos incubados pelo número de ovos postos, enquanto o sucesso reprodutivo foi calculado dividindo o número de filhotes aptos a deixarem os ninhos pelo número de filhotes nascidos. Nos ninhos monitorados em Abrolhos, os ovos que não foram incubados ou que ultrapassaram o tempo máximo de incubação foram registrados como abandonados. Os ninhos onde os ovos ou filhotes desapareceram antes do tempo mínimo de incubação e de recrutamento foram considerados predados. Além disso, ovos com vestígios de predação (cascas quebradas, furos), o que não pode ser ocasionado por condições climáticas extremas, patógenos, pisoteamento pelas cabras presentes na ilha Santa Bárbara ou outros fatores também foram considerados predados. A análise do sucesso reprodutivo seguiu a recomendação e foi realizada separadamente de acordo com os períodos secos e chuvosos adotados. Para *Sterna hirundinacea*, o tamanho populacional foi obtido através de contagens de ovos e adultos nas ilhas onde ocorreu reprodução. O sucesso reprodutivo foi calculado a partir do registro de ovos e filhotes durante as visitas esporádicas para a contagem dos ninhos e adultos.

#### *Diversidade genética*

O DNA genômico foi extraído utilizando o kit DNeasy Blood & Tissue Qiagen® a partir de amostras de sangue preservadas em álcool absoluto. Marcadores do tipo microsatélites (SSR) foram amplificados utilizando *primers* e protocolos específicos descritos para cada espécie na literatura (Taylor et al., 2010; Molecular Ecology Resources Primer Development Consortium, 2011; Jones et al., 2017). As análises foram conduzidas comparando amostragens por ano de coleta e, também, comparando amostras coletadas nos períodos pré e pós rompimento. Os índices descritivos da diversidade genética foram calculados nos programas FSTAT v1.2 (Goudet, 1995) e Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010). Para verificar diferenças na composição genética nos conjuntos de amostras, uma análise de coordenadas principais (PCoA) foi feita para cada espécie, utilizando o programa GenAlEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2006; Peakall & Smouse, 2012).

Para as análises de NGS, foi construída uma biblioteca genômica utilizando uma adaptação à técnica de ddRADseq (*double digest restriction-site-associated DNA*) (Peterson et al., 2012), com as enzimas de restrição (Thermo Scientific) *VspI* (corte frequente) e *SdaI* (corte raro). A construção das bibliotecas e o sequenciamento das mesmas no sequenciador Ion Torrent (PGM, Life Technologies) foi realizado no Laboratório de Evolução e Genética Animal, da Universidade Federal do Amazonas (Manaus) em parceria com o Prof. Dr. Tomas Hrbek.

As leituras brutas (*raw reads*) em formato fastq, foram demultiplexadas pelos códigos de barra correspondentes a cada amostra utilizando o programa ipyrad (Dar & Overcast, 2020). Uma vez separadas, as *reads* foram avaliadas quanto à qualidade no programa fastQC v0.12.1 (Andrews, 2010). Os filtros por qualidade de sequenciamento, tamanho, remoção de duplicatas de PCR e de adaptadores foram aplicados utilizando o programa fastp v0.23.2 (Chen et al., 2018). Os genomas de *Sula dactylatra* (ASM1338990v1) e *Phaethon lepturus* (ASM68728v1), disponíveis no banco de dados do GenBank, foram utilizados como referência para mapear as *reads* filtradas de *Sula leucogaster* e *Phaethon*

*aethereus*, respectivamente. Para esse propósito, empregamos o programa BWA v0.7.17-r1188 (Li & Durbin, 2009) com os parâmetros padrão, e o arquivo resultante foi processado com Samtools v1.3.1.0 (Danecek et al., 2021) para gerar os arquivos bam de cada indivíduo.

O chamado dos sítios e as probabilidades (*likelihood*) de genótipos foram realizados com ANGSDv0.935 (*Analysis of Next Generation Sequencing Data*) (Korneliussen et al., 2014) para cada espécie separadamente. Aplicamos filtros básicos para qualidade de base e mapeamento, mantendo apenas sítios com cobertura mínima de 5x e máxima de 100x por indivíduo, e permitindo um máximo de 20% de dados faltantes por sítio. Indivíduos que apresentaram mais de 30% de dados faltantes após este filtro foram eliminados, e a análise foi realizada novamente para conferir a quantidade de sítios faltantes no novo conjunto de dados.

Uma análise de parentesco por pares foi realizada no programa ngsRelateV2 (Hanghøj et al., 2019), o qual permite corrigir a endogamia e estimar análises de parentesco baseadas na probabilidade do genótipo. Para obter o input utilizado nessas análises, os sítios variáveis foram chamados no Angsd, adicionando SNP\_pval 1e-3 e doGlf 3 ao conjunto de parâmetros utilizado anteriormente. Nos pares de indivíduos em que o grau de parentesco ( $r_{xy}$ ) foi superior a 0,5, apenas o indivíduo com maior número de *reads* foi mantido para as análises subsequentes. Uma vez selecionado o conjunto final de indivíduos para cada espécie e estabelecidos os parâmetros de filtro adequados, o programa Angsd foi executado novamente para gerar dois conjuntos de dados com parâmetros básicos de qualidade e cobertura, permitindo um máximo de 10% de dados faltantes por sítio. O primeiro conjunto (D1) chamou apenas sítios variantes (SNP\_pval 1e-3) e gerou o arquivo de probabilidade do genótipo no formato beagle (doGlf 2), e o segundo conjunto de dados (D2) sem nenhum parâmetro adicional, chamando todos os sítios, variantes e invariantes. A matriz resultante dos dois conjuntos de dados foi transformada no formato VCF com Plink 1.9 (Chang et al., 2015).

O VCF do conjunto D1 foi filtrado para desequilíbrio de ligação usando BCFtools v1.8 (Danecek et al., 2021) com a função +prune, um ponto de corte de 0.8 e tamanho de janela de 100kb. A matriz de SNPs resultante foi usada para estimar os índices de diversidade genética (Heterozigosidade observada, Heterozigosidade esperada e Coeficiente de endogamia (Fis), bem como os níveis de diferenciação genética por pares (Fst) no programa ARLEQUIN 3.5 (Excoffier et al., 2010), usando 10.000 permutações (com correção de Bonferroni  $\alpha = 0.001$ ) e permitindo um máximo de 10% de dados faltantes. O arquivo beagle foi utilizado para estimar a matriz de covariância e realizar a análise de componentes principais usando PCAngsd v1.0 (Meisner & Albrechtsen, 2018). O VCF do conjunto de dados D2 foi utilizado como input no programa Pixy v1.2.7 beta1 (Korunes & Samuk, 2021) para calcular a diversidade nucleotídica ( $\pi$ ) em janelas de 10kb, incluindo todos os sítios (variantes e invariantes)

Por fim, as estimativas dos tamanhos populacionais efetivos contemporâneos foram realizadas utilizando um estimador de amostra única, baseado no modelo de desequilíbrio de ligação (LD), no programa NeEstimator V2 (Do et al., 2014). A análise foi conduzida selecionando o sistema de acasalamento monogâmico, um ponto de corte para as frequências alélicas de 0,05 (recomendado para

tamanhos amostrais pequenos < 25), e o intervalo de confiança (IC) de 95%, estimado com o método de Jackknife (Do et al. 2014).

### Saúde

Os esfregaços foram corados por meio de coloração de Maygrunwald Giemsa. A leitura da lâmina foi feita com o auxílio do Microscópio Binocular LED 1600 x (Olen). Os esfregaços foram examinados sob microscopia ótica (magnificação 1000x). O esfregaço sanguíneo foi realizado para a obtenção da contagem diferencial de leucócitos (heterófilos, linfócitos, eosinófilos, monócitos e basófilos) sendo realizada para 100 leucócitos. A densidade relativa de leucócitos (DRL), em leucócitos por campo, foi calculada como o inverso da contagem do número de campos microscópicos (sob magnificação de 1000x) examinados para completar a contagem diferencial. Como em aves pode ser difícil diferenciar linfócitos pequenos de trombócitos, utilizou-se a técnica de contagem de granulócitos com posterior cálculo da contagem total de leucócitos, a partir da proporção de granulócitos obtida pela contagem diferencial de leucócitos (DEIN, 1994). A razão de leucócitos e eritrócitos (RLE), em leucócitos por 1000 eritrócitos, foi calculada dividindo a concentração total de leucócitos pela concentração total de eritrócitos. Para estimar a relação entre RLE e DRL com base nestes dados foi estimado a RLE por meio da equação:  $RLE = (4.8731 \times DRL) - 0.7724$ , além da busca minuciosa por hemoparasitas. Para a contagem total de eritrócitos, leucócitos e trombócitos utilizou-se o método de Natt-Herrick (Carisch et al., 2019), que engloba a preparação da solução de Natt-Herrick (utilizada como diluente e corante). Sucintamente, o sangue total foi diluído em razão de 1:200, utilizando a solução de Natt-Herrick. Após a homogeneização, o sangue diluído foi utilizado para preencher a câmara de contagem hematimétrica (câmara de Neubauer), e esta foi deixada em repouso por 5 minutos em câmara úmida antes da contagem. Após isso, as células dos quadrantes da câmara de Neubauer foram diferenciadas e enumeradas com auxílio de microscópio óptico binocular LED 1600 x (Olen). As figuras foram geradas através do pacote *ggplot2* (Wickham, 2016), em ambiente R v. 4.2.1 (R Core Team, 2022) e para os parâmetros hematológicos foram calculados e analisados por média, mínimo e máximo através do software Microsoft Office Excel® (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, 98052-7329, EUA).

Foram pesquisados e caracterizados microrganismos de interesse em saúde pública global. As amostras foram semeadas em tubos contendo 3mL de caldo BHI (Brain Heart Infusion), incubados a 37°C por 24h, para seu enriquecimento. Após esse período, as amostras foram semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) e em MacConkey e, em seguida, incubadas nas mesmas condições anteriores (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*). Visando a pesquisa de *Salmonella* spp., os suabes foram inoculados em caldo tetrationato e em ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4), e incubados a 37°C por 24h. As placas que apresentaram crescimento bacteriano foram submetidas à caracterização morfológica e bioquímica das colônias. As amostras de cloaca foram semeadas em diferentes meios seletivos suplementados com antibióticos para o isolamento de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas para possível identificação de isolados produtores de ESBL, MCR-1 e MRSA. A triagem de bactérias Gram-negativas (membros da família Enterobacteriaceae, não-fermentadores e *Vibrio* spp.) foram utilizados os meios seletivos MacConkey (Acumedia) suplementado com ceftriaxona 2 µg/mL e colistina 3 µg/mL e TCBS (Tiosulfato-Citrato-Bile-Sacarose agar, Acumidia). Para triagem de bactérias Gram-positivas

(*Staphylococcus* spp.), as amostras foram semeadas em agar Manitol (Acumedia) suplementado com oxacilina 8 µg/mL. As amostras foram incubadas a 37° C por 18-24 horas. Para a pesquisa de *Enterococcus* spp. com resistência adquirida à vancomicina (VRE) foi usado um meio cromogênico específico e seletivo para a detecção e diferenciação das espécies *E. faecium* e *E. faecalis*. Para o perfil de susceptibilidade aos antimicrobianos foi realizado o teste de Kirby-Bauer, sinergismo para pesquisa de ESBL (β-lactamases de espectro estendido) e inibição com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) (Esposito et al., 2017). Foram testadas 23 antimicrobianos: Imipinem, Marbofloxacin, Amicacina, Ampicilina, Meropenem, Ciprofloxacina, Ceftriaxona, Cefepime, Marbofloxacin,

Enrofloxacin, Aztreonam, Gentamicina, Enrofloxacin, Ceftazidima, Piperacilina, Tazobactam, Amoxicilina clavulanato, Cefalexina, Tobramicina, Tetraciclina, Cefoxitina, Levofloxacin e Cefovecina). O inóculo foi preparado a partir de colônias isoladas, presentes na placa de isolamento primário. A amostra da colônia a ser testada foi suspensa em caldo de cultivo, de forma a se obter uma suspensão com turvação adequada. Após essa etapa, uma placa contendo meio Ágar de Mueller Hinton foi uniformemente semeada com uma amostra da suspensão, por meio de um swab estéril. Os discos de papel filtro impregnados com quantidades determinadas de antibióticos específicos foram então dispostos ordenadamente sobre a superfície do meio e as placas foram incubadas a 37°C por cerca de 24 horas. A segunda metodologia utilizada foi o disco combinado de substratos com e sem EDTA, para a comparação das zonas de inibição. Para esse teste foram usados dois discos com 10 µg de colistina no ágar e a um deles foram adicionados 100 mM de EDTA. Para interpretação, os halos de substrato com e sem EDTA foram medidos e comparados após 18-24 horas de incubação a 37 °C (Esposito et al., 2017). Os critérios de realização e interpretação dos testes foram realizados seguindo as diretrizes do manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018).

Para a pesquisa de bactérias Gram-negativas multirresistentes, as amostras biológicas, contidas em swab, foram transferidas para tubos de caldo BHI (Brain Heart Infusion) e incubadas a 36 °C por um período de 18-24 horas. Em seguida, foi retirada uma alçada de cada cultura líquida e estriada em placas de ágar MacConkey suplementado com ceftriaxona, ciprofloxacina e colistina (2 µg/mL cada). As diferentes colônias crescidas em ágar MacConkey suplementado com ceftriaxona foram triadas para a produção de ESBL e serino e metalo-carbapenemases. As colônias crescidas em ágar MacConkey suplementado com ciprofloxacina e colistina foram triadas para resistência aos antibióticos da classe das quinolonas e para a produção de MCR, respectivamente. Para a triagem de bactérias produtoras de ESBL foi utilizado o método de disco aproximação (Jarlier et al., 1988), em que um disco de amoxicilina com ácido clavulânico (30 µg) foi colocado no centro de placas de antibiograma e discos de ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg) e cefepima (30 µg) foram dispostos a 2,5 cm de distância do mesmo. Nesse método, a produção de ESBL é considerada positiva quando ocorre o aparecimento de uma zona fantasma ou alargamento do halo de inibição da cefalosporina (Jarlier et al., 1988). A triagem de bactérias produtoras de serino- e metalo-carbapenemases foi feita através do método de antibiograma por disco-difusão (Bauer et al., 1966), utilizando discos de ceftazidima (30 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cefepima (30 µg), imipenem (10 µg), ertapenem (10 µg), meropenem (10 µg) e aztreonam (30 µg), onde a resistência a todos esses

antibióticos é indicativo de produção de serino-carbapenemases, e a resistência a todos esses antibióticos, com exceção do aztreonam, é indicativo de produção de metalo-carbapenemases (CLSI, 2018). A avaliação da susceptibilidade às quinolonas, dos isolados que cresceram em ágar MacConkey suplementado com ciprofloxacina, também foi realizada pelo método de antibiograma por disco-difusão (Bauer et al., 1966), utilizando discos de ácido nalidíxico (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), enrofloxacin (5 µg), levofloxacin (5 µg), marbofloxacin (5 µg), moxifloxacin (5 µg), norfloxacin (10 µg), ofloxacin (5 µg) e perfloxacin (5 µg). Já a triagem para a produção de MCR foi realizada através de três metodologias diferentes – NP teste (Nordmann et al., 2016), um teste rápido que identifica a metabolização de glicose associada ao crescimento bacteriano, na presença de uma determinada concentração de colistina, utilizando o vermelho fenol como indicador de pH; determinação de concentração inibitória mínima (CIM), por microdiluição em caldo (CLSI, 2018); e teste de disco-combinado, comparando as zonas de inibição de um disco de colistina (10 µg) com um disco de colistina (10 µg) com EDTA (100 nM). Os isolados que apresentaram perfil de resistência de interesse foram submetidos à identificação da espécie bacteriana utilizando o equipamento Vitek®2 (bioMérieux) e foram, subsequentemente, submetidos a sequenciamento de genoma completo. Esses isolados foram armazenados em ágar Triptona de Soja (TSA) a 1%, à temperatura ambiente, e em caldo BHI suplementado com 20% de glicerol, a -20 °C. O DNA genômico foi extraído utilizando o kit PureLink™ Quick Gel Extraction & PCR Purification Combo (Life Technologies, Carlsbad, CA), de acordo com as recomendações do fabricante. A qualidade e a concentração das amostras de DNA foram primeiramente avaliadas por espectrofotometria no aparelho DeNovix DS-11 (DeNovix Inc., Wilmington, USA). Posteriormente, tais parâmetros foram avaliados através do fluorômetro Qubit® 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, CA), utilizando o kit Qubit® dsDNA BR Assay (Life Technologies, Carlsbad, CA), conforme recomendações do fabricante. As bibliotecas genômicas, do tipo paired-end, foram construídas utilizando os kits Nextera XT DNA e Nextera DNA Flex (Illumina Inc., Cambridge, UK), de acordo com os protocolos do fabricante (Nextera® XT DNA Library Prep Reference Guide; Document 15031942 v01; Nextera™ DNA Flex Library Prep Reference Guide; Document 1000000025416 v04). Em seguida, a quantificação das bibliotecas prontas foi avaliada através do fluorômetro Qubit® 2.0 (Life Technologies, Carlsbad, CA), utilizando o kit Qubit® dsDNA HS Assay (Life Technologies, Carlsbad, CA), conforme recomendações do fabricante. Os tamanhos dos fragmentos das bibliotecas foram avaliados pelo sistema Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA), utilizando o kit DNA High Sensitivity (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). O sequenciamento dos genomas foi realizado no Laboratório de Investigação e Análise de Genomas (Genome Investigation and Analysis Laboratory – GENIAL), do Centro de Facilidades para a Pesquisa (CEFAP) da USP, utilizando as plataformas Illumina NextSeq (Illumina Inc., San Diego, CA), de 2x150 pb e Illumina MiSeq (Illumina Inc., San Diego, CA), de 2x250 pb. Após o sequenciamento, as sequências geradas foram submetidas à montagem de novo, utilizando as versões correntes dos programas de montagem CLC Genomics Workbench (CLC bio, Cambridge, MA, USA) e Unicycler (Wick et al., 2017). Em seguida, as sequências montadas foram submetidas a análise pelas ferramentas do Center for Genomic Epidemiology (<http://www.genomicepidemiology.org/>), para a predição de espécie (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SpeciesFinder/>),

sorotipo



(<https://cge.cbs.dtu.dk/services/SerotypeFinder/>), genes de resistência e mutações de ponto (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>), genes de virulência (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>), tipagem clonal da bactéria (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/MLST/>) e identificação de plasmídeos (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>) e tipagem plasmidial (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/pMLST/>). A predição de genes de resistência também foi realizada utilizando a ferramenta online CARD (The Comprehensive Antibiotic Resistance Database; <https://card.mcmaster.ca/analyze/rgi>). A predição de genes de virulência de outras espécies, que não *E. coli*, foi feita através da ferramenta blastn contra o banco de dados do Virulence Factors of Pathogenic Bacteria (<http://www.mgc.ac.cn/VFs/>), utilizando um limiar  $\geq 90\%$  de identidade. A análise de filogrupos de isolados de *E. coli* foi realizada utilizando a ferramenta online ClermonTyping ([http://clermontyping.iame-research.center/success/analysis-29062019\\_112344](http://clermontyping.iame-research.center/success/analysis-29062019_112344)). A análise do ambiente genético dos genes de resistência de interesse foi realizada utilizando o programa Geneious v. R9 (Biomatters Ltd, New Zealand) e a ferramenta online BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). As análises de mutações de ponto foram realizadas utilizando o programa Geneious v. R9 (Biomatters Ltd, New Zealand) e a ferramenta online PROVEAN Protein ([http://provean.jcvi.org/seq\\_submit.php](http://provean.jcvi.org/seq_submit.php)), que permite predizer se uma mutação é neutra ou deletéria. A pesquisa foi realizada no laboratório de Resistência Bacteriana e Alternativas Terapêuticas, do Departamento de Microbiologia da Universidade de São Paulo, em meio de transporte de Stuart.

Para o diagnóstico molecular virológico, as amostras foram coletadas com suabe estéril e conservadas em microtubos, mantidos congelados até o momento do processamento. O material foi triado e processado no Departamento de Microbiologia, do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. As amostras foram testadas para a detecção de material genético viral (Influenza, Herpesvírus, Adenovírus, Circovírus e Avulavírus) através da técnica de Real Time Polimerase Chain Reaction (qPCR) com primers descritos na literatura. A extração do DNA/RNA viral foi feita por meio do kit de purificação da Thermo Fisher MagMAX™ CORE Nucleic Acid Purification Kit.

Para o diagnóstico molecular parasitológico, as amostras foram coletadas em microtubos tipo Eppendorf® de 1,5 ml estéril, com álcool absoluto, mantidos refrigerados até o momento do processamento. O material foi triado e processado no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). O DNA genômico foi extraído de acordo com as instruções do fabricante do kit comercial PureLink® Genomic DNA mini kit (INVITROGEN- Life Technologies, Carlsbad, CA). O DNA extraído foi armazenado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da PCR em tempo real (qPCR). As amostras foram triadas inicialmente para a pesquisa de DNA de *Borrelia* spp., foi utilizado qPCR semiquantitativo (7500 Real Time PCR Systems apparatus – Applied Bio Systems, Foster City, CA, USA) como triagem, com os primers Bor16S3F senso (AGCCTTTAAAGCTTCGCTTG TAG) e Bor16S3R anti-senso (GCCTCCCGTAGGAGTCTGG3, e sonda interna Bor16S3P senso (6FAMCCGGCCTGAGAGGGTGAACGG), que amplifica um fragmento de 148pb do gene 16S RNA conforme Parola et al. (2011). As amostras positivas nessa



análise seguiram para nested PCR utilizando par de primers FlaLL senso (ACATATTCAGATGCAGACAGAGGT) e FlaRL anti-senso (GCAATCATAGCCATTGCAGATTGT) externos, que amplificam um fragmento de 665 pb do gene flagelina-B (Flab) e uma segunda reação utilizando um par de primers FlaLS senso (AACAGCTGAAGAGCTTGGAATG) e FlaRS anti-senso internos (CTTTGATCACTTATCATTCTAATAGC) que amplificam um fragmento de 354 pb, conforme protocolo previamente adaptado de Stromdahl et al. (2003). Para cada reação foram utilizados controles positivos (*Borrelia anserina*) e controle negativo (água Milli-Q). As amostras positivas seguirão para caracterização gênica através da PCR e Nested-PCR convencional. Os marcadores e condições da PCR e Nested-PCR estão listados na figura abaixo. As condições do ciclo para ambas as reações envolveram um tempo inicial de 3 min para desnaturação a 95 ° C e depois 40 ciclos, com cada ciclo consistindo em 1 min desnaturação a 95 ° C, anelamento de 1 min a 55 ° C e uma extensão final de 1 min a 75 ° C Todas as reações foram reveladas em gel de agarose 1,5%. A revelação foi feita com Syber Safe® (Eugene, OR, USA) de acordo com as especificações do fabricante e a visualização das bandas em transiluminador ultravioleta.

### 2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

Durante o primeiro ano de monitoramento (outubro de 2018 a setembro de 2019), as transecções para contagens de aves no mar estavam posicionadas a 10 km de distância da costa e possuíam 200 km de extensão. Neste período, ao longo de 12 campanhas de campo mensais, foram realizadas 459 h e 45 min de observação e 1.686 km<sup>2</sup> amostrados. A partir de outubro de 2019 (Ano 2), após ajustes metodológicos, as transecções foram aproximadas em 5 km da costa e passaram a ter 100 km de extensão. Salienta-se que alterações na metodologia ocorreram após aprovação pela CTBio.

Também foram realizadas alterações no monitoramento de ninhos realizado no PARNAM Abrolhos. Em virtude das solicitações da equipe do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos, ao longo da evolução do PMBA/Fest, foram alteradas a quantidade de ninhos monitorados de *P. aethereus*, bem como a localização dos mesmos. No início, estavam sendo monitorados 49 ninhos na ilha Santa Bárbara. Posteriormente, aumentamos o número de ninhos em substituição aos inativos. No entanto, a equipe do Parque solicitou que os ninhos localizados numa região da ilha conhecida como Mato Verde não fossem mais utilizados no monitoramento. Assim, interrompemos o monitoramento em 55 ninhos desta localidade, mas adicionamos outros em outras ilhas do arquipélago, ampliando a amostragem para cerca de 144 ninhos. Inicialmente, a análise do sucesso reprodutivo seguiu a orientação e foi realizada separadamente de acordo com os períodos secos e chuvosos adotados. No entanto, vale ressaltar que estes períodos não influenciam diretamente no indicador, uma vez que os potenciais impactos do rejeito não são percebidos de forma imediata nas aves permitindo a visualização dos efeitos nos períodos climáticos adotados. Por exemplo, a ressuspensão dos contaminantes no fundo do mar ou aporte de novos elementos carregados pela chuva não causam a mortalidade instantânea dos adultos ou inviabilizam o iminente sucesso reprodutivo das aves monitoradas. Além disso, os períodos climáticos adotados não englobam todo o ciclo reprodutivo das espécies, comprometendo a interpretação do futuro do ninho ao final de cada temporada reprodutiva. No caso de *Sula leucogaster*, o período chuvoso (outubro a março) compreende o final de uma temporada reprodutiva (outubro), o intervalo

entre elas e o início da próxima temporada (fevereiro) da espécie. Por outro lado, o período seco (abril a setembro) coincide com a parte central do período reprodutivo de *Sula leucogaster*, possibilitando uma análise mais coerente do processo. No caso de *Phaethon aethereus* o período reprodutivo não apresenta ciclos bem definidos, sendo possível registrar ovos e filhotes em quase todos os meses do ano. Já *Sterna hirundinacea*, por ser uma espécie migratória, foi considerado apenas o período seco (abril a setembro), época que a aves estão se reproduzindo nas ilhas do Espírito Santo. Assim, além das análises nos períodos climáticos adotados, recentemente os dados foram analisados também levando em consideração o período reprodutivo de cada espécie.

O plano de trabalho do Novo Ciclo do PMBA/Fest ainda conta com alterações adicionais. Em termos gerais, *Pterodroma arminjoniana* e *Thalassarche chlororhynchos* foram removidas completamente das análises de dados e amostras, bem como todos os dados e amostras oriundos de aves encalhadas nas praias, coletadas pelo PMP. Especificamente, foi removida a análise de elementos-traço em *P. arminjoniana*, *T. chlororhynchos*, e *Sula leucogaster* encontrados mortos nas praias. Portanto, foram mantidas apenas *Phaethon aethereus* e *S. leucogaster* (cascas de ovos, presas, sangue e penas) amostrados no arquipélago dos Abrolhos, além da inclusão da análise de tecidos de Sternidae (sangue e penas). *P. arminjoniana* e *T. chlororhynchos* também foram excluídas das análises referentes à Ecologia Trófica, na qual foram incluídas análises de material regurgitado pelas aves de Abrolhos, quando existente. Para a análise de distribuição espacial a partir de técnicas de rastreamento remoto, foram completamente removidas *P. arminjoniana* e *T. chlororhynchos*, além da análise de distribuição espacial durante período não reprodutivo para as aves marinhas de Abrolhos. Análises de parâmetros sanitários, dieta e contaminação, realizadas a partir de amostras biológicas coletadas nas praias oriundas do PMP, foram removidas, bem como análise de dados de encalhe de aves marinhas nas praias do Espírito Santo. Por fim, a técnica de análise de variação na diversidade genética das aves marinhas de Abrolhos foi substituída por sequenciamento de nova geração. Para os parâmetros genéticos, *P. arminjoniana* também foi removida.

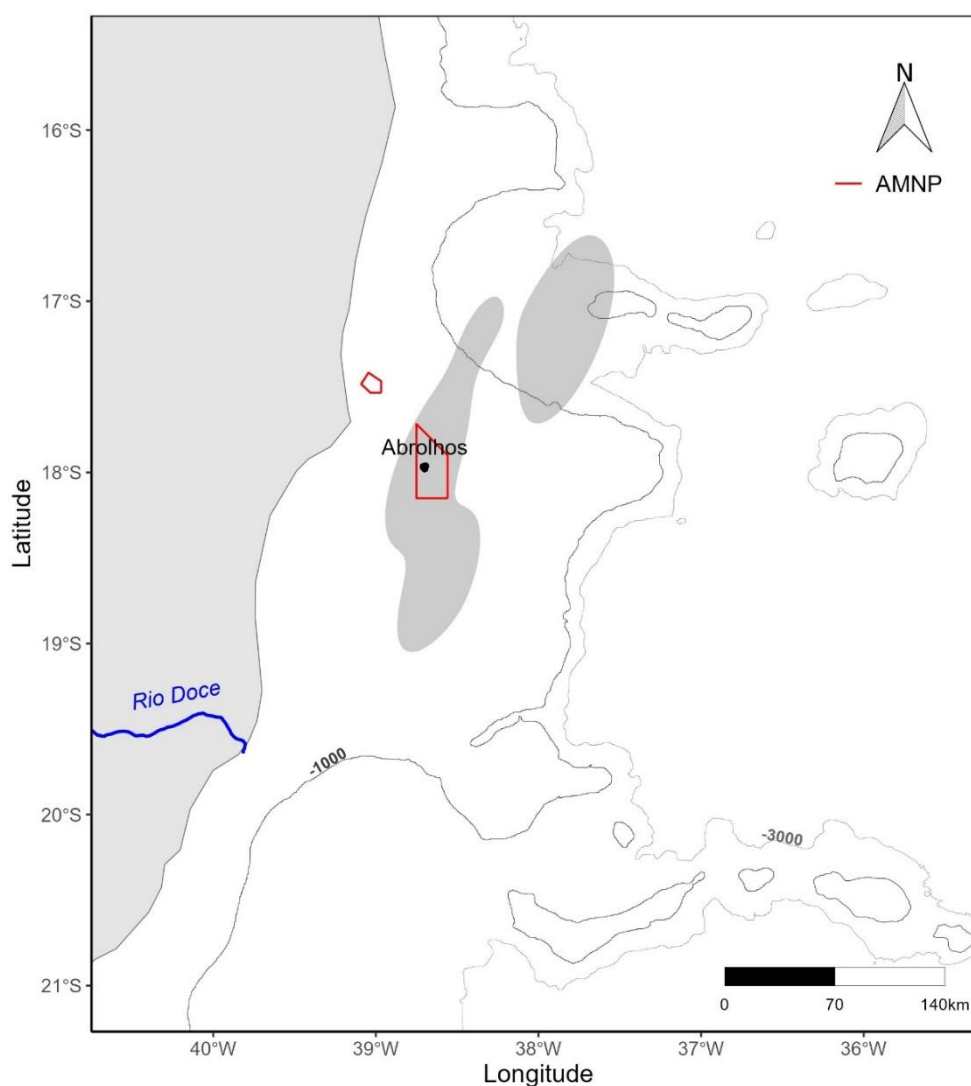
### 3 RESULTADOS DOS INDICADORES

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 – janeiro/2023) 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 aos 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 do monitoramento e, seguindo a proposta estabelecida desde o Relatório Anual de 2022 (RA2022), 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:

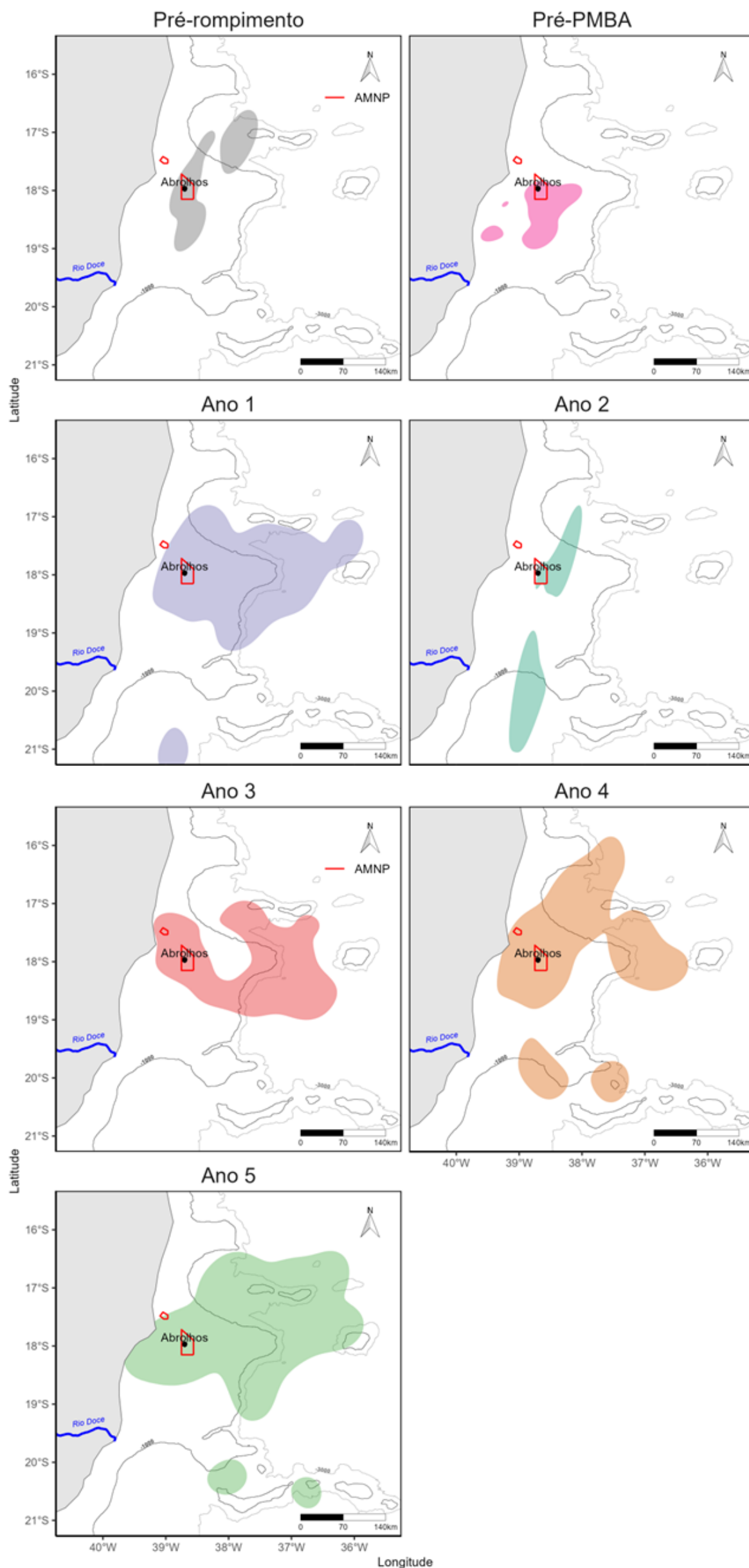
### 3.1 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E USO DOS RECURSOS ALIMENTARES POR AVES MARINHAS NA ÁREA ATINGIDA PELOS REJEITOS DA BARRAGEM DE FUNDÃO

Figura 3: Áreas de forrageio de *Phaethon aethereus* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Em cinza, os dados se referem a viagens de forrageio rastreadas no período pré rompimento da barragem de Fundão. Áreas de kernel contêm 75% dos dados. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos.



Os indivíduos de *P. aethereus* que se reproduzem em Abrolhos foram rastreados no período prévio ao rompimento da barragem de Fundão, no âmbito de projetos de pesquisa desenvolvidos pela equipe do Tema Aves Marinhas do PMBA/Fest. Durante esse período, os dados mostram que a espécie utilizava o entorno do arquipélago para alimentação, como é comum para aves marinhas. A imagem acima é produzida a partir de uma segmentação da trajetória rastreada, através da qual são isolados apenas os pontos no tempo e no espaço nos quais são estimados ocorrer atividade de forrageio. Vale destacar que a espécie se alimenta sobre a plataforma continental, mas também usualmente além do talude, como observado na porção norte da área de alimentação.

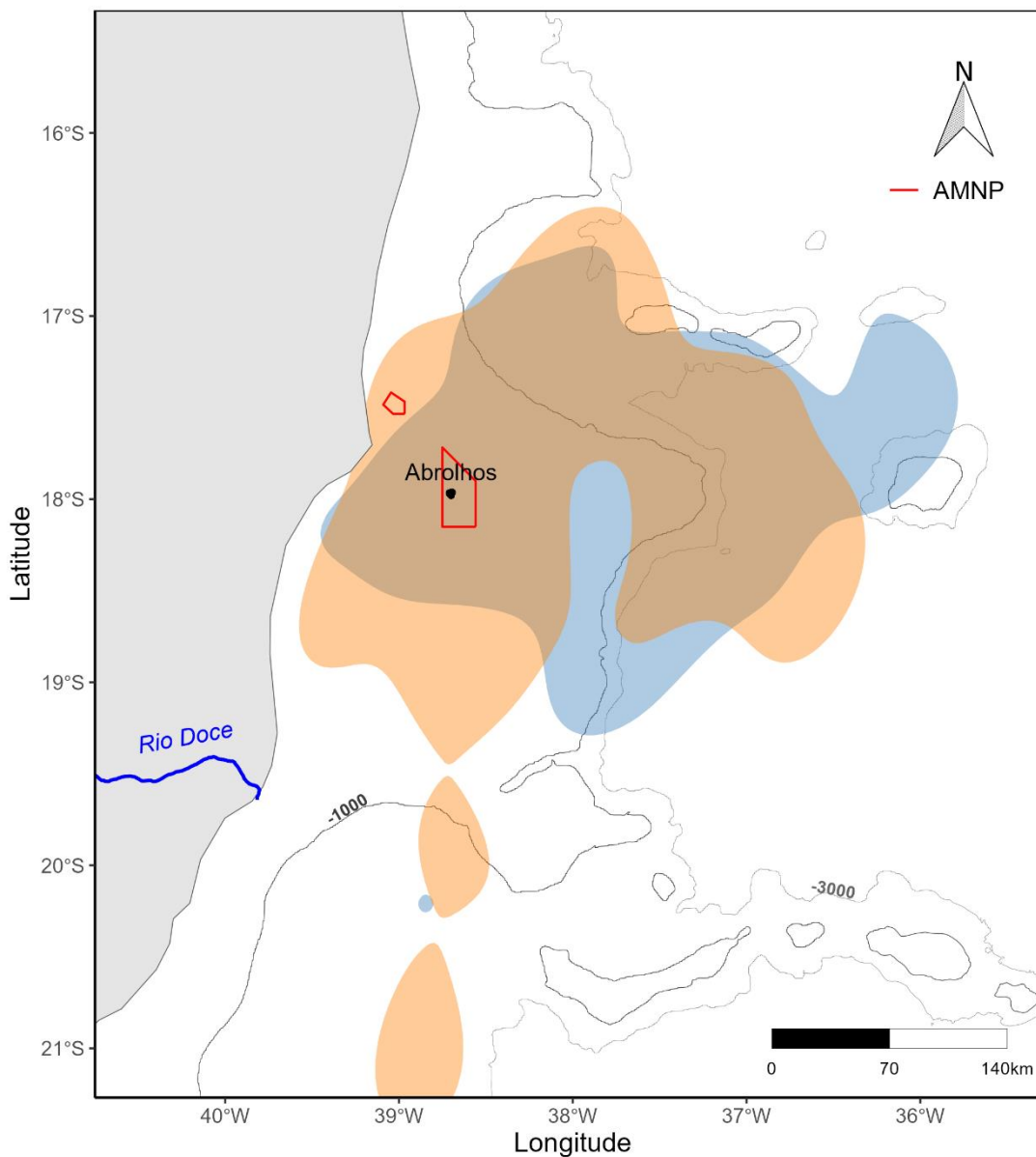
Figura 4: Áreas de forrageio de *Phaethon aethereus* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. As áreas de forrageio foram estimadas a partir das localizações identificadas como comportamentos de alimentação pelos HMM a partir das viagens de forrageio. A figura mostra os resultados obtidos para o período pré rompimento da barragem de Fundão (ano 2012; em cinza), período pré PMBA (ano 2018; em rosa). Além disso estão apresentados os resultados dos anos 1 (roxo), 2 (verde), 3 (vermelho), 4 (laranja), e 5 (verde escuro). Áreas de kernel contêm 75% dos dados. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos; linha azul = Rio Doce.



Nos anos demonstrados nas figuras acima, após o rompimento da barragem *P. aethereus* permaneceu utilizando o entorno do arquipélago durante viagens de alimento em período reprodutivo. Existem variações interanuais na utilização do espaço para captura das presas, mas não são substanciais o suficiente para apontar alterações nas áreas de alimentação entre os períodos. De forma similar ao período pré-rompimento da barragem, a espécie permaneceu utilizando a plataforma continental no entorno do arquipélago, bem como o talude e áreas oceânicas ao norte, em especial no Ano 1. Em todos os anos demonstrados acima, *P. aethereus* permaneceu utilizando o entorno do arquipélago durante viagens de alimento em período reprodutivo. No entanto, as figuras indicam uma tendência de uso do talude e das áreas oceânicas nos anos 1, 3, 4 e 5, além da região do entorno do arquipélago. A busca por recursos alimentares em áreas mais distantes da colônia sugere uma diminuição recente na disponibilidade de alimento na plataforma continental. *P. aethereus* realiza viagens de 3 a 5 dias para busca de alimento durante a fase inicial de cuidado dos filhotes, as quais são alternadas com viagens curtas de cerca de 1h de duração, por parte do adulto que está a cargo do cuidado do ninho. As áreas de alimentação no entorno da colônia podem ser explicadas pela realização de viagens curtas do adulto que está no ninho, enquanto as viagens em direção ao talude e às áreas oceânicas podem ser explicadas pelo adulto que está realizando a viagem mais longa. A realização de viagens mais longas durante o período de cuidado parental pode ser uma consequência da diminuição na disponibilidade de alimento no entorno da colônia, um processo que poderia ser explicado pela exposição crônica das presas aos contaminantes no banco dos Abrolhos. Passados mais de oito anos do rompimento da barragem, a exposição das presas aos contaminantes em sucessivos ciclos reprodutivos poderia estar diminuindo a biomassa de presas disponíveis no entorno da colônia, forçando as aves a buscar alimento em regiões mais afastadas da colônia. Em média, no período pós-rompimento foi observado aumento substancial em médias de métricas importantes das viagens de forrageio de *P. aethereus*, como distância máxima a partir da colônia (aumento de 32%), distância total percorrida (aumento de 47%), e duração da viagem (aumento de 32%). Isso evidencia não apenas uma alteração nas áreas de forrageio, mas também um incremento no esforço para a obtenção de alimento durante o período de cuidado parental. Considerando que essa é uma fase crítica para o sucesso da reprodução e, por consequência, para a manutenção e persistência das populações, e considerando que *P. aethereus* encontra-se em perigo de extinção (EN) no Brasil (Portaria MMA 148/2022), tornam-se críticas ações efetivas de monitoramento e mitigação de potenciais efeitos deletérios em nível populacional em médio e longo prazos.



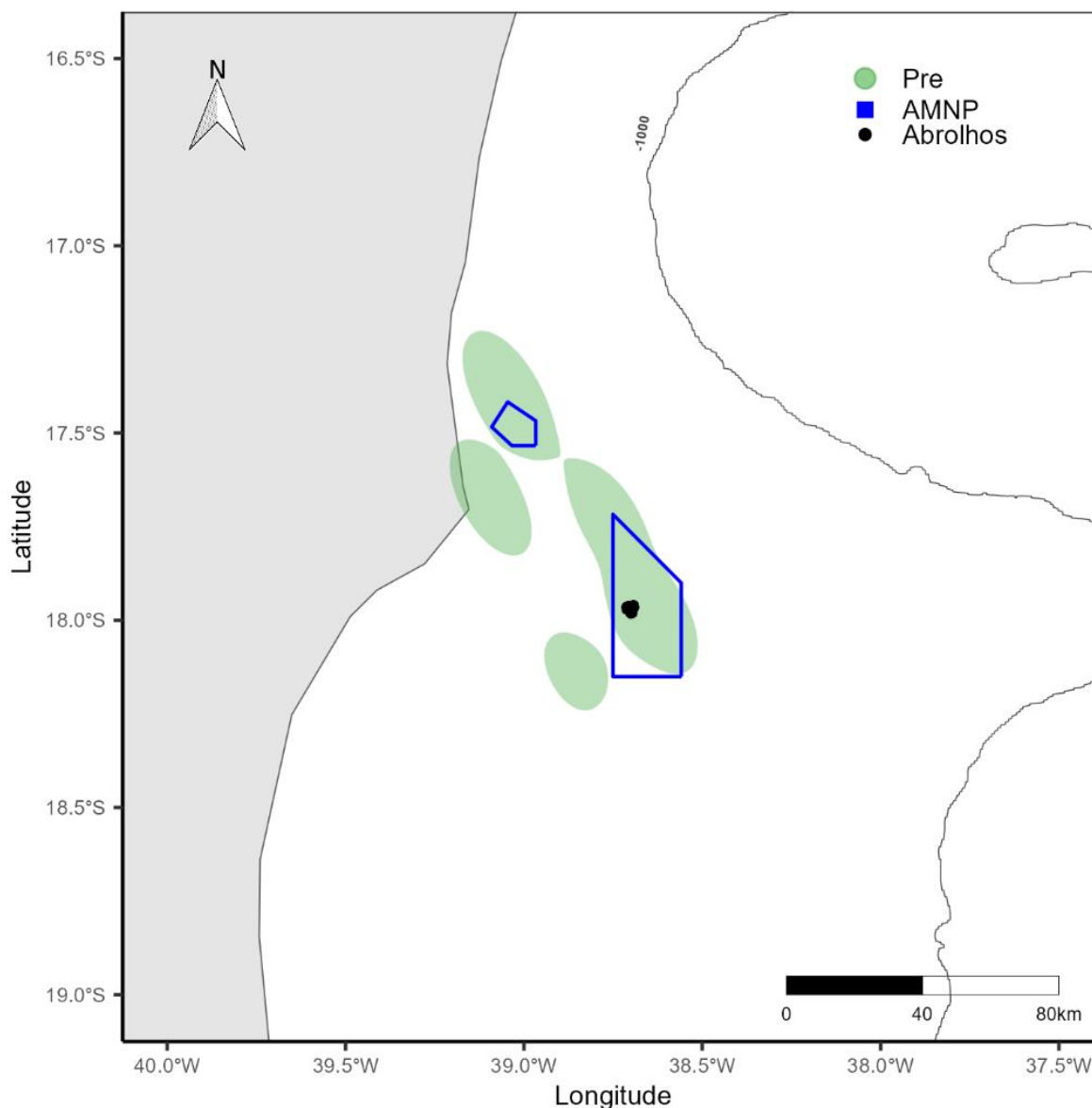
Figura 5: Áreas de forrageio de *Phaethon aethereus* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Os dados se referem a viagens de forrageio rastreadas no período pós rompimento da barragem de Fundão, nos períodos secos (laranja) e chuvosos (azul) desde 2018 a 2023. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos.



Comparação entre os períodos secos e chuvosos durante o período de execução do PMBA/Fest indica uma permanência na região para alimentação durante ambos os períodos. A imagem indica uma forte sobreposição entre as áreas de alimentação dos dois períodos, embora a área de forrageio seja maior para o período seco, sugerindo uma maior área de busca como consequência de presas com distribuição mais difusa no espaço, ou até de um aumento na competição intra e/ou interespecífica no entorno imediato do arquipélago.

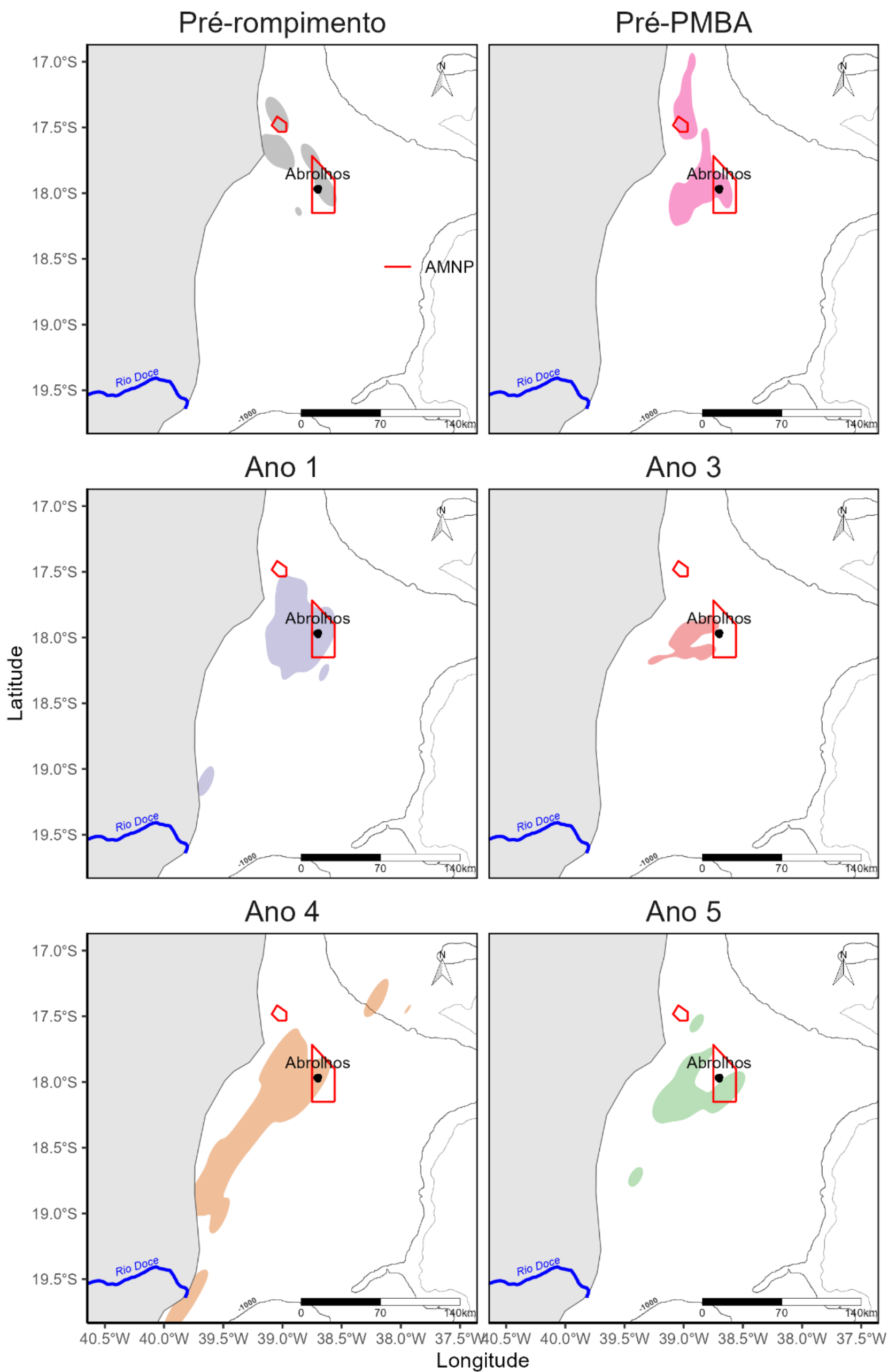


Figura 6: Áreas de forrageio de *Sula leucogaster* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Os dados se referem a viagens de forrageio rastreadas no período pré rompimento da barragem de Fundão. Áreas de kernel contêm 75% dos dados. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos.



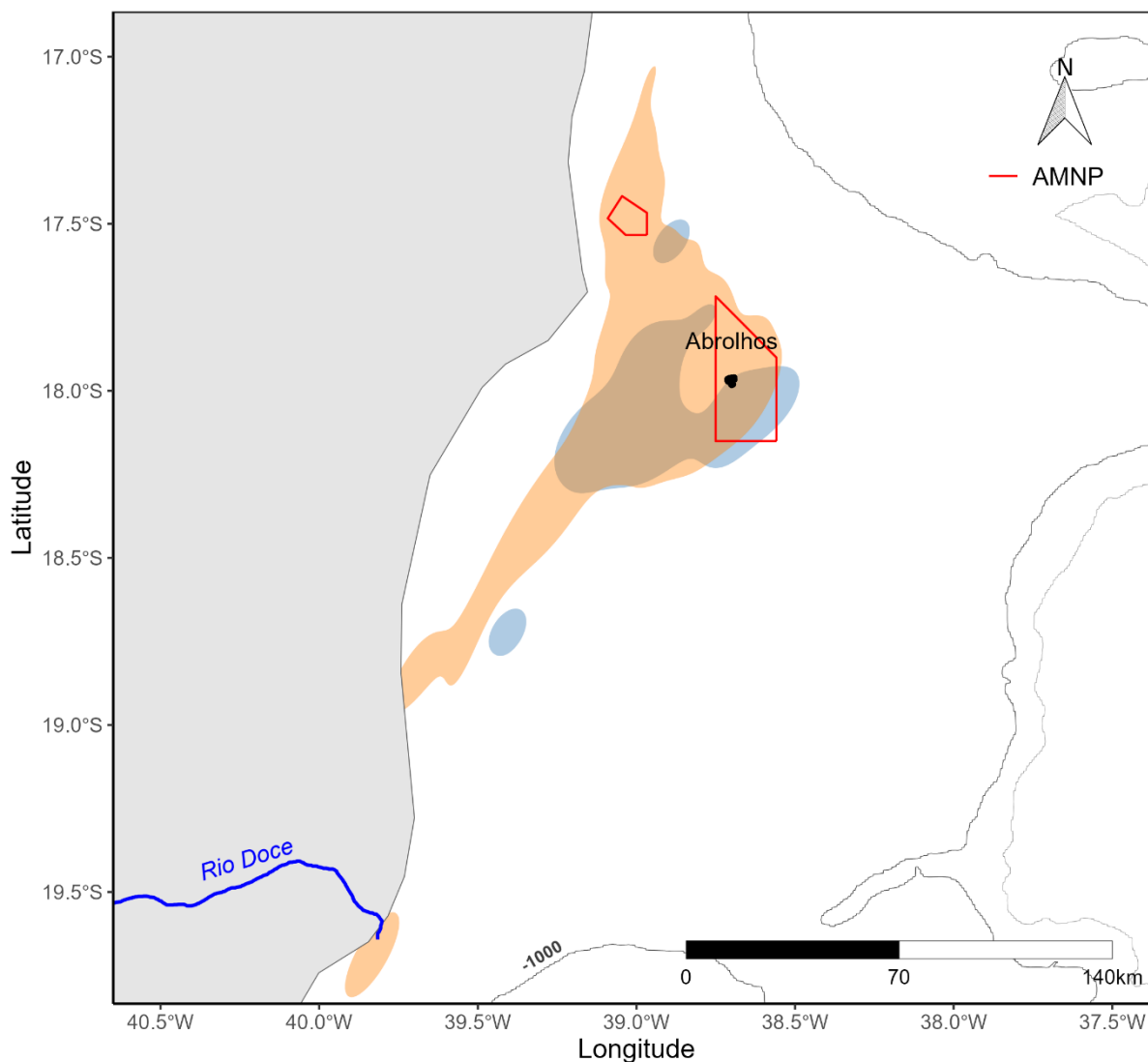
Os indivíduos de *S. leucogaster* que se reproduzem em Abrolhos foram rastreados no período prévio ao rompimento da barragem de Fundão, no âmbito de projetos de pesquisa desenvolvidos pela equipe do Tema Aves Marinhas do PMBA/Fest. Durante esse período, os dados mostram que a espécie utilizava o entorno do arquipélago para alimentação, como é comum para aves marinhas, mas sempre com uma tendência de direcionar o voo para o continente. Isso é algo totalmente esperado para esta espécie, pois parte da sua dieta é composta por descartes de pescarias, a exemplo da pesca de arrasto que possui o camarão como grupo-alvo e é desenvolvida em menores profundidades na região. A imagem acima é produzida a partir de uma segmentação da trajetória rastreada, através da qual são isolados apenas os pontos no tempo e no espaço nos quais são estimados ocorrer atividade de forrageio.

Figura 7: Áreas de forrageio de *Sula leucogaster* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. As áreas de forrageio foram estimadas a partir das localizações identificadas como comportamentos de alimentação pelos HMM a partir das viagens de forrageio. A figura mostra os resultados obtidos para o período pré rompimento da barragem de Fundão (em cinza), período pré PMBA (rosa), e anos 1 (roxo), 3 (vermelho), 4 (laranja) e 5 (verde), dentro do período do PMBA. Áreas de kernel contêm 75% dos dados. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos; linha azul = Rio Doce.



Os indivíduos de *S. leucogaster* que se reproduzem em Abrolhos foram rastreados no período prévio ao rompimento da barragem de Fundão, no âmbito de projetos de pesquisa desenvolvidos pela equipe do Tema Aves Marinhas do PMBA/Fest. Durante esse período, os dados mostram que a espécie utilizava o entorno do arquipélago para alimentação, como é comum para aves marinhas, mas sempre com uma tendência de direcionar o voo para o continente. Isso é algo totalmente esperado para esta espécie, pois parte da sua dieta é composta por descartes de pescarias, a exemplo da pesca de arrasto que possui o camarão como grupo-alvo e é desenvolvida em menores profundidades na região. Em todos os anos amostrados após o rompimento da barragem, *S. leucogaster* permaneceu utilizando o entorno do arquipélago durante viagens de alimento em período reprodutivo, sempre com a mesma tendência de rumar em direção ao continente. Existem variações interanuais na utilização do espaço, mas não são substanciais o suficiente para apontar alterações nas áreas de alimentação, pois o padrão de utilizar regiões costeiras permaneceu. Apesar disso, as variações interanuais sugerem um deslocamento das áreas de forrageio de noroeste para sudoeste do arquipélago, de modo que *S. leucogaster* explorou, nos últimos anos, mais ativamente a região entre Abrolhos e a foz do Rio Doce. As variações interanuais estão, possivelmente, associadas a variações naturais na distribuição das presas, as quais são, em sua maioria, pequenos peixes epipelágicos. Considerando que, especialmente, a região ao sul do arquipélago foi impactada pelo rompimento da barragem, e que há um processo de recontaminação crônica da região, é possível inferir que *S. leucogaster* está permanentemente exposta aos contaminantes presentes na coluna d'água durante viagens de alimentação em período reprodutivo, ilustrando o conceito de armadilha ecológica. É possível inferir que o rejeito não indisponibilizou as presas de *S. leucogaster* na plataforma continental (o que é ainda mais reforçado pela área de forrageio do ano 4), embora tais presas possam estar expostas aos contaminantes presentes na coluna d'água e, por consequência, as mesmas estejam expondo as aves à contaminação. Bauer et al. (2024) evidenciaram a bioacumulação de metais e metalóides em *S. leucogaster* ao longo de um período de quatro anos após o colapso da barragem de Fundão (2019-2022), lançando luz sobre a persistência da contaminação no ecossistema marinho. Os pesquisadores mostraram que a detecção de eventos de contaminação aguda coincidiu com eventos climáticos extremos, como temporadas de chuvas intensas. Isso é especialmente relevante no contexto da observação de que essas aves continuam se alimentando em áreas contaminadas e, portanto, que a população utiliza uma área que sofre de contaminação crônica a partir dos rejeitos da barragem de Fundão. De forma complementar a *P. aethereus*, *S. leucogaster* representa uma importante espécie indicadora para monitoramentos de médio e longo prazo, visto que possui como uma característica biológica intrínseca a utilização de regiões costeiras para alimentação, inclusive utilizando descartes de pescarias de arrasto de fundo como recurso alimentar, o que acaba por fazê-los acessar recursos demersais, não acessíveis para aves que forrageiam apenas na camada mais superficial do mar.

Figura 8: Áreas de forrageio de *Sula leucogaster* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Os dados se referem a viagens de forrageio rastreadas no período pós rompimento da barragem de Fundão, nos períodos secos (laranja) e chuvosos (azul) desde 2018 a 2023. AMNP = polígono do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos; Abrolhos = arquipélago dos Abrolhos.



Comparação entre os períodos secos e chuvosos durante o período de execução do PMBA/Fest indicam uma permanência na região para alimentação durante ambos os períodos. A discrepância no tamanho das áreas de forrageio entre os períodos é explicada pela sazonalidade da reprodução de *S. leucogaster* em Abrolhos, a qual se dá no período seco, quando é possível obter a maior quantidade de dados.

Tabela 1: Estatísticas básicas das viagens de forrageio de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Os dados se referem a valores de média e desvio padrão de todas as viagens de forrageio rastreadas nos períodos pré e pós rompimento da barragem de Fundão. É importante mencionar que os cálculos foram feitos levando em conta apenas viagens completas. N = número de viagens; Dmax = distância máxima atingida a partir da colônia, expressa em km; D = distância total percorrida, expressa em km; T = duração total das viagens de forrageio, expressas em horas; Sin = sinuosidade das trajetórias, a qual é calculada por  $D/2D_{max}$ .

Espécie	Período	Métricas				
		N	Dmax (km)	D (km)	T (h)	Sin
<b><i>Phaethon aethereus</i></b>	Pré-rompimento (2012)	4	61,4 ± 63,7	156,4 ± 176,9	29,1 ± 12,5	1,2 ± 0,2
	Pré-PMBA (2018)	4	38,9 ± 40	106,8 ± 125	19,8 ± 18,9	1,3 ± 0,2
	Ano 1	25	118,1 ± 106,4	355,5 ± 366	53,2 ± 49,1	1,4 ± 0,3
	Ano 2	2	161,2 ± 160,4	409,4 ± 410	58,2 ± 21,2	1,3 ± 0
	Ano 3	6	67,3 ± 96,6	211,4 ± 356	30,8 ± 34,6	1,3 ± 0,3
	Ano 4	13	71,3 ± 83,7	177,3 ± 215,7	35,9 ± 19,5	1,3 ± 0,5
	Ano 5	13	27,3 ± 33,1	65,2 ± 59,4	19,7 ± 22,4	1,3 ± 0,4
<b><i>Sula leucogaster</i></b>	Pré-rompimento (2013)	3	23 ± 11,4	60,3 ± 20,7	3,6 ± 0,4	1,4 ± 0,4
	Pré-PMBA (2018)	35	42,6 ± 28,5	124,3 ± 85,5	5,1 ± 3,3	1,5 ± 0,3
	Ano 1	45	45,5 ± 33,8	116,7 ± 80,2	5,3 ± 4,9	1,4 ± 0,4
	Ano 3	30	33,5 ± 16,9	85,9 ± 46,9	3,2 ± 1,7	1,3 ± 0,2
	Ano 4	37	59,3 ± 44,7	155,2 ± 129,5	7,3 ± 8,6	1,2 ± 0,2
	Ano 5	21	47,9 ± 23,2	132,1 ± 71,6	4,9 ± 2,8	1,4 ± 0,3

As métricas indicam quantitativamente o que é observado nas figuras apresentadas. De modo geral, as aves permanecem utilizando as regiões do entorno do arquipélago dos Abrolhos para alimentação, embora *P. aethereus* apresente uma tendência de explorar regiões de talude e fora da plataforma continental no período pós rompimento. Uma discussão detalhada é apresentada na Figura 4 e Figura 7.

Tabela 2: Estatísticas básicas das viagens de forrageio de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* em atividade reprodutiva no arquipélago dos Abrolhos estimadas a partir de dados de rastreamento remoto com sensores miniaturizados. Os dados se referem a valores de média e desvio padrão de todas as viagens de forrageio rastreadas nos períodos pré e pós-rompimento da barragem de Fundão. Dmax = distância máxima atingida a partir da colônia, expressa em km; D = distância total percorrida, expressa em km; T = duração total das viagens de forrageio, expressas em horas; Sin = sinuosidade das trajetórias, a qual é calculada por  $D/2D_{max}$ .

Espécie	Período	Métricas				
		N	Dmax (km)	D (km)	T (h)	Sin
<b><i>Phaethon aethereus</i></b>	Chuvosa	38	87,8 ± 94,6	255,7 ± 309,8	38,2 ± 38,8	1,3 ± 0,3
	Seca	29	69,9 ± 88,1	188,3 ± 271,4	37,8 ± 34,7	1,3 ± 0,4
	Pré-rompimento	4	61,4 ± 63,7	156,4 ± 176,9	29,1 ± 12,5	1,2 ± 0,2
	Pos-rompimento	63	81,2 ± 93,3	231 ± 299,8	38,6 ± 37,8	1,3 ± 0,4
<b><i>Sula leucogaster</i></b>	Chuvosa	24	46 ± 22,3	124,4 ± 70,3	4,7 ± 2,7	1,4 ± 0,4
	Seca	147	45,6 ± 34,2	121,7 ± 93,8	5,3 ± 5,5	1,4 ± 0,3
	Pré-rompimento	24	23 ± 11,4	60,3 ± 20,7	3,6 ± 0,4	1,4 ± 0,4
	Pos-rompimento	147	46,1 ± 32,9	123,2 ± 91,1	5,3 ± 5,3	1,4 ± 0,3

As métricas indicam quantitativamente o que é observado nas figuras apresentadas. De modo geral, as aves permanecem utilizando as regiões do entorno do arquipélago dos Abrolhos para alimentação, embora *P. aethereus* apresente uma tendência de explorar regiões de talude e fora da plataforma continental no período pós rompimento. Uma discussão detalhada é apresentada na Figura 4 e Figura 7.



Tabela 3: Lista de espécies registradas durante as contagens de aves aquáticas nas praias da foz do Rio Doce e costa adjacente, de outubro de 2018 a janeiro de 2024, incluindo informações sobre o estado de conservação global (Glo) e nacional (Nac) e o status de ocorrência (S). As categorias de ameaça são Menos Preocupante (LC), Vulnerável (VU) e Em perigo (EN), além de Não Avaliada (NA) e Quase Ameaçada (NT). O status de ocorrência no Brasil é classificado como 'Residente' (R, espécie que se reproduz em território nacional) e Visitante do Norte (VN, espécie migratória que se reproduz no Hemisfério Norte).

Ordem	Família	Espécie	Estado de conservação		S <sup>3</sup>
			Glo <sup>1</sup>	Nac <sup>2</sup>	
Anseriformes	Anatidae	<i>Amazonetta brasiliensis</i>	LC	LC	R
Anseriformes	Anatidae	<i>Anas bahamensis</i>	LC	LC	R
Podicipediformes	Podicipedidae	<i>Podilymbus podiceps</i>	LC	LC	R
Gruiformes	Rallidae	<i>Gallinula galeata</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Charadriidae	<i>Pluvialis squatarola</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Charadriidae	<i>Charadrius semipalmatus</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Charadriidae	<i>Charadrius collaris</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Haematopodidae	<i>Haematopus palliatus</i>	LC	NT	R
Charadriiformes	Recurvirostridae	<i>Himantopus melanurus</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Numenius hudsonicus</i>	LC	VU	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Arenaria interpres</i>	LC	NT	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Calidris alba</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Calidris fuscicollis</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Calidris pusilla</i>	NT	EN	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Actitis macularius</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Tringa solitaria</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Tringa melanoleuca</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Scolopacidae	<i>Tringa flavipes</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Jacaniidae	<i>Jacana jacana</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Stercorariidae	<i>Stercorarius pomarinus</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Stercorariidae	<i>Stercorarius parasiticus</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Laridae	<i>Chroicocephalus cirrocephalus</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Laridae	<i>Larus dominicanus</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Rynchops niger</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Sternula supercilialis</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Phaetusa simplex</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna hirundo</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna dougallii</i>	LC	VU	VN
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna paradisaea</i>	LC	LC	VN
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna hirundinacea</i>	LC	VU	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Thalasseus acuflavidus</i>	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Thalasseus maximus</i>	LC	EN	R
Ciconiiformes	Ciconiidae	<i>Mycteria americana</i>	LC	LC	R
Suliformes	Fregatidae	<i>Fregata magnificens</i>	LC	LC	R
Suliformes	Sulidae	<i>Sula leucogaster</i>	LC	LC	R
Suliformes	Phalacrocoracidae	<i>Nannopterum brasilianum</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Botaurus pinnatus</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Nycticorax nycticorax</i>	LC	LC	R

Ordem	Família	Espécie	Estado de conservação		S <sup>3</sup>
			Glo <sup>1</sup>	Nac <sup>2</sup>	
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Butorides striata</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Bulbucus ibis</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Ardea cocoi</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Ardea alba</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Syrigma sibilatrix</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Egretta thula</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Ardeidae	<i>Egretta caerulea</i>	LC	LC	R
Pelecaniformes	Threskiornithidae	<i>Platalea ajaja</i>	LC	LC	R
Coraciiformes	Alcedinidae	<i>Megaceryle torquata</i>	LC	LC	R

1 IUCN (2020), para estado de conservação global.

2 Portaria MMA 148/2022, para estado de conservação nacional.

3 Pacheco et al. (2021), para a sequência taxonômica, nomenclatura e status.

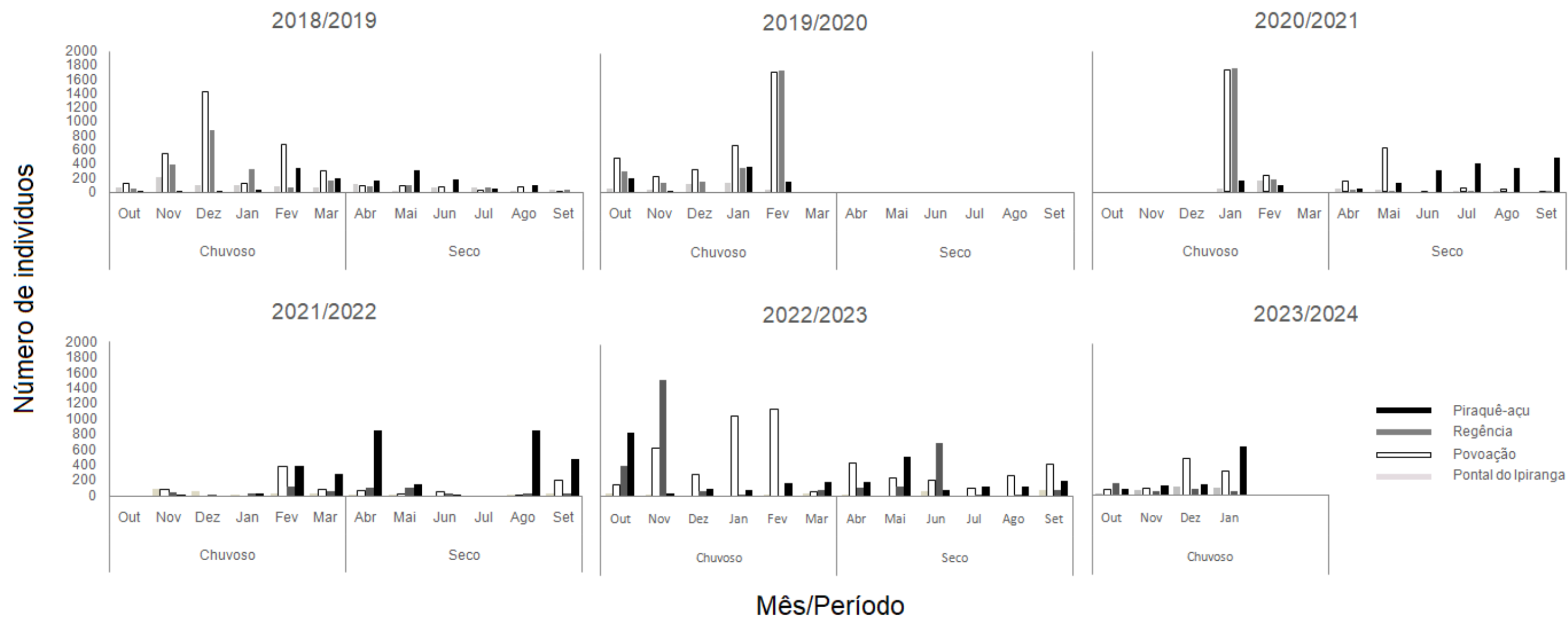
Ao longo dos 5 anos e 4 meses de amostragem foram registradas 48 espécies de aves aquáticas, pertencentes a 17 famílias e 8 ordens, utilizando a foz do Rio Doce e a costa adjacente. Deste total, 31 são residentes e 17 são espécies migratórias neárticas, as quais se reproduzem no Hemisfério Norte e invernam no Hemisfério Sul (del Hoyo et al., 1996; Sick, 2001). Entre as espécies registradas, sete estão classificadas como ameaçadas em nível nacional (Portaria MMA 148/2022), sendo duas classificadas como 'Em Perigo' (*Thalasseus maximus* e *Calidris pusilla*), três como 'Vulnerável' (*Numenius hudsonicus*, *Thalasseus acutiflavus*, *Sterna hirundinacea* e *Sterna dougalli*) e outras duas classificadas como 'Quase Ameaçada' (*Arenaria interpres* e *Haemantopus palliatus*). *C. pusilla* também está classificado como ameaçado globalmente na categoria "Quase ameaçado". As 48 espécies de aves aquáticas registradas ao longo das amostragens, incluindo espécies migratórias que utilizam a área para alimentação e descanso, demonstram a importância da região da Foz do Rio Doce e costa adjacente como área de alimentação e descanso para o grupo. Essa importância é reforçada pela presença de espécies ameaçadas em nível nacional ou mesmo em nível global, como no caso da espécie *Calidris pusilla*.

Tabela 4: Composição quali-quantitativa da assembleia de aves aquáticas nas praias da foz do Rio Doce e costa adjacente, incluindo informações sobre número absoluto de registros por espécie e frequência de ocorrência relativa no período chuvoso de 2018/2019, 2019/2020, 2020/2021, 2021/2022, 2022/2023 e 2023/2024 e período seco de 2019, 2020, 2021, 2022, 2023 e total (2018 a 2024).

Espécie	Número de registros por espécie										Frequência de ocorrência												N TOTAL	FO TOTAL
	Chuvoso						Seco				Chuvoso						Seco							
	2018/19	2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	2023/24	2019	2020	2021	2022	2023	2018/19	2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	2023/24	2019	2020	2021	2022	2023		
Amazonetta brasiliensis	70	2	0	0	8	12	2	0	23	8	6	17	0	0	0	50	17	17	0	0	20	75	131	27
Anas bahamensis	25	2	0	0	0	0	0	0	10	0	11	33	40	0	0	0	33	0	0	50	0	0	48	14
Podilymbus podiceps	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	25	3	4
Gallinula galeata	0	0	0	0	2	11	0	0	3	1	3	0	0	0	0	17	17	0	0	17	20	100	20	16
Pluvialis squatarola	213	121	82	13	48	37	9	0	16	7	1	83	100	100	60	100	17	33	0	50	60	100	547	67
Charadrius semipalmatus	150	311	17	85	177	157	94	0	11	4	365	100	100	100	100	100	100	33	0	50	40	100	1371	80
Charadrius collaris	292	317	111	70	33	36	48	0	27	33	27	100	80	100	100	100	67	50	0	50	80	100	994	80
Haematopus palliatus	2	2	0	0	0	0	3	0	0	0	0	17	20	0	0	0	0	33	0	0	0	0	7	8
Himantopus melanurus	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	7	2
Numenius hudsonicus	0	0	0	1	2	5	0	0	0	0	0	0	0	0	20	33	0	0	0	0	0	75	8	12
Arenaria interpres	2	9	32	0	4	7	1	0	2	0	0	17	60	50	0	33	0	17	0	17	0	50	57	22
Calidris alba	500	275	94	164	0	266	86	0	78	46	56	100	100	100	100	0	100	67	0	67	20	100	1565	73
Calidris fuscicollis	0	3	0	81	252	6	0	0	0	160	77	0	20	0	60	100	83	0	0	0	100	75	579	45
Calidris pusilla	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Actitis macularius	12	9	5	85	44	29	8	0	6	9	8	100	80	100	100	100	17	33	0	17	40	100	215	65
Tringa solitaria	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	1	2
Tringa melanoleuca	3	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	33	0	0	0	17	0	0	0	0	0	75	7	12
Tringa flavipes	3	2	0	1	0	28	0	0	0	0	1	33	20	0	20	0	17	0	0	0	0	50	35	14
Jacana jacana	0	2	0	0	0	5	0	0	5	2	11	0	20	0	0	0	83	0	0	50	40	50	25	25
Stercorarius pomarinus	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Stercorarius parasiticus	6	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	7	6
Chroicocephalus cirrocephalus	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	1	2
Leucophaeus pipixcan	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	1	2
Larus dominicanus	1	0	0	0	0	0	4	0	0	8	3	17	0	0	0	0	17	33	0	0	40	0	16	12
Rynchops niger	22	47	150	80	0	41	10	0	9	0	4	50	80	100	60	0	33	50	0	50	0	75	363	45
Sternula supercilialis	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4
Phaetusa simplex	505	444	146	229	100	242	34	0	38	79	69	100	100	100	80	100	100	83	0	83	100	100	1886	94
Sterna hirundo	1743	3773	2706	139	1607	490	1	0	0	0	19	67	100	50	40	83	17	17	0	0	0	50	10478	41
Sterna dougallii	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Sterna paradisaea	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Sterna hirundinacea	42	62	0	15	20	0	156	0	40	0	0	17	20	0	40	17	0	17	0	50	0	0	335	18
Thalasseus acutifrons	2357	1877	936	70	1084	500	1181	0	1212	1096	1214	100	100	100	40	100	100	100	0	100	100	100	11527	94
Thalasseus maximus	9	12	2	1	19	5	55	0	363	103	234	67	80	50	20	50	100	83	0	83	60	75	803	69
Mycteria americana	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	1	2
Fregata magnificens	28	15	6	3	16	9	8	0	11	21	25	83	80	100	20	67	83	67	0	83	80	50	142	71
Sula leucogaster	65	14	11	0	18	11	2	0	1	0	0	83	60	50	0	67	0	17	0	17	0	75	122	35
Nannopterum brasilianus	22	29	51	3	58	139	16	0	33	21	140	83	100	100	60	50	100	83	0	100	100	100	512	86
Botaurus pinnatus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	2	2
Nycticorax nycticorax	0	0	0	1	1	0	0	0	2	0	1	0	0	0	20	17	17	0	0	33	0	0	5	10
Butorides striatus	0	1	0	2	0	0	0	0	0	0	3	0	20	0	20	0	33	0	0	0	0	0	6	8
Bubulcus ibis	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25	3	2
Ardea cocoi	8	5	2	0	5	6	10	0	4	4	20	50	80	100	0	67	100	67	0	50	40	75	64	61
Ardea alba	57	11	18	5	3	26	18	0	35	33	63	100	80	100	40	33	100	100	0	100	100	100	269	84
Syrigma sibilatrix	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	4
Egretta thula	53	21	8	27	16	55	54	0	72	61	78	100	100	100	80	67	100	100	0	100	100	100	445	94
Egretta caerulea	139	2	9	2	6	15	19	0	39	15	23	100	40	50	40	67	83	67	0	100	80	100	269	75
Platalea ajaja	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2
Megaceryle torquata	4	0	0	5	5	8	4	0	3	6	10	33	0	0	100	67	67	50	0	33	100	75	45	55

De outubro de 2018 a setembro de 2019, foram registradas 35 espécies; de outubro de 2019 a setembro de 2020, foram registradas 27 espécies; de outubro de 2020 a setembro de 2021, foram registradas 29 espécies; de outubro de 2021 a setembro de 2022, foram registradas 27 espécies; de outubro de 2022 a setembro de 2023, foram registradas 34 espécies; e de outubro de 2023 a janeiro de 2024, foram registradas 29 espécies. Seis espécies foram registradas apenas no Ano 1 (*Mycteria americana*, *Syrigma sibilatrix*, *Calidris pusilla*, *Stercorarius pomarinus*, *Sternula superciliaris* e *Sterna dougalli*), uma espécie foi registrada apenas no Ano 2 (*Sterna paradisaea*), duas espécies foram registradas apenas no Ano 3 (*Platalea ajaja* e *Himantopus melanurus*), duas espécies foram registradas apenas no Ano 5 (*Botaurus pinnatus* e *Leucophaeus pipixcan*), e duas foram registradas apenas no Ano 6 (*Bubulcus ibis* e *Tringa solitaria*). O número total de aves aquáticas registradas foi de 41.743 indivíduos, destes, 29.720 (71%) foram registrados durante o período chuvoso, e 12.023 (29%) foram registrados no período seco. As duas espécies mais abundantes, *Thalasseus acutiflavus* (n=11.527) e *Sterna hirundo* (n= 10.478), corresponderam a 67% do número total de indivíduos registrados. As 7 espécies mais abundantes (n>600) corresponderam a 87% dos registros, que além das duas espécies supracitadas, inclui *Phaetusa simplex* (n=1.886), *Calidris alba* (n=1.565), *Charadrius semipalmatus* (n=1.371), *Charadrius collaris* (n=994) e *Thalasseus maximus* (n=803). Dessa forma, as famílias mais abundantes foram Laridae, Charadriidae e Scolopacidae, respectivamente. No Ano 1 foi registrado o maior número de espécies (35 spp.), incluindo seis espécies que não foram registradas nos anos seguintes. A riqueza de espécies do Ano 2 (27 spp.), Ano 3 (29 spp.), Ano 4 (27 spp.), e Ano 6 (29 spp.), foi semelhante, mesmo com o Ano 2 e Ano 6 contendo apenas com os registros do período chuvoso. O número de aves aquáticas (41.743 indivíduos) junto ao número de espécies registradas ao longo dos seis anos de amostragem destaca a importância da região da foz do Rio Doce e costa adjacente. Durante o período chuvoso, foi registrado o maior número de aves aquáticas (71%), quando comparado ao período seco (29%), o que aparentemente está associado com a maior presença de espécies migratórias como *Sterna hirundo*, uma das espécies mais abundantes ao longo dos seis anos de amostragem. Esse é um fator de preocupação em relação à contaminação das aves, pois no período chuvoso ocorre recontaminação da região costeira a partir dos rejeitos ainda presentes no leito do Rio Doce. A presença massiva de aves costeiras na foz do Rio Doce indica que há disponibilidade de alimento para essas aves, o que pode funcionar como uma armadilha ecológica, considerando que há grande chance de as presas estarem contaminadas (Nunes et al., 2022). Além disso, um processo de recontaminação durante o período chuvoso acaba por expor espécies migratórias oriundas do hemisfério norte, para onde as mesmas podem transportar os referidos contaminantes, ampliando espacialmente o impacto dos rejeitos.

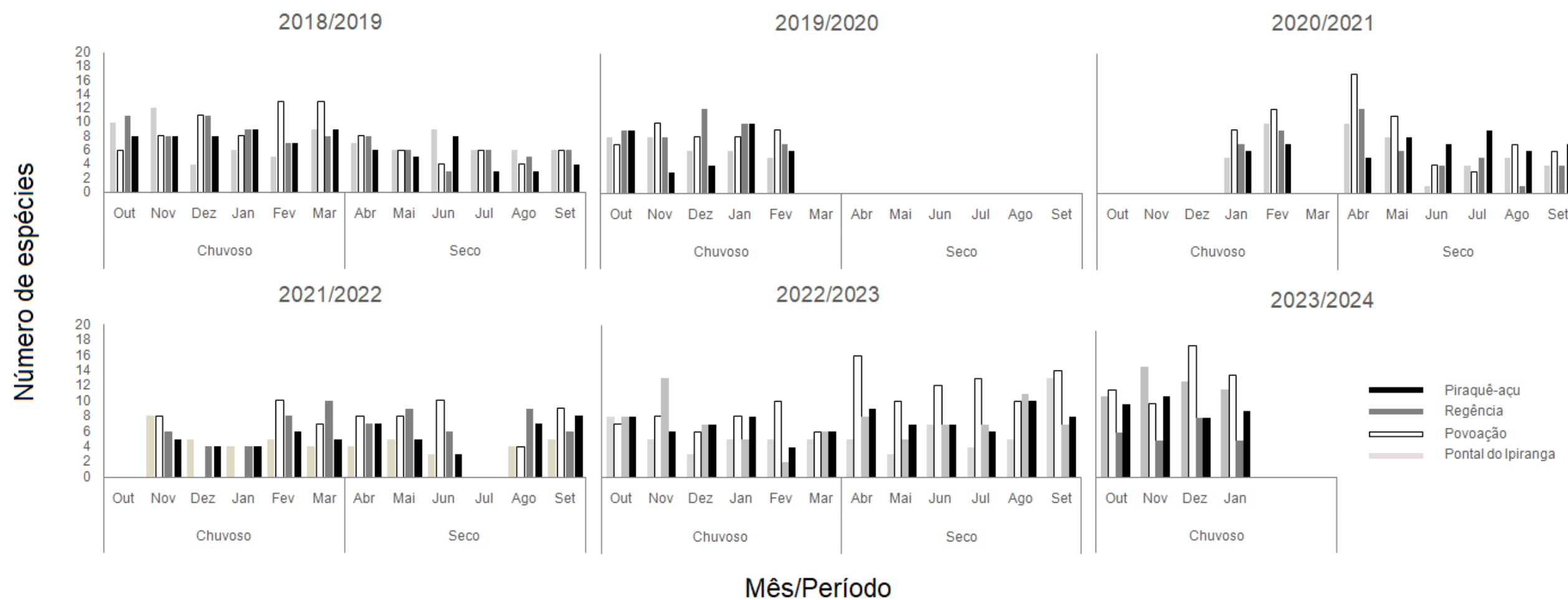
Figura 9: Variação mensal no número total de indivíduos de aves aquáticas nas praias dos quatro setores de costa de áreas adjacentes a foz do Rio Doce durante o período chuvoso de 2018/2019, 2019/2020, 2020/2021, 2021/2022, 2022/2023 e 2023/2024, e período seco de 2019, 2021, 2022 e 2023.





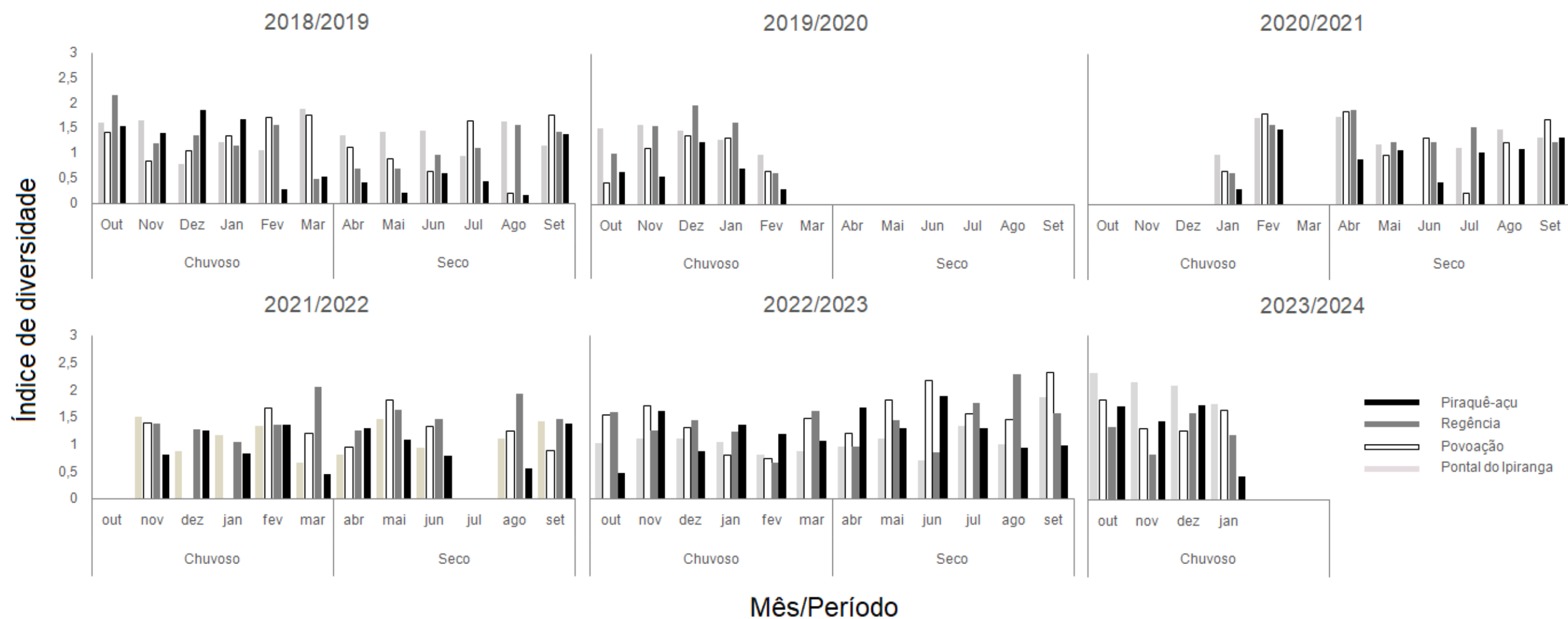
As maiores abundâncias foram observadas em Regência e em Povoação, trechos que ficam imediatamente ao sul e ao norte da foz do Rio Doce, respectivamente. A foz do Rio Doce é uma área ampla e heterogênea, disponibilizando uma variedade de ambientes para o uso das aves. A presença de bancos de areia, praias de água doce e água salgada, vegetação aquática, entre outros, permite que mais indivíduos de diferentes espécies utilizem essa área. Em novembro (Ano 5), dezembro (Ano 1), janeiro (Ano 3 e Ano 5) e fevereiro (Ano 2 e Ano 5), meses do período chuvoso, foram registrados os maiores valores de abundância, o que, aparentemente, está associado com a maior presença de espécies migratórias como *Sterna hirundo*, umas das espécies mais abundantes ao longo dos 5 anos e 4 meses de amostragem. Esse é um fator de preocupação em relação à contaminação das aves, pois no período chuvoso ocorre recontaminação da região costeira a partir dos rejeitos ainda presentes no leito do Rio Doce. A presença massiva de aves costeiras na foz do rio Doce indica que há disponibilidade de alimento para essas aves, o que pode funcionar como uma armadilha ecológica, considerando que há grande chance de as presas estarem contaminadas (Nunes et al., 2022). Além disso, um processo de recontaminação durante o período chuvoso acaba por expor espécies migratórias oriundas do hemisfério norte, para onde as mesmas podem transportar os referidos contaminantes, ampliando espacialmente o impacto dos rejeitos.

Figura 10: Variação no número de espécies registradas por setor de praia e mês de amostragem durante o período chuvoso de 2018/2019, 2019/2020, 2020/2021, 2021/2022, 2022/2023 e 2023/2024, e período seco de 2019, 2020, 2021, 2022 e 2023.



No Ano 1, nos meses de fevereiro e março foram registrados os maiores números de espécies (13 espécies), ambos em Povoação; no Ano 2 o maior número de espécies foi registrado em dezembro no setor Regência (12 espécies); no Ano 3 em abril no setor Povoação (17 espécies); no Ano 4, nos meses de fevereiro, março e junho foram registrados os maiores números de espécies (10 espécies) nos setores de Povoação, Regência e Povoação, respectivamente; no Ano 5, o maior número de espécies foi registrado em abril no setor Povoação (16 espécies), e no Ano 6, o maior número de espécies foi registrado em dezembro (18 espécies.). No geral, durante as amostragens realizadas no período chuvoso é que foram registradas mais espécies. O mês com o maior número de espécies registradas (18 espécies) foi dezembro do Ano 6 em Povoação. Assim como para a abundância, as maiores riquezas de espécies foram observadas em Regência e em Povoação, trechos que ficam imediatamente ao sul e ao norte da foz do Rio Doce, respectivamente. A foz do Rio Doce é uma área ampla e heterogênea, disponibilizando uma variedade de ambientes para o uso das aves. A presença de bancos de areia, praias de água doce e água salgada, vegetação aquática, entre outros, permite que mais indivíduos de diferentes espécies utilizem essa área. No geral, durante as amostragens realizadas no período chuvoso é que foram registradas mais espécies, o que aparentemente está associado com a maior presença de espécies migratórias, como, por exemplo, *Sterna hirundo*, *Pluvialis squatarola* e *Charadrius semipalmatus*. Considerando que presas de aves costeiras piscívoras e bentívoras estejam contaminadas pelos rejeitos, em especial durante o período chuvoso, é possível inferir que as aves migratórias estejam funcionando como biovetores de contaminantes para suas áreas reprodutivas, no hemisfério norte.

Figura 11: Índice de diversidade de Shannon por setor de praia e mês de amostragem durante o período chuvoso de 2018/2019, 2019/2020, 2020/2021, 2021/2022, 2022/2023 e 2023/2024, e período seco de 2019, 2020, 2021, 2022 e 2023.



Os maiores valores do Índice de Diversidade de Shannon (2,3) foram registrados em agosto, setembro e outubro de 2023 nos trechos de Regência, Povoação e Pontal do Ipiranga, respectivamente. O registro de valores elevados tanto durante o período seco, quanto no período chuvoso em Regência e Povoação reforça a importância da região da foz do Rio Doce. A foz do Rio Doce é uma área ampla e heterogênea, disponibilizando uma variedade de ambientes para o uso das aves. A presença de bancos de areia, praias de água doce e água salgada, vegetação aquática, entre outros, permite que mais indivíduos de diferentes espécies utilizem essa área elevando a diversidade local. Da mesma forma, o trecho de Pontal do Ipiranga inclui lagoas e praias de água doce e salgada, o que aumenta a disponibilidade de ambientes e tornando o trecho mais atrativo para as espécies.



Tabela 5: Espécies registradas durante as contagens no mar realizadas entre outubro de 2018 e janeiro de 2024 na foz do Rio Doce e águas adjacentes, estado de conservação e origem.  
Abreviação: LC, Pouco Preocupante; NT, Quase Ameaçada; VU, Vulnerável; EN, Em Perigo; CR, Criticamente em Perigo; R, Residente; MN, Migrante do Hemisfério Norte; MS, Migrante do Hemisfério Sul.

Ordem	Família	Espécie	Nome comum	Global <sup>1</sup>	Nacional <sup>2</sup>	Origem <sup>3</sup>
Charadriiformes	Stercorariidae	<i>Stercorarius maccormicki</i>	Mandrião-do-sul	LC	LC	MS
Charadriiformes	Stercorariidae	<i>Stercorarius pomarinus</i>	Mandrião-pomarino	LC	LC	MN
Charadriiformes	Stercorariidae	<i>Stercorarius parasiticus</i>	Moleiro-parasítico	LC	LC	MN
Charadriiformes	Laridae	<i>Anous stolidus</i>	Trinta-réis-escuro	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Anous minutus</i>	Trinta-réis-preto	LC	LC	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna hirundo</i>	Trinta-réis-boreal	LC	LC	MN
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna hirundinacea</i>	Trinta-réis-de-bico-vermelho	LC	VU	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Sterna paradisaea</i>	Trinta-réis-ártico	LC	LC	MN
Charadriiformes	Laridae	<i>Thalasseus acutifrons</i>	Trinta-réis-de-bando	LC	VU	R
Charadriiformes	Laridae	<i>Thalasseus maximus</i>	Trinta-réis-real	LC	EN	R
Phaethontiformes	Phaethontidae	<i>Phaethon aethereus</i>	Rabo-de-palha-de-bico-vermelho	LC	EN	R
Phaethontiformes	Phaethontidae	<i>Phaethon lepturus</i>	Rabo-de-palha-de-bico-laranja	LC	EN	R
Procellariiformes	Diomedidae	<i>Thalassarche chlororhynchos</i>	Albatroz-de-nariz-amarelo	EN	EN	MS
Procellariiformes	Diomedidae	<i>Thalassarche melanophrys</i>	Albatroz-de-sobrancelha-negra	LC	NT	MS
Procellariiformes	Oceanitidae	<i>Fregetta grallaria</i>	Painho-de-barriga-branca	LC	LC	MS
Procellariiformes	Oceanitidae	<i>Fregetta tropica</i>	Painho-de-barriga-preta	LC	LC	MS
Procellariiformes	Oceanitidae	<i>Oceanites oceanicus</i>	Alma-de-mestre	LC	LC	MS
Procellariiformes	Hydrobatidae	<i>Hydrobates leucorhous</i>	Painho-de-cauda-furcada	VU	LC	MN
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Pterodroma mollis</i>	Grazina-mole	LC	LC	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Pterodroma incerta</i>	Grazina-de-barriga-branca	EN	EN	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Pachyptila desolata</i>	Faigão-rola	LC	LC	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Procellaria aequinoctialis</i>	Pardela-preta	VU	VU	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Procellaria conspicillata</i>	Pardela-de-óculos	VU	VU	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Calonectris borealis</i>	Bobo-grande	LC	LC	MN
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Calonectris edwardsii</i>	Bobo-de-cabo-verde	NT	NT	MN
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Ardennagrisea</i>	Bobo-escuro	NT	LC	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Ardenna gravis</i>	Bobo-grande-de-sobre-branco	LC	LC	MS
Procellariiformes	Procellariidae	<i>Puffinus puffinus</i>	Bobo-pequeno	LC	LC	MN
Suliformes	Fregatidae	<i>Fregata magnificens</i>	Tesourão	LC	LC	R
Suliformes	Sulidae	<i>Sula dactylatra</i>	Atobá-grande	LC	LC	R
Suliformes	Sulidae	<i>Sula leucogaster</i>	Atobá-pardo	LC	LC	R
Suliformes	Sulidae	<i>Sula sula</i>	Atobá-de-pé-vermelho	LC	EN	R

1 IUCN (2020), para estado de conservação global.

2 Portaria MMA 148/2022, para estado de conservação nacional.

3 Pacheco et al. (2021), para a sequência taxonômica, nomenclatura e status.

Do total de 32 espécies registradas ao longo de todo período das amostragens, 11 são consideradas residentes no Brasil, 13 espécies são migrantes do Hemisfério Sul, enquanto 8 são migrantes do Hemisfério Norte. Do total de espécies registradas, 5 são classificadas como ameaçadas em nível global, sendo 4 destas também ameaçadas em nível nacional, além de outras 5 espécies ameaçadas em nível nacional apenas. As famílias mais representativas foram Procellariidae com 10 espécies, seguida de Laridae com sete espécies. As 32 espécies de aves registradas ao longo dos seis anos de amostragem, incluindo espécies migratórias que utilizam a área para alimentação, demonstram a importância da região da foz do Rio Doce e águas adjacentes. Importância reforçada pela presença de espécies ameaçadas (10 spp.) em nível nacional ou mesmo em nível global, como no caso das espécies *Thalassarche chlororhynchos*, *Hydrobates leucorhous*, *Pterodroma incerta*, *Procellaria aequinoctialis* e *P. conspicillata*. Assim como para as aves costeiras, esse é um fator de preocupação em relação à contaminação das aves, pois no período chuvoso ocorre recontaminação da zona pelágica a partir dos rejeitos ainda presentes no leito do Rio Doce, enquanto os rejeitos depositados na plataforma continental sofrem remobilização em eventos de maré meteorológica. A presença de dezenas de espécies de aves marinhas na foz do Rio Doce e adjacências indica que há disponibilidade de alimento para essas aves, o que pode funcionar como uma armadilha ecológica, considerando que há grande chance de as presas estarem contaminadas. Além disso, os processos de contaminação crônica acabam por expor espécies migratórias, de modo que possuem o potencial de transportar os referidos contaminantes, ampliando espacialmente o impacto dos rejeitos. Da mesma forma, espécies que se reproduzem em ilhas marinhas do Brasil, a exemplo do arquipélago dos Abrolhos, o qual abriga colônias de *S. leucogaster*, *S. dactylatra*, *P. aethereus*, *Phaethon lepturus* e *F. magnificens*, todas observadas na área monitorada, também podem servir como biovetores de contaminantes para as áreas reprodutivas, ampliando o impacto dos rejeitos para demais organismos da comunidade insular terrestre, além de organismos marinhos associados aos recifes de corais e bancos de rodólitos no seu entorno imediato.

Tabela 6: Frequência de ocorrência absoluta e relativa de táxons registrados durante as contagens no mar realizadas entre outubro de 2018 e janeiro de 2024 na Foz do Rio Doce e águas adjacentes, considerando os registros em sua totalidade (aves identificadas e não identificadas em nível específico; aves registradas durante os censos contínuos e instantâneos; aves estacionárias; e registros fora do esforço amostral). Abreviação: FO, Frequência de Ocorrência. \* Os dados para o Ano 6 referem-se apenas de outubro de 2023 a janeiro de 2024.

Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6*	
		FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)
Charadriiformes	<i>Stercorarius maccormicki</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	10	0,024	4	0,012	6	0,040
Charadriiformes	<i>Stercorarius pomarinus</i>	10	0,008	5	0,021	0	0,000	7	0,017	3	0,009	1	0,007
Charadriiformes	<i>Stercorarius parasiticus</i>	0	0,000	0	0,000	1	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Stercorarius</i> sp.	52	0,044	14	0,058	0	0,000	25	0,060	5	0,016	3	0,020
Charadriiformes	<i>Anous stolidus</i>	45	0,038	5	0,021	1	0,002	13	0,031	6	0,019	2	0,013
Charadriiformes	<i>Anous minutus</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	3	0,007	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Anous</i> sp.	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,002	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Sterna hirundo</i>	83	0,070	75	0,311	127	0,274	68	0,163	53	0,165	23	0,154
Charadriiformes	<i>Sterna hirundinacea</i>	4	0,003	0	0,000	1	0,002	2	0,005	1	0,003	0	0,000
Charadriiformes	<i>Sterna paradisaea</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,007
Charadriiformes	<i>Thalasseus acutiflavus</i>	47	0,039	3	0,012	54	0,117	13	0,031	14	0,043	2	0,013
Charadriiformes	<i>Thalasseus maximus</i>	6	0,005	0	0,000	4	0,009	0	0,000	2	0,006	0	0,000
Charadriiformes	Laridae	9	0,007	4	0,017	30	0,065	11	0,026	15	0,047	2	0,013
Phaethontiformes	<i>Phaethon aethereus</i>	6	0,005	0	0,000	5	0,011	3	0,007	5	0,016	0	0,000
Phaethontiformes	<i>Phaethon lepturus</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,007

Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6*	
		FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)
Procellariiformes	<i>Thalassarche chlororhynchos</i>	38	0,032	1	0,004	2	0,004	7	0,017	4	0,012	0	0,000
Procellariiformes	<i>Thalassarche melanophris</i>	4	0,003	0	0,000	2	0,004	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Thalassarche</i> sp.	8	0,007	0	0,000	0	0,000	1	0,002	2	0,006	0	0,000
Procellariiformes	<i>Fregetta grallaria</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Fregetta tropica</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Oceanites oceanicus</i>	32	0,027	12	0,050	1	0,002	81	0,194	28	0,087	25	0,168
Procellariiformes	<i>Hydrobates leucorhous</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	Hydrobatidae	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma mollis</i>	3	0,003	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma incerta</i>	2	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma</i> sp.	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pachyptila desolata</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Procellaria aequinoctialis</i>	7	0,006	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Procellaria conspicillata</i>	6	0,005	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	Procellariidae	10	0,008	0	0,000	1	0,002	1	0,002	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Calonectris borealis</i>	27	0,023	1	0,004	1	0,002	3	0,007	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Calonectris edwardsii</i>	3	0,003	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000

Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6*	
		FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)	FO	FO (%)
Procellariiformes	<i>Calonectris</i> sp.	2	0,002	1	0,004	0	0,000	2	0,005	2	0,006	0	0,000
Procellariiformes	<i>Ardenna grisea</i>	8	0,007	0	0,000	3	0,006	3	0,007	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Ardenna gravis</i>	246	0,206	0	0,000	1	0,002	0	0,000	1	0,003	1	0,007
Procellariiformes	<i>Puffinus puffinus</i>	97	0,082	18	0,075	50	0,108	17	0,041	3	0,009	29	0,195
Procellariiformes	<i>Puffinus</i> sp.	16	0,013	3	0,012	2	0,004	6	0,014	0	0,000	0	0,000
Suliformes	<i>Fregata magnificens</i>	126	0,106	20	0,083	80	0,173	50	0,120	77	0,239	24	0,161
Suliformes	<i>Fregata</i> sp.	7	0,006	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Suliformes	<i>Sula dactylatra</i>	177	0,149	55	0,228	72	0,156	58	0,139	55	0,171	18	0,121
Suliformes	<i>Sula leucogaster</i>	48	0,040	22	0,091	25	0,054	29	0,069	41	0,127	11	0,074
Suliformes	<i>Sula sula</i>	7	0,006	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Suliformes	<i>Sula</i> sp.	5	0,004	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Ave N.I.		43	0,036	2	0,008	0	0,000	4	0,010	1	0,003	0	0,000
TOTAL		1190	1	241	1	463	1	418	1	322	1	149	1

Houve variação na composição das espécies ao longo dos anos. As espécies *Stercorarius parasiticus*, *Anous minutus*, *Sterna paradisaea*, *Phaethon lepturus*, *Fregata grallaria*, *F. tropica*, *Hydrobates leucorhous*, *Pterodroma mollis*, *P. incerta*, *Pachyptila desolata*, *Procellaria aequinoctialis*, *Procellaria conspicillata*, *Calonectris edwardsii* e *Sula sula*, foram registradas em apenas um dos anos de amostragem. Além disso, vale destacar espécies com FO (%) maiores, como *Sterna hirundo* no Ano 2 e no Ano 3, *Ardenna gravis* no Ano 1 e *Sula dactylatra* no Ano 2 e *Fregata magnificens* no Ano 5 de amostragem. Enquanto *S. hirundo* e *A. gravis* são espécies migratórias que utilizam essa área durante o período não reprodutivo, *S. dactylatra* e *F. magnificens* são espécies residentes, o que pode explicar a FO (%) elevada durante os anos de amostragem.

Tabela 7: Abundância absoluta e relativa de táxons registrados durante as contagens no mar realizadas entre outubro de 2018 e janeiro de 2024 na Foz do Rio Doce e águas adjacentes, considerando os registros em sua totalidade (aves identificadas e não identificadas em nível específico; aves registradas durante os censos contínuos e instantâneos; aves estacionárias; e registros fora do esforço amostral). Estão apresentados dados considerando todos os registros espécie-específicos, registros por transecção, e registros por período do ano.

Ordem	Táxon	N Total	FN (%)	TFOZ	TN1	TN2	TN3	TN4	TS1	TS2	Seco	Chuvoso
Charadriiformes	<i>Stercorarius maccormicki</i>	24	0	5	2	3	2	1	10	1	17	7
Charadriiformes	<i>Stercorarius pomarinus</i>	35	1	8	3	4	9	0	3	8	13	22
Charadriiformes	<i>Stercorarius parasiticus</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Charadriiformes	<i>Stercorarius</i> sp.	93	2	15	11	6	10	8	16	27	58	35
Charadriiformes	<i>Anous stolidus</i>	657	11	2	0	0	44	610	0	1	568	89
Charadriiformes	<i>Anous minutus</i>	11	0	0	0	0	0	11	0	0	11	0
Charadriiformes	<i>Anous</i> sp.	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
Charadriiformes	<i>Sterna hirundo</i>	1289	22	655	54	52	43	292	154	39	295	994
Charadriiformes	<i>Sterna hirundinacea</i>	167	3	0	0	0	0	3	3	161	166	1
Charadriiformes	<i>Sterna paradisaea</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Charadriiformes	<i>Thalasseus acuflavidus</i>	511	9	147	26	6	38	49	15	230	482	29
Charadriiformes	<i>Thalasseus maximus</i>	12	0	4	0	0	0	0	0	8	11	1
Charadriiformes	Laridae	172	3	71	16	6	9	40	24	6	100	72
Phaethontiformes	<i>Phaethon aethereus</i>	21	0	3	0	5	2	5	2	4	13	8
Phaethontiformes	<i>Phaethon lepturus</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
Procellariiformes	<i>Thalassarche chlororhynchos</i>	53	1	10	3	3	7	9	13	8	43	10
Procellariiformes	<i>Thalassarche melanophris</i>	6	0	0	0	0	0	0	4	2	6	0
Procellariiformes	<i>Thalassarche</i> sp.	11	0	3	1	0	2	5	0	0	11	0
Procellariiformes	<i>Fregetta grallaria</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0
Procellariiformes	<i>Fregetta tropica</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
Procellariiformes	<i>Oceanites oceanicus</i>	342	6	28	61	28	110	51	23	41	197	145
Procellariiformes	<i>Hydrobates leucorhous</i>	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Procellariiformes	Hydrobatidae	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	2
Procellariiformes	<i>Pterodroma mollis</i>	3	0	0	1	1	0	0	1	0	1	2



Ordem	Táxon	N Total	FN (%)	TFOZ	TN1	TN2	TN3	TN4	TS1	TS2	Seco	Chuvoso
Procellariiformes	<i>Pterodroma incerta</i>	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
Procellariiformes	<i>Pterodroma</i> sp.	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Procellariiformes	<i>Pachyptila desolata</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
Procellariiformes	<i>Procellaria aequinoctialis</i>	7	0	0	0	1	1	0	4	1	6	1
Procellariiformes	<i>Procellaria conspicillata</i>	6	0	0	1	0	0	0	4	1	4	2
Procellariiformes	Procellariidae	13	0	1	0	1	0	0	11	0	2	11
Procellariiformes	<i>Calonectris borealis</i>	35	1	14	3	3	5	3	4	3	18	17
Procellariiformes	<i>Calonectris edwardsii</i>	4	0	0	0	1	0	3	0	0	4	0
Procellariiformes	<i>Calonectris</i> sp.	11	0	2	0	2	0	2	1	4	5	6
Procellariiformes	<i>Ardenna grisea</i>	13	0	3	2	3	1	4	0	0	10	3
Procellariiformes	<i>Ardenna gravis</i>	254	4	19	143	55	2	0	35	0	219	35
Procellariiformes	<i>Puffinus puffinus</i>	338	6	52	34	22	64	87	34	45	132	206
Procellariiformes	<i>Puffinus</i> sp.	27	0	6	2	5	8	2	2	2	20	7
Suliformes	<i>Fregata magnificens</i>	507	9	51	30	55	129	219	15	8	317	190
Suliformes	<i>Fregata</i> sp.	9	0	0	0	0	0	9	0	0	0	9
Suliformes	<i>Sula dactylatra</i>	671	11	59	54	58	86	354	36	24	356	315
Suliformes	<i>Sula leucogaster</i>	318	5	42	38	26	11	115	53	33	156	162
Suliformes	<i>Sula sula</i>	7	0	0	1	1	2	3	0	0	1	6
Suliformes	<i>Sula</i> sp.	10	0	0	0	0	0	10	0	0	4	6
Ave N.I.		289	5	141	13	7	11	79	33	5	35	254
Total		5942	100	1344	499	356	596	1977	504	666	3288	2654

Foram registradas 5.942 aves, no total. As espécies mais abundantes foram *Sterna hirundo*, *Sula dactylatra*, *Anous stolidus*, e *Thalasseus acuflavidus*, respectivamente. Houve um maior número de registros de aves durante o período seco (55%), embora a diferença tenha sido pequena. Em relação às transecções, as maiores abundâncias foram registradas na transecção alinhada à foz do Rio Doce (TFOZ) e na transecção no extremo norte (TN4). A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima ao arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de sete espécies de aves, o que pode explicar os maiores registros de aves. As espécies mais abundantes foram *Sterna hirundo*, *Sula dactylatra*, *Anous stolidus*, *Thalasseus acuflavidus* e *Fregata magnificens*, respectivamente. *Sterna hirundo* é uma espécie migratória, já *A. stolidus*, *S. dactylatra* e *F. magnificens* são espécies residentes e o arquipélago dos Abrolhos é um dos locais onde elas se reproduzem. Da mesma forma, *T. acuflavidus* é residente e utiliza inclusive ilhas costeiras do Espírito Santo para se reproduzir.

Tabela 8: Abundância e densidade (aves/km<sup>2</sup>) dos táxons registrados durante as contagens no mar entre outubro de 2018 e janeiro de 2024 na Foz do Rio Doce e águas adjacentes, considerando apenas aves registradas durante os censos contínuos e instantâneos. Abund = abundância; Dens = densidade. \* Os dados para o Ano 6 referem-se apenas de outubro de 2023 a janeiro de 2024.

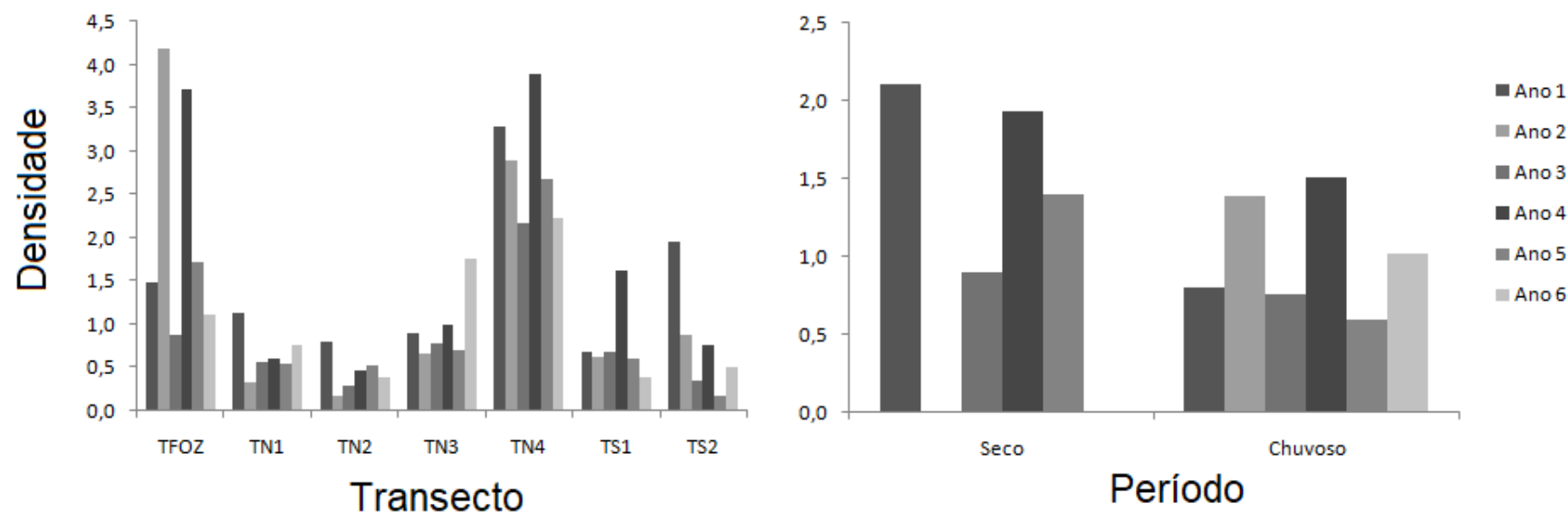
Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6 *	
		Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens
Charadriiformes	<i>Stercorarius maccormicki</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	12	0,015	4	0,005	6	0,015
Charadriiformes	<i>Stercorarius pomarinus</i>	7	0,004	9	0,022	0	0,000	9	0,011	4	0,005	1	0,002
Charadriiformes	<i>Stercorarius parasiticus</i>	0	0,000	0	0,000	1	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Stercorarius</i> sp.	22	0,013	10	0,024	0	0,000	32	0,040	5	0,006	3	0,007
Charadriiformes	<i>Anous stolidus</i>	85	0,050	5	0,012	1	0,002	70	0,087	93	0,113	23	0,057
Charadriiformes	<i>Anous minutus</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	11	0,014	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Anous</i> sp.	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,001	0	0,000	0	0,000
Charadriiformes	<i>Sterna hirundo</i>	37	0,022	219	0,524	127	0,218	430	0,535	139	0,168	114	0,281
Charadriiformes	<i>Sterna hirundinacea</i>	1	0,001	0	0,000	1	0,002	3	0,004	1	0,001	0	0,000
Charadriiformes	<i>Sterna paradisaea</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,002
Charadriiformes	<i>Thalasseus acutiflavus</i>	51	0,030	19	0,045	54	0,093	25	0,031	128	0,155	3	0,007
Charadriiformes	<i>Thalasseus maximus</i>	3	0,002	0	0,000	4	0,007	0	0,000	2	0,002	0	0,000
Charadriiformes	Laridae	5	0,003	26	0,062	30	0,052	18	0,022	70	0,085	3	0,007
Phaethontiformes	<i>Phaethon aethereus</i>	2	0,001	0	0,000	5	0,009	3	0,004	5	0,006	0	0,000
Phaethontiformes	<i>Phaethon lepturus</i>	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	1	0,002
Procellariiformes	<i>Thalassarche chlororhynchos</i>	27	0,016	1	0,002	2	0,003	7	0,009	4	0,005	0	0,000
Procellariiformes	<i>Thalassarche melanophrys</i>	3	0,002	0	0,000	2	0,003	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Thalassarche</i> sp.	2	0,001	0	0,000	0	0,000	1	0,001	2	0,002	0	0,000
Procellariiformes	<i>Fregetta grallaria</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Fregetta tropica</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000

Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6 *	
		Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens
Procellariiformes	<i>Oceanites oceanicus</i>	32	0,019	10	0,024	1	0,002	144	0,179	32	0,039	115	0,284
Procellariiformes	<i>Hydrobates leucorhous</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	Hydrobatidae	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma mollis</i>	3	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma incerta</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pterodroma</i> sp.	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Pachyptila desolata</i>	1	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Procellaria aequinoctialis</i>	5	0,003	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Procellaria conspicillata</i>	4	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	Procellariidae	1	0,001	0	0,000	1	0,002	1	0,001	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Calonectris borealis</i>	16	0,009	0	0,000	1	0,002	3	0,004	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Calonectris edwardsii</i>	3	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Calonectris</i> sp.	0	0,000	4	0,010	0	0,000	3	0,004	2	0,002	0	0,000
Procellariiformes	<i>Ardenna grisea</i>	7	0,004	0	0,000	1	0,002	3	0,004	0	0,000	0	0,000
Procellariiformes	<i>Ardenna gravis</i>	103	0,061	0	0,000	1	0,002	0	0,000	1	0,001	1	0,002
Procellariiformes	<i>Puffinus</i>	96	0,057	25	0,060	50	0,086	55	0,068	3	0,004	60	0,148
Procellariiformes	<i>Puffinus</i> sp.	9	0,005	3	0,007	2	0,003	6	0,007	0	0,000	0	0,000
Suliformes	<i>Fregata magnificens</i>	55	0,033	12	0,029	80	0,137	114	0,142	114	0,138	37	0,091
Suliformes	<i>Fregata</i> sp.	3	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Suliformes	<i>Sula dactylatra</i>	142	0,084	52	0,124	72	0,124	133	0,166	118	0,143	24	0,059
Suliformes	<i>Sula leucogaster</i>	48	0,028	14	0,033	25	0,043	56	0,070	91	0,110	23	0,057
Suliformes	<i>Sula</i>	4	0,002	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000

Ordem	Táxon	ANO 1		ANO 2		ANO 3		ANO 4		ANO 5		ANO 6 *	
		Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens	Abund	Dens
Suliformes	<i>Sula</i> sp.	2	0,001	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000	0	0,000
Ave N.I.		12	0,007	1	0,002	0	0,000	238	0,296	1	0,001	0	0,000
TOTAL		797	0,474	410	0,980	461	0,794	1378	1,715	819	0,992	415	1,024

Durante o Ano 4 e Ano 6 foram registradas as maiores densidades. Em relação as espécies, *Sterna hirundo*, *Fregata magnificens* e *Sula dactylatra* apresentaram as maiores densidades ao longo dos seis anos. Enquanto *S. hirundo* é uma espécie migratória que utiliza essa área durante o período não reprodutivo, *F. magnificens* e *S. dactylatra* são espécies residentes, e a presença em densidades maiores demonstra a importância da região da foz do Rio Doce e águas adjacentes para essas espécies.

Figura 12: Densidade de aves (aves/km<sup>2</sup>) por transecção (à esquerda) e período do ano, entre outubro de 2018 e janeiro de 2024, amostrados no mar adjacente à Foz do Rio Doce. \* Não houve amostragem no período seco do Ano 2 (devido à pandemia de COVID-19).



A densidade de aves variou entre as transecções, com densidade maior de aves em TFOZ e TN4. A densidade de aves em TFOZ variou acima da média entre os anos sendo maior no Ano 2 e 4, respectivamente, enquanto os valores se mantiveram mais constantes em TN4, com densidade maior de aves no Ano 4 e 1, respectivamente. A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de várias espécies de aves, o que pode estar atuando para que essas sejam as transecções com as maiores densidades de aves. No período seco do Ano 1 foi registrada a maior densidade, influenciada por uma maior abundância de aves da família Laridae. No período chuvoso do Ano 3 e do Ano 5, foram registradas as menores densidades.

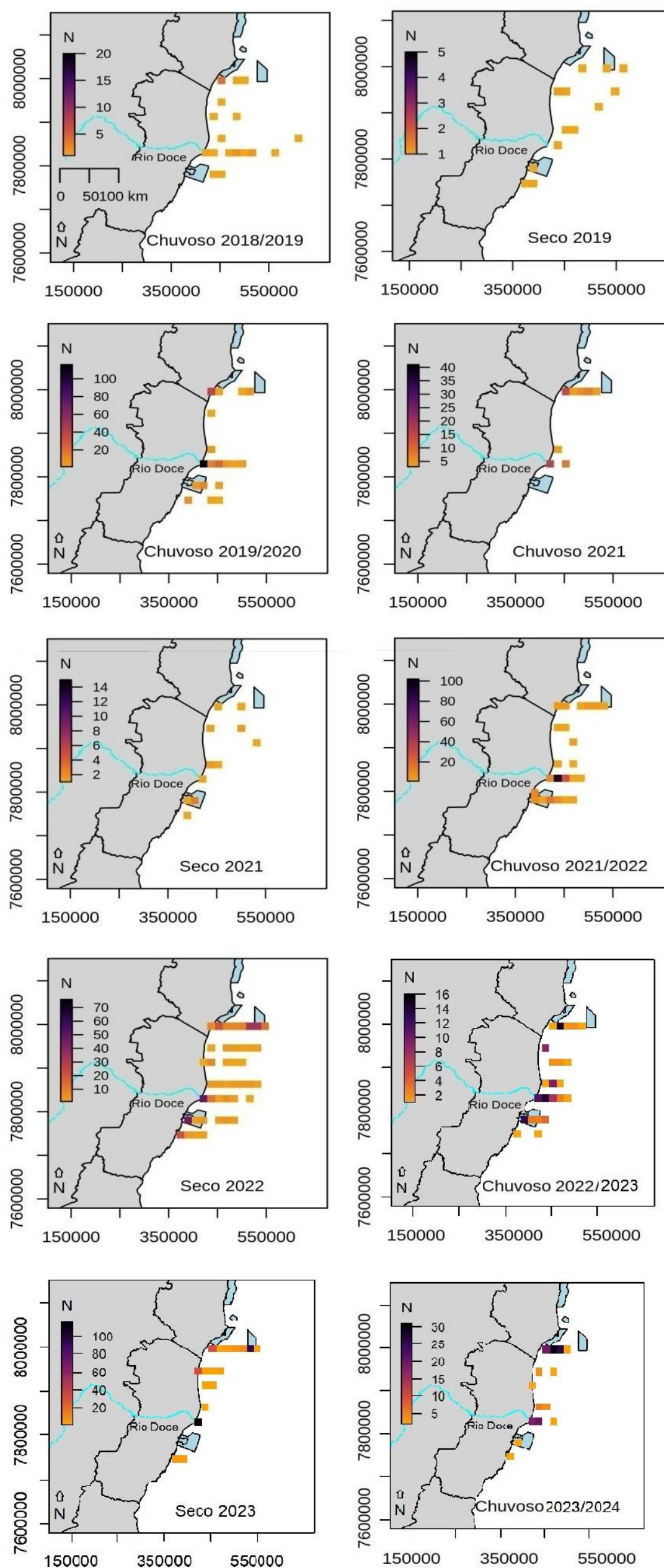


Tabela 9: Índice de Shannon estimado para as transecções no mar adjacente à Foz do Rio Doce, no período entre outubro de 2018 e janeiro de 2024.

Transecção	ANO 1	ANO 2	ANO 3	ANO 4	ANO 5	ANO 6
	H'	H'	H'	H'	H'	H'
TFOZ	2,43	1,01	1,74	1,10	1,49	1,16
TN1	1,99	1,84	1,54	1,78	1,70	1,50
TN2	2,28	1,68	1,68	1,72	1,64	1,72
TN3	2,32	1,86	1,39	1,57	1,47	0,95
TN4	2,1	1,27	1,76	2,04	1,74	1,65
TS1	2,43	0,88	1,21	0,92	1,42	1,59
TS2	2,35	1,66	1,81	1,61	1,87	1,57

Durante o Ano 1, o índice de diversidade de Shannon variou de 1,99 a 2,43 entre as transecções, com a maior diversidade registrada nas transecções TFOZ e TS1, enquanto a menor foi registrada na transecção TN1. No ano 2, a diversidade foi menor, variando entre 0,88 e 1,86, com maior diversidade na transecção TN3 e menor na TS1. No ano 3, os valores do índice de diversidade de Shannon variaram entre 1,81 e 1,21, com maior diversidade em TS1, TN4 e TFOZ, e menor em TS1. No ano 4, a diversidade variou de 0,92 no TS1 a 2,04 no TN4. No ano 5, a diversidade variou de 1,42 no TS1 a 1,87 no TS2. No ano 6, a diversidade variou de 0,95 no TN3 a 1,72 no TN2. Novamente, destacam-se as transecções TFOZ e TN4 com valores elevados de Índice de Diversidade de Shannon ao longo dos seis anos de amostragem. No entanto, no Ano 2, maior diversidade foi registrada na transecção TN3. No Ano 3 e Ano 5, a maior diversidade foi na TS2, embora as diferenças para as outras transecções tenham sido pequenas. A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de sete espécies de aves marinhas, o que pode estar atuando para que essas sejam transecções com diversidade de aves mais elevada.

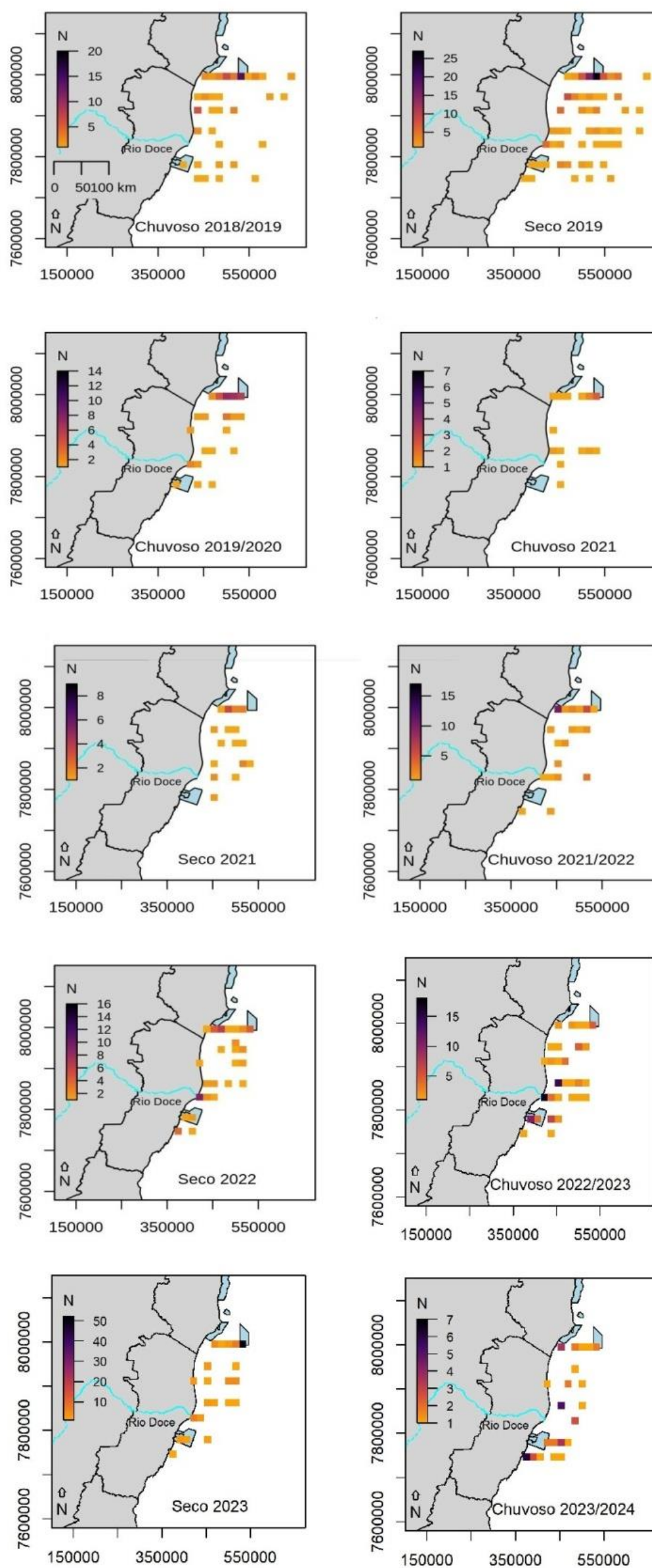
Figura 13: Representação da densidade de aves (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para família Laridae em uma em uma malha com 4 x 4 km de resolução para cada estação (e.g. chuvosa de outubro a março e seco de abril a setembro) para o período de outubro de 2018 a janeiro de 2024.



Laridae apresentou maior densidade de aves na transecção TFOZ durante o período chuvoso de 2019/2020 e 2021/2022 e nas transecções TFOZ e TN4 no período seco de 2023. No período chuvoso em praticamente todos os anos, houve uma maior densidade de Laridae na transecção TFOZ. No entanto, no período chuvoso de 2019/2020 e nos períodos secos de 2022 e 2023 também foram registradas densidade de aves mais elevadas na transecção TN4. A família esteve presente nos transectos TFOZ e TN4 em todas as estações, por isso a, transecção TN4 e áreas mais próximas a costa na TFOZ foram as áreas de maior densidade quando considerados os registros da família em todas temporadas e períodos. A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de espécies da família Laridae, o que pode estar atuando para que essas sejam as transecções com as maiores densidades de aves dessa família.

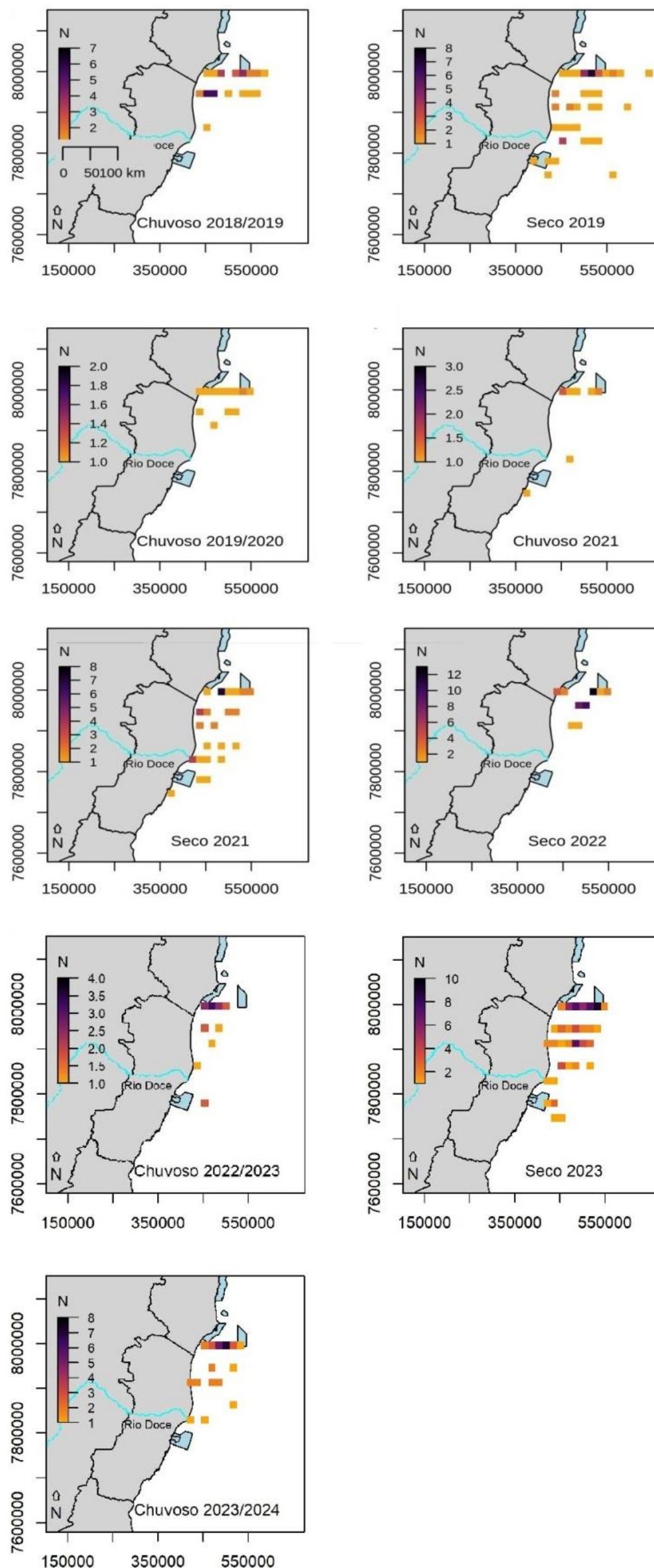


Figura 14: Representação da densidade de aves (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para família Sulidae em uma em uma malha com 4 x 4 km<sup>2</sup> de resolução para cada estação (e.g. chuvosa de outubro a março e seco de abril a setembro) para o período de outubro de 2018 a janeiro de 2024.



Em relação à Sulidae, destacam-se os altos índices de densidade observados na transecção TN4 em todos anos e estações amostrados. No período chuvoso de 2022/2023 e de 2023/2024, vale destacar o registro de densidades maiores mais próximas a costa e a Foz do Rio Doce. Embora o grupo apresente ampla distribuição ao longo das transecções, sua distribuição parece mais costeira, com distribuição mais extensa nas transecções onde a plataforma continental se estende e mais próxima a costa onde a profundidade é maior em locais mais próximos a costa, principalmente nos transectos mais ao sul. A transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de espécies da família Sulidae, o que pode estar atuando para que essas sejam as transecções com as maiores densidades de aves dessa família.

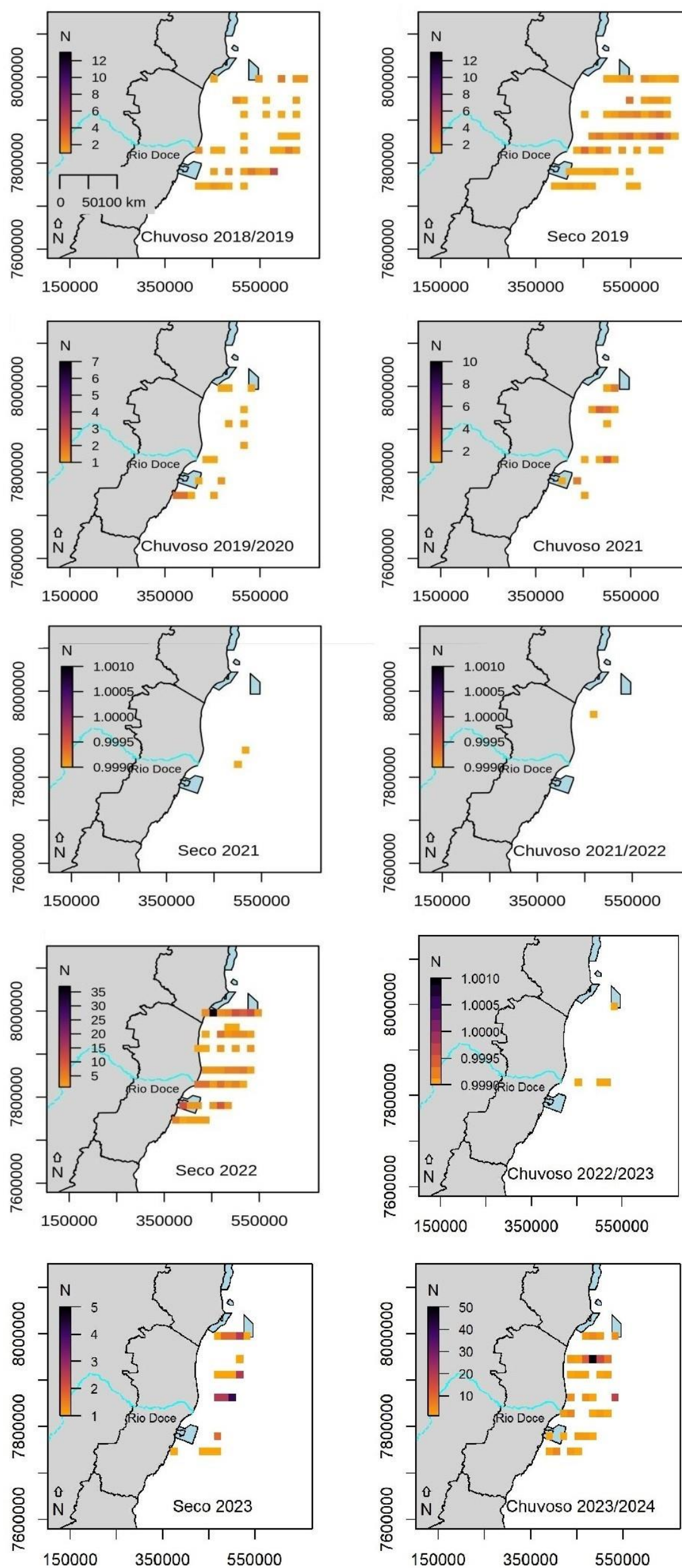
Figura 15: Representação da densidade de aves (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para família Fregatidae em uma em uma malha com 4 x 4 km<sup>2</sup> de resolução para cada estação (e.g. chuvosa de outubro a março e seco de abril a setembro), para período de outubro de 2018 a janeiro de 2024.





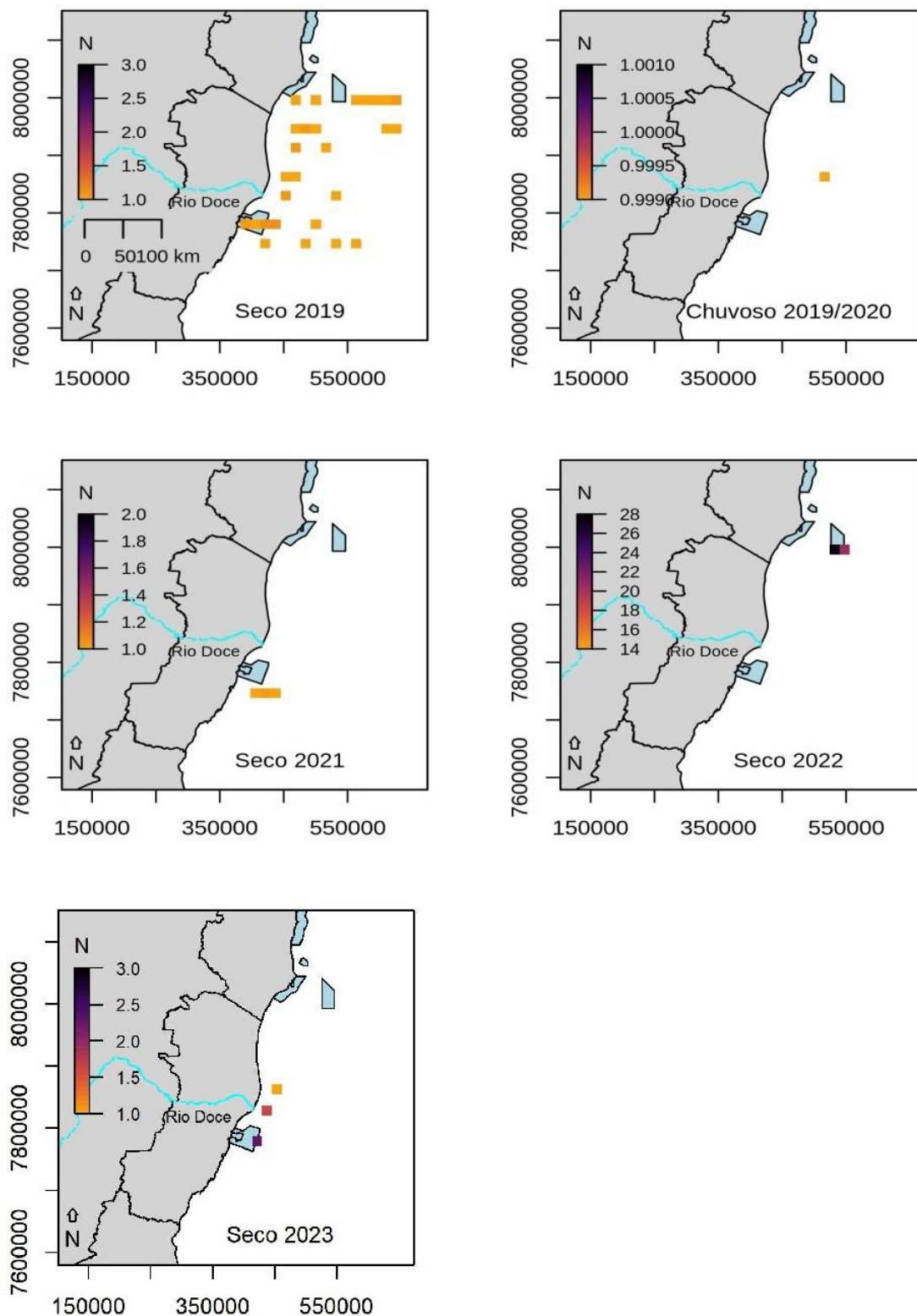
Fregatidae ocorreu em todas as transecções, porém teve maior densidade na TN4e TFOZ, mas também apresentou densidades elevadas próximo à costa nas transecções TN3 e TN2. As maiores densidades foram registradas durante o período seco, com destaque para o TN4, que também apresentou densidade maiores que as demais transecções durante o período chuvoso. Quanto a variação na distribuição do grupo associado aos diferentes períodos, pode se observar uma distribuição mais ampla do grupo no período seco. A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, local utilizado para reprodução de Fregatidae, o que pode estar atuando para que essas sejam as transecções com as maiores densidades de aves dessa família.

Figura 16: Representação da densidade de aves (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para família Procellariidae em uma em uma malha com 4 x 4 km<sup>2</sup> de resolução para cada estação (e.g. chuvosa de outubro a março e seco de abril a setembro), para o período de outubro de 2018 a janeiro de 2024.



Procellariidae apresentou altos índices de densidade em todos os transectos. De forma geral, as áreas mais utilizadas são as mais profundas e distantes da costa. De toda forma, sua densidade variou ao longo das estações, com menores índices no período seco de 2021 e nos períodos chuvosos de 2021/2022 e 2022/2023. As espécies de Procellariidae registradas são todas migratórias e apresentam hábitos mais oceânicos, o que pode ajudar a explicar densidades mais elevadas nas áreas mais afastadas da costa e com maiores profundidades.

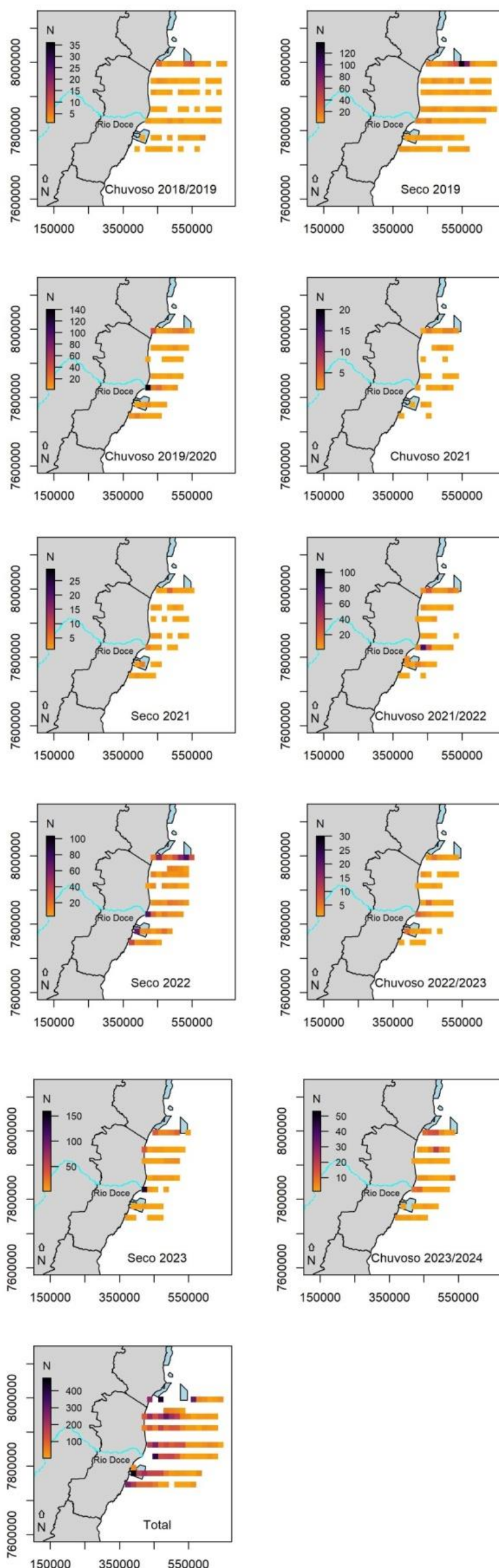
Figura 17: Representação da densidade de aves (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para família Diomedidae em uma em uma malha com 4 x 4 km de resolução para cada estação (e.g. chuvosa de outubro a março e seco de abril a setembro) para o período de outubro de 2018 a janeiro de 2024.



Diomedidae (*i.e.* albatrozes) foi registrada em baixas densidades no período chuvoso de 2019/2020 e no período seco de 2021, enquanto que no período chuvoso de 2022/2023 e de 2023/2024 não houve nenhum registro. No período seco de 2019, sua densidade foi maior na transecção TN4, enquanto no período chuvoso de 2019/2020 sua densidade foi na TS1 e TFOZ. Da mesma forma, no Ano 4 é possível observar valores maiores de densidade na TN4. No período seco de 2019 sua densidade foi maior em áreas próximas ao Arquipélago de Abrolhos (e.g. TN4), enquanto no período chuvoso de 2019/2020 sua densidade foi maior em locais mais próximos a APA Costa das Algas (TS1) e foz do Rio Doce (TFOZ). A transecção TFOZ está alinhada à foz do Rio Doce e sob influência direta do aporte de água doce e nutrientes provenientes do Rio Doce que enriquecem as águas adjacentes, enquanto a transecção TN4 fica próxima do arquipélago dos Abrolhos, o que pode estar atuando para que essas sejam as transecções com as maiores densidades de aves dessa família. A família Diomedidae (albatrozes) foi registrada em baixas densidades no período chuvoso de 2019/2020 e no período seco de 2021. No período seco de 2019 sua densidade foi maior em áreas próximas ao Arquipélago de Abrolhos (e.g. TN4), enquanto no período chuvoso de 2019/2020 sua densidade foi maior em locais mais próximos a APA Costa das Algas (TS1) e foz do Rio Doce (TFOZ). Da mesma, no Ano 4 é possível observar valores maiores de densidade próximo à região do Arquipélago dos Abrolhos, enquanto no período chuvoso de 2022/2023 não houve nenhum registro.



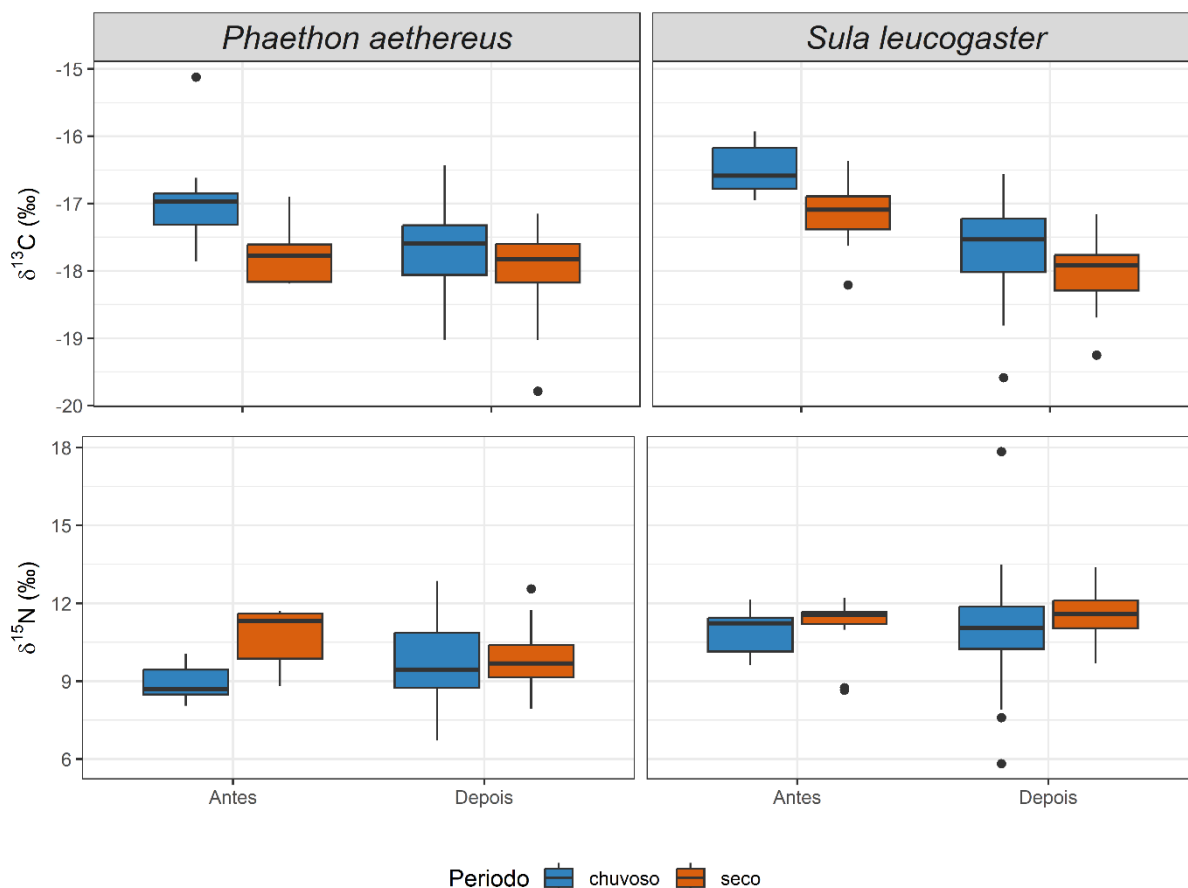
Figura 18: Representação da densidade de aves marinhas (Nº de indivíduos registrados em censos contínuos e instantâneo por km<sup>2</sup> em esforço) na Foz do Rio Doce e águas adjacentes para todos os indivíduos amostrados em uma em uma malha com 4 x 4 km de resolução para cada período e considerando todos os períodos entre outubro de 2019 e janeiro de 2024.





Considerando todos os registros de todas a espécies para a densidade, mais indivíduos foram encontrados próximos a Abrolhos (TN4) e próximo à foz do Rio Doce (TFOZ). Além disso, no geral foram registradas maiores densidades em áreas mais próximas à costa. Neste sentido, quando considerada a densidade a partir de todos os registros de aves marinhas durante os embarques no Espírito Santo para todos os períodos juntos entre 2018 e 2024 podemos observar índices mais elevados próximo a reserva de Abrolhos e à foz do Rio Doce.

Figura 19: Variação de valores de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  provenientes de amostras de sangue de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* no Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois (2018-2024) do rompimento da barragem, separados pelos períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro).



Para o período chuvoso, observa-se uma diminuição significativa nos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  entre antes e depois do rompimento da barragem para ambas as espécies. No período seco, há uma diminuição significativa de  $\delta^{13}\text{C}$  somente para *S. leucogaster*. Considerando valores de  $\delta^{15}\text{N}$ , há um aumento significativo em *P. aethereus* depois do rompimento no período chuvoso e uma diminuição significativa entre antes e depois no período seco. Adicionalmente, *S. leucogaster* não apresentou variações significativas entre períodos pré e pós rompimento no período seco e chuvoso. Esses resultados podem indicar variações nas áreas de forrageio em relação à distância da costa (Cherel & Hobson, 2007; Mancini & Bugoni, 2014) ou potenciais alterações anuais e sazonais em linhas de base isotópicas (*baselines*), que podem ser afetadas pela produtividade primária (Magozzi et al., 2017; McMahon et al., 2013). Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  apresentaram menos diferenças significativas para ambas as espécies em comparação ao carbono, indicando em poucas variações em espécies de presa ou níveis tróficos consumidos entre os períodos (Hobson & Clark, 1992; Cherel & Hobson, 2007).

Tabela 10: Valores de  $p$  do teste de hipóteses (Kruskall-Wallis) e dos testes pareados *post-hoc* (Teste U de Mann-Whitney) para valores de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  (abaixo) e  $\delta^{15}\text{N}$  (acima) provenientes de amostras de sangue de *Sula leucogaster* (esquerda) e *Phaethon aethereus* (direita) no Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois (2018-2024) do rompimento da barragem, considerando períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro).

<i>Sula leucogaster</i>				<i>Phaethon aethereus</i>			
(Kruskall-Wallis: $\delta^{13}\text{C}$ $p<0,01$ ; $\delta^{15}\text{N}$ $p<0,01$ )				(Kruskall-Wallis: $\delta^{13}\text{C}$ $p<0,01$ ; $\delta^{15}\text{N}$ $p<0,01$ )			
<b>Antes chuvoso</b>	0,22	0,74	0,03	<b>Antes chuvoso</b>	<0,01	<0,01	<0,01
<0,01	<b>Antes seco</b>	0,41	0,56	<0,01	<b>Antes seco</b>	<0,01	<0,01
<0,01	<0,01	<b>Depois chuvoso</b>	<0,01	<0,01	0,41	<b>Depois chuvoso</b>	0,17
<0,01	<0,01	<0,01	<b>Depois seco</b>	<0,01	0,57	<0,01	<b>Depois seco</b>

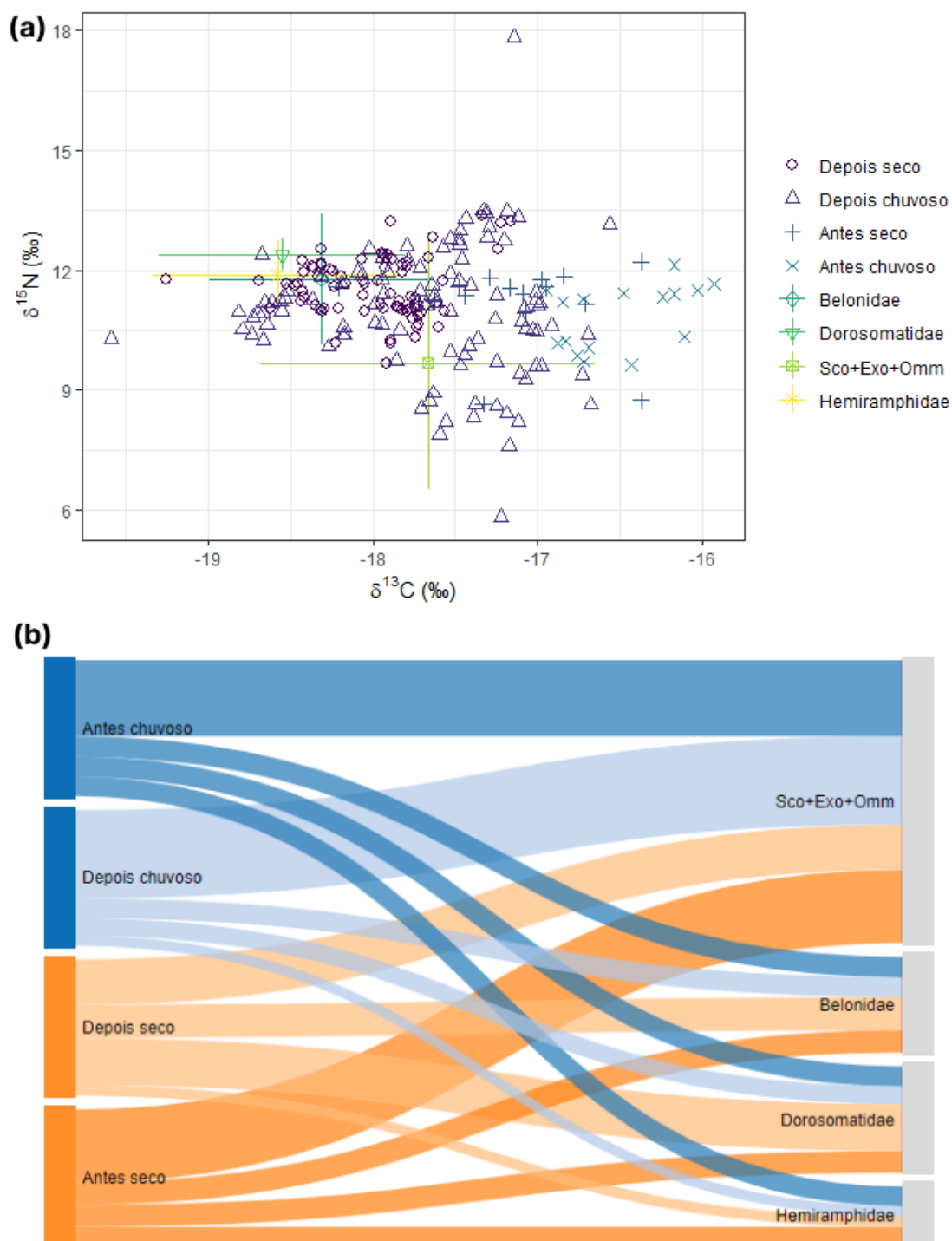
Para *S. leucogaster* as diferenças dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram significativas entre antes e depois do rompimento da barragem, considerando os períodos chuvoso e seco (qui-quadrado = 76,23,  $p<0,01$ ), assim como para valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (qui-quadrado = 13,02,  $p<0,01$ ). Os resultados dos testes pareados demonstraram diferenças significativas entre todos os períodos para  $\delta^{13}\text{C}$  e somente entre o período seco e chuvoso após o rompimento para  $\delta^{15}\text{N}$ . Para *P. aethereus* as diferenças dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram significativas entre antes e depois do rompimento da barragem, considerando os períodos chuvoso e seco (qui-quadrado = 38,88,  $p<0,01$ ), assim como valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (qui-quadrado = 22,74,  $p<0,01$ ). Demais interpretações dos resultados da tabela se encontram na legenda da Figura 19.

Tabela 11: Média e desvio padrão (DP) de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de amostras de músculo de presas regurgitadas de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostradas no Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois (2018-2023) do rompimento da barragem utilizados nos modelos de mistura Bayesianos, com indicação de tamanho amostral (n) de cada presa.

Presa	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)			$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	
	n	Média	DP	Média	DP
Belonidae	17	-18,13	0,67	10,05	1,64
Dorosomatidae	15	-18,37	0,74	10,66	0,41
Exocoetidae	41	-17,24	0,59	7,88	1,19
Hemiramphidae	69	-18,40	0,75	10,16	0,85
Ommastrephidae	8	-17,70	0,72	8,17	2,19
Scombridae	13	-17,76	0,37	7,91	1,95

As amostras foram agrupadas por famílias, a fim de atingir um melhor ajuste dos modelos de mistura Bayesianos (Parnell & Inger, 2023). Todas representam famílias de peixes, exceto Ommastrephidae, que é uma família de lulas. As famílias apresentaram médias similares de  $\delta^{13}\text{C}$ , indicando que possivelmente estão localizadas em distâncias semelhantes da costa e médias de  $\delta^{15}\text{N}$  mais variáveis indicando que podem representar diferentes níveis tróficos, tamanhos corporais ou classes etárias (Romanuk, 2011).

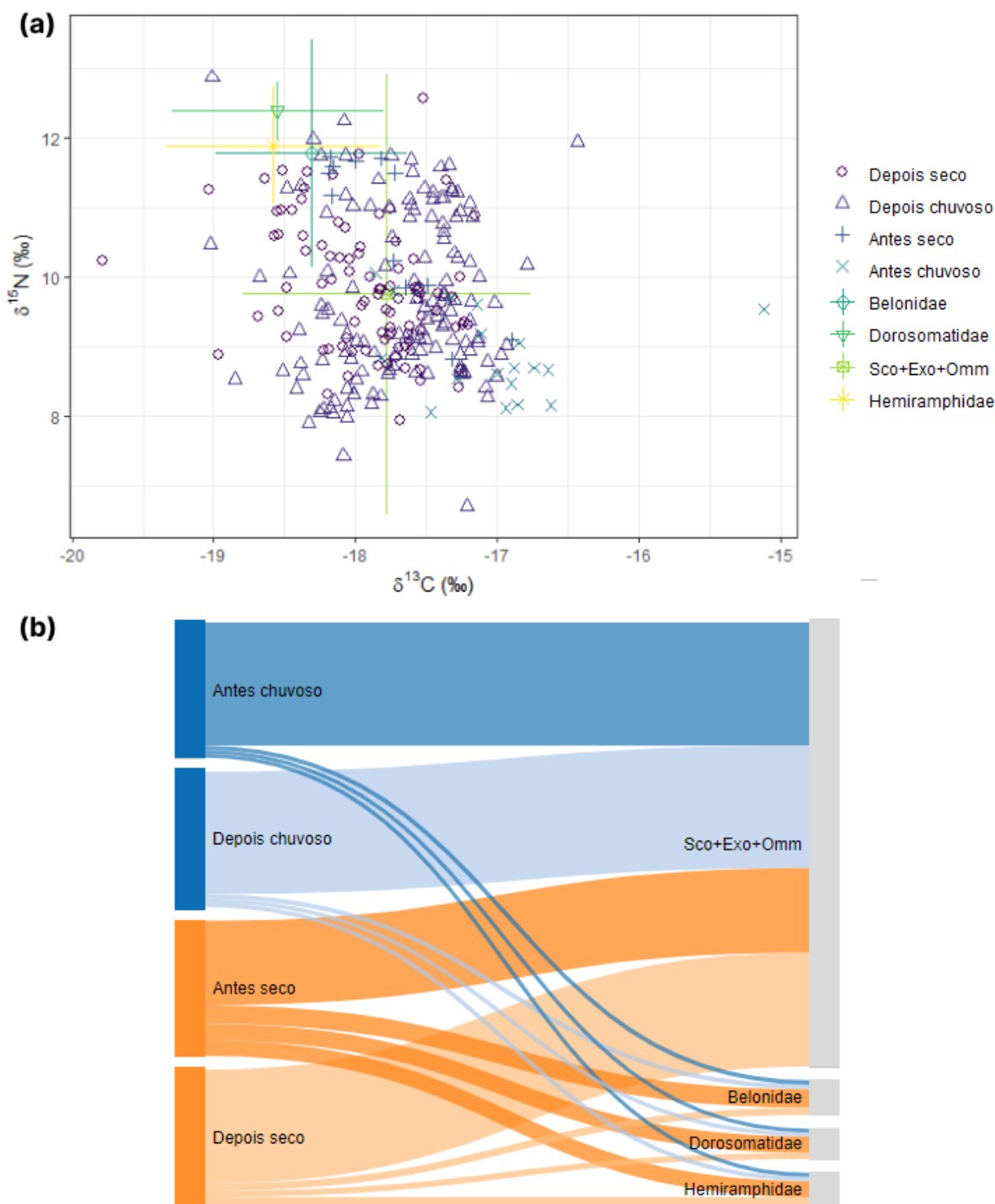
Figura 20: (a) Valores de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de amostras sangue de *Sula leucogaster* coletadas no Arquipélago dos Abrolhos agrupadas em antes (2011) e depois (2018-2024) do rompimento da barragem, considerando períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro) e representação da média e desvio padrão de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  de músculo de potenciais presas utilizadas em modelos de mistura Bayesianos. (b) Diagrama de Sankey baseado em modelos de mistura Bayesianos de isótopos estáveis considerando dados de sangue de *S. leucogaster* amostradas no Arquipélago dos Abrolhos no antes e depois do rompimento da barragem agrupados em período chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro). A largura das faixas representa a proporção da contribuição de cada presa para a dieta de *S. leucogaster*. Sco+Exo+Omm = combinação de famílias Scombridae, Exocoetidae e Ommastrephidae.



As famílias Scombridae, Exocoetidae e Ommastrephidae foram agrupadas em uma única fonte devido à ajustes do modelo, pois apresentam médias e desvio-padrão sobrepostos, como representado em (a) (Parnell & Inger, 2023). Esse agrupamento representou proporções de contribuição acima de 50% para a dieta de *S. leucogaster* em todos os períodos, exceto no período seco após o rompimento, quando as proporções desse agrupamento e da família Dorosomatidae apresentaram proporções similares (~34%). Dessa forma não se observa padrão de variação evidente da dieta entre os períodos antes e depois do rompimento da barragem.



Figura 21: (a) Valores de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de amostras sangue de *Phaethon aethereus* coletadas no Arquipélago dos Abrolhos agrupadas em antes (2011) e depois (2018-2024) do rompimento da barragem, considerando períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro) e representação da média e desvio padrão de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  de músculo de potenciais presas utilizadas em modelos de mistura Bayesianos. (b) Diagrama de Sankey baseado em modelos de mistura Bayesianos de isótopos estáveis considerando dados de sangue de *P. aethereus* amostradas no Arquipélago dos Abrolhos no antes e depois do rompimento da barragem agrupados em período chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro). A largura das faixas representa a proporção da contribuição de cada presa para a dieta de *P. aethereus*. Sco+Exo+Omm = combinação de famílias Scombridae, Exocoetidae e Ommastrephidae.



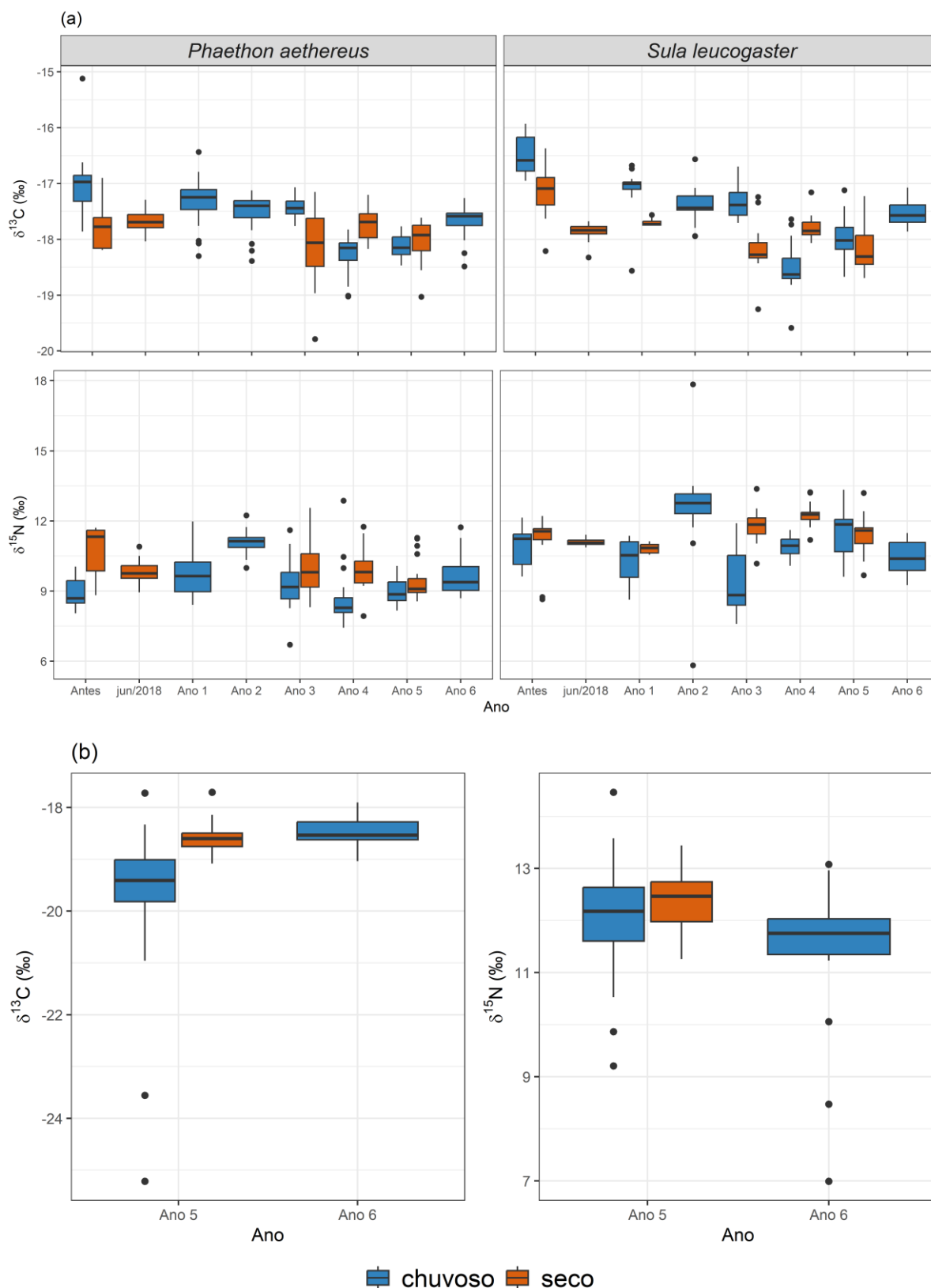
As famílias Scombridae, Exocoetidae e Ommastrephidae foram agrupadas em uma única fonte devido à ajustes do modelo, pois apresentam médias e desvio-padrão sobrepostos, como representado em (a) (Parnell & Inger, 2023). Esse agrupamento representou proporções de contribuição entre 62 e 91% para a dieta de *P. aethereus* entre os períodos, sendo a menor no período seco antes do rompimento e o maior no período chuvoso, também antes do rompimento. Dessa forma observa-se uma prevalência das famílias do agrupamento na dieta de *P. aethereus* e não se observa padrão de variação evidente entre os períodos antes e depois do rompimento da barragem.

Tabela 12: Valores de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de amostras de sangue de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* do Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (junho/2018) e cada ano de monitoramento, e de amostras de sangue de Sternidae (*Sterna hirundo*, *Thalasseus acutiflavus*, *Thalasseus maximus* e *Sternula superciliaris*) da Foz do Rio Doce nos Anos 5 e 6. Valores separados pelos períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro). DP = desvio padrão.

Espécie/Ano	Chuvoso $\delta^{13}\text{C}$ (‰)			Seco $\delta^{13}\text{C}$ (‰)			Chuvoso $\delta^{15}\text{N}$ (‰)			Seco $\delta^{15}\text{N}$ (‰)		
	n	Média	DP	n	Média	DP	n	Média	DP	n	Média	DP
<b><i>Phaethon aethereus</i></b>												
Antes	18	-17,02	0,61	12	-17,78	0,40	18	8,88	0,63	12	10,72	1,08
Jun/2018	-	-	-	19	-17,67	0,21	-	-	-	19	9,80	0,52
Ano 1	31	-17,33	0,40	-	-	-	31	9,78	1,02	-	-	-
Ano 2	26	-17,51	0,32	-	-	-	26	11,13	0,45	-	-	-
Ano 3	20	-17,43	0,18	41	-18,06	0,55	20	9,35	1,11	41	9,91	1,01
Ano 4	20	-18,28	0,35	17	-17,71	0,31	20	8,69	1,21	17	9,95	0,93
Ano 5	20	-18,13	0,21	19	-18,02	0,37	20	8,99	0,55	19	9,44	0,88
Ano 6	19	-17,68	0,30	-	-	-	19	9,71	0,92	-	-	-
<b><i>Sula leucogaster</i></b>												
Antes	16	-16,50	0,34	15	-17,13	0,48	16	10,84	0,81	15	11,16	1,05
Jun/2018	-	-	-	16	-17,86	0,15	-	-	-	16	11,10	0,15
Ano 1	13	-17,11	0,46	8	-17,70	0,07	13	10,36	0,85	8	10,83	0,22
Ano 2	21	-17,39	0,30	-	-	-	21	12,60	2,01	-	-	-
Ano 3	20	-17,34	0,28	20	-18,20	0,41	20	9,43	1,34	20	11,76	0,76
Ano 4	20	-18,5	0,44	18	-17,79	0,21	20	10,9	0,44	18	12,26	0,49
Ano 5	17	-17,96	0,37	19	-18,20	0,37	17	11,54	0,95	19	11,39	0,79
Ano 6	10	-16,50	0,34	-	-	-	10	10,44	0,76	-	-	-
<b><i>Sterna hirundo</i></b>												
Ano 5	29	-19,60	0,53	-	-	-	29	11,95	1,0	-	-	-
Ano 6	20	-18,53	0,29	-	-	-	20	11,43	1,44	-	-	-
<b><i>Thalasseus acutiflavus</i></b>												
Ano 5	8	-18,49	0,37	19	-18,6	0,32	8	12,54	0,4	19	12,3	0,48
Ano 6	2	-18,03	0,12	-	-	-	2	11,66	0,51	-	-	-
<b><i>Thalasseus maximus</i></b>												
Ano 5	-	-	-	2	-18,36	0,02	-	-	-	2	13,44	0,0
<b><i>Sternula superciliaris</i></b>												
Ano 5	3	-23,22	2,19	-	-	-	3	12,30	2,0	-	-	-

Descrições dos padrões apresentados nessa tabela são mencionados na legenda da Figura 22.

Figura 22: Variação de valores de isótopos estáveis de  $\delta^{15}\text{N}$  e  $\delta^{13}\text{C}$  provenientes de amostras de sangue de (a) *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* no Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (junho/2018) e cada ano de monitoramento, e (b) *Sternidae* (*Sterna hirundo*, *Thalasseus acutiflavus*, *Thalasseus maximus*, *Sternula superciliosa*) da Foz do Rio Doce nos Ano 5 e 6. Valores separados pelos períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro).



Observa-se um padrão semelhante de diminuição dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  no período chuvoso para *S. leucogaster* e *P. aethereus* de antes do rompimento até o Ano 4, e uma tendência de aumento nos Anos 5 e 6, sendo mais acentuado em *S. leucogaster* do que em *P. aethereus*. Além disso, os valores  $\delta^{13}\text{C}$  tendem a ser menores no período seco do que no período chuvoso em todos os anos, exceto para o Ano 4 em ambas as espécies. Os valores de  $\delta^{15}\text{N}$  não aparentam seguir um padrão de variação, embora exista a tendência de apresentarem valores mais altos durante o período seco para ambas as espécies. Entre os Sternidae da Foz do Rio Doce, valores de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  foram maiores no período seco em relação ao chuvoso no Ano 5. As variações de  $\delta^{13}\text{C}$  podem estar associadas a variações de áreas de forrageio em relação à distância da costa, considerando que valores menores de carbono estão associados a regiões mais pelágicas (Cherel & Hobson, 2007; Mancini & Bugoni, 2014). Outra possibilidade são variações sazonais e interanuais em condições ambientais que influenciam na produtividade primária e, portando em linhas de base isotópicas (*baselines*) (Magozzi et al., 2017; McMahon et al., 2013). Os diferentes valores de  $\delta^{15}\text{N}$  podem estar associados a variações nas espécies, tamanho, classes etárias ou níveis tróficos de presas consumidas entre os períodos (Hobson & Clark, 1992; Cherel & Hobson, 2007; Romanuk et al., 2011), mas não demonstram padrão evidente de aumento ou diminuição de valores entre o período antes e depois do rompimento.

Tabela 13: Valores de  $p$  do teste de hipóteses (Kruskall-Wallis) e dos testes pareados *post-hoc* (Teste U de Mann-Whitney) para valores de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  (esquerda) e  $\delta^{15}\text{N}$  (direita) provenientes de amostras de sangue de *Sula leucogaster* e *Phaethon aethereus* no Arquipélago dos Abrolhos antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (junho/2018) e cada ano de monitoramento, separados por períodos chuvoso (C) (outubro a março) e seco (S) (abril a setembro). Valores de  $p < 0,01$  são considerados significativos. AN= antes do rompimento; J18= junho/2018; A1= Ano 1; A2= Ano 2; A3= Ano 3; A4= Ano 4; A5 = Ano 5; A6= Ano 6.

<b><i>Sula leucogaster</i> (Kruskall-Wallis: <math>\delta^{13}\text{C}</math> <math>p &lt; 0,01</math>; <math>\delta^{15}\text{N}</math> <math>p &lt; 0,01</math>)</b>												
<b>AN/C</b>	0,14	0,81	0,13	0,68	<0,01	<0,01	<0,01	0,86	<0,01	0,03	0,10	0,27
<0,01	<b>AN/S</b>	0,02	=0,01	=0,01	<0,01	<0,01	0,06	0,02	<0,01	0,19	0,83	0,03
<0,01	<0,01	<b>J18/S</b>	0,03	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	0,18	<0,01	0,09	0,07	0,07
<0,01	0,57	<0,01	<b>A1/C</b>	0,03	<0,01	0,07	<0,01	0,10	<0,01	<0,01	<0,01	0,84
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A1/S</b>	<0,01	0,04	<0,01	0,61	<0,01	0,08	0,03	0,03
<0,01	0,04	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A2/C</b>	<0,01	<0,01	<0,01	0,04	<0,01	<0,01	<0,01
<0,01	0,08	<0,01	<0,01	<0,01	0,69	<b>A3/C</b>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A3/S</b>	<0,01	0,02	0,64	0,08	<0,01
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A4/C</b>	<0,01	0,02	=0,01	0,13
<0,01	<0,01	0,80	<0,01	0,40	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A4/S</b>	0,02	<0,01	<0,01
<0,01	<0,01	0,12	<0,01	0,03	<0,01	<0,01	=0,01	<0,01	0,04	<b>A5/C</b>	0,38	<0,01
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,60	<0,01	<0,01	0,04	<b>A5/S</b>	=0,01
<0,01	0,02	<0,01	<0,01	0,16	0,21	0,10	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<b>A6/C</b>
<b><i>Phaethon aethereus</i> (Kruskall-Wallis: <math>\delta^{13}\text{C}</math> <math>p &lt; 0,01</math>; <math>\delta^{15}\text{N}</math> <math>p &lt; 0,01</math>)</b>												
<b>AN/C</b>	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	0,15	<0,01	0,08	<0,01	0,58	0,06	<0,01
<0,01	<b>AN/S</b>	0,03	0,03	-	0,92	<0,01	0,04	<0,01	0,10	<0,01	<0,01	0,03
<0,01	0,25	<b>J18/S</b>	0,5	-	<0,01	0,08	0,92	<0,01	0,71	<0,01	0,04	0,34
0,03	<0,01	<0,01	<b>A1/C</b>	-	<0,01	0,26	0,55	<0,01	0,38	<0,01	0,29	0,92
-	-	-	-	<b>A1/S</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<0,01	0,03	0,02	0,02	-	<b>A2/C</b>	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<0,01	<0,01	<0,01	0,08	-	0,70	<b>A3/C</b>	0,09	<0,01	0,06	0,25	0,90	0,32
<0,01	0,13	=0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	<b>A3/S</b>	<0,01	0,74	<0,01	0,90	0,47
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	0,15	<b>A4/C</b>	<0,01	=0,01	<0,01	<0,01
<0,01	0,41	0,80	<0,01	-	0,04	<0,01	0,02	<0,01	<b>A4/S</b>	<0,01	0,02	0,24
<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	0,70	0,28	<0,01	<b>A5/C</b>	0,15	=0,01
<0,01	0,19	<0,01	<0,01	-	<0,01	<0,01	0,76	0,03	=0,01	0,09	<b>A5/S</b>	0,32
<0,01	0,27	0,6	<0,01	-	0,04	<0,01	=0,01	<0,01	0,75	<0,01	<0,01	<b>A6/C</b>

Para *S. leucogaster* as diferenças dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram significativas entre antes do rompimento da barragem e os anos de monitoramento, considerando os períodos chuvoso e seco (qui-quadrado = 153,34,  $p < 0,01$ ), assim como para valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (qui-quadrado = 110,59,  $p < 0,01$ ). Os resultados dos testes pareados demonstraram diferenças significativas entre a maioria dos períodos para  $\delta^{13}\text{C}$ , sendo o período chuvoso pré-rompimento o único que apresentou diferenças significativas com todos os demais períodos. Para  $\delta^{15}\text{N}$ , houve menos diferenças significativas entre os períodos em comparação ao carbono, sendo os períodos chuvosos dos Anos 2, 3 e os secos dos Anos 3 e 4 os que apresentaram um maior número de diferenças significativas em relação aos demais anos e períodos. Para *P.*



*aethereus* as diferenças dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  foram significativas entre antes do rompimento da barragem e os anos de monitoramento, considerando os períodos chuvoso e seco (qui-quadrado = 127,86,  $p < 0,01$ ) assim como para valores de  $\delta^{15}\text{N}$  (qui-quadrado = 98,97,  $p < 0,01$ ). Os testes pareados foram significativos entre a maioria dos anos e períodos para  $\delta^{13}\text{C}$ , e nenhum dos períodos diferiu significativamente de todos os demais. Para  $\delta^{15}\text{N}$  foram encontrados menos valores significativos entre os períodos e anos em relação ao carbono. As diferenças significativas de  $\delta^{13}\text{C}$  podem estar relacionadas à variação da distância de áreas de forrageio em relação à costa (Cherel & Hobson, 2007; Mancini et al., 2014) ou a variações na produtividade primária, que influenciam nos valores de linhas de base (*baselines*) da cadeia trófica (McMahon et al., 2013; Magozzi et al., 2017). As variações significativas de  $\delta^{15}\text{N}$  estão relacionadas ao consumo de presas de diferentes níveis tróficos, espécies, tamanhos e classes etárias entre os períodos analisados (Romanuk et al., 2011; Nunes et al., 2018; Carreiro et al., 2022). Entretanto, como observado na Figura 22, não há um padrão evidente de aumento ou diminuição de valores entre o período anterior e os anos de monitoramento após o rompimento para  $\delta^{15}\text{N}$ .

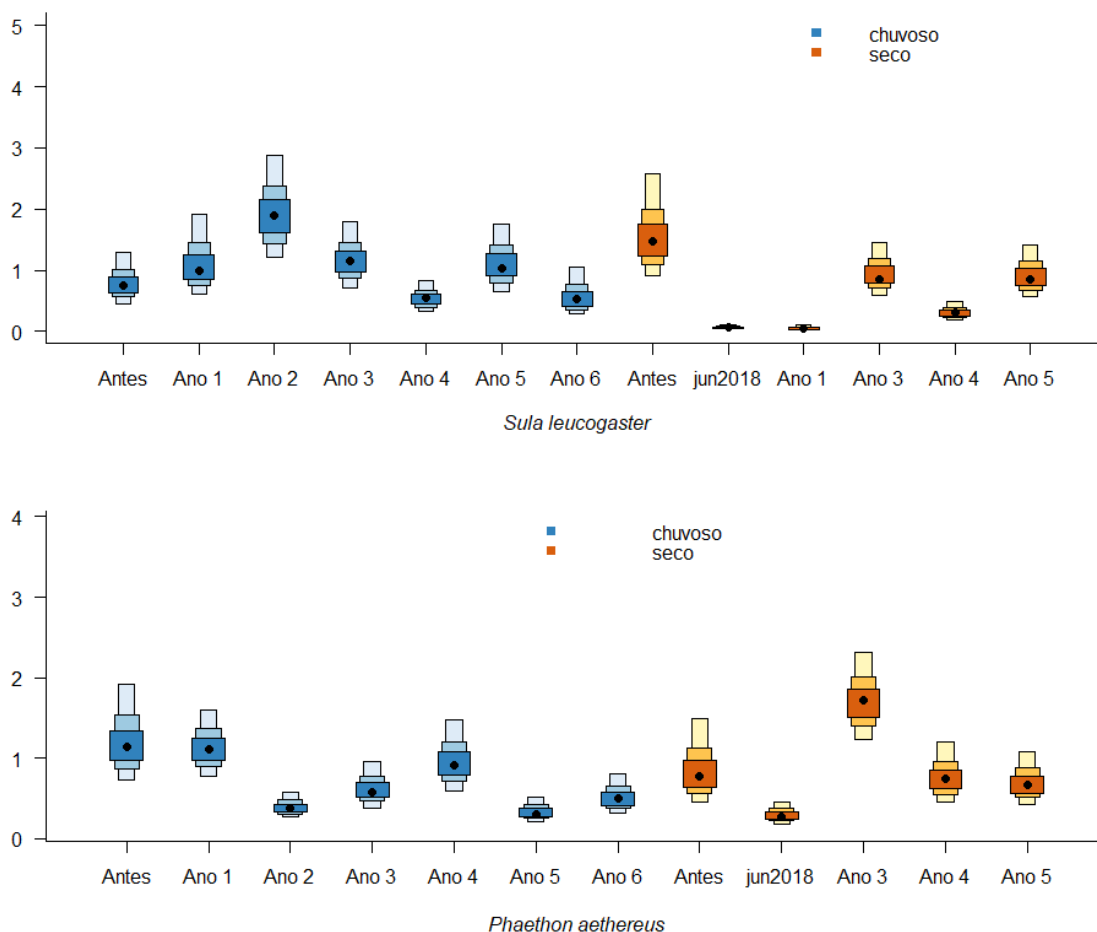
Tabela 14: Valores de  $p$  do teste de hipóteses (Kruskall-Wallis) e dos testes pareados *post-hoc* (Teste U de Mann-Whitney) para valores de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  (abaixo da diagonal) e  $\delta^{15}\text{N}$  (acima da diagonal) provenientes de amostras de sangue de Sternidae (*Sterna hirundo*, *Thalasseus acutiflavus*, *Thalasseus maximus* e *Sternula superciliaris*) da Foz do Rio Doce após o rompimento da barragem, considerando períodos chuvoso (C) (outubro a março) e seco (S) (abril a setembro).

Valores de  $p < 0,01$  são considerados significativos. A5= Ano 5; A6=Ano 6.

Sternidae (Kruskall-Wallis: $\delta^{13}\text{C}$ $p < 0,01$ ; $\delta^{15}\text{N}$ $p = 0,01$ )		
A5/C	0,17	0,07
<0,01	A5/S	<0,01
<0,01	0,26	A6/C

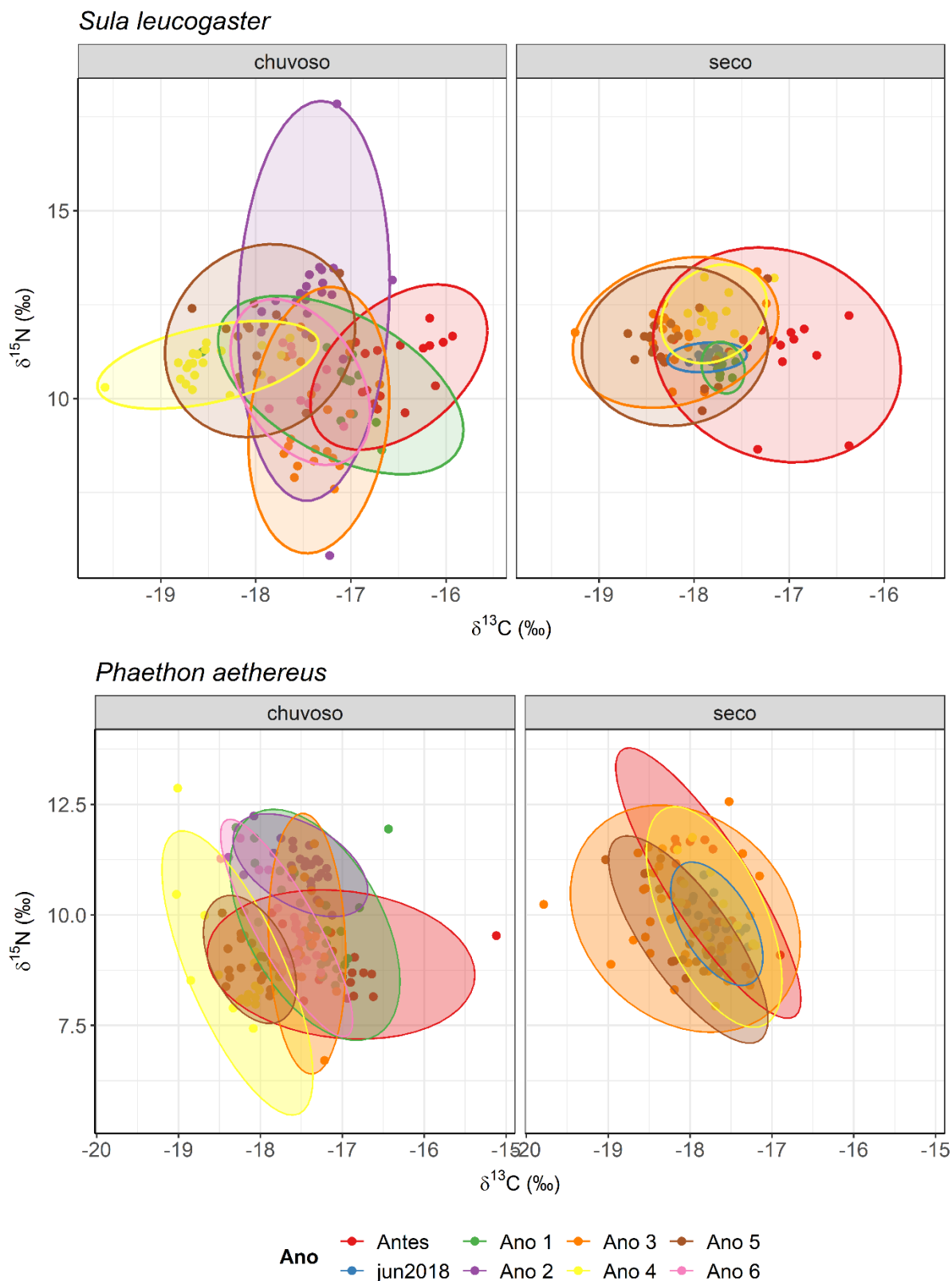
Foram identificadas diferenças significativas dos valores de  $\delta^{13}\text{C}$  (qui-quadrado = 36,37,  $p < 0,01$ ) e  $\delta^{15}\text{N}$  (qui-quadrado = 9,0,  $p = 0,01$ ) entre os períodos analisados. Os resultados dos testes pareados indicam diferenças significativas de  $\delta^{13}\text{C}$  entre o período chuvoso do Ano 5 e os períodos seco do Ano 5 e chuvoso de Ano 6 e de  $\delta^{15}\text{N}$  somente entre o período seco do Ano 5 e chuvoso do Ano 6. As diferenças significativas de  $\delta^{13}\text{C}$  podem estar relacionadas à variação da distância de áreas de forrageio em relação à costa (Cherel & Hobson, 2007; Mancini et al., 2014) ou a variações na produtividade primária, que influenciam nos valores de linhas de base (*baselines*) da cadeia trófica (McMahon et al., 2013; Magozzi et al., 2017). As variações significativas de  $\delta^{15}\text{N}$  estão relacionadas ao consumo de presas de diferentes níveis tróficos, espécies, tamanhos e classes etárias entre os períodos analisados (Romanuk et al., 2011; Nunes et al., 2018), mas em geral a dieta apresenta poucas variações entre os períodos.

Figura 23: Áreas das elipses Bayesianas estimadas a partir de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do sangue de *Sula leucogaster* e *Phaethon aethereus* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos entre os períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro), antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (jun2018) e cada ano de monitoramento. As cores, da mais clara para a mais escura representam 50, 75 e 95% dos dados e são representadas em  $\text{‰}^2$ .



No período chuvoso, *S. leucogaster* apresenta um gradual aumento de área de nicho isotópico até o Ano 2, e após uma gradual diminuição até o Ano 4 e um sutil aumento no Ano 5, padrão oposto do observado em *P. aethereus*. No período seco, *S. leucogaster* apresenta uma diminuição evidente em jun2018 e no Ano 1, seguido de um alternado aumento e diminuição nos anos subsequentes. A área de nicho isotópico de *P. aethereus* também foi menor no período seco em jun/2018 (Pré-PMBA), e maior no Ano 3, seguida de uma diminuição na área no Ano 4 e 5. Demais interpretações acerca de nichos isotópicos estão apresentadas na Figura 24.

Figura 24: Elipses Bayesianas estimadas a partir de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e nitrogênio  $\delta^{15}\text{N}$  medidos no sangue de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos. As análises consideraram períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro), antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (junho/2018) e cada ano de monitoramento. As elipses contemplam 95% dos dados.



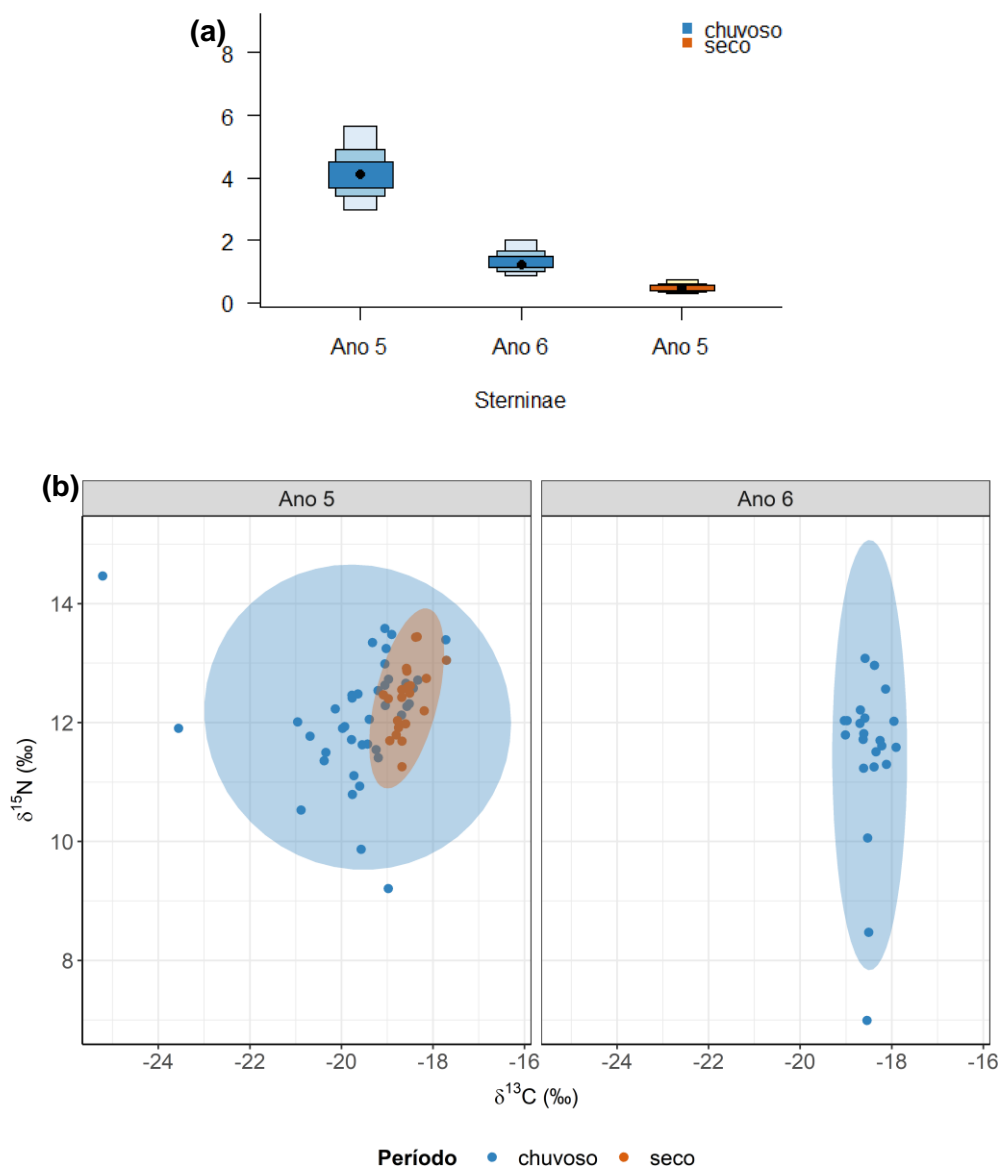
Para *S. leucogaster* há sobreposição entre o período chuvoso antes do rompimento e todos os demais no mesmo período, com exceção do Ano 4, enquanto no período seco, há sobreposição entre todos os anos. Para *P. aterres* há sobreposição entre todos os anos no período chuvoso, com exceção dos Anos 2 e 5 e entre todos os anos no período seco. Em relação à área de nicho isotópico, áreas maiores estão relacionadas ao consumo de presas de diferentes espécies, níveis tróficos, tamanho corporal ou classes etárias, da mesma forma que nichos isotópicos menores estão relacionadas à uma dieta mais especialista ou restrita (Mancini & Bugiai, 2014; Nunes et al., 2018; Carreiro et al., 2022). Nos resultados encontrados, há variações interanuais nas áreas de nicho, sugerindo variações em zonas de forrageio em relação à distância da costa (Cheire & Róbson, 2007; Mancini et al., 2014) ou em variações interanuais em linhas de base isotópicas (*baselines*) (McMahon et al., 2013; Magussi et al., 2017). Ainda, podem estar relacionadas ao consumo de presas de diferentes níveis tróficos, espécies, tamanhos e classes etárias entre os períodos analisados (Romanos et al., 2011; Nunes et al., 2018). Entretanto, essas diferenças na área de nicho não são suficientes para evitar a sobreposição, indicando que, em sua maioria, não há variação na dieta ou em áreas de forrageio nos períodos chuvosos e secos entre antes e os anos subsequentes ao rompimento da barragem.

Tabela 15: Área de sobreposição de elipses *Sula leucogaster* (abaixo da diagonal) e *Phaethon aethereus* (acima da diagonal) antes (2011) e depois do rompimento da barragem, considerando uma amostragem anterior ao PMBA (junho/2018) e cada ano de monitoramento, separados entre os períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro).

<b>AN/C</b>	1,94	1,38	4,47	-	0,32	2,50	4,32	1,59	2,76	1,65	2,59	1,91
4,19	<b>AN/S</b>	1,57	3,47	-	1,46	2,10	3,89	0,06	3,36	0,10	1,08	2,17
0,00	0,45	<b>J18/S</b>	1,85	-	0,38	1,33	1,85	0,22	1,85	0,34	1,13	1,71
2,97	6,34	0,45	<b>A1/C</b>	-	2,36	3,28	5,26	0,58	4,11	0,66	2,01	2,75
0,0	0,36	0,18	0,36	<b>A1/S</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
1,61	6,61	0,40	4,45	0,36	<b>A2/C</b>	1,23	2,07	0,0	1,40	0,0	0,04	0,60
1,82	4,50	0,23	4,16	0,36	5,0	<b>A3/C</b>	3,34	0,52	2,74	0,37	1,56	1,77
0,0	3,03	0,45	1,99	0,32	2,74	1,15	<b>A3/S</b>	4,2	4,64	2,10	3,98	2,77
0,0	1,28	0,45	1,16	0,24	0,97	0,51	2,72	<b>A4/C</b>	0,89	1,95	2,48	0,27
0,0	1,97	0,20	1,13	0,07	1,78	0,51	2,00	0,66	<b>A4/S</b>	0,87	2,34	2,78
0,22	4,37	0,45	2,97	0,36	4,26	2,32	5,10	2,34	1,99	<b>A5/C</b>	1,71	0,37
0,0	2,95	0,45	2,23	0,36	2,59	1,35	5,08	2,69	1,67	5,15	<b>A5/S</b>	1,65
0,88	3,62	0,43	3,44	0,36	3,67	3,03	1,58	1,02	0,85	2,50	1,95	<b>A6/C</b>

Valores de 0 indicam segregação total de nicho isotópico. Demais interpretações dos resultados dessa tabela estão presentes na legenda da Figura 24.

Figura 25: (a) Áreas das elipses Bayesianas estimadas a partir de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  do sangue de Sternidae (*Sterna hirundo*, *Thalasseus acutiflavus*, *Thalasseus maximus* e *Sternula superciliaris*) amostrados na Foz do Rio Doce nos períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro) dos Anos 5 e 6. As cores, da mais clara para a mais escura, representam 50, 75 e 95% dos dados e são representadas em  $\text{‰}^2$ . (b) Elipses Bayesianas estimadas a partir de isótopos estáveis de  $\delta^{13}\text{C}$  e nitrogênio  $\delta^{15}\text{N}$  medidos no sangue de (*S. hirundo*, *T. acutiflavus*, *T. maximus* e *S. superciliaris*) amostrados na Foz do Rio Doce nos períodos chuvoso (outubro a março) e seco (abril a setembro) dos Anos 5 e 6. As elipses contemplam 95% dos dados.



A sobreposição entre as elipses do período chuvoso e seco do Ano 5 é a área total de nicho isotópico do período seco (3,02). Adicionalmente, a sobreposição entre períodos chuvosos do Ano 5 e 6 foi 6,47 e entre o período seco do Ano 5 e o chuvoso do Ano 6 foi de 2,93. No período chuvoso há uma maior área de nicho em relação ao período seco indicando um consumo mais variado de espécies, níveis tróficos, tamanhos corporais e/ou classes etárias de presas (Romanuk et al., 2011; Nunes et al., 2018), enquanto que um nicho mais restrito no período seco pode indicar uma dieta mais especialista ou restrita (Cherel et al., 2007; Mancini & Bugoni, 2014).



Tabela 16: Presas presentes em material regurgitado (n = 40 regurgitos) de *Phaethon aethereus* no período pós-rompimento da barragem (junho/2018, fevereiro/2019, outubro/2019, agosto/2021, março/2022, setembro/2022 e março/2023). Análises foram feitas por família e por espécie. Portanto, a soma da importância das famílias é de 100%, e o mesmo vale para a soma da importância das espécies. FO= frequência de ocorrência numérica; %FO = frequência de ocorrência; N= número de presas; %PN = abundância presa-específica; %PM = massa presa-específica; %PSIRI = índice de importância relativa presa-específica.

Presa	FO	%FO	N	%PN	%PM	%PSIRI
APOGONIDAE	1	2,5	1	1,32	13,61	0,79
<i>Apogon pseudomaculatus</i>	1	2,5	1	1,32	15,33	0,8
BELONIDAE	1	2,5	1	1,32	100	2,50
<i>Ablennes hians</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
CARANGIDAE	2	5	2	2,63	100	5,00
<i>Decapterus tabl</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
<i>Decapterus sp.</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
CEPHALOPODA	5	12,5	11	14,47	50,19	7,77
Lula	5	12,5	11	14,47	50,91	7,8
DOROSOMATIDAE	8	20	15	19,74	87,61	17,01
<i>Sardinella brasiliensis</i>	8	20	15	19,74	87,83	17
EXOCEOETIDAE	7	17,5	7	9,21	93,09	15,18
<i>Cheilopogon melanurus</i>	4	10	4	5,26	86,67	7,6
<i>Hirundichtys sp.</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
<i>Hirundichtys affinis</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
<i>Exocoetus volitans</i>	1	2,5	1	1,32	100	2,5
HEMIRAMPHIDAE	20	50	37	48,68	94,14	46,75
<i>Euleptorhamphus velox</i>	1	2,5	2	2,63	100	2,5
<i>Hemiramphus balao</i>	16	40	32	42,11	92,55	36,7
<i>Hemiramphus brasiliensis</i>	4	10	3	3,95	100	10
SCOMBRIDAE	2	5	2	2,63	100	5
<i>Euthynnus alletteratus</i>	2	5	2	2,63	100	5

De acordo com Nascimento & Azevedo-Júnior (2005), dados de material regurgitado obtidos antes do rompimento, foram identificadas 35 itens, 11 espécies e 9 famílias, representadas por peixes e lulas. Em nível de espécie, a porcentagem numérica indica *Stellifer brasiliensis* (%N = 46,67), *Loligo sp.* (%N = 13,33) e *Cheilopogon cyanopterus* (%N = 10,00) como as três presas mais consumidas. As principais famílias foram Sciaenidae (%N = 48,57), Loliginidae (%N = 11,43) e Exocoetidae (%N = 8,57). De acordo com a frequência de ocorrência, os itens mais encontrados foram *S. brasiliensis* (%FO = 41,67), *C. cyanopterus* (%FO = 25,00) e *Loligo sp.* (%FO = 16,67). As principais famílias presentes nos regurgitos foram Sciaenidae (%FO = 53,33), Carangidae (%FO = 20,00), Exocoetidae (%FO = 20,00), e Scombridae (%FO = 20,00). Os dados não permitiram o cálculo de um índice de importância das presas. Para o período pós-rompimento, foram contabilizados 76 itens de presas em 40 regurgitos. No período pós-rompimento, *P. aethereus* consumiu presas de, no mínimo, 12 espécies distintas e 8

famílias/táxon, enquanto, no período pré-rompimento, foram consumidas presas de, no mínimo, 12 espécies e 9 famílias. No período pós-rompimento não foram observadas presas das famílias Haemulidae, Sciaenidae e Pristigasteridae, mas foram encontradas presas das famílias Dorosomatidae e Apogonidae, que não foram observadas no período pré-rompimento. Atualmente, a dieta de *P. aethereus* no arquipélago dos Abrolhos é composta, principalmente, por Hemiramphidae, Dorosomatidae e Exocoetidae. Portanto, houve uma variação nas principais presas entre os períodos, pois as principais famílias no período pré-rompimento eram, principalmente, Sciaenidae, Exocoetidae e Carangidae. As variações nas dietas podem estar associadas a uma necessidade de diversificação das presas consumidas, a partir de uma potencial diminuição na disponibilidade das presas preferenciais no entorno do arquipélago.

Tabela 17: Presas presentes em material regurgitado (n = 30 regurgitos) de *Sula leucogaster* no período pós-rompimento da barragem (agosto/2021, março/2022, setembro/2022 e março/2023). FO= frequência de ocorrência numérica; %FO = frequência de ocorrência; N= número de presas; %PN = abundância presa-específica; %PM = massa presa-específica; %PSIRI = índice de importância relativa presa-específica.

Presa	FO	%FO	N	%PN	%PM	%PSIRI
BELONIDAE	6	20	18	13,85	74,93	14,68
<i>Ablennes hians</i>	4	16	13	11,11	52,89	9,23
CARANGIDAE	1	3,33	1	0,77	100	3,33
CLUPEIDAE	2	6,67	6	4,62	100	6,67
HEMIRAMPHIDAE	22	73,33	95	73,08	89,58	65,99
<i>Hemiramphus balao</i>	7	28	25	21,37	70,88	19,5
<i>Hemiramphus brasiliensis</i>	13	52	45	38,46	78,27	40,4
<i>Hemiramphus</i> sp.	5	20	10	8,55	61,31	12,4
<i>Hyporhamphus</i> sp.	4	16	14	11,97	46,67	7,8
DOROSOMATIDAE	3	10	10	7,69	92,23	9,28
<i>Opisthonema oglinum</i>	3	12	10	8,55	93,82	11,2

De acordo com Alves et al. (2004), em dados de material regurgitado obtidos antes do rompimento foram contabilizados 78 itens presas pertencentes a 5 famílias em 17 amostras de regurgitos coletados entre 1990 e 1996. A porcentagem numérica revela que *Hemiramphus brasiliensis*, *Parexocoetus brachypterus* como principais presas consumidas. As famílias mais representativas foram Exocoetidae e Belonidae. Vale ressaltar que houve alterações taxonômicas: *Hemiramphus brasiliensis* pertence atualmente à família Hemiramphidae, e não mais é classificada como Exocoetidae, enquanto *Opisthonema oglinum* atualmente pertence à família Dorosomatidae. Portanto, foram contabilizadas 6 famílias. Quanto à frequência de ocorrência, as presas mais encontradas foram *H. brasiliensis*, *O. oglinum* e *P. brachypterus*. Os valores da frequência de ocorrência de cada família não foram apresentados no estudo. No período pós-rompimento, *S. leucogaster* consumiu presas de, no mínimo, 7 espécies distintas e 5 famílias/táxon, enquanto que, no período pré-rompimento, foram consumidas presas de, no mínimo, 6 espécies e 6 famílias. No período pós-rompimento não foram observadas presas da família Scombridae, mas foram encontradas presas da família Dorosomatidae, que não foram observadas no período pré-rompimento. Atualmente, a dieta de *S. leucogaster* no arquipélago dos Abrolhos é composta, principalmente, por Hemiramphidae, Exocoetidae e Dorosomatidae. Hemiramphidae se manteve como principal família que compõe a dieta de *S. leucogaster*, embora as demais famílias com maior contribuição no período pré-rompimento eram Exocoetidae e Belonidae. As variações nas dietas podem estar associadas a uma necessidade de diversificação das presas consumidas, a partir de uma potencial diminuição na disponibilidade das presas preferenciais no entorno do arquipélago.

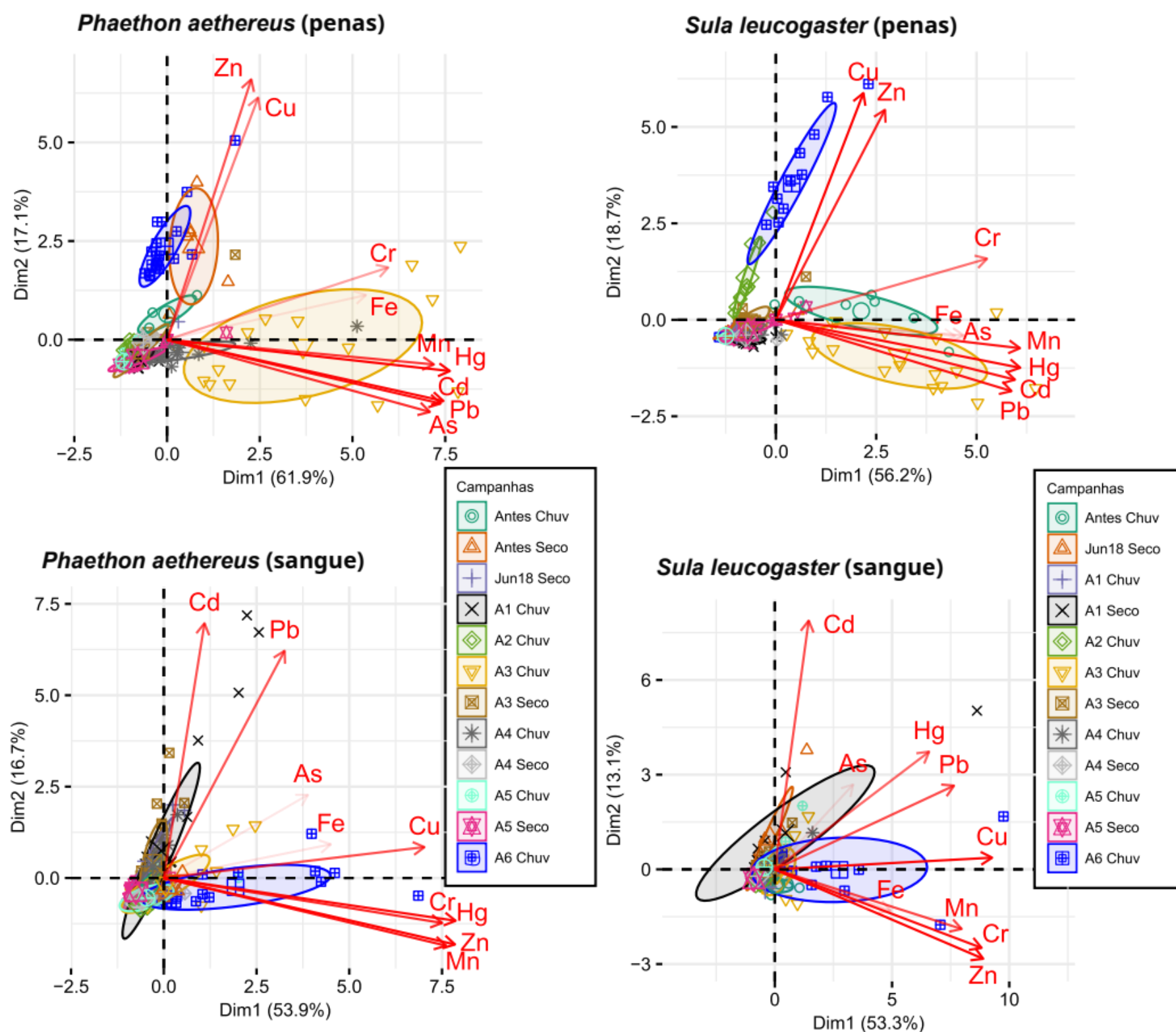
Tabela 18: Presas identificadas em material regurgitado de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* nos períodos secos e chuvosos no arquipélago dos Abrolhos. %PSIRI= Índice de importância relativa presa-específica. Os períodos amostrados estão descritos na Tabela 16 e Tabela 17.

Presa	<i>Phaethon aethereus</i> (%PSIRI)		<i>Sula leucogaster</i> (%PSIRI)	
	Chuvoso	Seco	Chuvoso	Seco
APOGONIDAE	-	1,62	-	-
BELONIDAE	-	5	12,50	15,58
CARANGIDAE	10	-	-	4,55
CEPHALOPODA	-	14,54	-	-
CLUPEIDAE	-	-	-	9,09
DOROSOMATIDAE	-	18,58	9,81	9,09
EXOCEOETIDAE	20	15,26	-	-
HEMIRAMPHIDAE	50	45	77,69	61,69
SCOMBRIDAE	20	-	-	-

Foram observadas maior número de famílias no período seco para ambas as espécies. Para *P. aethereus* foram observadas duas famílias para ambos os períodos, Hemiramphidae e Exocoetidae. No período chuvoso, as famílias com maior importância foram Hemiramphidae, Exocoetidae e Scombridae. Para o período seco, as famílias com maior importância foram Hemiramphidae, Dorosomatidae e Exocoetidae. Para *S. leucogaster* foram observadas três famílias para ambos os períodos: Hemiramphidae, Belonidae e Dorosomatidae. Essas famílias apresentaram as maiores importâncias nos dois períodos, porém Clupeidae apresentou a mesma importância que Dorosomatidae no período seco.

### 3.2 CONCENTRAÇÕES DE METAIS E ARSÊNIO NAS AVES MARINHAS E PRESAS QUE UTILIZAM A FOZ DO RIO DOCE E ADJACÊNCIAS PARA ALIMENTAÇÃO

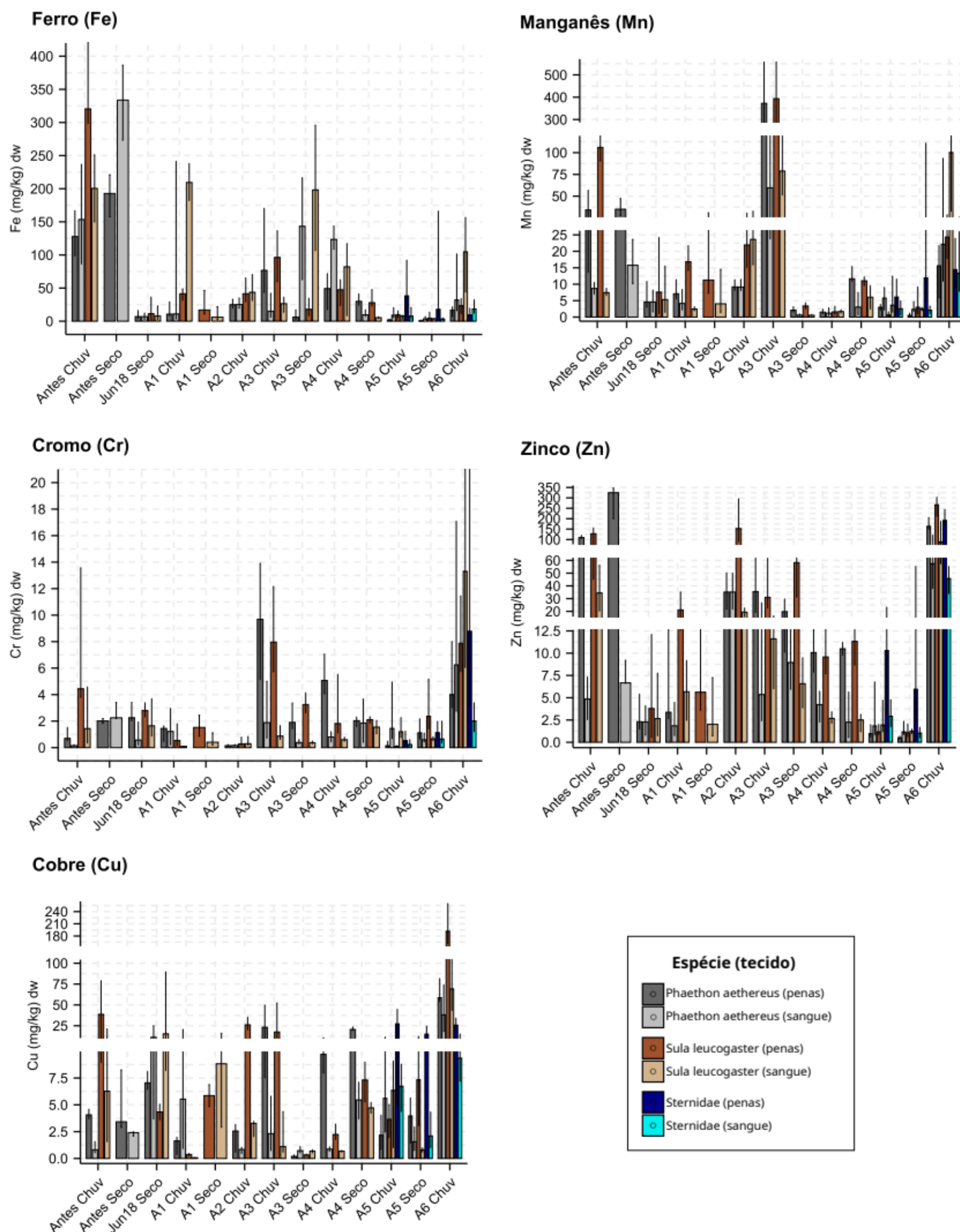
Figura 26: Análise de componentes principais (PCA) das concentrações de metais e Arsênio nas penas e sangue de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* que reproduzem no Arquipélago dos Abrolhos. Elipses compreendem 50% dos dados em cada campanha de amostragem, antes (chuvoso - Fev/2011, seco - Ago/2011) e após o rompimento da barragem do Fundão no período pré-PMBA (seco - Jun/2018), e no Ano 1 (chuvoso - Fev/2019 e seco - Set/2019; esse último apenas para *Sula leucogaster*), Ano 2 (chuvoso - Fev/2020), Ano 3 (chuvoso - Fev/2021 e seco - Ago/2021), Ano 4 (chuvoso - Mar/2022 e seco - Set/2022) e Ano 5 (chuvoso - Mar/2023 e seco - Out/2023) e Ano 6 (chuvoso - Jan/2024).



A Análise de Componentes Principais revelou relações entre os elementos-traço e as campanhas onde os valores foram mais elevados para alguns elementos. As penas refletem os metais acumulados pelo organismo durante o período de síntese, que pode ter ocorrido meses antes da amostragem (Bearhop et al., 2000). Nas penas, elementos não-essenciais e tóxicos (As, Hg, Cd, Pb) apresentaram variação semelhante entre si e com Mn, com concentrações mais elevadas sendo associadas com altos valores na Dim1 do gráfico. Mn é o segundo elemento mais abundante na barragem do Fundão, sugerindo que este traçador dos rejeitos é relacionado com metais e um metaloide tóxicos. Ferro, o elemento mais abundante nos rejeitos, variou de forma mais independente, com pouca influência nos agrupamentos, sugerindo a regulação sistêmica de Fe pelo organismo. Em particular, para penas, a campanha do Ano 3 chuvoso (Fev/2021) se distinguiu por apresentar os maiores valores de As, Hg, Cd, Cr e Mn, e a campanha do período chuvoso anterior ao rompimento (Fev/2011) se destacou por apresentar valores mais elevados de elementos essenciais, assim como no Ano 6 chuvoso (Jan/2024). Diferente da pena, o sangue reflete a concentração de metais e As na corrente sanguínea no momento da coleta e, portanto, está relacionado às condições do animal nos dias antecedentes à coleta. Para *P. aethereus* (sangue), destaca-se a campanha do Ano 1 chuvoso (Fev/2019), Ano 3 chuvoso e seco (Fev/2021, Ago/2021) e Ano 4 chuvoso (Mar/22) com valores elevados na Dim2, associada com valores elevados de Cd e Pb, especialmente. Para *S. leucogaster* (sangue), destaca-se a campanha de Jun/2018 e Ano 1 seco (Jun/2019), com valores elevados na Dim2, associada a valores elevados de Cd, As e Hg. Além disso, nas amostras de sangue de ambas as espécies, destaca-se especialmente o período chuvoso do Ano 6 (Jan/2024) com os maiores valores na Dim1, associado com valores elevados de diversos elementos, incluindo Hg, As, Mn, Fe, Cu, Cr e Zn. Isso sugere um evento de incorporação aguda desses elementos em Jan/2024, quase 10 anos pós rompimento da Barragem, destacando a necessidade de monitoramento a longo prazo dos contaminantes nas aves marinhas.

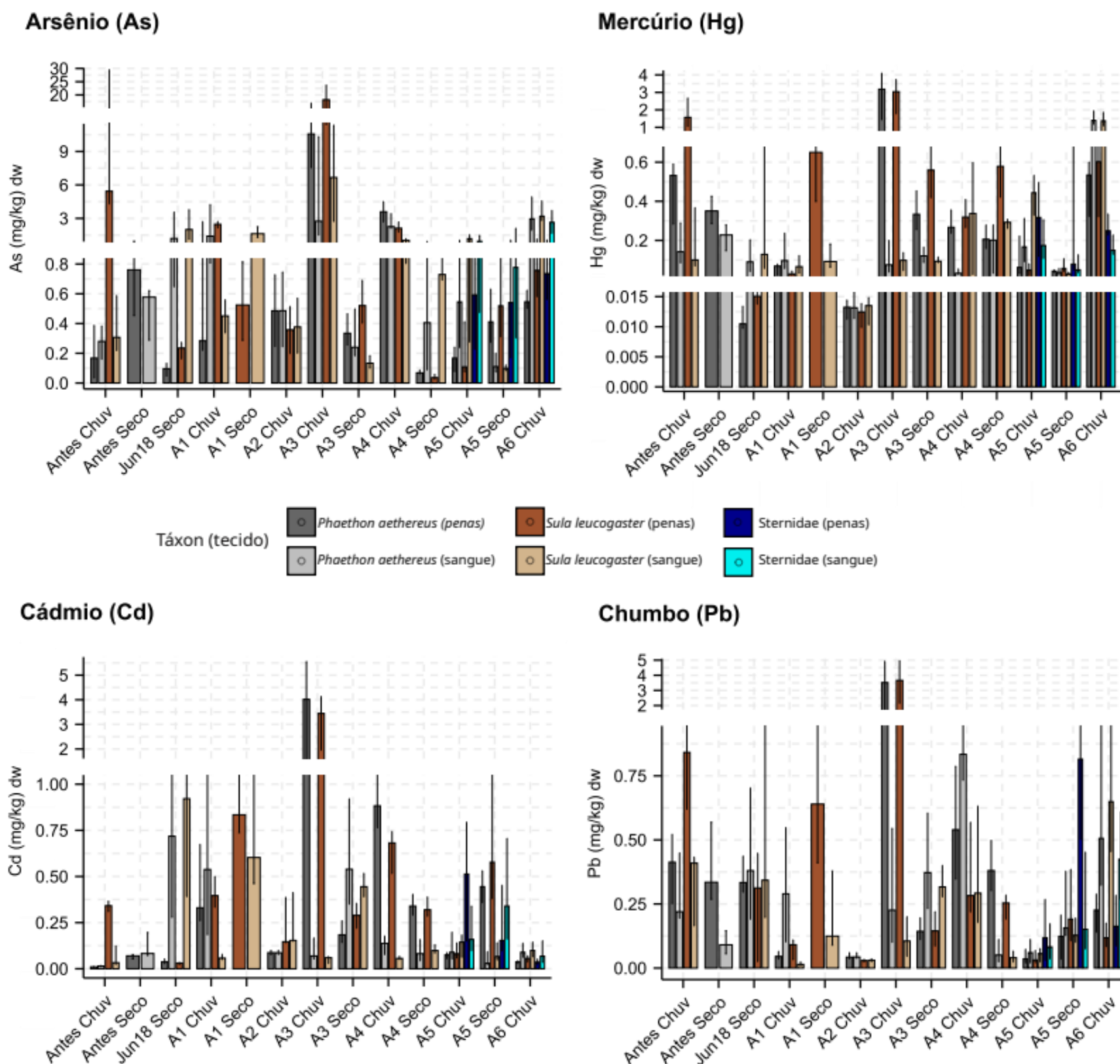


Figura 27: Variação na concentração de metais essenciais (mg/kg peso seco) no sangue e penas de trinta-réis (Família Sternidae) amostrados na foz do Rio Doce no Ano 5 (chuvoso – Dez/2022; seco – Set/2023) e 6 (chuvoso Dez/2023), e de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso - Fev/2011, seco - Ago/2011) e após o rompimento da barragem do Fundão, em junho de 2018 (pré-PMBA, período seco), no Ano 1 (chuvoso – Nov/2018 e Fev/2019; seco – Jun/2019), Ano 2 (chuvoso - Fev/2020), Ano 3 (chuvoso - Fev/2021 e seco – Ago/2021), Ano 4 (chuvoso – Mar/2022, seco – Set/2022), Ano 5 (chuvoso – Mar/2023; seco – Out/2023) e Ano 6 (chuvoso – Jan/2024). Barras representam a mediana e o intervalo entre o primeiro e terceiro quartil. O eixo vertical dos gráficos para Mn, Zn e Cu foi cortado para uma melhor visualização dos dados. Abreviações: A = ano; Chuv = chuvoso; Jun18 = junho de 2018.



Os dados de concentração de metais essenciais no sangue e penas das aves amostradas em Abrolhos mostra uma variação distinta entre os elementos. Conforme observado na PCA (Figura 26), Mn e Cr mostraram um pico nas concentrações nas penas no período chuvoso do Ano 3 (fevereiro de 2021), tal qual os elementos não essenciais. No entanto, o período chuvoso do Ano 6 (Jan/2024) apresentou valores destacados de Mn (sangue), Cr, Cu e Zn (penas e sangue), o que sugere um evento recente de incorporação acentuada desses elementos. Na foz do Rio Doce no Ano 5 chuvoso e seco (Dez/2022, Set/2023), Sternidae apresentou valores mais elevados de todos os metais nas penas, com exceção de Cr no Ano 5 seco. Isso pode sugerir uma maior influência desses metais nas aves da foz do Rio Doce durante esses períodos, potencialmente relacionado com essa fonte de contaminação.

Figura 28: Variação na concentração de metais e metalóides não-essenciais (mg/kg peso seco) no sangue e penas de trinta-réis (Família Sternidae) amostrados na foz do Rio Doce no Ano 5 (chuvoso – Dez/2022; seco – Set/2023) e 6 (chuvoso Dez/2023), e de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso - Fev/2011, seco - Ago/2011) e após o rompimento da barragem do Fundão, em junho de 2018 (pré-PMBA, período seco), no Ano 1 (chuvoso – Nov/2018 e Fev/2019; seco – Jun/2019), Ano 2 (chuvoso - Fev/2020), Ano 3 (chuvoso - Fev/2021 e seco – Ago/2021), Ano 4 (chuvoso – Mar/2022, seco – Set/2022), Ano 5 (chuvoso – Mar/2023; seco – Out/2023) e Ano 6 (chuvoso – Jan/2024). Barras representam a mediana e o intervalo entre o primeiro e terceiro quartil. O eixo vertical dos gráficos foi cortado para uma melhor visualização dos dados. Abreviações: A = ano; Chuv = chuvoso; Jun18 = junho de 2018.



Nas aves de Abrolhos (*P. aethereus* e *S. leucogaster*), todos os metais não-essenciais e Arsênio apresentaram concentrações maiores nas penas das aves no período chuvoso do Ano 3 (Fev/2021). Considerando o potencial tóxico dos metais não-essenciais e Arsênio, este pico nas concentrações sugere um evento de contaminação aguda nas aves marinhas de Abrolhos após a estação chuvosa do Ano 2 (Bauer et al., 2024), quando a vazão do Rio Doce foi elevada e gerou um aumento na concentração de metais e biomarcadores em diversos organismos (Relatório Anual de Evolução – Ecotoxicologia, 2021). As penas das aves no Ano 3 chuvoso (Fev/2021), então, possivelmente refletem um aumento na biodisponibilidade de metais a partir da alta vazão do Rio Doce no ano anterior, seguido da remobilização do sedimento contaminado na plataforma continental pelo vento, ondas e correntes, mais fortes no período seco (Vinzon et al., 2024). A bioacumulação e resposta de biomarcadores no plâncton marinho, peixes e camarões, observados pela Ecotoxicologia no Relatório Anual de Evolução de 2021, sugere a transferência trófica de metais não-essenciais a partir deste evento. Considerando o sangue das aves marinhas, no entanto, destaca-se as concentrações elevadas de Hg e As no Ano 6 chuvoso (Jan/2024), maiores do que nas campanhas anteriores, assim como foi observado para os metais essenciais. O pico observado nos valores de Hg no sangue das aves de Abrolhos no Ano 6 (média  $\pm$  DP =  $2,35 \pm 3,32$  mg/kg para *P. aethereus*) é próximo aos valores observados nas penas em fevereiro de 2021 no Ano 3 ( $3,35 \pm 2,47$ mg/kg), o que chama atenção dado que as penas possuem afinidade com os metais. Este resultado sugere um evento de assimilação aguda de metais pelas aves no Ano 6, o que reforça a ocorrência de eventos de recontaminação no ambiente marinho adjacente à foz do Rio Doce e a necessidade do monitoramento a longo prazo (Bauer et al., 2024).

Tabela 19: Resultados das tabelas de Análise de Deviação (ANODEV) para os Modelos Lineares Generalizados (GLM) construídos para explicar a variação nas concentrações de metais essenciais e não-essenciais e Arsênio nas penas de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso - Fev/2011, seco - Ago/2011) e após o rompimento da barragem do Fundão, em junho de 2018 (pré-PMBA, período seco), no Ano 1 (chuvoso – Nov/2018 e Fev/2019; seco – Jun/2019), Ano 2 (chuvoso – Fev/2020), Ano 3 (chuvoso – Fev/2021 e seco – Ago/2021), Ano 4 (chuvoso – Mar/2022, seco – Set/2022), Ano 5 (chuvoso – Mar/2023; seco – Out/2023) e Ano 6 (chuvoso – Jan/2024). GLMs foram construídos utilizando a família de distribuição Gama com função de ligação inversa, utilizando as espécies, a campanha de amostragem e a interação entre espécie e campanha como variáveis explicativas. A partir das ANODEVs, foi calculada a porcentagem de variação explicada por cada variável, e p-valores são decorrentes do teste de qui-quadrado, onde valores <0,01 estão destacados em negrito.

<b>Ferro (Fe)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviação</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviação residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			382,00	794,90	
Espécie	1,73	13,77	381,00	781,12	<b>0,0034</b>
Campanha	41,38	328,91	369,00	452,21	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	3,74	29,71	359,00	422,51	0,0466
<b>Manganês (Mn)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviação</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviação residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			383,00	1572,23	
Espécie	0,33	5,26	382,00	1566,97	0,0332
Campanha	76,32	1199,93	370,00	367,04	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	2,78	43,70	360,00	323,34	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Zinco (Zn)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviação</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviação residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			384,00	1148,11	
Espécie	0,36	4,12	383,00	1143,99	0,1152
Campanha	63,42	728,17	371,00	415,82	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	1,44	16,53	361,00	399,28	0,4441
<b>Cromo (Cr)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviação</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviação residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			379,00	682,95	
Espécie	0,24	1,61	378,00	681,34	0,2057
Campanha	52,08	355,70	366,00	325,64	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	4,18	28,58	356,00	297,06	<b>0,0015</b>
<b>Cobre (Cu)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviação</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviação residual</b>	<b>p-valor</b>

<b>Ferro (Fe)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			378,00	1129,69	
Espécie	1,73	19,58	377,00	1110,11	<0,0001
Campanha	67,99	768,07	365,00	342,04	<0,0001
Espécie:Campanha	5,60	63,27	355,00	278,78	<0,0001
<b>Arsênio (As)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			383,00	1349,63	
Espécie	1,72	23,17	382,00	1326,45	<0,0001
Campanha	76,10	1027,13	370,00	299,33	<0,0001
Espécie:Campanha	2,90	39,13	360,00	260,20	<0,0001
<b>Cádmio (Cd)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			377,00	832,75	
Espécie	0,34	2,85	376,00	829,90	0,0372
Campanha	77,58	646,03	364,00	183,87	<0,0001
Espécie:Campanha	2,53	21,07	354,00	162,81	0,0004
<b>Mercurio (Hg)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			378,00	1001,78	
Espécie	0,98	9,77	377,00	992,00	<0,0001
Campanha	80,08	802,25	365,00	189,75	<0,0001
Espécie:Campanha	2,37	23,74	355,00	166,01	<0,0001
<b>Chumbo (Pb)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			381,00	992,84	
Espécie	0,21	2,08	380,00	990,76	0,0838
Campanha	75,04	745,02	368,00	245,74	<0,0001
Espécie:Campanha	1,30	12,91	358,00	232,83	0,0463

As tabelas de deviãoça construídas para cada modelo destacam o alto poder de explicação da variável Campanha em relação às demais, sugerindo que o tempo é um fator preponderante influenciando as



concentrações de metais e As nas penas das aves marinhas. A campanha de amostragem explicou entre 75-80% da variância para os elementos não-essenciais (As, Cd, Hg, Pb) e Mn, e entre 41-67% para Fe, Zn, Cu e Cr. A menor explicação dos modelos referentes a Fe, Zn, Cu e Cr sugere o efeito da regulação sistêmica desses elementos essenciais pelo organismo. No entanto, a alta explicação dos modelos de elementos não-essenciais e Mn, um dos principais marcadores do rejeito, pode estar relacionada com a correlação das concentrações de Mn com as concentrações destes outros elementos nas penas. Ainda, a variável espécie e a interação entre espécie e a campanha de amostragem explicaram, individualmente, entre 1,3-5% da variância, sugerindo um baixo poder de explicação dessas variáveis frente à campanha de amostragem.

Tabela 20: Resultados das tabelas de Análise de Deviência (ANODEV) para os Modelos Lineares Generalizados (GLM) construídos para explicar a variação nas concentrações de metais essenciais e não-essenciais e Arsênio no sangue de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso - Fev/2011, seco - Ago/2011) e após o rompimento da barragem do Fundão, em junho de 2018 (pré-PMBA, período seco), no Ano 1 (chuvoso – Nov/2018 e Fev/2019; seco – Jun/2019), Ano 2 (chuvoso – Fev/2020), Ano 3 (chuvoso – Fev/2021 e seco – Ago/2021), Ano 4 (chuvoso – Mar/2022, seco – Set/2022), Ano 5 (chuvoso – Mar/2023; seco – Out/2023) e Ano 6 (chuvoso – Jan/2024). GLMs foram construídos utilizando a família de distribuição Gama com função de ligação identidade, utilizando Espécie, a Campanha de amostragem e a interação entre espécie e campanha como variáveis explicativas. A partir das ANODEVs realizadas para cada modelo, foi calculada a porcentagem de deviência explicada por cada variável, e p-valores são decorrentes do teste de qui-quadrado, marcados em negrito quando <0,01.

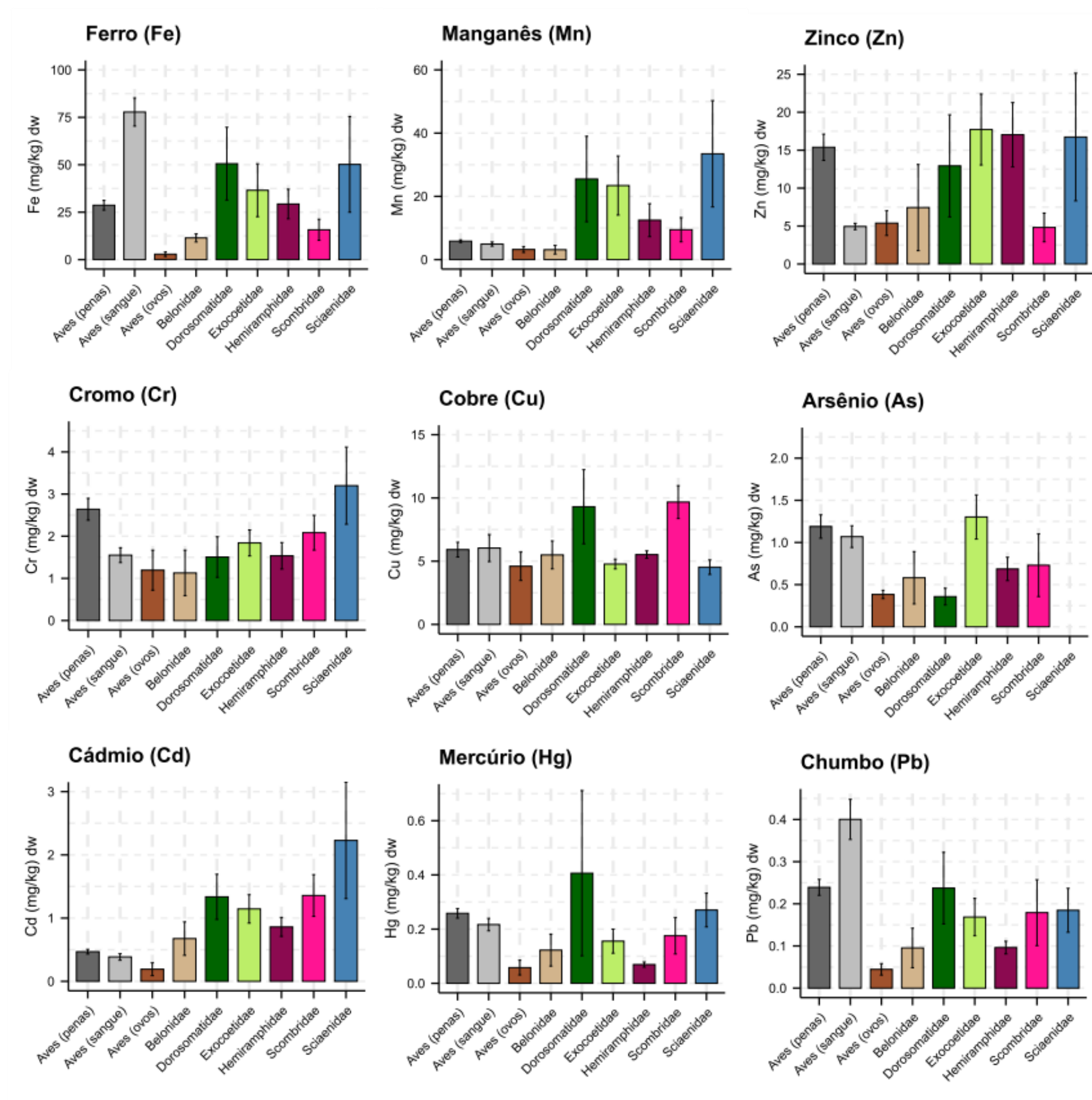
<b>Ferro (Fe)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			367,00	898,83	
Espécie	0,06	0,57	366,00	898,26	0,5247
Campanha	50,52	454,11	354,00	444,16	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	2,58	23,23	344,00	420,93	0,0836
<b>Manganês (Mn)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			368,00	1368,88	
Espécie	0,24	3,24	367,00	1365,64	0,1799
Campanha	67,59	925,25	355,00	440,39	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	1,11	15,14	345,00	425,25	0,5883
<b>Zinco (Zn)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			367,00	1115,46	
Espécie	0,13	1,43	366,00	1114,03	0,2983
Campanha	60,21	671,63	354,00	442,40	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	2,62	29,20	344,00	413,20	0,0149
<b>Cromo (Cr)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			367,00	1015,99	
Espécie	0,06	0,59	366,00	1015,40	0,5418
Campanha	51,09	519,09	354,00	496,31	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	7,73	78,52	344,00	417,78	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Cobre (Cu)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			345,00	1298,26	
Espécie	1,31	16,98	344,00	1281,28	0,0015
Campanha	58,50	759,46	332,00	521,82	<b>&lt;0,0001</b>
Espécie:Campanha	6,07	78,83	322,00	442,99	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Arsênio (As)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>

<b>Ferro (Fe)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			366,00	839,29	
Espécie	0,34	2,85	365,00	836,44	0,0711
Campanha	63,34	531,62	353,00	304,82	<0,0001
Espécie:Campanha	4,53	37,99	343,00	266,83	<0,0001
<b>Cádmio (Cd)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			351,00	665,26	
Espécie	2,24	14,92	350,00	650,34	<0,0001
Campanha	54,16	360,32	338,00	290,02	<0,0001
Espécie:Campanha	7,47	49,72	328,00	240,29	<0,0001
<b>Mercurio (Hg)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			362,00	819,87	
Espécie	0,01	0,04	361,00	819,83	0,8529
Campanha	50,30	412,36	349,00	407,46	<0,0001
Espécie:Campanha	9,96	81,66	339,00	325,80	<0,0001
<b>Chumbo (Pb)</b>	<b>% explicada</b>	<b>Deviância</b>	<b>GL Residual</b>	<b>Deviância residual</b>	<b>p-valor</b>
Nulo			358,00	722,67	
Espécie	1,02	7,39	357,00	715,28	0,0381
Campanha	36,36	262,75	345,00	452,54	<0,0001
Espécie:Campanha	8,98	64,88	335,00	387,65	<0,0001

Para as tabelas de ANODEV baseadas nos GLMs conduzidos com as concentrações de metais e Arsênio no sangue das aves marinhas de Abrolhos, evidenciou-se uma menor explicação dos modelos em relação à análise das penas. A variável Campanha explicou entre 36-67% da variação, e a interação entre Espécie e Campanha teve uma explicação entre 1-10%. Os padrões distintos observados entre sangue e penas se devem às informações distintas que esses tecidos incorporam. O sangue reflete a concentração de metais e As na circulação sanguínea, o que está relacionado com a ingestão recente e com a remobilização desses elementos nos órgãos internos do indivíduo por diferentes razões fisiológicas, sendo sensível à dieta recente do indivíduo, ao jejum, e aos níveis de metais em outros órgãos internos (Schreiber & Burger, 2001). Já as penas possuem alta afinidade com metais e os “removem” da circulação sanguínea durante o período de síntese (~4 semanas), ou seja, os metais são incorporados nas penas ao longo desse período. Por conta disso, as penas são mais comumente utilizadas como bioindicadoras de contaminação ambiental, apesar da relativa inespecificidade temporal deste tecido (entre 2-12 meses antes da amostragem) (Schreiber & Burger, 2001). No entanto, o aumento nos valores dos elementos essenciais bem como de As e Hg observados no Ano 6

(Jan/2024) sugere a ocorrência de um evento de contaminação nesse período, evidenciado pelos valores altos desses elementos no sangue das aves marinhas.

Figura 29: Concentrações (mg/kg peso seco) de metais e Arsênio no sangue, penas e cascas de ovos de aves marinhas (*Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster*) e no tecido muscular de peixes das famílias Belonidae, Dorosomatidae, Exocoetidae, Hemiramphidae e Scombridae, coletados ao longo do período de monitoramento no Arquipélago dos Abrolhos. Presas foram coletadas de forma oportunística no Ano 1 chuvoso (Fev/2019), Ano 3 seco (Ago/2021), Ano 4 (chuvoso – Mar/2022, seco – Set/2022) e no Ano 5 (chuvoso – Mar/2023), e as amostras de sangue e pena incluídas neste gráfico são provenientes do mesmo período, além de dados do período seco do Ano 5 (Set/2023) e chuvoso do Ano 6 (Jan/2024). Cascas de ovos foram coletadas no Ano 4 (seco – Set/2022), no Ano 5 (chuvoso – Mar/2023 e seco – Set/2023), e no Ano 6 (chuvoso – Jan/2024). Barras representam a média  $\pm$  erro padrão.



Para Fe, os valores observados no sangue das aves marinhas foram maiores que nas penas, nos ovos e nas presas. No entanto, as presas apresentaram valores maiores de Mn do que nas aves. Para Zn e Cr, os valores das penas das aves foram maiores do que no sangue e nos ovos, mas destaca-se os valores maiores de Sciaenidae para esses elementos, assim como Dorosomatidae, Exocoetidae e Hemiramphidae para Zn. Para Cu, Dorosomatidae e Scombridae apresentaram valores mais elevados do que nas aves e outras presas. Para As, as concentrações mais altas das penas e sangue das aves marinhas, bem como dos peixes-voadores (Exocoetidae) em relação às demais presas, sendo os peixes-voadores presas importantes na dieta de *P. aethereus*. Para Cd, foram observados valores mais altos nas presas do que nas aves, e valores mais baixos nas presas das famílias Belonidae e Hemiramphidae. Para Hg, os valores de Dorosomatidae foram mais altos, seguido de Sciaenidae e das penas das aves marinhas; e para Cd, os valores no sangue das aves foram maiores do que nas presas. No geral, as concentrações de metais e As nas aves marinhas é maior nas penas e no sangue do que nas cascas de ovos, sugerindo uma baixa detoxificação de metais pelas fêmeas através da postura dos ovos. Em relação às presas, destaca-se as concentrações de As em Exocoetidae e Hemiramphidae, presas importantes na dieta de ambas as espécies de aves. Essas famílias de presas também apresentaram valores de Cd maiores que nas aves, apesar de Dorosomatidae, Sciaenidae e Scombridae terem apresentado valores mais altos de Cd e Hg. Hemiramphidae e Belonidae apresentaram concentrações, no geral, mais baixas do que as outras espécies de presas. Portanto, os resultados evidenciam que as presas das aves de Abrolhos estão contaminadas pelos rejeitos da barragem de Fundão, e que representam a principal via de contaminação das aves através da sua ingestão. Adicionalmente, os resultados indicam uma influência diferencial, entre as presas, na contaminação das aves, visto que alguns grupos de presas estão mais contaminados do que outros.



Tabela 21: Variação na concentração de metais essenciais (mg/kg peso seco) no sangue e penas de trinta-réis (Família Sternidae) amostrados na foz do Rio Doce no período chuvoso do Ano 5 (chuvoso – dezembro de 2022), e de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso – fevereiro e seco – agosto de 2011) e no período pós-rompimento no Ano 1 (chuvoso - fevereiro de 2019 e seco – Set/2019; esse último apenas para *Sula leucogaster*), Ano 2 (chuvoso – fevereiro de 2020), Ano 3 (chuvoso – fevereiro e seco – agosto de 2021), Ano 4 (chuvoso – março e seco – setembro de 2022), Ano 5 (chuvoso – março de 2023 e seco – setembro de 2023), Ano 6 (chuvoso – janeiro de 2024). Para *S. leucogaster*, também foi amostrado o período seco no Ano 1 (setembro de 2019).

Metais essenciais											
Espécie/Ano (n)	Período	Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Antes</b>											
Sangue (04)	Chuvoso	8,8	5,2	1,1	1,1	0,2	0,1	169,9	112,2	5,0	3,5
Penas (04)	Chuvoso	36,4	29,8	4,2	0,7	1,4	1,6	138,0	68,1	115,4	23,9
Sangue (06)	Seco	16,5	8,5	2,1	0,7	3,6	3,2	348,1	91,3	7,0	2,8
Penas (06)	Seco	38,1	12,7	5,1	3,8	2,0	0,3	211,4	96,3	286,3	132,2
<b>Jun2018</b>											
Sangue (10)	Seco	6,58	6,61	16,43	17,45	1,23	1,46	9,87	9,92	3,29	3,31
Penas (18)	Seco	16,8	32,6	8,0	3,4	2,5	1,0	25,3	48,9	8,4	16,3
<b>Ano 1</b>											
Sangue (33)	Chuvoso	10,07	21,18	20,28	31,43	2,26	3,49	117,09	196,18	3,64	4,80
Penas (33)	Chuvoso	8,7	4,2	1,5	1,3	1,2	0,8	22,3	22,5	12,4	19,7
<b>Ano 2</b>											
Sangue (10)	Chuvoso	10,1	3,2	1,6	2,4	0,2	0,1	26,3	11,3	36,2	18,8
Penas (10)	Chuvoso	9,9	2,7	2,5	2,2	0,2	0,1	25,8	10,8	35,5	18,0

Metais essenciais											
Espécie/Ano (n)	Período	Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 3</b>											
Sangue (20)	Chuvoso	82,5	72,1	4,8	6,5	3,2	3,7	26,2	25,3	19,8	30,9
Penas (20)	Chuvoso	449,9	300,5	34,1	33,4	11,8	9,8	117,8	101,6	58,3	64,3
Sangue (24)	Seco	0,8	0,7	1,3	1,8	1,1	2,1	159,4	109,4	10,3	7,7
Penas (24)	Seco	2,7	2,0	0,3	0,3	3,1	3,4	20,4	39,9	32,9	50,5
<b>Ano 4</b>											
Sangue (20)	Chuvoso	1,8	1,8	0,9	0,5	1,0	0,7	118,2	44,4	6,9	7,8
Penas (20)	Chuvoso	2,1	1,8	9,9	4,2	7,7	8,4	57,9	45,4	13,8	11,2
Sangue (18)	Seco	5,9	8,9	7,4	13,5	2,8	3,5	15,9	20,9	3,6	3,6
Penas (17)	Seco	12,5	4,8	22,0	4,4	1,9	0,8	42,3	31,3	11,1	2,3
<b>Ano 5</b>											
Sangue (24)	Chuvoso	8,16	14,10	11,99	24,01	3,52	5,61	22,16	41,64	4,69	5,80
Penas (19)	Chuvoso	3,58	2,87	4,16	7,49	0,35	0,35	7,01	13,34	1,83	2,38
Sangue (20)	Seco	4,86	7,06	2,40	3,44	1,18	1,84	7,66	10,75	2,43	3,53
Penas (20)	Seco	1,72	3,74	5,71	9,91	1,96	3,29	2,73	5,76	1,86	4,61
<b>Ano 6</b>											
Sangue (17)	Chuvoso	229,14	724,65	68,09	78,29	22,69	36,09	116,23	233,67	128,94	188,67
Penas (20)	Chuvoso	15,74	10,96	77,66	63,93	7,36	7,71	15,33	9,60	178,79	46,19
<i>Sula leucogaster</i>		Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP

Metais essenciais											
Espécie/Ano (n)	Período	Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Antes</b>											
Sangue (07)	Chuvoso	7,2	2,6	12,1	13,5	2,5	2,5	211,6	87,0	41,3	32,9
Penas (07)	Chuvoso	134,3	70,0	43,9	39,3	8,3	7,3	392,9	193,0	99,9	64,9
<b>Jun2018</b>											
Sangue (8)	Seco	10,05	11,41	57,57	77,07	2,93	3,41	15,07	17,12	5,02	5,71
Penas (14)	Seco	18,85	28,69	5,37	3,53	3,54	3,54	28,28	43,04	9,43	14,35
<b>Ano 1</b>											
Sangue (10)	Chuvoso	4,1	5,4	0,2	0,3	0,2	0,3	206,3	55,6	6,2	4,8
Penas (10)	Chuvoso	18,9	6,0	0,7	1,1	1,0	1,0	40,2	14,5	25,5	18,9
Sangue (9)	Seco	18,58	35,57	51,76	122,12	2,93	6,50	27,87	53,36	9,29	17,79
Penas (10)	Seco	89,40	223,91	13,80	26,33	4,32	8,68	134,10	335,86	44,70	111,95
<b>Ano 2</b>											
Sangue (10)	Chuvoso	24,1	8,3	3,1	1,3	0,5	0,5	50,2	26,9	19,1	4,7
Penas (10)	Chuvoso	22,7	7,5	25,8	11,8	0,5	0,4	47,3	25,1	195,7	135,7
<b>Ano 3</b>											
Sangue (20)	Chuvoso	91,6	65,1	3,3	4,3	1,3	1,4	25,6	16,0	11,1	6,2
Penas (20)	Chuvoso	438,3	253,7	33,3	34,9	11,9	11,8	104,2	66,3	64,8	81,1
Sangue (20)	Seco	0,7	0,4	0,8	0,6	0,5	0,3	199,8	108,8	6,9	4,2
Penas (20)	Seco	3,7	1,8	0,4	0,4	4,2	4,2	31,1	34,5	59,2	39,2
<b>Ano 4</b>											
Sangue (20)	Chuvoso	2,0	1,2	0,9	0,6	0,8	0,5	79,4	83,0	3,3	1,7

Metais essenciais											
Espécie/Ano (n)	Período	Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Penas (20)	Chuvoso	2,4	2,2	3,7	3,8	3,7	4,1	46,6	24,7	11,7	6,9
Sangue (16)	Seco	7,9	7,8	4,3	1,8	1,7	1,1	5,2	2,1	3,5	5,5
Penas (19)	Seco	10,9	2,5	7,6	2,6	2,2	0,5	58,4	82,4	11,3	2,6
<b>Ano 5</b>											
Sangue (20)	Chuvoso	7,67	7,74	7,20	8,85	1,82	1,71	13,69	24,30	6,70	12,31
Penas (21)	Chuvoso	1,51	2,20	4,22	3,15	0,17	0,23	11,54	9,09	1,96	2,39
Sangue (20)	Seco	2,64	1,12	0,85	0,39	0,70	0,29	3,97	1,69	1,32	0,56
Penas (20)	Seco	7,40	9,99	13,36	18,10	4,00	3,98	11,11	14,98	2,34	4,47
<b>Ano 6</b>											
Sangue (12)	Chuvoso	151,32	169,38	166,83	255,93	32,58	54,77	151,21	162,35	193,23	267,65
Penas (13)	Chuvoso	36,57	48,03	204,12	96,54	8,51	4,38	34,20	41,13	267,00	118,64
<i>Sterna hirundo</i>		Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>											
Sangue (32)	Chuvoso	5,00	6,54	15,37	21,52	0,66	1,32	32,28	64,36	25,11	104,02
Penas (39)	Chuvoso	9,64	11,30	31,92	24,17	1,21	1,84	62,19	68,98	14,06	11,92
<b>Ano 6</b>											

Metais essenciais											
Espécie/Ano (n)	Período	Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Sangue (20)	Chuvoso	29,97	54,77	16,15	20,70	4,38	6,89	42,53	83,86	56,00	41,60
Penas (20)	Chuvoso	31,88	60,52	31,27	11,72	21,02	24,95	16,33	15,73	219,40	68,81
<i>Thalasseus acutiflavus</i>		Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>											
Sangue (8)	Chuvoso	1,85	1,52	5,22	2,86	0,93	2,08	21,08	26,15	2,53	1,37
Penas (8)	Chuvoso	8,31	10,02	22,72	16,14	0,56	0,48	71,18	79,51	10,72	7,94
Sangue (20)	Seco	3,98	5,15	5,39	8,06	1,53	2,29	6,28	7,83	1,99	2,57
Penas (20)	Seco	55,56	80,16	28,05	46,28	1,85	1,96	83,35	120,24	27,78	40,08
<b>Ano 6</b>											
Sangue (2)	Chuvoso	7,80	7,92	7,55	0,15	2,25	1,91	13,40	9,34	41,39	10,78
Penas (2)	Chuvoso	57,25	59,55	17,38	3,80	4,96	3,62	14,56	13,92	171,38	40,81
<i>Sternula supercilialis</i>		Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>											
Sangue (4)	Chuvoso	19,45	23,61	6,65	5,54	1,68	1,56	5,38	4,84	10,07	16,64
Penas (4)	Chuvoso	14,46	23,06	2,79	2,53	2,03	2,03	7,34	11,28	24,00	38,17
<i>Thalasseus maximus</i>		Mn		Cu		Cr		Fe		Zn	
		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>											
Sangue (2)	Seco	2,02	1,88	2,42	2,02	2,68	2,88	3,04	2,83	1,01	0,94
Penas (2)	Seco	16,36	14,55	12,45	3,49	0,63	0,54	24,54	21,82	8,18	7,28

Descrições dos padrões apresentados nessa tabela são mencionados na legenda das Figura 26 e Figura 27.

Tabela 22: Variação na concentração de metais não-essenciais e Arsênio (mg/kg peso seco) no sangue e penas de trinta-réis (Família Sternidae) amostrados na foz do Rio Doce no período chuvoso do Ano 5 (chuvoso – dezembro de 2022), e de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* amostrados no Arquipélago dos Abrolhos no período pré-rompimento da barragem do Fundão (chuvoso – fevereiro e seco – agosto de 2011) e no período pós-rompimento no Ano 1 (chuvoso - fevereiro de 2019 e seco – Set/2019; esse último apenas para *Sula leucogaster*), Ano 2 (chuvoso – fevereiro de 2020), Ano 3 (chuvoso – fevereiro e seco – agosto de 2021), Ano 4 (chuvoso – março e seco – setembro de 2022), Ano 5 (chuvoso – março de 2023 e seco – setembro de 2023), Ano 6 (chuvoso – janeiro de 2024). O tamanho amostral de pena e sangue de cada espécie de ave está disponível na Tabela 21.

Metais e metaloide não-essenciais									
Período		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Antes</b>									
Sangue	Chuvoso	0,26	0,14	0,01	0,01	0,23	0,23	0,42	0,45
Penas	Chuvoso	0,25	0,30	0,01	0	0,41	0,33	0,36	0,21
Sangue	Seco	0,45	0,26	0,15	0,14	0,26	0,18	0,18	0,23
Penas	Seco	0,67	0,36	0,06	0,02	0,37	0,11	0,43	0,22
<b>Jun2018</b>									
Sangue	Seco	2,17	2,21	0,91	0,68	0,15	0,15	0,54	0,49
Penas	Seco	0,12	0,09	0,05	0,03	0,01	0,00	0,36	0,12
<b>Ano 1</b>									
Sangue	Chuvoso	3,09	4,35	1,28	1,67	0,23	0,33	0,81	1,56
Penas	Chuvoso	1,85	2,90	0,47	0,36	0,06	0,04	0,06	0,05
<b>Ano 2</b>									
Sangue	Chuvoso	0,54	0,37	0,10	0,04	0,02	0,01	0,05	0,03
Penas	Chuvoso	0,53	0,34	0,09	0,03	0,01	0,01	0,05	0,03
<b>Ano 3</b>									
Sangue	Chuvoso	10,2	15,5	0,1	0,1	0,2	0,3	0,4	0,4
Penas	Chuvoso	16,4	15,5	3,8	2,6	3,4	2,5	4,6	4,3
Sangue	Seco	0,4	0,3	0,9	0,8	0,2	0,2	0,6	0,6
Penas	Seco	0,4	0,3	0,2	0,1	0,4	0,3	0,2	0,1
<b>Ano 4</b>									



**Metais e metalóides não-essenciais**

Período		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Sangue	Chuvoso	2,68	1,02	0,14	0,09	0,04	0,02	1,11	0,64
Penas	Chuvoso	4,8	4,2	1,2	1	0,4	0,3	0,7	0,5
Sangue	Seco	0,6	0,6	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,1
Penas	Seco	0,1	0	0,4	0,1	0,2	0,1	0,4	0,2
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Chuvoso	0,77	0,8	0,16	0,18	0,26	0,26	0,11	0,22
Penas	Chuvoso	0,24	0,23	0,08	0,06	0,14	0,17	0,07	0,07
Sangue	Seco	0,16	0,12	0,07	0,06	0,07	0,09	0,30	0,30
Penas	Seco	0,65	1,11	0,59	0,93	0,06	0,06	0,18	0,20
<b>Ano 6</b>									
Sangue	Chuvoso	5,02	5,76	0,12	0,09	2,35	3,32	1,00	0,89
Penas	Chuvoso	0,57	0,15	0,05	0,06	0,51	0,24	0,23	0,13
		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Sula leucogaster</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Antes</b>									
Sangue	Chuvoso	0,4	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,3	0,2
Penas	Chuvoso	19,7	22,7	0,4	0,2	2,3	2,2	0,9	0,3
<b>Jun2018</b>									
Sangue	Seco	2,48	1,82	1,89	2,64	0,49	0,66	0,65	0,63
Penas	Seco	0,22	0,07	0,04	0,03	0,02	0,01	0,32	0,36
<b>Ano 1</b>									
Sangue	Chuvoso	0,5	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0	0,02
Penas	Chuvoso	2,45	0,85	0,44	0,14	0,03	0,01	0,10	0,09
Sangue	Seco	2,72	3,21	0,89	0,74	0,52	1,16	1,37	3,17

**Metais e metalóides não-essenciais**

Período		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Penas	Seco	0,89	1,25	2,42	5,16	1,32	2,45	2,13	4,41
<b>Ano 2</b>									
Sangue	Chuvoso	0,4	0,3	0,3	0,2	0	0	0	0,01
Penas	Chuvoso	0,4	0,2	0,3	0,2	0	0	0	0,01
<b>Ano 3</b>									
Sangue	Chuvoso	9	8,9	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,24
Penas	Chuvoso	24,9	31	3,6	2	3,1	1,5	4,2	2,85
Sangue	Seco	0,2	0,1	0,5	0,3	0,1	0,1	0,4	0,27
Penas	Seco	0,6	0,3	0,3	0,1	0,6	0,3	0,2	0,14
<b>Ano 4</b>									
Sangue	Chuvoso	1	0,4	0,1	0,1	0,6	0,8	0,5	0,55
Penas	Chuvoso	2,3	0,8	0,7	0,3	0,3	0,1	0,5	0,36
Sangue	Seco	0,7	0,3	0,1	0	0,3	0,1	0,1	0,03
Penas	Seco	0	0	0,3	0,1	0,6	0,3	0,3	0,07
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Chuvoso	1,43	1,99	0,19	0,2	0,55	0,54	0,17	0,44
Penas	Chuvoso	0,29	0,31	0,1	0,05	0,09	0,11	0,05	0,06
Sangue	Seco	0,11	0,05	0,09	0,06	0,03	0,01	0,15	0,09
Penas	Seco	0,84	1,05	0,93	0,88	0,09	0,09	0,28	0,25
<b>Ano 6</b>									
Sangue	Chuvoso	4,37	2,91	0,12	0,09	1,66	1,02	1,47	1,89
Penas	Chuvoso	0,87	0,47	0,06	0,03	0,57	0,30	0,15	0,11
		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Sterna hirundo</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP

**Metais e metalóides não-essenciais**

Período		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Chuvoso	1,34	1,63	0,5	1,3	0,33	0,54	0,18	0,25
Penas	Chuvoso	0,65	0,52	0,54	0,4	0,34	0,26	0,19	0,18
<b>Ano 6</b>									
Sangue	Chuvoso	3,04	1,60	0,11	0,07	0,19	0,12	0,48	0,27
Penas	Chuvoso	0,84	0,35	0,04	0,02	0,30	0,12	0,18	0,12
		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Thalasseus acuflavidus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Chuvoso	1,06	0,46	0,16	0,1	0,18	0,09	0,06	0,04
Penas	Chuvoso	0,53	0,29	0,58	0,48	0,43	0,34	0,13	0,11
Sangue	Seco	1,54	1,81	0,78	1,12	0,10	0,12	0,47	0,68
Penas	Seco	0,77	0,78	0,63	1,67	0,94	2,69	0,84	0,43
<b>Ano 6</b>									
Sangue	Chuvoso	2,26	1,27	0,02	0,001	0,18	0,02	0,41	0,01
Penas	Chuvoso	0,64	0,19	0,03	0,01	0,31	0,32	0,21	0,01
		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Sternula superciliaris</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Chuvoso	0,71	0,74	0,24	0,3	0,64	0,32	0,19	0,06
Penas	Chuvoso	0,72	0,91	0,37	0,39	0,16	0,17	0,54	0,64
<b><i>Thalasseus maximus</i></b>									

Metais e metalóides não-essenciais									
Período		As		Cd		Hg		Pb	
<i>Phaethon aethereus</i>		Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<b>Ano 5</b>									
Sangue	Seco	0,54	0,29	0,45	0,37	0,04	0,00	0,39	0,51
Penas	Seco	0,23	0,19	0,08	0,05	0,06	0,05	0,40	0,01

Descrições dos padrões apresentados nessa tabela são mencionados na legenda da Figura 26 e Figura 28.

Tabela 23: Concentrações (mg/kg peso seco) de metais e arsênio nas cascas de ovos de aves marinhas (*Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster*) e no tecido muscular de peixes das famílias Belonidae, Dorosomatidae, Exocoetidae, Hemiramphidae e Scombridae, coletados nos Anos 3, 4 e 5 no arquipélago dos Abrolhos. Peixes foram coletados através dos regurgitados espontâneos das aves marinhas.

Metais essenciais											
		Fe		Mn		Zn		Cr		Cu	
Família	n	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Belonidae	11	11,43	7,07	3,13	4,53	7,44	18,82	1,13	1,79	5,49	3,66
Dorosomatidae	14	50,56	71,85	25,49	50,51	12,94	25,16	1,51	1,80	9,30	10,97
Exocoetidae	33	36,53	79,94	23,42	53,60	17,72	26,85	1,84	1,77	4,77	2,21
Hemiramphidae	65	29,31	62,73	12,47	42,00	17,03	34,19	1,54	2,53	5,52	2,36
Scombridae	13	15,72	19,94	9,45	13,75	4,82	6,82	2,08	1,49	9,67	4,67
Sciaenidae	3	50,20	43,68	33,46	29,12	16,73	14,56	3,20	1,58	4,53	0,99
Cascas de ovos											
<i>Phaethon aethereus</i>	11	2,15	1,52	3,84	4,02	8,62	9,96	2,30	3,15	6,90	7,49
<i>Sula leucogaster</i>	13	3,44	7,81	2,66	5,10	2,65	4,58	0,26	0,12	2,65	1,42
Metais e metaloide não-essenciais											
		As		Cd		Hg		Pb			
Família	n	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP		
Belonidae	11	0,58	0,93	0,68	0,88	0,12	0,20	0,10	0,15		
Dorosomatidae	14	0,36	0,36	1,34	1,34	0,41	1,14	0,24	0,32		
Exocoetidae	33	1,30	1,43	1,15	1,25	0,16	0,26	0,17	0,25		
Hemiramphidae	65	0,69	1,05	0,86	1,21	0,07	0,08	0,10	0,12		
Scombridae	13	0,73	1,17	1,36	1,19	0,18	0,23	0,18	0,28		
Sciaenidae	3	ALD	ALD	2,23	1,59	0,27	0,11	0,18	0,09		
Cascas de ovos											
<i>Phaethon aethereus</i>	11	0,38	0,26	0,35	0,68	0,10	0,17	0,06	0,08		

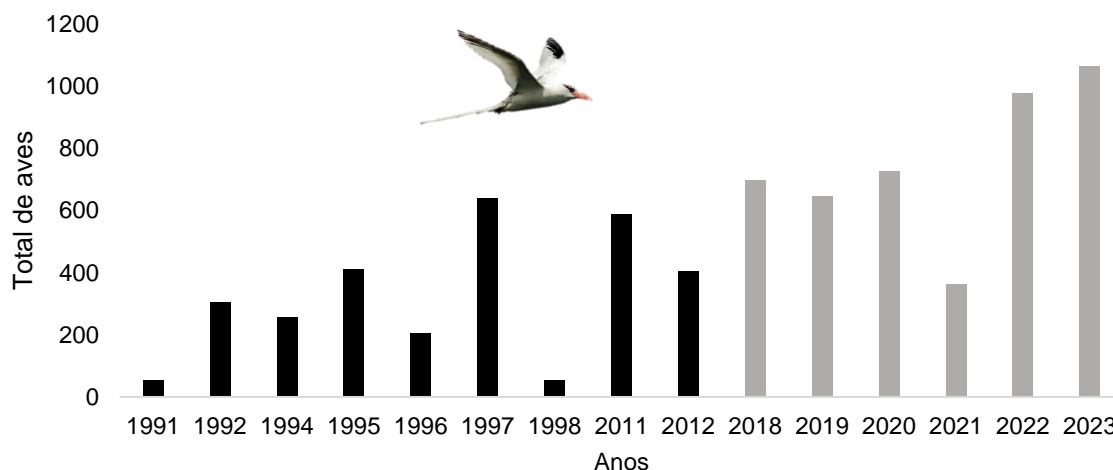
<i>Sula leucogaster</i>	13	0,39	0,24	0,06	0,09	0,01	0,01	0,03	0,05
-------------------------	----	------	------	------	------	------	------	------	------

---

Descrições dos padrões apresentados nessa tabela são mencionados na legenda da Figura 29.

### 3.3 CONDIÇÕES SANITÁRIAS, DEMOGRÁFICAS E GENÉTICAS DAS AVES MARINHAS QUE UTILIZAM A FOZ DO RIO DOCE E ADJACÊNCIAS PARA ALIMENTAÇÃO

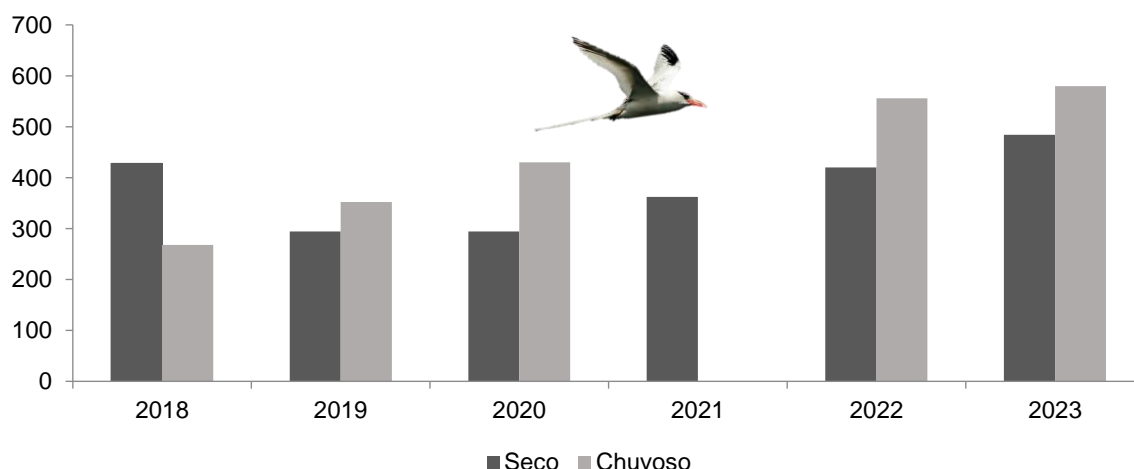
Figura 30: Variações interanuais do tamanho populacional de *Phaethon aethereus* em Abrolhos com base em estudos antigos (1991 a 2012, com falhas nos anos onde não foram encontrados estudos) e contagem de ninhos ativos em todas as ilhas do arquipélago nos meses de pico da reprodução da espécie (2018 a 2023).



Dados do pré-rompimento da barragem obtidos de pesquisas prévias de membros da equipe mostram que o tamanho populacional foi estimado entre 200 e 700 aves até 2012. Atualmente, dados de ninhos ativos do pós-rompimento da barragem obtidos e cedidos pelo ICMBio, como parte do Programa de Monitoramento das Aves Marinhas do Parque Nacional dos Abrolhos ampliam a estimativa do tamanho populacional de *P. aethereus* para cerca de 1.000 adultos reprodutores. Portanto, aparentemente a população da espécie no arquipélago vem aumentando. Vale ressaltar que a conclusão do programa de desratização do arquipélago em 2022 deve ter contribuído com esse aumento, uma vez que a predação por ratos era considerada o principal fator responsável pelas falhas reprodutivas da espécie (Sarmiento et al., 2014).

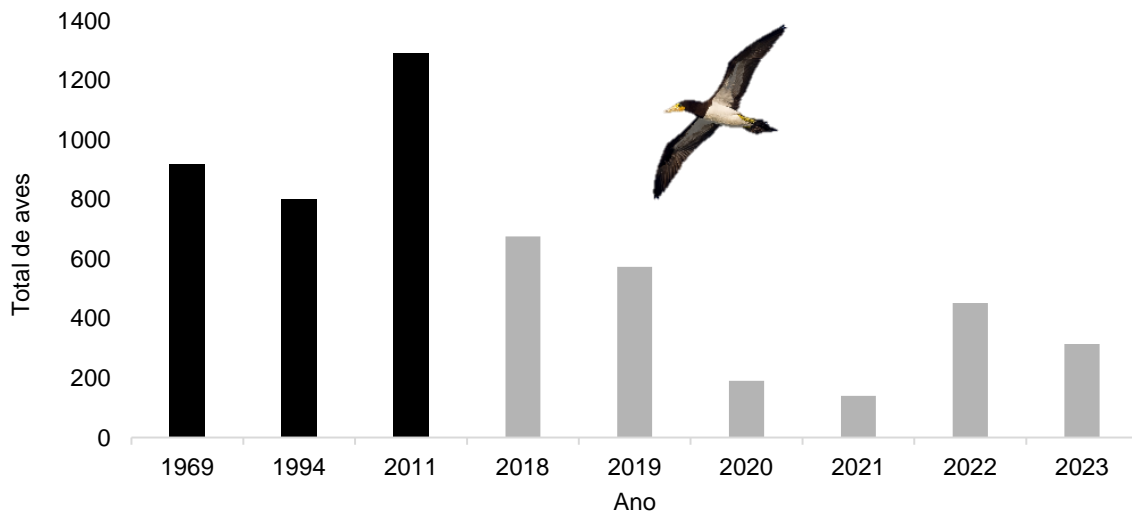


Figura 31: Variações interanuais do tamanho populacional de *Phaethon aethereus* nidificantes em Abrolhos nos períodos secos (maio) e chuvosos - (outubro), com base no monitoramento de ninhos ativos no arquipélago entre setembro de 2018 e outubro de 2023. Não houve coleta de dados em outubro de 2021 em razão da COVID 19 e fechamento do Parque Nacional.



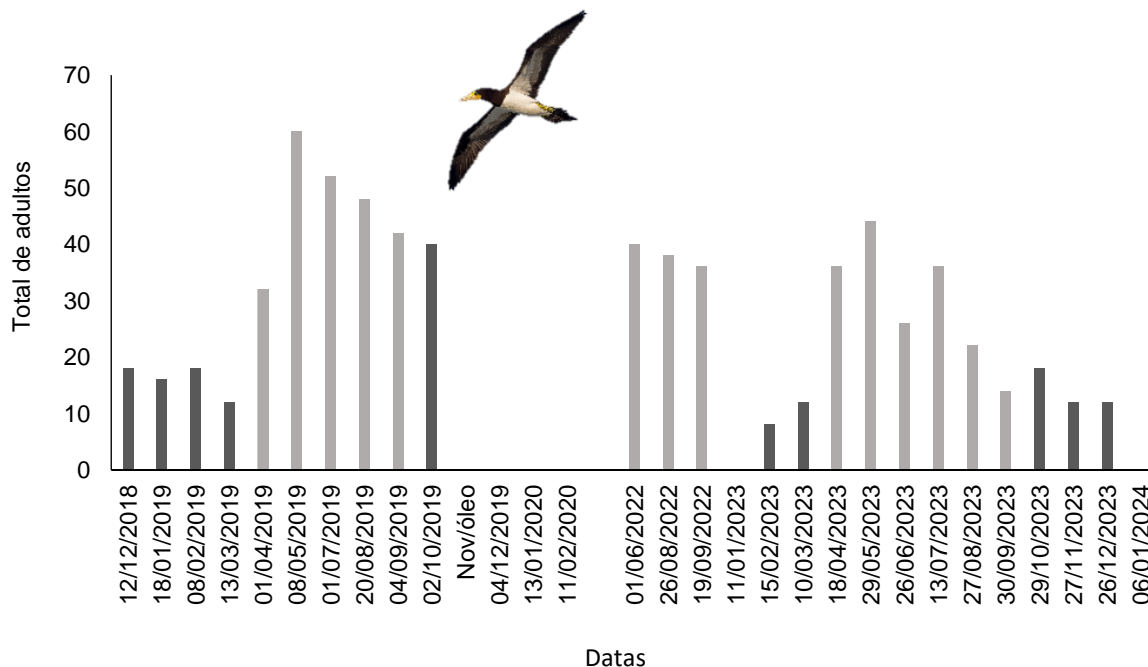
A população reprodutiva de *P. aethereus* que vem sendo monitorada no arquipélago em Abrolhos variou entre 696 e 1064 adultos. Vale ressaltar que os períodos seco e chuvoso adotados não influenciam diretamente no indicador uma vez que os potenciais impactos do rejeito não são percebidos de forma imediata nas aves. Por exemplo, a ressuspensão dos contaminantes no fundo do mar ou aporte de novos elementos carregados pela chuva não causam a mortalidade instantânea dos adultos, alterando o tamanho populacional no arquipélago. Além disso, o período reprodutivo de *P. aethereus* não apresenta ciclos bem definidos, sendo possível registrar ovos e filhotes em quase todos os meses do ano. No entanto, parece haver duas subpopulações no arquipélago que utilizam os ninhos disponíveis em momentos distintos do ano. Assim, analisando o tamanho populacional da colônia em ambos os períodos, percebe-se a tendência crescente na ocupação dos ninhos ao longo dos anos, com maior número de adultos reprodutores durante o período chuvoso. Vale ressaltar que, o início do período chuvoso coincide com o retorno das aves ao arquipélago para o novo ciclo reprodutivo. A corte, formação do casal e escolha dos ninhos, protegidos debaixo de rochas ou em cavernas, ocorre nos meses de maior precipitação (outubro/novembro), o que pode explicar as maiores quantidades de ninhos ativos e adultos nos ninhos entre esses meses. Outras variáveis podem também influenciar na variação anual deste indicador como as flutuações na disponibilidade de alimentos em mares tropicais (Weimerskirch, 2001) e os efeitos de eventos climáticos esporádicos como o ENSO (*El Niño Southern Oscillation* – Devney et al., 2009), ocorrido entre 2018 e 2019, os quais podem gerar variações na taxa de crescimento, sucesso reprodutivo ou fenologia das aves marinhas.

Figura 32: Variações interanuais do tamanho populacional de *Sula leucogaster* nidificantes em Abrolhos com base em estudos antigos (1969 a 2011, com falhas nos anos onde não foram encontrados estudos) e contagem de ninhos ativos em todas as ilhas do arquipélago nos meses de maio, pico da reprodução da espécie (2018 a 2023).



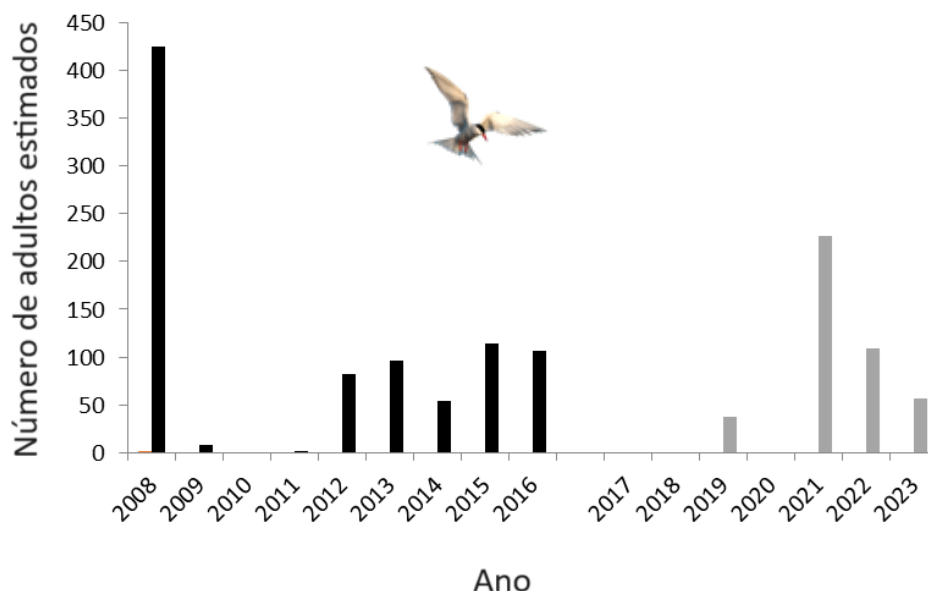
Dados do pré-rompimento da barragem obtidos da literatura e pesquisas prévias de membros da equipe estimam o tamanho populacional de *S. leucogaster* entre 700 e 1200 adultos reprodutores até 2011. Atualmente, dados de ninhos ativos do pós-rompimento da barragem obtidos e cedidos pelo ICMBio, como parte do “Programa de Monitoramento das Aves Marinhas do Parque Nacional dos Abrolhos” mostram uma preocupante diminuição na população para cerca de 300 adultos. Sabe-se que as variações nas condições oceanográficas influenciam na produção primária marinha (Weimerskirch, 2001), na migração dos peixes (Milligan, 2020) e consequentemente, na disponibilidade de alimento para seus predadores, como as aves marinhas. Além disso, o atobá-marrom tem forte interação com barcos de pesca e costuma se alimentar dos peixes rejeitados na pescaria (Freret-Meurer et al., 2020; Mancini et al., 2023). Muitos destes peixes são provenientes da pesca de arrasto e utilizam o fundo de lama como seu habitat. Vale ressaltar, que a espécie segue utilizando as mesmas áreas marinhas e os mesmos recursos alimentares do período pré rompimento da barragem de Fundão e seus tecidos biológicos amostrados se encontram contaminados com os elementos não essenciais contidos nos rejeitos (Nunes et al., 2022). Além disso, os indivíduos analisados têm apresentado problemas de saúde (anemia e desidratação), o que pode causar impactos diretos de curto prazo nos indivíduos (debilidade e/ou mortalidade) e indiretos na população.

Figura 33: Variações interanuais do tamanho populacional de *Sula leucogaster* nidificantes em Abrolhos nos períodos secos (barra cinza clara, abril a setembro) e chuvosos (barra cinza escura, outubro a março), com base no monitoramento de ninhos ativos na ilha Santa Bárbara entre setembro de 2018 e janeiro de 2024. Interrupção da coleta de dados entre novembro de 2019 e maio de 2022 em virtude do derramamento de óleo em praias e oceano do nordeste e pandemia da COVID 19.



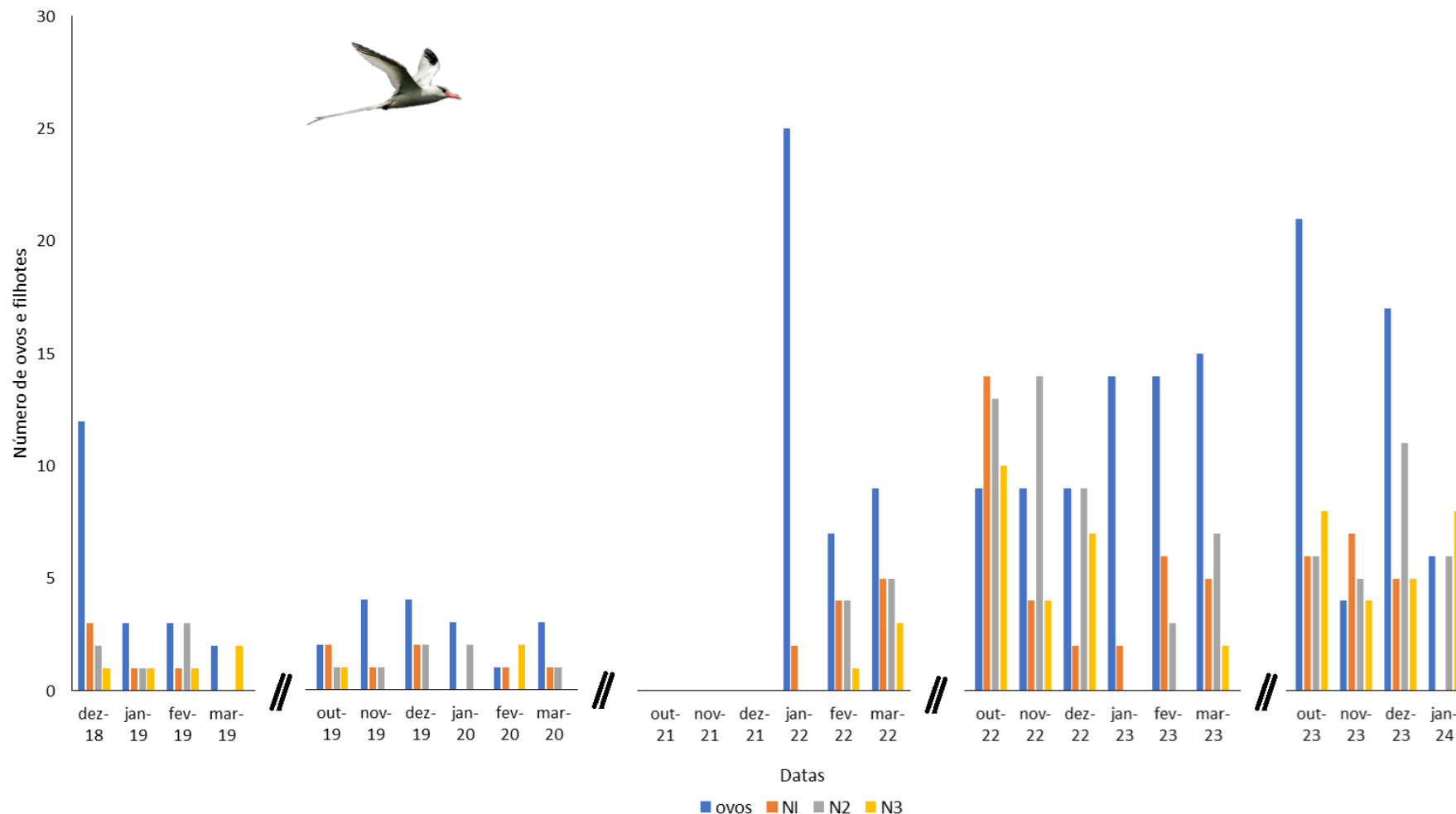
A população reprodutiva de *S. leucogaster* que vem sendo monitorada na ilha Santa Bárbara em Abrolhos variou entre 0 e 60 adultos reprodutores entre 2018 e 2024. Vale ressaltar que os períodos seco e chuvoso adotados não influenciam diretamente no indicador uma vez que os potenciais impactos do rejeito não são percebidos de forma imediata nas aves. Por exemplo, a ressuspensão dos contaminantes no fundo do mar ou aporte de novos elementos carregados pela chuva não causam a mortalidade instantânea dos adultos, alterando o tamanho populacional no arquipélago. Além disso, o período reprodutivo de *S. leucogaster* na ilha Santa Bárbara tem início nos meses chuvosos (fevereiro/março) com a corte, formação do casal e escolha dos ninhos, mas o pico reprodutivo atinge seu auge nos meses secos (abril/maio) e vai até o início do próximo período chuvoso (outubro) com os adultos reprodutores ainda no ninho protegendo seus filhotes. A partir deste mês, durante o restante do período chuvoso, a espécie não reproduz no local e os adultos registrados nos ninhos entre novembro e março são reprodutores que iniciaram suas posturas tardiamente ou reiniciaram sua reprodução com a postura de novos ovos. Analisando a tendência populacional com base nos picos reprodutivos dos ninhos monitorados na ilha Santa Bárbara percebe-se pouca variação entre os anos, no entanto, chama a atenção o número baixo de reprodutores (40 a 60 adultos) uma vez que a espécie vem apresentando declínio populacional como tendência no mundo (Almeida et al., 2020).

Figura 34: Variações interanuais do tamanho populacional de *Sterna hirundinacea* nidificantes obtida inicialmente no período pré-rompimento, a partir de dados de anilhamento realizados por pesquisadores nas Ilhas Itatiaia (Vila Velha – ES) entre 2008 e 2017 (com falhas nos anos onde não foram encontrados dados). A partir de 2019 os dados foram obtidos com base nas contagens do número de ninhos ativos nas ilhas Itatiaia e outras ilhas costeiras de Vitória (Galhetas, Cabritos, Morro do Moreno, do Boi) nos meses de junho e julho, pico de postura dos ovos da espécie. Interrupção da coleta de dados em 2018 em virtude da proibição de desembarque nas ilhas e 2020 devido à pandemia da COVID-19.



Dados do pré-rompimento da barragem obtidos de pesquisas prévias de membros da equipe estimam o tamanho populacional de *Sterna hirundinacea* entre 0 e 424 adultos reprodutores até 2016. Atualmente, dados obtidos nas expedições realizadas pela equipe do PMBA/Fest durante o inverno, pico reprodutivo da espécie nas colônias visitadas no Espírito Santo (Ilhas Itatiaia e Galheta), mostram que o número de adultos reprodutores variou entre 38 e 226 adultos, demonstrando um forte declínio entre os valores pretéritos registrados entre 1988 e 2006 (3.609 adultos – Mestre, 2006). Essa variação pode ser explicada pelo comportamento de alternância de sítios reprodutivos deste grupo de aves migratórias ao longo dos anos ou por um forte declínio populacional. No Espírito Santo, a espécie costuma concentrar ou distribuir sua população reprodutiva entre as ilhas de Vitória, Vila Velha, Guarapari e Itapemirim, em simpatria com o outro trinta-réis migratório de bico amarelo, *Thalasseus acutiflavus*. No entanto, vale ressaltar que na área estudada, o arquipélago das Itatiaia, tem as maiores ilhas e é tradicionalmente o sítio mais utilizado e representativo para a espécie na região (Efe, 2004). Além disso, a diminuição das atividades de proteção e fiscalização das ilhas litorâneas do Espírito Santo realizada desde 1988 pela Associação Vila-Velhense de Proteção Ambiental – AVIDEPA vem contribuindo para o retorno das ameaças à espécie e pode também explicar a variação encontrada. Vale ressaltar que a espécie vem diminuindo suas populações ao longo dos anos em toda a costa brasileira (Efe, 2018).

Figura 35: Variações interanuais da fenologia reprodutiva de *Phaethon aethereus* nidificantes em Abrolhos nos períodos chuvosos - (outubro a março), com base no monitoramento de 27 a 139 ninhos ativos na ilha Santa Bárbara. Interrupção da coleta de dados entre outubro e dezembro de 2021 em virtude da pandemia da COVID-19. Ninhego N1: primeiro estágio do filhote, desde recém-nascido até quando ainda não há plumagem nem penas de voo. Ninhego N2: é o segundo estágio, em que o filhote começa a desenvolver a plumagem no corpo até que o seu corpo esteja totalmente coberto por plumagem, sem a presença de penas de voo. Ninhego N3: desde quando o corpo do filhote está totalmente coberto de plumagem até quando já estando pronto para voar.



O período reprodutivo de *P. aethereus* não apresenta ciclos bem definidos, sendo possível registrar ovos e filhotes em quase todos os meses do ano. Vale ressaltar que, diversos aspectos podem influenciar a variação da fenologia entre os anos, tais como variações nas condições oceanográficas, disponibilidade de alimento, condição corporal dos adultos. Nos ciclos de 2019 e 2020, a maior quantidade de posturas ocorreu nos meses de novembro e dezembro. Já no período chuvoso das temporadas reprodutivas de 2021/2022 e 2022/2023, houve um atraso na postura, sendo esta iniciada em janeiro. Na temporada de 2023/2024, dois picos de postura foram registrados em outubro e dezembro. No entanto, chama a atenção o aumento no número de ovos e filhotes nascidos a partir de janeiro de 2021, o que pode estar relacionado ao processo de desratização iniciado em agosto de 2021. No entanto, o fato de *P. aethereus* em Abrolhos estarem se alimentando em área contaminada (Nunes et al., 2022) merece atenção para seus efeitos a médio e longo prazos, em especial às taxas de nascimento e desenvolvimento dos filhotes. No período chuvoso das temporadas reprodutivas de 2019/2020 (dezembro 19 a março 20) e 2021/2022 e 2022/2023 (janeiro a março), os filhotes da fase de desenvolvimento (N2) até a fase de abandono do ninho (N3), tiveram baixo sucesso reprodutivo.

Tabela 24: Variações interanuais do sucesso reprodutivo de *Phaethon aethereus* nidificantes em Abrolhos com base no monitoramento de 27 a 139 ninhos ativos na ilha Santa Bárbara nas temporadas reprodutivas anuais de 2019 a 2023. Interrupção da coleta de dados em 2020 e 2021 em virtude da pandemia da COVID-19.

	2019	2022	2023
Ovos eclodidos	12	94	85
Ovos postos	32	179	183
Taxa de eclosão = eclodiram/postos	38%	53%	46%
Filhotes que deixaram o ninho	7	59	59
Filhotes nascidos	12	94	85
Taxa de sucesso ( <i>fledging</i> ) = voaram/nascidos	58%	63%	69%

A avaliação do sucesso de eclosão da população reprodutiva de *P. aethereus* a partir de dados obtidos mensalmente pela equipe do PMBA/Fest em parceria com a equipe do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos mostra que a taxa de eclosão ficou entre 38% e 53% e a taxa de sucesso variou entre 58% e 69%. De fato, o sucesso reprodutivo das aves pode variar por diversos fatores, como a taxa de predação, o habitat de nidificação, o cuidado parental, a disponibilidade de alimento e as mudanças no ambiente marinho. As taxas de eclosão de parte da população de Abrolhos aumentaram a partir de 2022, mas ainda estão abaixo dos valores encontrados em colônias do Caribe, área central de distribuição da espécie no Atlântico (57% em St. Eustatius, Madden, 2014; 80% no Golfo da Califórnia, Castillo-Guerrero et al., 2011; 86% em Saba, Boeken, 2016). No entanto, as taxas de sucesso dos filhotes além de aumentarem a partir de 2022, estão maiores do que as encontradas nas populações do Caribe (37% em St. Eustatius; Madden, 2014; 48% em Saba; Boeken, 2016). Ambos os aumentos podem ser reflexo da recente desratização ocorrida no arquipélago, a qual eliminou o último predador exótico de ovos e filhotes do arquipélago. No entanto, o fato das grazinas de Abrolhos estarem se alimentando em área contaminada (Nunes et al., 2022) merece atenção para seus efeitos a médio-longo prazo, em especial às taxas de eclosão dos ovos, uma vez que a contaminação pode fragilizar a casca dos ovos (Pearce et al., 1979), alterar seus volumes (Ibañez et al., 2024), inviabilizando-os e influenciando no sucesso reprodutivo e tamanho populacional da colônia (Walker et al., 2001; Shore et al., 2011).



Tabela 25: Variações interanuais das taxas reprodutivas de *S. leucogaster* nidificantes em Abrolhos com base no monitoramento de 15 a 36 ninhos ativos na ilha Santa Bárbara nas temporadas reprodutivas anuais de 2018 a 2023. Interrupção da coleta de dados entre 2020 e 2022 em virtude da pandemia da COVID 19.

	2018	2019	2023
Ovos eclodidos	9	36	25
Ovos postos	9	36	59
Taxa de eclosão = eclodiram/postos	100%	100%	42%
Filhotes que deixaram o ninho	8	33	15
Filhotes nascidos	9	36	25
Taxa de sucesso ( <i>fledging</i> ) = voaram/nascidos	89%	92%	60%

Na avaliação do sucesso de eclosão da população reprodutiva de *S. leucogaster* a partir de dados obtidos mensalmente pela equipe do PMBA/Fest em parceria com a equipe do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos na ilha Santa Bárbara percebe-se em 2023 um número maior de ovos postos em relação ao mesmo período de 2019, mas um sucesso de eclosão menor. Da mesma forma, a taxa de sucesso na população de *S. leucogaster* diminuiu. Vários fatores podem influenciar a dinâmica populacional da espécie (Whittow, 2002; Ancona et al., 2012), mas os dados merecem atenção, visto que, geralmente, mais de 70% das ninhadas de atobás resultam em sucesso (Carboneras, 1992). Vale ressaltar, que a espécie segue utilizando as mesmas áreas marinhas e os mesmos recursos alimentares do período pré rompimento da barragem de Fundão e seus tecidos biológicos amostrados se encontram contaminados com os elementos não essenciais contidos nos rejeitos (Nunes et al. 2021), o que pode causar impactos diretos de curto prazo nos indivíduos (debilidade e/ou mortalidade) e indiretos na população (Pearce et al., 1979; Walker et al., 2001; Shore et al., 2011; Ibañez et al., 2024), inviabilizando-os e influenciando no sucesso reprodutivo da colônia.

Tabela 26: Variações interanuais das taxas reprodutivas de *Sterna hirundinacea* nidificantes nas ilhas do Espírito Santo com base no registro de ovos e filhotes encontrados durante as visitas esporádicas para a contagem dos ninhos e adultos nas ilhas Itatiaia, Galheta e outras ilhas da Baía de Vitória nas temporadas reprodutivas anuais de 2019 a 2023.

	Ilhas Itatiaia				Outras ilhas			
	2019	2021	2022	2023	2019	2021	2022	2023
Ovos eclodidos	1	0	2	0	0	0	1	36
Ovos postos	2	12	162	7	0	9	6	61
Taxa de eclosão = eclodiram/postos	50%	0%	1%	0%	0%	0%	17%	59%
Filhotes que deixaram o ninho	1	0	0	0	0	0	0	19
Filhotes nascidos	1	0	2	0	0	0	1	36
Taxa de sucesso ( <i>fledging</i> ) = voaram/nascidos	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	53%

A avaliação do sucesso reprodutivo de *S. hirundinacea* nas ilhas do Espírito Santo ficou prejudicado em virtude das proibições de desembarque e da falta de periodicidade no início do projeto, bem como do surto de gripe aviária no último ano, o qual afetou principalmente as aves da família Sternidae no Brasil. Portanto, analisando os dados coletados nas expedições esporádicas entre 2019 e 2021 e as expedições quinzenais no último ano, os valores de sucesso reprodutivo de ovos e filhotes nos poucos ninhos registrados nas Ilhas Itatiaia, seguem a mesma tendência de declínio. No entanto, nas outras ilhas amostradas próximo à Baía de Vitória, ES a espécie ainda resiste em colônias pequenas e mantém seu sucesso reprodutivo de ovos e filhotes dentro da média em outras ilhas da costa brasileira (53,47% em 2005 e 50,94% em 2006 na ilha dos Cardos, SC; Fracasso e Branco, 2012).

Tabela 27: Parâmetros de diversidade genética de marcadores microssatélites analisados para as duas espécies antes e depois do rompimento da barragem de Fundão. Heterozigosidades observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ).

	<i>Sula leucogaster</i>		<i>Phaethon aethereus</i>	
	Pré	Pós	Pré	Pós
Nº amostral	41	94	48	111
Nº loci analisados	9	9	10	10
$H_o$	0,43	0,40	0,22	0,23
$H_e$	0,41	0,50	0,30	0,28
$F_{IS}$	-0,04	0,18*	0,26*	0,17*
Média de alelos	3,22 (29)	4,5 (41)	3,3 (33)	3,1 (31)
Riqueza alélica	3,21	3,92	3,27	2,80
Diversidade gênica	0,40	0,45	0,22	0,22
Proporção de loci polimórficos (%)	100	100	80	90

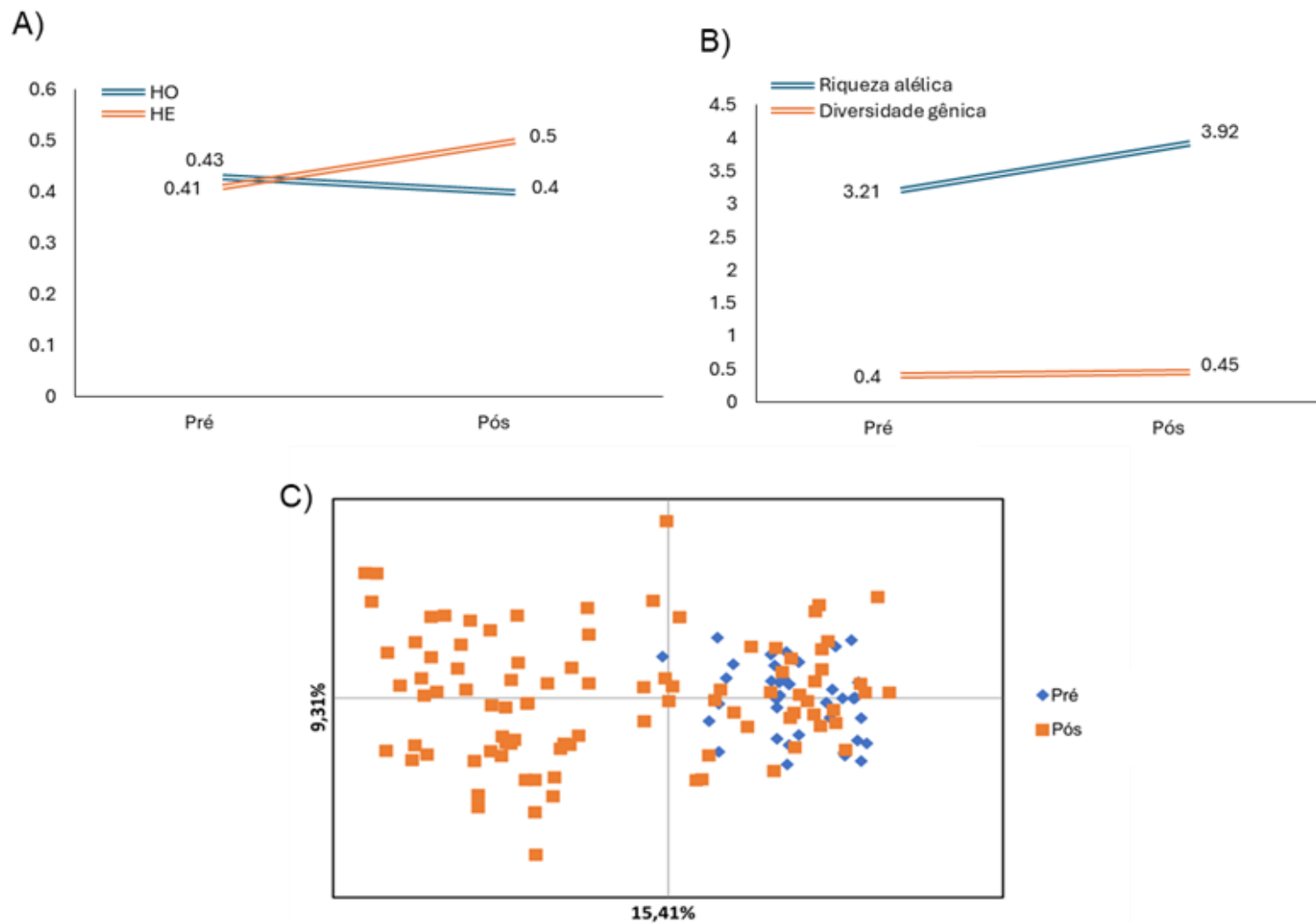
\* Indica desvios significativos do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $P < 0,0001$ ).

Um total de 135 indivíduos de *Sula leucogaster* foram analisados para nove regiões diferentes dos respectivos genomas (*loci*) contendo marcadores do tipo SSR. Desvios consistentes no desequilíbrio de ligação não foram encontrados para nenhum conjunto de dados desta espécie. As regiões analisadas exibiram um total de 29 variantes (alelos) (média de 3,22 alelos por *locus*) para as amostras coletadas antes do rompimento e 41 alelos (média de 4,5 alelos por *locus*) para as amostras coletadas depois do rompimento. Todas as regiões analisadas apresentaram variantes genéticas para ambos os conjuntos de dados. Valores descritivos da diversidade genética (média de alelos, riqueza alélica e diversidade gênica) encontrados para indivíduos de *S. leucogaster* amostrados após o rompimento, mostram-se mais altos em relação aos amostrados antes do rompimento, indicando há um aporte de novos alelos chegando na população do arquipélago de Abrolhos. Não entanto, o  $F_{IS}$  foi estimado em -0,04 (para amostras pré rompimento) e 0,18 (para amostras pós rompimento), sendo este último significativo para desvio do EHW, indicando que existe um número maior de indivíduos homozigotos do que o esperado para estas amostras.

Para *Phaethon aethereus*, um total de 159 indivíduos foram analisados para 10 diferentes loci. Não foram encontrados desvios consistentes do desequilíbrio de ligação para nenhum conjunto de dados desta espécie. Na comparação entre dados pré e pós rompimento, oito regiões analisadas foram variáveis para o conjunto pré rompimento e nove foram variáveis para as amostras pós rompimento. O  $F_{IS}$  estimado apresentou valor de 0,26 (amostras pré rompimento) e 0,17 (amostras pós rompimento), sendo ambos significativos para desvios no EHW. Esta espécie teve uma sutil perda de alelos na comparação entre os conjuntos de dados pré (33) e pós rompimento (31). O número de alelos por *locus* teve um decréscimo considerável em relação às amostras coletadas antes do rompimento, porém a diversidade gênica se manteve estável. Valores de heterozigosidade esperada e observada variaram pouco entre as amostragens feitas antes e depois do rompimento. Porém a significância dos valores

de  $F_{IS}$  para ambas as amostragens denota que esta espécie já sofre um desequilíbrio nas proporções de indivíduos heterozigotos e homozigotos desde antes do rompimento.

Figura 36: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base em marcadores de microsatélites, para *Sula leucogaster* nos períodos pré e pós rompimento da barragem de Fundão (RBM). A) Heterozigosidade Observada ( $H_O$ ) e Esperada ( $H_E$ ), B) Riqueza alélica e Diversidade gênica, e C) análise de Coordenadas Principais (PCoA).

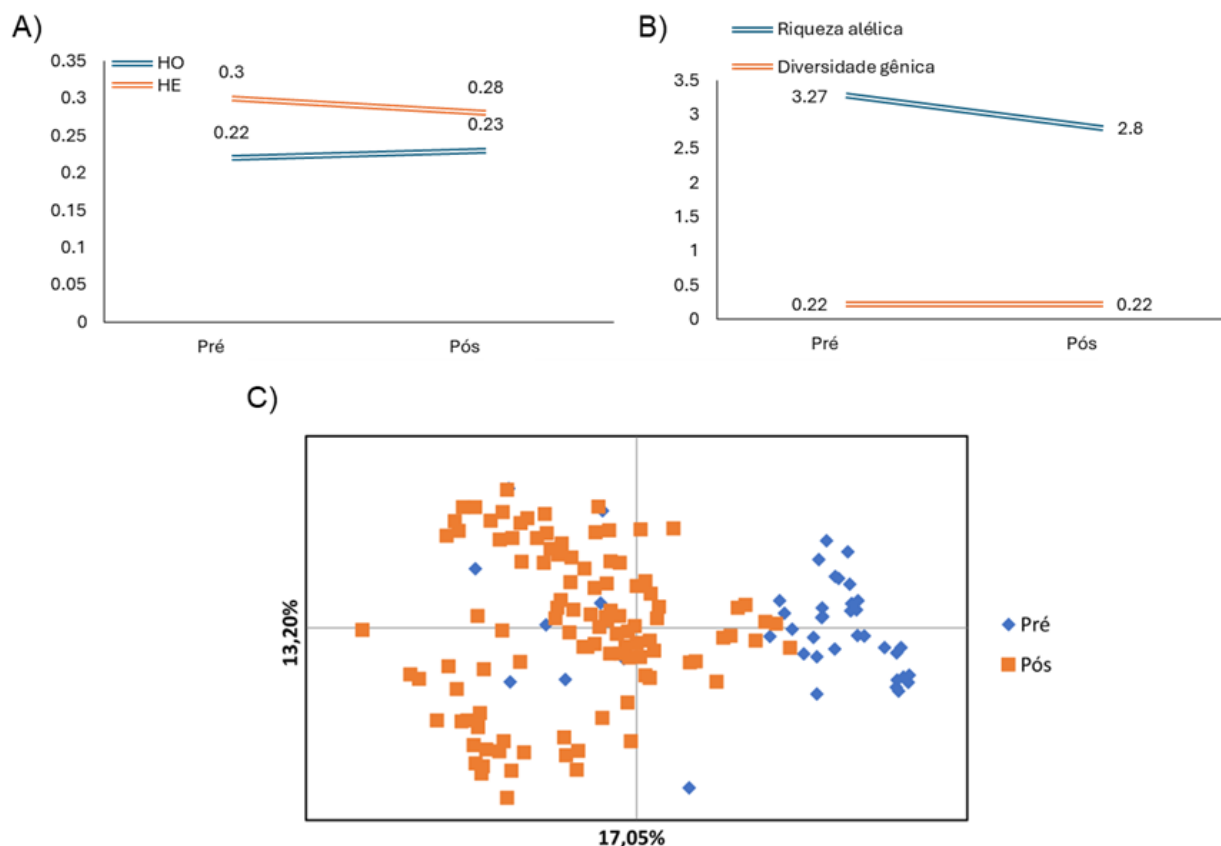


A  $H_o$  é uma medida da diversidade genética atual de uma população, que indica a proporção de indivíduos que possuem dois alelos diferentes em um *locus* específico (proporção de indivíduos heterozigotos), enquanto a  $H_e$  refere-se à proporção de heterozigotos que seria esperada em uma população, se a frequência de cada alelo não mudasse de geração para geração (população em equilíbrio de Hardy-Weinberg). Nos resultados aqui apresentados, se observa uma diminuição na  $H_o$  nas amostras coletadas pós rompimento (0,4), em comparação aos amostrados previamente ao rompimento (0,43). Adicionalmente, o valor do coeficiente de endogamia (índice que indica desvios no Equilíbrio de Hardy-Weinberg – EHW, pela presença de cruzamentos entre indivíduos aparentados, ou próximos geneticamente -  $F_{IS}$ ), foi significativo ( $p \leq 0,0001$ ) para amostras coletadas pós rompimento indicando que há um déficit de indivíduos heterozigotos maior do que o esperado para estas amostras, o que pode ser causado por endogamia.

Por outra parte, a diversidade gênica, definida como a probabilidade de que dois alelos amostrados aleatoriamente de uma população sejam diferentes (Ney, 1973), apresentou-se maior nas amostras pós rompimento (0,45) quando comparadas às amostras coletadas antes do rompimento (0,40). A riqueza alélica, uma medida do número de alelos por locus, também se mostrou ligeiramente maior nas amostras pós rompimento (3,92) do que nas amostras pré rompimento (3,21). Embora esta medida seja altamente dependente do tamanho efetivo da população e, portanto, deve ser padronizada por ser muito sensível a tamanhos irregulares de amostras, isto foi corrigido utilizando o método de rarefação (Hurlbert, 1971; El Mousadik & Petit, 1996), implementado no programa Fstat (Goudet, 1995).

A análise de componentes principais mostra que, embora exista sobreposição da composição dos alelos, as amostras coletadas depois do rompimento apresentam uma composição de alelos distinta das amostras coletadas antes do rompimento. Cabe mencionar que tais diferenças observadas podem estar associadas a variações na amostragem ao longo dos anos e a representatividade da amostra em relação ao total da população.

Figura 37: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base em marcadores de microsatélites, para *Phaethon aethereus* nos períodos pré e pós rompimento da barragem de Fundão (RBM). A) Heterozigosidade Observada ( $H_O$ ) e Esperada ( $H_E$ ), B) Riqueza alélica e Diversidade gênica, e C) análise de Coordenadas Principais (PCoA).



Em *Phaethon aethereus*, a heterozigosidade média observada se manteve quase igual entre as amostras coletadas pré e após rompimento. Já a heterozigosidade média esperada, diminuiu de 0,30 (pré rompimento) a 0,28 (após o rompimento). Valor de  $F_{IS}$  significativo ( $p \leq 0,0001$ ) para amostras coletadas pré rompimento e pós rompimento indica que há um déficit de indivíduos heterozigotos maior do que o esperado para estas amostras (Tabela 31). A diversidade gênica entre os conjuntos de dados pré e pós rompimento se manteve constante (0,22). Já a riqueza alélica apresentou queda para amostras coletadas pós o rompimento (3,27 para amostras pré rompimento e 2,80 para amostras pós rompimento).

A análise de PCoA, revelou 17% de distância genética no eixo 1. Embora exista pouca sobreposição dos pontos entre pré e pós o rompimento, a composição alélica mostra-se substancialmente distinta entre os dois conjuntos de dados. Cabe mencionar que tais diferenças observadas podem estar associadas a variações na amostragem ao longo dos anos e a representatividade da amostra em relação ao total da população.



Tabela 28: Parâmetros de diversidade genética para os marcadores microssatélites analisados por ano de coleta para *Sula leucogaster* e *Phaethon aethereus*. Heterozigosidades observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ), coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ).

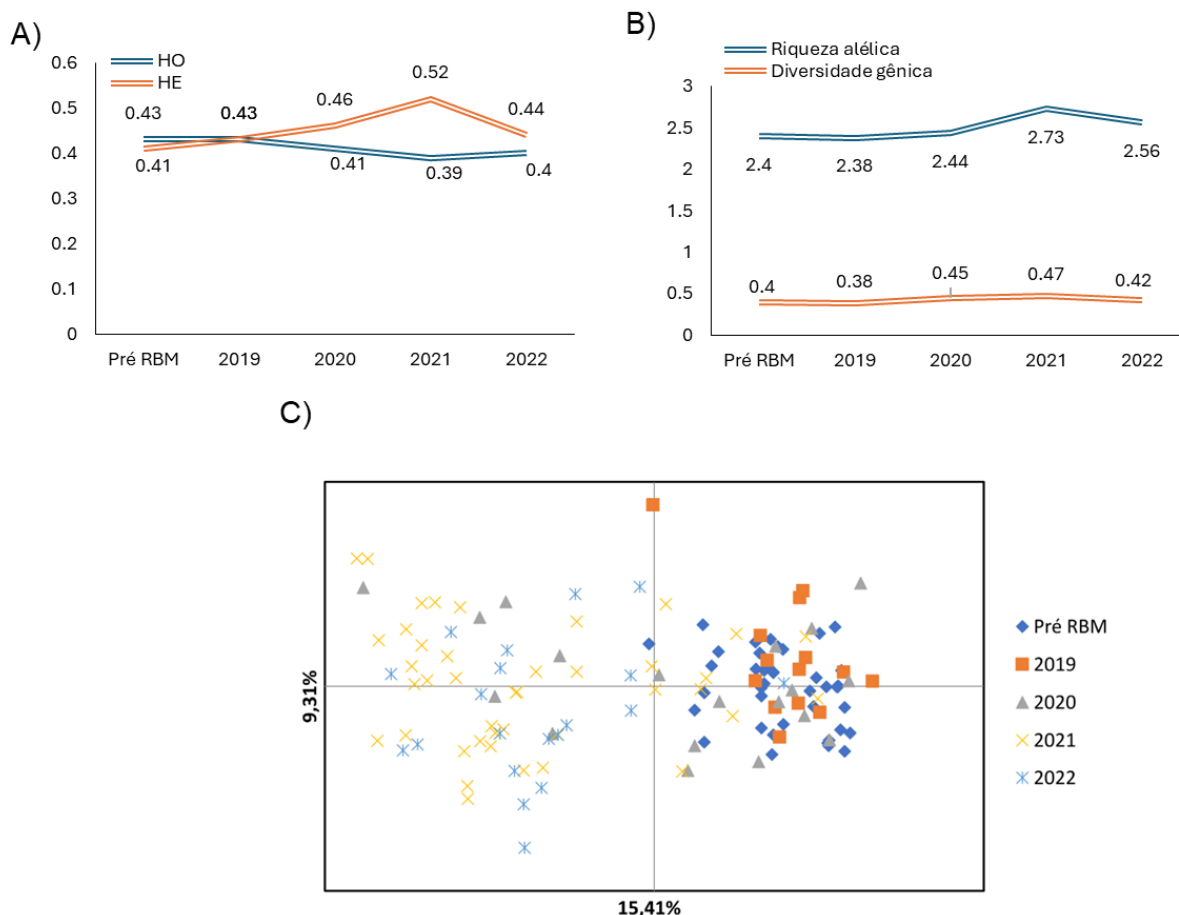
	<i>Sula leucogaster</i>					<i>Phaethon aethereus</i>				
	Pré rompimento	2019	2020	2021	2022	Pré rompimento	2018	2019	2021	2022
<b>Nº amostral</b>	41	14	19	41	20	48	20	17	56	18
<b>Nº loci analisados</b>	9	9	9	9	9	10	10	10	10	10
<b><math>H_o</math></b>	0,43	0,43	0,41	0,39	0,40	0,22	0,37	0,37	0,2	0,46
<b><math>H_e</math></b>	0,41	0,43	0,46	0,52	0,44	0,3	0,39	0,38	0,27	0,44
<b><math>F_{IS}</math></b>	-0,04	0,01	0,10	0,24*	0,08	0,26*	0,04	0,03	0,26*	-0,03
<b>Média de alelos</b>	3,22 (29)	2,77 (25)	2,88 (26)	4 (36)	3,33 (30)	3,3 (33)	2,2 (22)	2,1 (21)	3,1 (31)	2,2 (20)
<b>Riqueza alélica</b>	2,40	2,38	2,44	2,73	2,56	2,29	2,09	2,02	2,33	2,21
<b>Diversidade gênica</b>	0,40	0,38	0,45	0,47	0,42	0,22	0,26	0,18	0,22	0,24
<b>Proporção de loci polimórficos (%)</b>	100	88,8	100	100	100	80	70	60	90	50

\* Indica desvios significativos do Equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $P < 0,0001$ ).

Para *Sula leucogaster*, as amostras coletadas no ano de 2021 apresentaram o maior número de alelos (36) em comparação aos outros anos. Entretanto, esses novos alelos aparecem em homozigose na população e valores de  $H_o$ ,  $H_E$  e  $F_{IS}$  mostram que há um déficit de indivíduos heterozigotos para alguns loci analisados, desviando do EHW, o que pode ser causado por endogamia. Cabe mencionar que tais diferenças observadas podem estar associadas a variações na amostragem ao longo dos anos e a representatividade da amostra em relação ao total da população.

A comparação por ano de amostragem revela que para *Phaethon aethereus*, os dados pré rompimento apresentaram mais alelos (33) do que qualquer ano de amostragem posterior, mesmo apresentando um  $N$  amostral ligeiramente mais baixo em comparação ao ano de 2021. A proporção de loci polimórficos também foi menor nos anos de 2019 e 2022. Apesar da diminuição observada no número de alelos por *locus* nesta espécie com relação as amostras coletadas antes do rompimento, a diversidade gênica se manteve estável e os valores de riqueza alélica e diversidade gênica não oscilam muito. Embora o  $F_{IS}$ , quando analisado por ano, tenha sido significativo apenas para os dados pré rompimento e de 2021, existem indícios de que estas flutuações no número de heterozigotos na população efetiva possam ocorrer de forma recorrente. É importante ressaltar que a diversidade encontrada para esta espécie no arquipélago de Abrolhos é maior do que a encontrada para populações do Pacífico (Castillo-Guerrero et al., 2020), mesmo tendo um tamanho de população reprodutora estimada em apenas ~ 250 pares (Mancini et al., 2016). Portanto, a conservação das populações de *P. aethereus*, neste local, é extremamente necessária para manutenção de um pool genético diverso na espécie.

Figura 38: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base em marcadores de microssatélites, para *Sula leucogaster* em cada ano amostrado. Pré rompimento = dados coletados antes do rompimento da barragem de Fundão (RBM). A) Heterozigosidade Observada ( $H_O$ ) e Esperada ( $H_E$ ), B) Riqueza alélica e Diversidade gênica, e C) análise de Coordenadas Principais (PCoA).

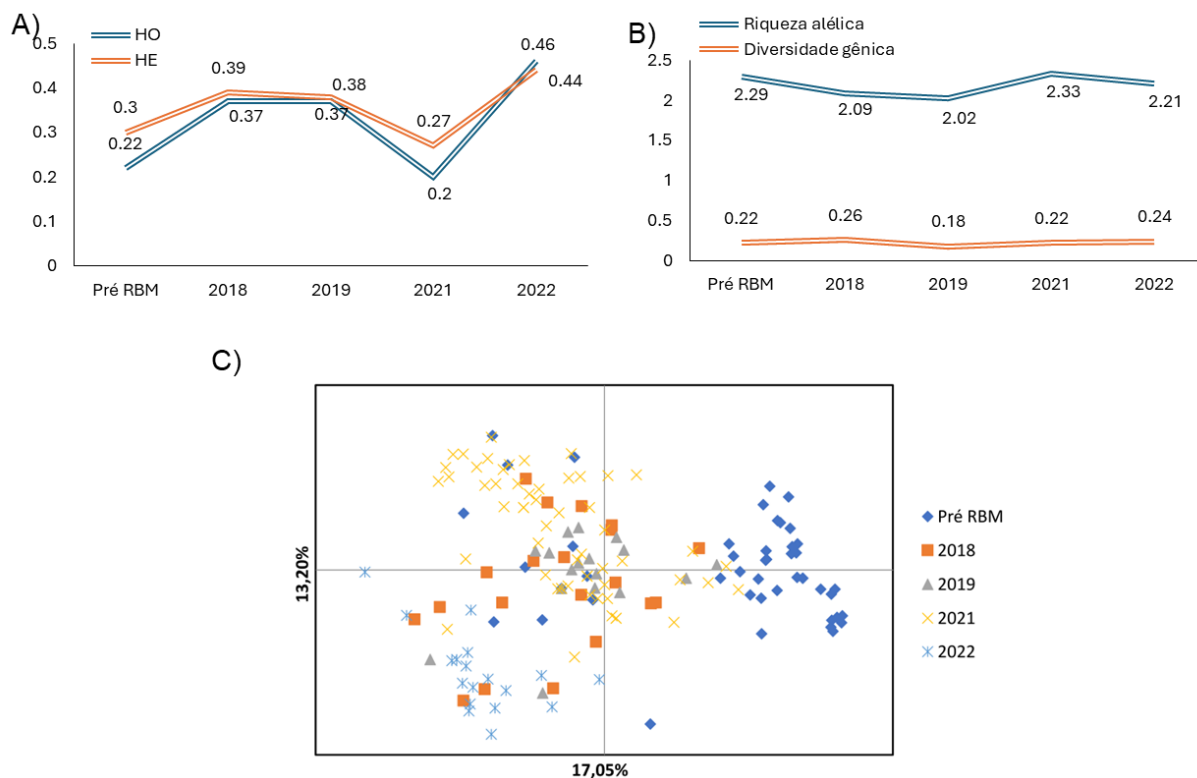


A comparação dos dados por ano de coleta não demonstrou grande variação para os índices de  $H_O$  e  $H_E$ , sendo o valor  $H_O$  mais alto encontrado de 0,43 (para amostras coletadas antes do rompimento e em 2019) e o mais baixo de 0,39 (para amostras coletadas no ano de 2021). Valores de  $H_E$  variaram de 0,41 (para amostras coletadas antes do rompimento) até 0,52 (para amostras coletadas em 2021). Um valor de  $F_{IS}$  significativo ( $p \leq 0,0001$ ) foi estimado para amostras coletadas em 2021. As amostras coletadas no ano de 2021 também apresentaram o maior número de alelos (36) em comparação aos outros anos. Entretanto, esses novos alelos aparecem em homozigose na população e valores de  $H_O$ ,  $H_E$  e  $F_{IS}$  mostram que há um déficit de indivíduos heterozigotos para alguns loci analisados, desviando do EHW, o que pode ser causado por endogamia. Cabe mencionar que tais diferenças observadas podem estar associadas a variações na amostragem ao longo dos anos e a representatividade da amostra em relação ao total da população.

Os valores de riqueza alélica oscilaram ao longo dos anos de amostragem, começando com 2,40 (para amostras pré rompimento), caindo na amostragem de 2019 e voltando a subir nos anos de 2020 e 2021, com nova queda em 2022. Valores de diversidade gênica começaram em 0,40 (para amostras pré rompimento) com leve aumento ao longo dos anos de 2020 – 2022.

A análise de PCoA, detalha mais a mudança na composição de alelos, demonstrando que amostras de 2020 começam a diferenciar-se das demais dos anos anteriores, com alelos novos aparecendo no ano de 2021 e 2022. A análise mostra que a composição gênica dos loci analisados está em processo de diferenciação com uma diferença marcante na distância genética dos dados a partir de 2020. Por ser uma espécie que apresenta filopatria natal e é monogâmica, é inesperado encontrar uma composição tão distinta de alelos daqueles amostrados antes do rompimento. A nova composição alélica, bem como maiores valores de riqueza alélica e diversidade gênica encontrados podem ser explicados por uma colonização de novos casais oriundos de outras ilhas para o arquipélago de Abrolhos. Enquanto nos momentos Pré rompimento e 2019 a composição genética é semelhante, a partir de 2020 houve uma mudança importante nesta composição, o que pode indicar uma substituição de indivíduos em Abrolhos no ano de 2021. Mudanças ambientais podem ocasionar diminuição do número de indivíduos de populações locais, dando oportunidade para que outros indivíduos migrantes ocupem a área em questão. A perda de uma única colônia pode resultar na perda de variação genética, prejudicando a capacidade da espécie de se adaptar a qualquer tipo de alterações a longo prazo. Por outra parte, embora o fluxo gênico facilitado por dispersão seja raro, ele pode ocorrer em aves marinhas filopátricas e altamente móveis (Milot et al., 2008), causando mudanças nas frequências alélicas e na diversidade gênica das populações. Cabe mencionar que tais diferenças observadas podem estar associadas a variações na amostragem ao longo dos anos e a representatividade da amostra em relação ao total da população.

Figura 39: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base em marcadores de microssatélites, para *Phaethon aethereus* em cada ano amostrado. Pré rompimento = dados coletados antes do rompimento da barragem de Fundão (rompimento). A) Heterozigosidade Observada ( $H_O$ ) e Esperada ( $H_E$ ), B) Riqueza alélica e Diversidade gênica, e C) análise de Coordenadas Principais (PCoA).



Os valores de  $H_O$  e  $H_E$  apresentaram oscilações ao longo dos anos amostrados, sendo mais altos no ano de 2022 ( $H_O = 0.46$  e  $H_E = 0.44$ ), e apresentando uma queda em 2021 com valores mais próximos aos encontrados para amostras coletadas antes do rompimento. Valor de  $F_{IS}$  significativo ( $p \leq 0,0001$ ) para amostras coletadas pré rompimento e em 2021 indica que há um déficit de indivíduos heterozigotos maior do que o esperado para estas amostras.

Os índices de diversidade gênica e riqueza alélica oscilaram pouco ao longo dos anos, e mesmo em comparação à amostragem feita antes do rompimento, ficando em torno de 0.2 e 2, respectivamente. Quando comparados os dados antes e depois do rompimento, a análise de PCoA revelou uma relativa distância genética. Porém, quando analisada por ano de coleta, esta análise mostrou que não há diferença substancial na composição de alelos dos conjuntos de dados amostrados entre os anos de 2018, 2019, 2021 e 2022. Diferentemente de *Sula leucogaster*, para a qual a análise de PCoA indicou uma mudança substancial na composição alélica para as amostras coletadas em 2021, *Phaethon aethereus* já mostra essa mudança a partir de 2018.

Tabela 29: Parâmetros de diversidade genética estimados a partir de marcadores SNPs para as *Sula leucogaster* e *Phaethon aethereus* antes e após do rompimento. Número de SNPs após filtrar por desequilíbrio de ligamento (SNPs-LD), Número de SNPs usados pelo programa Arlequin para a estimação dos índices de diversidade, permitindo um máximo de 10% de dados perdidos por sítio na população (SNP<10%), Heterozigosidades observada ( $H_O$ ) e Esperada ( $H_E$ ), Coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ), Proporção de loci polimórficos dada em porcentagem (P) e Diversidade nucleotídica ( $\pi$ ).

	<i>Sula leucogaster</i>		<i>Phaethon aethereus</i>	
	Pré rompimento	Pós rompimento	Pré rompimento	Pós rompimento
Nº amostral	19	74	16	77
SNPs-LD	193	193	359	359
SNP<10%	124	171	237	334
$H_O$	0,211	0,202	0,222	0,187
$H_E$	0,211	0,197	0,226	0,181
$F_{IS}$	-0,070	-0,083	-0,079	-0,070
P (%)	0,000535	0,000473	0,000879	0,000796
$\pi^*$	103	153	168	320

\* Valores estimados considerando todos os sítios (variantes e invariantes) para *S. leucogaster* (N = 82950) e *P. aethereus* (N = 84854).

Os esforços de sequenciamento resultaram em sequências de RADseq de 120 indivíduos de *S. leucogaster*, com uma cobertura média de 47,9x, e 117 indivíduos de *P. aethereus*, com uma cobertura média de 51,2x. Após o primeiro chamado de sítios com o Angsd, utilizando filtros básicos e permitindo um mínimo de 20% de dados faltantes por sítio, foram eliminados indivíduos com mais de 30% de dados faltantes (15 de *S. leucogaster* e 14 de *P. aethereus*). A análise de parentesco revelou a presença de indivíduos altamente relacionados ( $r_{xy} > 0,5$ ), para os quais foi removido 1 indivíduo de cada par. Após este último filtro, se manteve um total de 93 indivíduos em cada espécie, que foram utilizados nas análises subsequentes. O número total de sítios, incluindo variantes e invariantes, foi de 82.950 loci para *S. leucogaster* e 84.854 para *P. aethereus*. A diversidade nucleotídica ( $\pi$ ), que expressa o grau de polimorfismo em uma população no nível de nucleotídeos (Nei & Li, 1979), foi estimada considerando todos os sítios (variantes e invariantes) para evitar viés associado à presença de dados faltantes. Após filtrar os sítios invariáveis, foram retidos 214 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) para *S. leucogaster* e 380 para *P. aethereus*. Um último filtro de desequilíbrio de ligamento resultou em 193 e 359 SNPs para *S. leucogaster* e *P. aethereus*, respectivamente, utilizados para calcular os índices de diversidade ( $H_O$ ,  $H_E$ ,  $F_{IS}$ ,  $F_{ST}$ ) e a proporção de loci polimórficos.

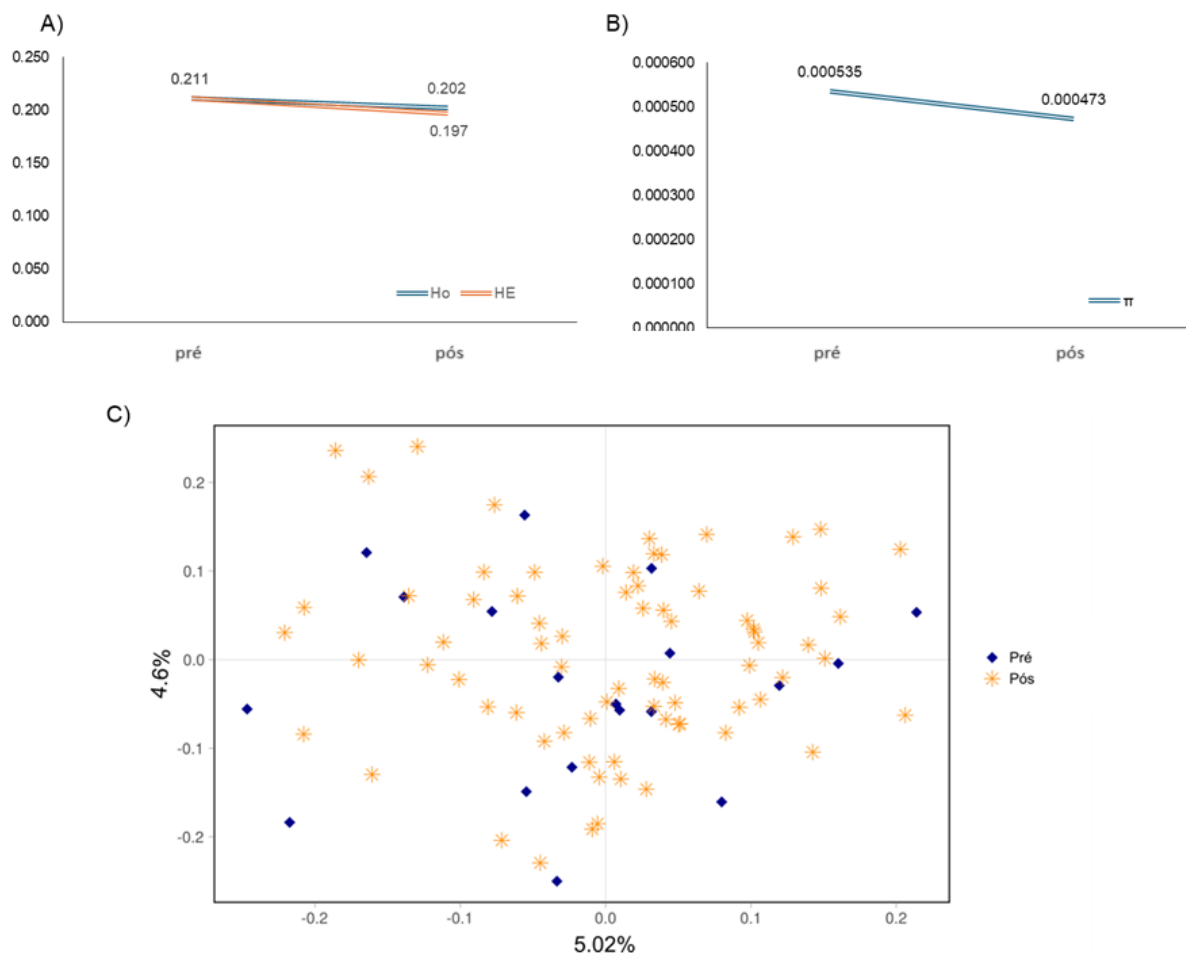
Para ambas as espécies, o conjunto de dados com a maior quantidade de dados perdidos foi nas amostras coletadas antes do rompimento (SNP <10%), possivelmente associado à qualidade e/ou quantidade do DNA extraído de amostras antigas. Na análise comparativa entre as amostras coletadas antes e depois do rompimento, observa-se uma diminuição nas diversidades de ambas as espécies entre os períodos pré e pós rompimento, tanto nas heterozigosidades quanto na diversidade nucleotídica. Apesar de apresentar algumas diferenças entre as  $H_O$  e  $H_E$ , os valores de  $F_{IS}$  foram negativos e não significativos, indicando que não há desvio do equilíbrio no EHW em nenhum dos conjuntos de dados estudados. Adicionalmente, para este tipo de marcador, observa-se um aumento

de aproximadamente 20% na proporção de loci polimórficos para as duas espécies no período pós rompimento, coincidindo com os resultados encontrados nos marcadores de SSR.

As heterozigosidades ( $H_O$  e  $H_E$ ) encontradas para as duas espécies apresentaram valores menores (quase a metade) do que os reportados anteriormente com base nos marcadores de microssatélites. Grandes diferenças entre os valores de diversidade genética estimados com SNPs e microssatélites têm sido reportadas em diversos estudos (Sunde et al., 2020; Zimmerman et al., 2020) e podem ser explicadas pelas características inerentes aos processos mutacionais de ambos os marcadores. Assim, a alta taxa de mutação e o alto grau de polimorfismo nos microssatélites, em comparação aos SNPs, podem gerar valores inflados nas heterozigosidades (Hamblin et al., 2007), fazendo com que os valores absolutos entre ambos os métodos não sejam diretamente comparáveis. No entanto, uma baixa diversidade para as duas espécies é detectada por ambos os métodos, coincidindo com o padrão encontrado em estudos prévios (Castillo-Guerrero et al., 2020; Morris-Pocock et al., 2011; 2012; Nunes et al., 2017).

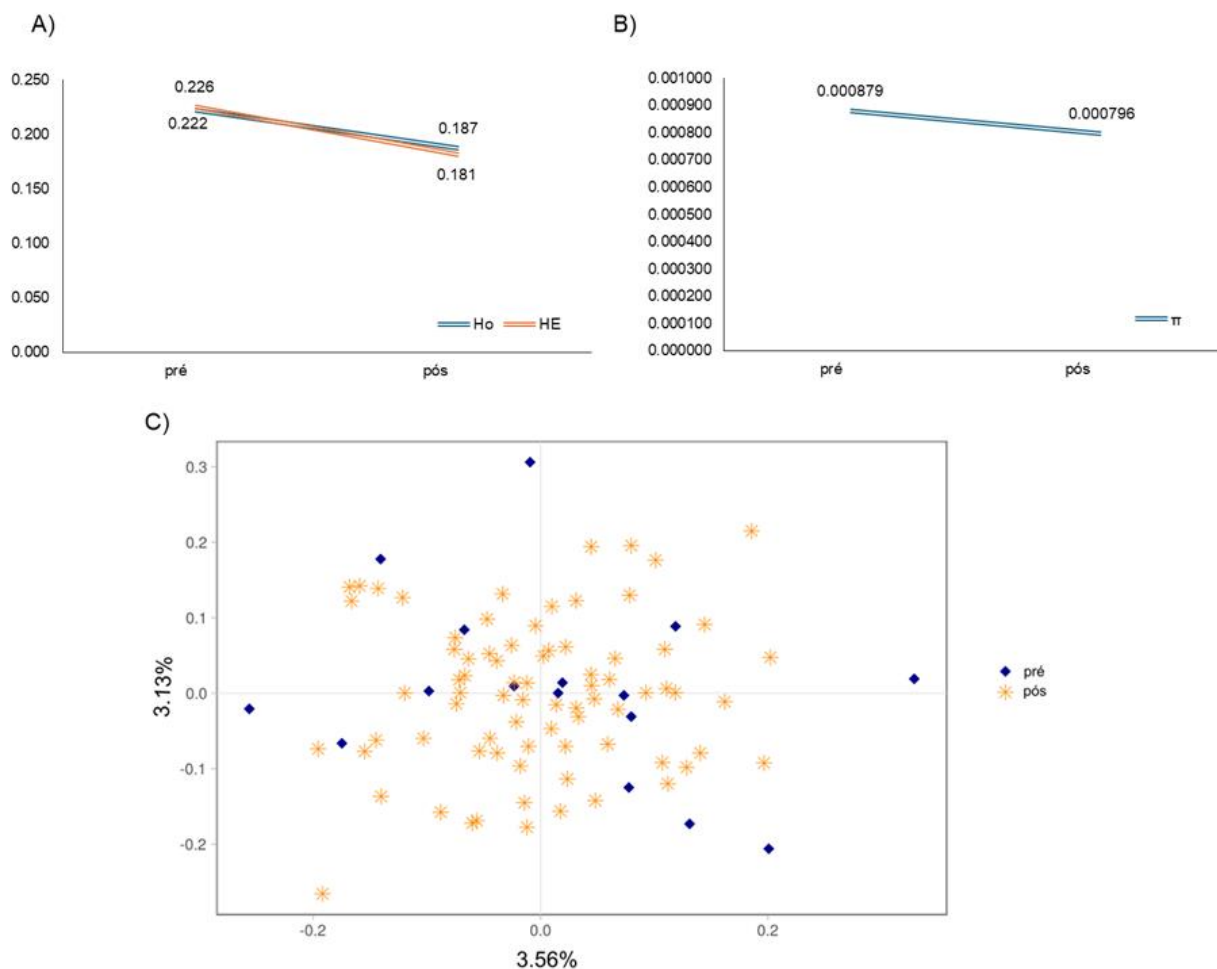


Figura 40: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base nos dados de NGS (marcadores SNPs), para *Sula leucogaster* nos períodos pré e pós rompimento da barragem de Fundão (rompimento). A) Heterozigosidade Observada ( $H_o$ ) e Esperada ( $H_e$ ), B) Diversidade Nucleotídica ( $\pi$ ), e C) Análise de Componentes Principais (PCA) com base em 214 SNPs.



As heterozigosidades observadas ( $H_o$ ) e esperadas ( $H_e$ ) para esta espécie antes do rompimento foram de 0,211, mostrando uma leve diminuição para o período posterior ao rompimento ( $H_o = 0,202$  e  $H_e = 0,197$ ). Nenhum dos conjuntos de dados apresentou desvio significativo do EHW. A diversidade nucleotídica também teve uma diminuição entre os períodos pré e pós rompimento, passando de 0,000535 para 0,000473. Esses valores são ligeiramente menores que as estimativas de  $\pi$  reportadas em estudos anteriores para *Sula* spp. em diferentes localidades no Atlântico (Morris-Pocock et al. 2011; 2012) e semelhantes às encontradas em populações do Pacífico (Taylor et al., 2013). Apesar da diferença no tamanho das amostras antes (19) e depois do rompimento (74), a PCA mostra uma ampla sobreposição nos dois conjuntos de dados, indicando ausência de diferenciação genética entre ambos os grupos para este tipo de marcador.

Figura 41: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base nos dados de NGS (marcadores SNPs), para *Phaethon aethereus* nos períodos pré e pós rompimento da barragem de Fundão, em termos de A) Heterozigidade Observada ( $H_o$ ) e Esperada ( $H_e$ ), B) Diversidade Nucleotídica ( $\pi$ ), e C) Análise de Componentes Principais (PCA) com base em 380 SNPs.



Para esta espécie as  $H_o$  e  $H_e$  amostram uma diminuição entre as amostras coletadas pré e após rompimento, passando de 0,22 (pré rompimento) a 0,18 (após o rompimento). De igual forma, a diversidade nucleotídica apresenta uma leve queda de 0.000879 a 0.000796. A análise de componentes principais não mostra diferenciação entre os conjuntos de dados.

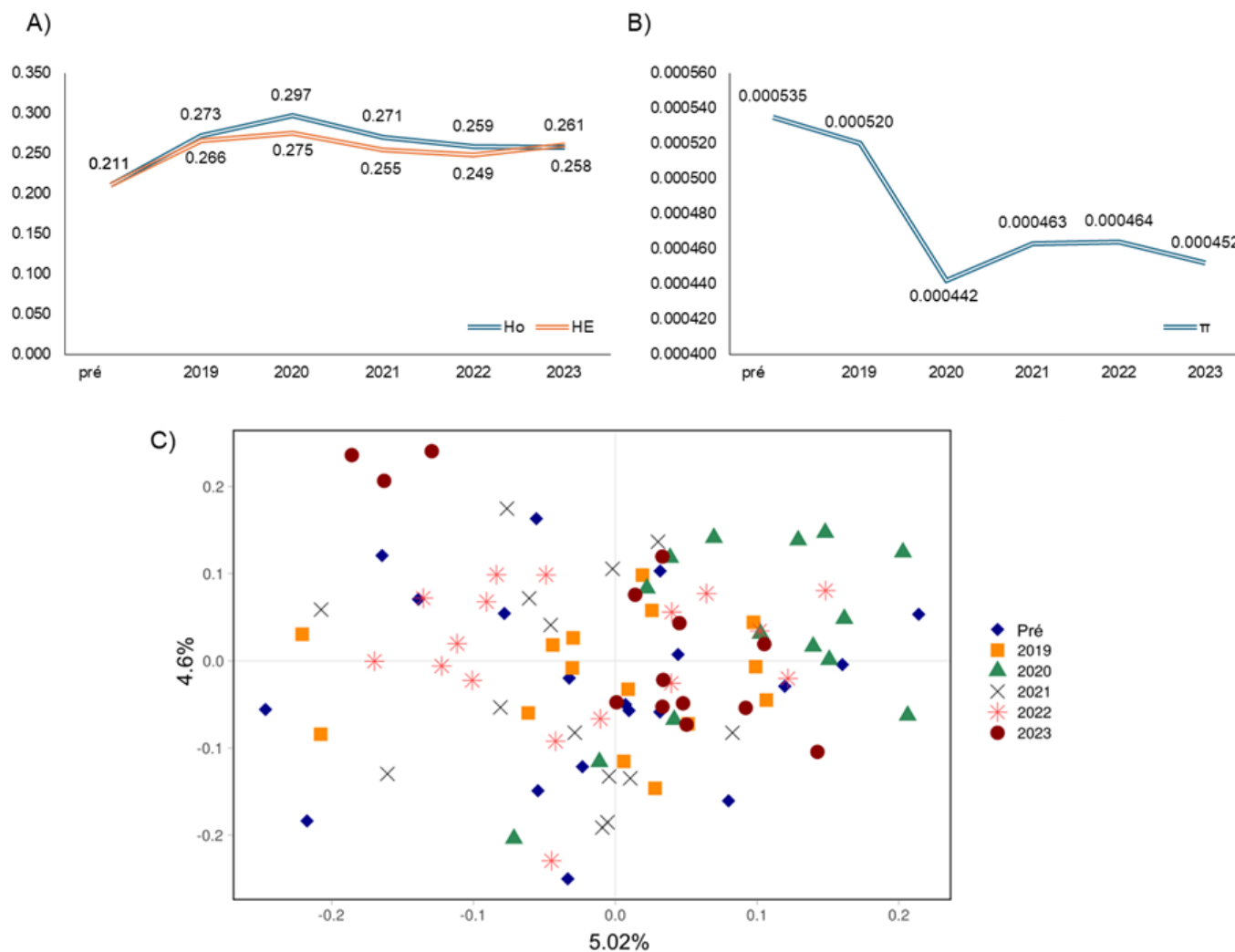
Tabela 30: Parâmetros de diversidade genética estimados a partir de marcadores SNPs para as *Sula leucogaster* e *Phaethon aethereus* antes do rompimento e ao longo dos cinco anos amostrados. Número de SNPs após filtrar por desequilíbrio de ligamento (SNPs-LD), Número de SNPs usados pelo programa Arlequin para a estimação dos índices de diversidade, permitindo um máximo de 10% de dados perdidos por sítio na população (SNP<10%), Heterozigosidades observada ( $H_o$ ) e Esperada ( $H_e$ ), Coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ), Proporção de loci polimórficos dada em porcentagem (P) e Diversidade nucleotídica ( $\pi$ ).

	<i>Sula leucogaster</i>						<i>Phaethon aethereus</i>					
	Pré	2019	2020	2021	2022	2023	Pré	2018	2019	2021	2022	2023
N amostral	19	15	14	14	17	14	16	9	16	19	15	18
SNPs-LD	193	193	193	193	193	193	359	359	359	359	359	359
SNP<10%	124	129	153	170	184	175	237	240	273	334	298	329
$H_o$	0,211	0,273	0,297	0,271	0,259	0,258	0,222	0,275	0,230	0,243	0,241	0,236
$H_e$	0,211	0,266	0,275	0,255	0,249	0,261	0,226	0,278	0,226	0,230	0,238	0,232
$F_{IS}$	-0,070	-0,134	-0,132	-0,111	-0,056	-0,018	-0,079	-0,069	-0,083	-0,080	-0,060	-0,059
P (%)	83,1	68,9	62,1	64,1	69,6	67,4	70,9	60,8	76,2	73,4	73,2	74,5
$\pi$	0,000535	0,000520	0,000442	0,000463	0,000464	0,000452	0,000879	0,000797	0,000810	0,000774	0,000775	0,000821

A comparação por ano de amostragem mostra uma maior variação na proporção de loci polimórficos para *S. leucogaster* do que para *P. aethereus*. A proporção de loci polimórficos de *S. leucogaster* é maior antes do rompimento (83%) do que em qualquer um dos outros anos estudados. Nesta espécie, observa-se uma diminuição no polimorfismo até o ano de 2020 (62%), seguida de um aumento nos anos subsequentes. Por sua vez, os valores de heterozigosidade aumentam, atingindo seu ápice em 2020 e diminuindo subsequentemente. Altos níveis de polimorfismo em Abrolhos também foram detectados com os microssatélites e em estudos prévios (Nunes & Bugoni, 2018)

Para *P. aethereus*, também é perceptível uma redução no polimorfismo em 2018 (60%). Contudo, a partir de 2019, os valores aumentam, e se mantem em níveis superiores ao rompimento. As heterozigosidades de ambas as espécies são similares, e o coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) foi negativo e não significativo em todos os conjuntos de dados. Já a diversidade nucleotídica é maior em *P. aethereus* do que em *S. leucogaster*, exibindo flutuações ao longo dos anos para ambas as espécies.

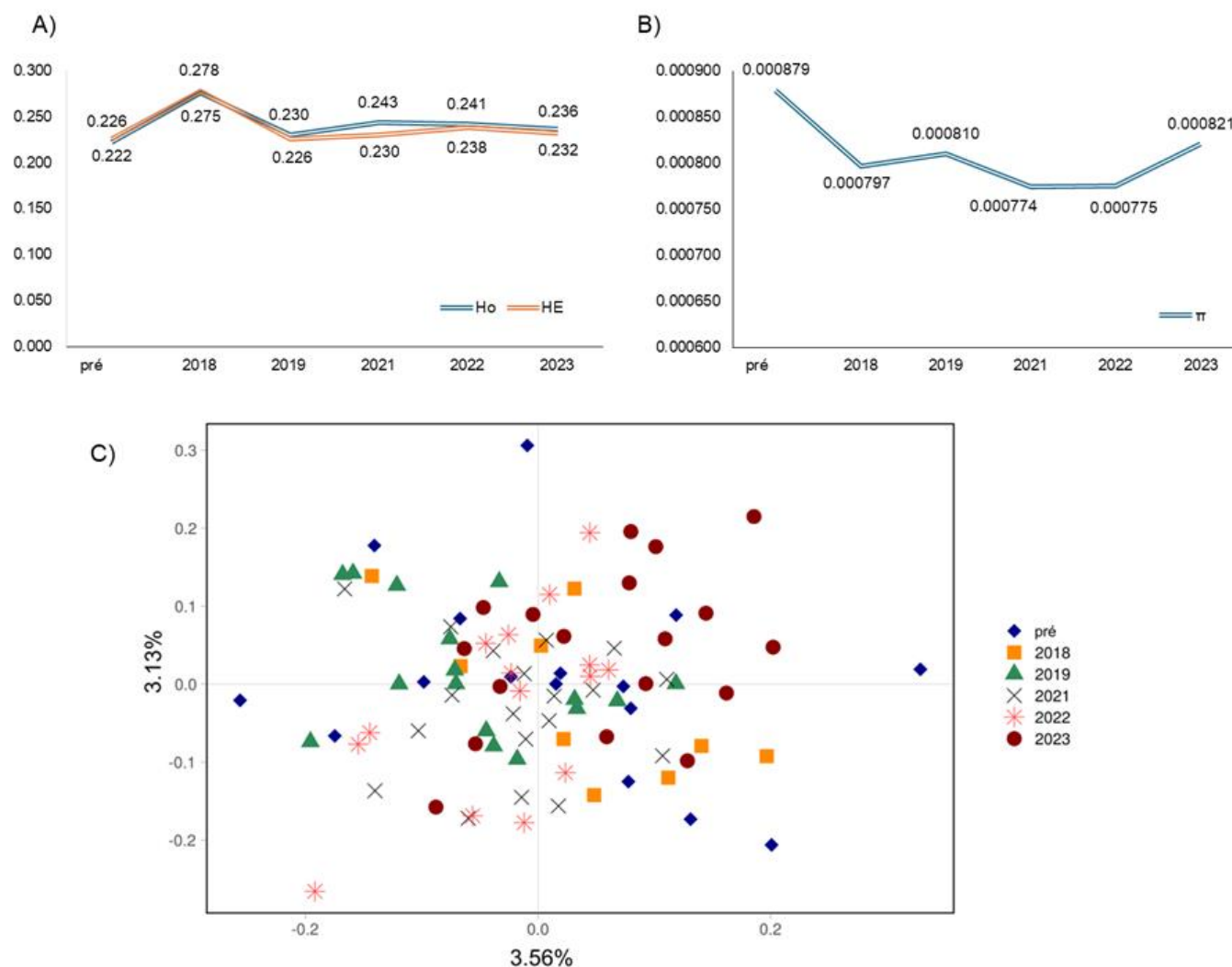
Figura 42: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base nos dados de NGS (marcadores SNPs), para *Sula leucogaster* nos cinco anos amostrados. Pré = dados coletados antes do Rompimento da Barragem de Fundão. A) Heterozigosidade Observada ( $H_o$ ) e Esperada ( $H_e$ ), B) Diversidade Nucleotídica ( $\pi$ ), e C) Análise de Componentes Principais (PCA) com base em 214 SNPs.



A comparação dos valores das heterozigosidades por ano de coleta revela um aumento nos anos 2019 e 2020 em relação ao pré rompimento ( $H_o$  de 0,211 a 0,373 e 0,297 respectivamente), seguido por uma diminuição progressiva até o ano de 2023 (0,261). Apesar de observar uma diferença entre os valores de  $H_o$  e  $H_e$  entre os anos de 2020 e 2022, ao contrário dos resultados obtidos com microsatélites, nenhum dos valores de  $F_{IS}$  mostrou-se estatisticamente significativo, sugerindo que as amostras coletadas nos diferentes anos estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (EHW). Por outro lado, os valores de  $\pi$  apresentaram uma queda nos anos posteriores ao rompimento, atingindo o mínimo em 2020, seguido por uma leve recuperação em 2021. A análise de componentes principais mostra uma sobreposição completa entre todos os conjuntos de dados, contrastando com os resultados obtidos com os microsatélites, onde uma diferenciação na composição alélica pode ser observada. No entanto, o aumento nos valores de  $\pi$  e na proporção de loci polimórficos observados a partir do ano de 2020 coincide com os resultados obtidos com os SSR, apoiando a hipótese da possível chegada em Abrolhos de novos indivíduos de outras localidades nestes anos.

Além do arquipélago de Abrolhos, existem outras colônias reprodutivas desta espécie ao longo das costas do Brasil, entre as quais se encontram o Arquipélago de Fernando de Noronha, Moleques do Sul e ilhas Cagarras, sendo estas últimas as mais próximas (Nunes & Bugoni, 2018). Embora as populações locais em cada colônia estejam estruturadas devido à alta filopatria e à dependência da espécie das condições locais, as flutuações anuais na disponibilidade de recursos podem influenciar o padrão de dispersão. Indivíduos anilhados em Moleques têm sido encontrados em Cagarras, Abrolhos, Rocas e Fernando de Noronha (Nunes & Bugoni, 2018). Além da proximidade geográfica, a similaridade nas condições ambientais pode favorecer a dispersão e, conseqüentemente, o fluxo de genes entre indivíduos dessas diferentes colônias (Nunes & Bugoni, 2018).

Figura 43: Comparação das medidas de diversidade genética, calculadas com base nos dados de NGS (marcadores SNPs), para *Phaethon aethereus* em cada um dos cinco anos amostrados. Pré = dados coletados antes do Rompimento da Barragem de Fundão. A) Heterozigosidade Observada ( $H_o$ ) e Esperada ( $H_e$ ), B) Diversidade Nucleotídica ( $\pi$ ), e C) Análise de Componentes Principais (PCA) com base em 380 SNPs.



Para esta espécie, os índices de  $H_O$  e  $H_E$  atingiram o pico no ano de 2018, alcançando 0,28. No ano de 2019, esses valores retornaram aos níveis observados antes do rompimento (aproximadamente 0,23) e permaneceram mais ou menos constantes nos anos seguintes. Os valores identificados neste estudo coincidem com os recentemente relatados para populações de *Phaethon rubricauda* do Pacífico utilizando marcadores de SNPs (Varela et al., 2024). Por outro lado, a diversidade nucleotídica oscilou ao longo dos anos, atingindo os maiores valores em 2019 e 2023 (próximos de 0,0008); no entanto, todos os valores são inferiores aos encontrados antes do rompimento. Para esta espécie, a análise de PCA também não revela diferenciação genética entre os dados dos diferentes anos amostrados com este marcador molecular.



Tabela 31: Valores de  $F_{ST}$  por pares com base nos SNPs estimados para *Sula leucogaster* entre os distintos anos amostrados.

<b>2023</b>					
-0,004	<b>2022</b>				
-0,001	-0,001	<b>2021</b>			
0,009	0,017	0,007	<b>2020</b>		
0,006	-0,005	-0,003	0,013	<b>2019</b>	
0,003	-0,010	-0,010	0,003	-0,014	<b>2011</b>

O índice de fixação ( $F_{ST}$ ) mede o grau de diferenciação genética entre duas populações, de modo que valores significativos e próximos de 0 (ou negativos) indicam a ausência de diferenciação, enquanto valores próximos a 1 indicam uma forte diferenciação genética, com muitos alelos fixados de maneira distinta em cada população (Nei, 1977). Para *S. leucogaster*, o  $F_{ST}$  entre os dados pré-rompimento e pós-rompimento foi de -0,00740. A análise entre os diferentes anos apresentou valores muito próximos de zero ou negativos, e nenhuma das comparações foi estatisticamente significativa, indicando a ausência de estruturação genética entre os conjuntos de dados.

Tabela 32: Valores de  $F_{ST}$  por pares com base nos SNPs estimados para *Phaethon aethereus* entre os distintos anos amostrados.

<b>2023</b>					
0.000	<b>2022</b>				
0.004	-0.003	<b>2021</b>			
0.000	-0.009	-0.003	<b>2019</b>		
-0.014	-0.013	-0.013	-0.003	<b>2018</b>	
-0.001	-0.010	0.005	0.003	-0.004	<b>2011</b>

Para *P. aethereus* o  $F_{ST}$  por pares entre os dados pré e pós rompimento foi de -0,00055 e não significativo. Na análise comparativa entre os anos amostrados, a maioria dos valores de  $F_{ST}$  foi negativa e nenhum deles atingiu significância estatística, sugerindo a ausência de diferenciação genética entre os conjuntos de dados analisados.

Tabela 33: Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) de *Sula leucogaster*, estimado para cada ano de amostragem com base em 193 SNPs, usando ponto de corte de frequência alélica de 0,05. IC = Limite inferior e superior estimado do intervalo de confiança para o  $N_e$ .

Ano	$N_e$	IC
Pré rompimento	214,7	60,4 – Infinito
2019	2161,4	99,3 – Infinito
2020	Infinito	80,4 – Infinito
2021	Infinito	85,6 – Infinito
2022	Infinito	377,7 – Infinito
2023	3749,9	82,9 – Infinito

Nesta análise, a maioria dos resultados apresentou valores infinitos, possivelmente explicados por erro de amostragem (Waples & Do, 2010; Waples et al., 2013). O baixo tamanho amostral, tanto no número de indivíduos (< 25), quanto na quantidade de marcadores utilizados nas análises, pode ter influenciado nesses resultados (Marandel et al., 2020).

O tamanho efetivo de *S. leucogaster* só pode ser estimado para os conjuntos de dados pré-rompimento, 2019 e 2023, mostrando um incremento progressivo de 214 no período pré-rompimento a 2161 no 2019 e 3749 no 2023. Para os anos restantes, apenas o limiar inferior do intervalo de confiança pôde ser estimado. No entanto, embora essas estimativas sejam pouco confiáveis, os valores dos limiares inferiores podem fornecer uma ideia sobre os limites plausíveis do  $N_e$  (Waples & Do, 2010; Waples et al., 2013). Neste sentido, o  $N_e$  desta população parece oscilar ao longo dos anos, com valores mínimos entre 60 e 400 indivíduos. Após o rompimento, observa-se uma queda no limite inferior em 2020. Esta diminuição também foi observada nos censos realizados pelo ICMBio (ICMBio, 2021), no “Programa de Monitoramento das Aves Marinhas do Parque Nacional dos Abrolhos” e nos tamanhos populacionais estimados com base no anilhamento e contagem de indivíduos, através dos quais se estima que neste ano a população poderia ser de aproximadamente 200 indivíduos.

Tabela 34: Tamanho efetivo populacional ( $N_e$ ) de *Phaethon aethereus*, estimado para cada um dos cinco anos de amostragem com base em 351 SNPs, usando ponto de corte de frequência alélica de 0,05. IC = Limite inferior e superior estimado do intervalo de confiança para o  $N_e$ .

Ano	$N_e$	IC
Pré rompimento	Infinito	135,7 -Infinito
2018	Infinito	230,2 -Infinito
2019	860,5	126,8 -Infinito
2021	Infinito	198,1 -Infinito
2022	605,2	106,9 -Infinito
2023	Infinito	278,2 -Infinito

Para esta espécie, também foram obtidos muitos valores de  $N_e$  = infinito. No entanto, para os anos de 2019 e 2022, estimou-se um tamanho efetivo de 860 e 605 indivíduos, respectivamente. Além disso, entre os diferentes anos, os limites inferiores nos intervalos de confiança apresentam menos variação do que para *S. leucogaster*, indicando que esta espécie poderia estar mantendo um  $N_e$  mais estável ao longo do tempo. Esses resultados também concordam com os tamanhos populacionais estimados a partir do anilhamento e contagem de indivíduos, os quais indicam uma população de aproximadamente 700 indivíduos ao longo dos anos amostrados. Nunes et al. (2017) relatam resultados semelhantes nesta população para o período pré rompimento com base em marcadores de microsatélites, e destacam o fato de que esses tamanhos são muito inferiores aos considerados necessários para manter o potencial evolutivo de uma população ( $N_e$  = 500–5000). Considerando que a população de Abrolhos representa a maior colônia reprodutiva desta espécie ameaçada no Brasil, torna-se imperativo o seu monitoramento e conservação.

Tabela 35: Lista das amostras coletadas por espécie, por ano no Arquipélago de Abrolhos e Regência (Foz do Rio Doce) durante o período chuvoso e seco, até o quinto ano de monitoramento e período chuvoso do sexto ano. Legenda: N: total de indivíduos amostrados no período; \* amostras não coletadas devido à pandemia de COVID-19; - não tiveram amostras coletadas no período. <sup>1</sup>

Amostras coletadas apenas no período chuvoso do Ano 6 (Jan/2024).

### ABROLHOS

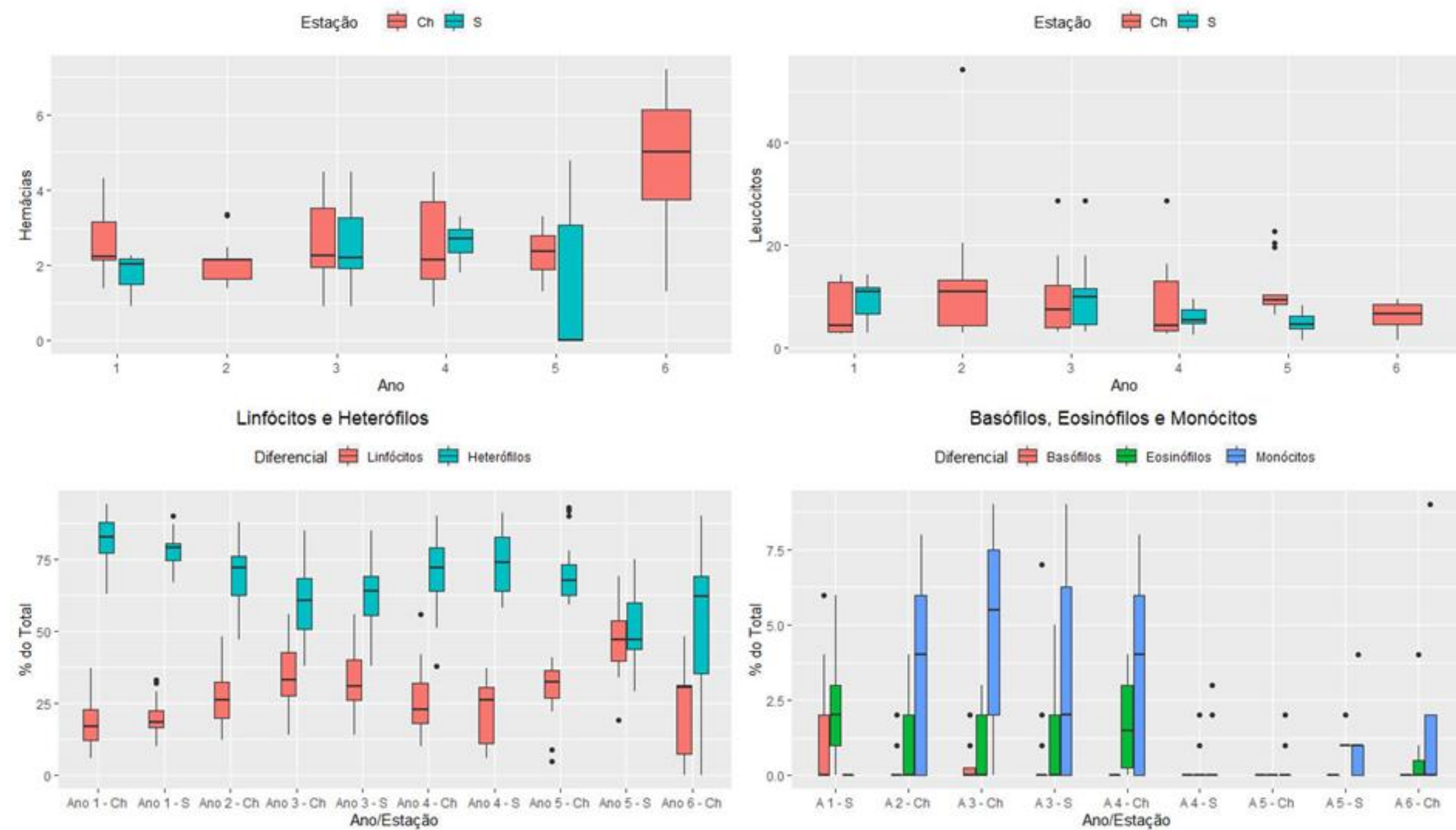
ESPÉCIE/PERÍODO	Chuvoso (outubro-março)				Seco (abril-setembro)			
	N	Esfregaços	Suabes	Sangue	N	Esfregaços	Suabes	Sangue
<i>Phaethon aethereus</i>								
ANO 1 (2018/2019)	22	22	22	22	16	16	16	16
ANO 2 (2019/2020)	27	27	27	27	*	*	*	*
ANO 3 (2020/2021)	27	20	27	20	30	30	27	30
ANO 4 (2021/2022)	21	21	21	21	19	19	19	19
ANO 5 (2022/2023)	20	20	20	20	20	12	20	12
ANO 6 (2023/2024) <sup>1</sup>	20	0	20	19	-	-	-	-
<i>Sula leucogaster</i>								
ANO 1 (2018/2019)	-	-	-	-	33	33	20	33
ANO 2 (2019/2020)	21	21	21	21	*	*	*	*
ANO 3 (2020/2021)	20	20	16	16	20	20	20	20
ANO 4 (2021/2022)	11	10	11	11	21	21	21	21
ANO 5 (2022/2023)	21	21	21	21	20	5	20	5
ANO 6 (2023/2024)	12	0	12	12	-	-	-	-

REGÊNCIA/FOZ DO RIO DOCE

ESPÉCIE/PERÍODO	Chuvoso (outubro-março)				Seco (abril-setembro)			
	N	Esfregaços	Suabes	Sangue	N	Esfregaços	Suabes	Sangue
<i>Sterna hirundo</i>								
ANO 5 (2022/2023)	23	23	23	23	23	0	23	0
ANO 6 (2023/2024)	19	18	18	18	-	-	-	-
<i>Sternula superciliaris</i>								
ANO 5 (2022/2023)	4	4	4	4	4	0	4	0
ANO 6 (2023/2024)	0	0	0	0	-	-	-	-
<i>Thalasseus acutiflavus</i>								
ANO 5 (2022/2023)	9	9	9	9	30	18	30	18
ANO 6 (2023/2024)	2	2	2	2	-	-	-	-

Para a coleta de amostras biológicas, foram realizadas expedições ao Arquipélago de Abrolhos. Ano um, estação chuvosa (novembro de 2018 e fevereiro 2019), no qual foram amostrados 22 indivíduos de *Phaethon aethereus* e estação seca (abril de 2019) no qual foram amostrados 16 indivíduos de *P. aethereus* e 33 indivíduos de *Sula leucogaster*. Ano dois, na estação chuvosa (fevereiro de 2020) foram amostrados 27 indivíduos de *P. aethereus* e 21 indivíduos de *S. leucogaster*. Contudo, não foram realizadas coletas da estação seca no ano de 2020 devido à pandemia de COVID-19. Ano três de monitoramento, foram coletadas amostras na estação chuvosa (fevereiro de 2021) de 27 indivíduos de *P. aethereus* e 20 indivíduos de *S. leucogaster*. Na estação seca (agosto de 2021) foram amostrados 30 indivíduos *P. aethereus* e 20 indivíduos de *S. leucogaster*. No quarto ano de monitoramento, na estação chuvosa (março de 2022) foram amostrados 21 indivíduos de *P. aethereus* e 11 indivíduos de *S. leucogaster*. Na estação seca (agosto de 2022), foram amostrados 19 indivíduos de *P. aethereus* e 21 indivíduos de *S. leucogaster*. No quinto ano de monitoramento, na estação chuvosa (março de 2023), foram amostrados 20 indivíduos de *P. aethereus* e 21 de *S. leucogaster*. Na estação seca setembro de 2023, foram amostrados 20 indivíduos de *P. aethereus* e 20 de *S. leucogaster*. No sexto ano, na estação chuvosa, foram amostrados 20 indivíduos de *P. aethereus* e 12 de *S. leucogaster*. Na Foz do Rio Doce, em Regência, no quinto ano de monitoramento, na estação chuvosa (dezembro de 2022), foram amostrados 23 indivíduos de *Sterna hirundo*, 4 de *Sternula superciliaris*, e 9 de *Thalasseus acutiflavus*. Na estação seca (setembro de 2023), foram amostrados 19 indivíduos de *Sterna hirundo*, e dois indivíduos de *Thalasseus acutiflavus*. Dos indivíduos amostrados, foram realizados coleta de sangue, esfregaços sanguíneos, suabes de orofaringe e cloaca.

Figura 44: Contagem de hemácias, leucócitos e seus diferenciais de *Phaethon aethereus* durante o período chuvoso e seco, até o período chuvoso do Ano 6. Ano 2, na estação seca, as amostras não foram coletadas devido à pandemia de COVID-19. Legenda: A 1-Ch: Ano 1 – Chuvoso; A 1-S: Ano 1 – Seco; A 2 – Ch: Ano 2 – Chuvoso; A 3 – Ch: Ano 3 – Chuvoso; A 3 – S: Ano 3 – Seco; A 4 – Ch: Ano 4 – Chuvoso; A 4 – S: Ano 4 – Seco; A 5 – Ch: Ano 5 – Chuvoso; A 5 – S: Ano 5 – Seco; A 6 – Ch: Ano 6 – Chuvoso. Os pontos pretos representam valores atípicos (*outliers*); as caixas coloridas representam percentis de 25% (limite inferior) e 75% (limite superior); a linha escura horizontal dentro da caixa representa a mediana; e as barras verticais representam valores mínimo (barra abaixo da caixa) e máximo (barra acima da caixa).





Os resultados das contagens das hemácias e leucócitos realizados, vieram mostrando alterações significativas durante os anos de monitoramento. Logo no primeiro ano, algumas aves apresentaram a contagem de hemácias abaixo dos valores de referência para uma ave hígida, na estação seca. Contudo, depois do primeiro ano, até o sexto ano de monitoramento, alguns indivíduos, apresentaram esses valores abaixo também na estação chuvosa. Na maioria das espécies de aves, os valores normais de hemácias estão entre 35% e 55% (Campbell, 1994). Valores mais baixos são considerados indicadores de anemia, onde de 25% a 35% é considerado moderada e, menor que 20%, severa. Resultados de hemácias baixas (anemia) foram marcantes, na estação chuvosa, do terceiro até o sexto ano. Nas extensões sanguíneas, foi possível ver hipocromasia, que pode estar relacionada com perda de sangue, inflamação, com a deficiência de ferro e anemia pouco regenerativa, regeneração essa que foi vista em algumas aves. Também se observa hipocromasia na intoxicação por chumbo ou zinco (Mitchell e Johns, 2008). Hemoconcentração e “roleux” eritrocitário, podendo ser associado a anemias imunomediadas, estresse por contenção e, principalmente, a desidratação (Fourie & Hatting, 1983), sendo esse último sinal clínico, presente em todos os anos de monitoramento, verificada no momento da venopunção. O restante das aves analisadas, apresentaram valores que estavam dentro dos padrões, indicativo de aves em condição satisfatórias de saúde neste método analítico. Os resultados das contagens de leucócitos realizadas, não tiveram grandes alterações e em sua grande maioria mantiveram-se dentro dos padrões de normalidade. Contudo, foram diagnosticados indivíduos, no segundo ano, na estação chuvosa, no terceiro ano em ambas as estações, no quarto ano na estação chuvosa, e no quinto ano, estação chuvosa, que apresentaram uma contagem superior de leucócitos e heterófilos, configurando uma leucocitose por heterofilia. Uma causa é o estresse, que produzirá uma leucocitose fisiológica caracterizada como leucograma de estresse com leucocitose com heterofilia. Além de inflamação (por causas infecciosas ou não), exposição a toxinas, hemorragias da cavidade corporal, neoplasias de crescimento rápido e leucemia (Jaench & Clark, 2004). Algumas aves do quinto ano, estação seca, apresentaram um número abaixo de leucócitos, configurando uma intensa leucopenia, podendo ser causado por infecções endotoxêmicas e septicêmicas, doenças nutricionais, anafilaxia, radiação ou reações autoimunes (Capitelli & Crosta, 2013). Uma predominância relativa de heterófilos sobre os linfócitos foi observada em todos os períodos analisados, sendo os heterófilos com maior frequência em relação a todos os tipos celulares diferenciais. Foram observados heterófilos imaturos (regeneração), o que caracterizaria processos inflamatórios e/ou infecciosos agudos. Os outros tipos leucocitários apresentaram-se dentro do limite de normalidade, incluindo eosinófilos e monócitos e basófilos, cuja presença é escassa.

Tabela 36: Parâmetros hematológicos de *Phaethon aethereus* amostrados no arquipélago dos Abrolhos durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento em estações seca e chuvosa, demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos. No Ano 2 na estação seca, as amostras não foram coletadas devido à pandemia de COVID-19. O Ano 6 foi amostrado apenas na estação chuvosa. Valores de Hemácia em ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ), Basófilos, Eosinófilos, Linfócitos, Heterófilos e Monócitos estão representados em %. Legenda: Min – Mínimo; Máx – Máximo.

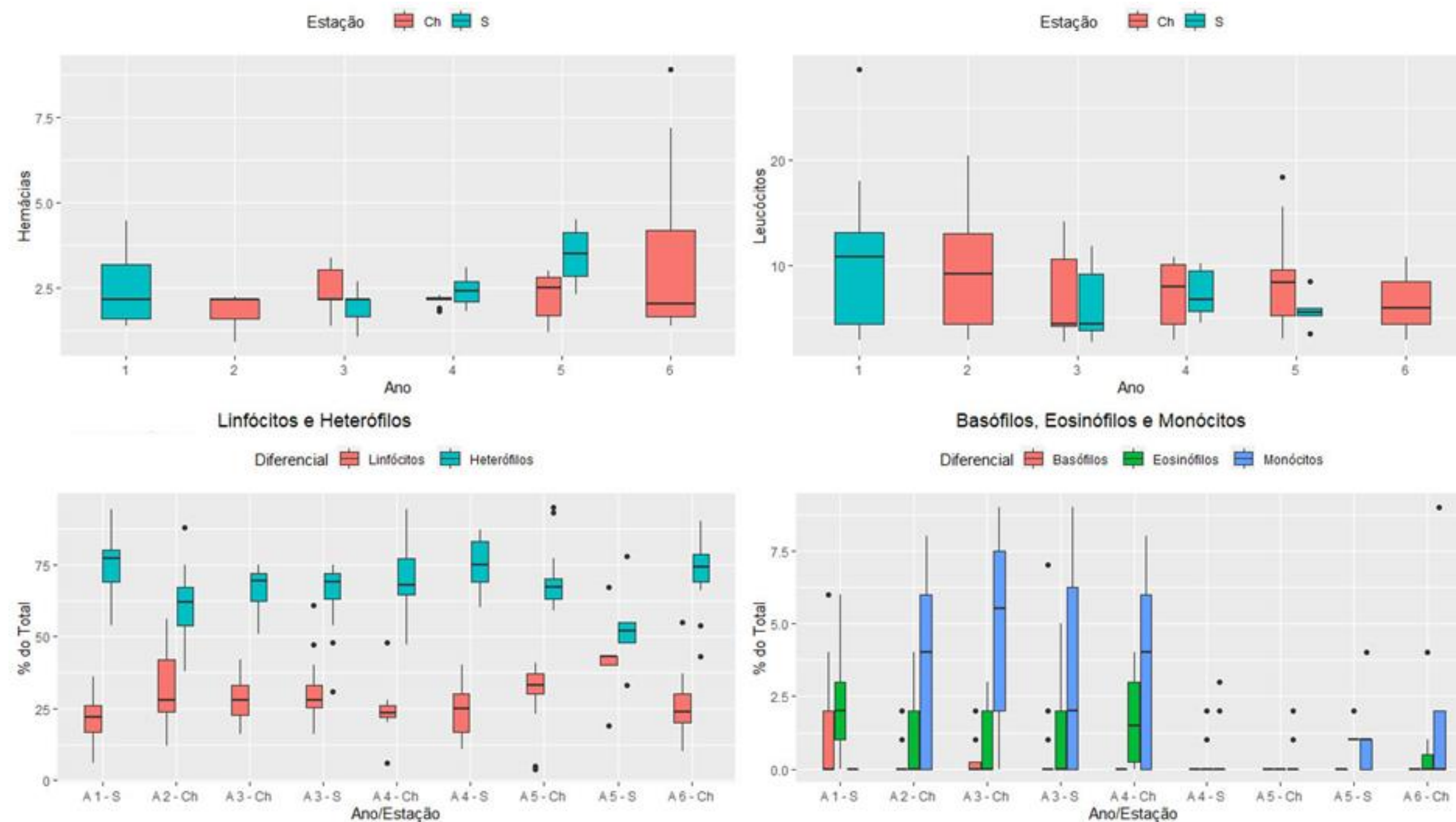
	Ano 1						Ano 2			Ano 3						Ano 4					
	Chuvoso			Seco			Chuvoso			Chuvoso			Seco			Chuvoso			Seco		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácias	2,5	1,4	3,7	1,9	1,4	2,3	1,9	1,9	1,9	2,7	1,4	4,5	2,5	1,4	4,3	2,7	1,4	4,9	2,6	1,8	3,3
Leucócitos	7,7	2,9	13,2	8,7	2,9	10,9	7,6	7,6	7,6	9,0	3,1	28,6	8,6	3,1	18,6	7,7	2,7	18,6	6,0	2,4	9,4
Basófilos	0,1	0,0	1,0	0,3	0,0	3,0	0,6	0,6	0,6	0,3	0,0	6,0	0,3	0,0	6,0	0,5	0,0	6,0	0,0	0,0	0,0
Eosinófilos	0,6	0,0	4,0	1,4	0,0	5,0	2,0	2,0	2,0	1,7	0,0	7,0	1,6	0,0	7,0	1,4	0,0	5,0	0,3	0,0	2,0
Linfócitos	18,7	6,0	37,0	20,3	10,0	33,0	27,3	27,3	27,3	34,9	14,0	56,0	32,6	14,0	56,0	25,0	10,0	56,0	21,8	6,0	37,0
Heterófilos	80,6	63,0	94,0	78,0	67,0	90,0	68,9	68,9	68,9	59,8	38,0	85,0	62,8	38,0	85,0	71,3	38,0	90,0	74,0	58,0	91,0
Monócitos	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,2	1,2	1,2	2,7	0,0	8,0	2,7	0,0	8,0	1,8	0,0	8,0	3,4	0,0	9,0
Campos por 100	80,6	53,0	126,0	83,8	45,0	119,0	97,7	97,7	97,7	87,4	52,0	140,0	84,0	30,0	140,0	86,3	52,0	124,0	40,3	22,0	60,0

	Ano 5						Ano 6			Total					
	Chuvoso			Seco			Chuvoso			Chuvoso			Seco		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácias	2,3	1,3	3,3	3,9	2,8	4,8	4,7	1,3	7,2	2,7	1,3	7,2	2,5	1,4	4,8
Leucócitos	10,8	6,4	22,6	4,9	1,5	8,3	6,1	1,4	9,4	8,2	1,4	28,6	7,4	1,5	18,6
Basófilos	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,3	0,0	6,0	0,2	0,0	6,0
Eosinófilos	0,0	0,0	0,0	1,0	0,0	4,0	1,8	0,0	7,0	1,2	0,0	7,0	1,1	0,0	7,0
Linfócitos	29,5	5,0	41,0	46,5	19,0	69,0	31,1	10,0	48,0	27,3	5,0	56,0	29,6	6,0	69,0
Heterófilos	69,9	59,0	93,0	49,9	29,0	75,0	65,9	47,0	90,0	69,8	38,0	94,0	66,7	29,0	91,0
Monócitos	0,4	0,0	3,0	1,8	0,0	6,0	1,4	0,0	6,0	1,2	0,0	8,0	2,1	0,0	9,0
Campos por 100	87,5	25,0	115,0	74,1	51,0	104,0	178,6	110,0	213,0	97,2	25,0	360,0	71,7	22,0	140,0

Os parâmetros hematológicos de *Phaethon aethereus* amostrados no arquipélago dos Abrolhos durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento em estações seca e chuvosa, foram demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos para termos um comparativo desses valores durante os anos e períodos sendo demonstrado os valores de contagem de hemácia, leucócitos e percentuais de heterófilos, linfócitos, basófilos, eosinófilos e monócitos analisados pela hematoscopia avaliados em extensão sanguínea na contagem em campos de 100 células. O sangue das aves é composto por hemácias e os leucócitos que circulam em um fluido chamado plasma. A concentração total de hemácias das aves é influenciada por espécie, idade, sexo, hormônios, hipóxia, fatores ambientais e doenças. De maneira geral, a contagem total de hemácias, aumentam com a idade (Campbell, 2015; Clark et al., 2009). Após o primeiro ano, até o quinto ano de monitoramento, algumas aves, apresentaram esses valores, abaixo dos valores considerados normais especialmente na estação chuvosa. Os leucócitos podem ainda ser divididos em granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos (linfócitos e monócitos). Os heterófilos são as principais células fagocíticas envolvidas na resposta inflamatória e participam dos processos de defesa a infecções bacterianas por meio de quimiotaxia, opsonização, fagocitose e lise (Clark et al., 2009), esta contagem, se mostrou superior em indivíduos a partir do segundo ano de monitoramento. Os valores não tiveram variações significativas quando comparados as estações, quando analisados em termos populacionais. A quantidade de indivíduos amostrados e local de amostragem, reflete uma tabela de parâmetros hematológicos mais fidedigna para essa espécie. Com isso, serão propostos valores hematológicos de *P. aethereus* de vida livre com mais segurança.

Figura 45: Contagem de hemácias, leucócitos e seus diferenciais de *Sula leucogaster* durante o período chuvoso e seco, até o quinto ano de monitoramento. Ano 2, na estação seca, as amostras não foram coletadas devido à pandemia de COVID-19. Legenda: A 1-Ch: Ano 1 – Chuvoso; A 1-S: Ano 1 – Seco; A 2 – Ch: Ano 2 – Chuvoso; A 3 – Ch: Ano 3 – Chuvoso; A 3 – S: Ano 3 – Seco; A 4 – Ch: Ano 4 – Chuvoso; A 4 – S: Ano 4 – Seco; A 5 – Ch: Ano 5 – Chuvoso; A 5 – S: Ano 5 – Seco; A 6 – Ch: Ano 6 – Chuvoso. Os pontos pretos representam valores atípicos (*outliers*); as caixas coloridas representam percentis de 25% (limite inferior) e 75% (limite superior); a linha escura horizontal dentro da caixa representa a mediana; e as barras verticais representam valores mínimo (barra abaixo da caixa) e máximo (barra acima da caixa).



Os resultados das contagens das hemácias e leucócitos realizados, vieram mostrando alterações significativas durante os anos de monitoramento. Logo no primeiro ano, algumas aves apresentaram a contagem de hemácias abaixo dos valores de referência para uma ave hígida, na estação seca. Contudo, depois do primeiro ano, algumas aves, até o sexto ano de monitoramento, apresentaram esses valores, abaixo na estação chuvosa. Na maioria das espécies de aves, os valores normais de hemácias estão entre 35% e 55% (Campbell, 1994). Valores mais baixos são considerados indicadores de anemia, onde de 25% a 35% é considerado moderada e, menor que 20%, severa. Resultados de hemácias baixas (anemia) foram marcantes, na estação chuvosa, do terceiro até o quinto ano. Nas extensões sanguíneas, foi possível ver hipocromasia, que pode estar relacionada com perda de sangue, inflamação, com a deficiência de ferro e anemia pouco regenerativa, regeneração essa que foi vista em algumas aves. Também se observa hipocromasia na intoxicação por chumbo ou zinco (Mitchell & Johns, 2008). Hemoconcentração “roleux” eritrocitário, podendo ser associado a anemias imunomediadas, estresse por contenção e principalmente a desidratação (Fourie & Hatting, 1983), sendo esse último sinal clínico, presente em todos os anos de monitoramento verificada no momento da venopunção. O restante das aves analisadas, apresentaram valores que estavam dentro dos padrões, indicativo de aves em condição satisfatórias de saúde neste método analítico. Os resultados das contagens de leucócitos realizadas, não tiveram grandes alterações e em sua grande maioria mantiveram-se dentro dos padrões de normalidade. Contudo, foram diagnosticados indivíduos, no segundo ano, na estação chuvosa, no terceiro ano em ambas as estações, no quarto ano na estação chuvosa, e no quinto ano, estação chuvosa, que apresentaram uma contagem superior de leucócitos e heterófilos, configurando uma leucocitose por heterofilia. Uma causa é o estresse, que produzirá uma leucocitose fisiológica caracterizada como leucograma de estresse com leucocitose com heterofilia. Além de inflamação (por causas infecciosas ou não), exposição a toxinas, hemorragias da cavidade corporal, neoplasias de crescimento rápido e leucemia (Jaench & Clark, 2004). Algumas aves do quinto ano, estação seca, apresentaram um número abaixo de leucócitos, configurando uma intensa leucopenia, podendo ser causado por infecções endotoxêmicas e septicêmicas, doenças nutricionais, anafilaxia, radiação ou reações autoimunes (Capitelli & Crosta, 2013). Uma predominância relativa de heterófilos sobre os linfócitos foi observada em todos os períodos analisados, sendo os heterófilos com maior frequência em relação a todos os tipos celulares diferenciais. Foram observados heterófilos imaturos (regeneração), o que caracterizaria processos inflamatórios e/ou infecciosos agudos. Os outros tipos leucocitários apresentaram-se dentro do limite de normalidade, incluindo eosinófilos e monócitos e basófilos, cuja presença é escassa.

Tabela 37: Parâmetros hematológicos de *Sula leucogaster* amostrados no arquipélago dos Abrolhos durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento em estações seca e chuvosa, demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos. No Ano 2 na estação seca, as amostras não foram coletadas devido à pandemia de COVID-19. Valores de Hemácia em ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ), Basófilos, Eosinófilos, Linfócitos, Heterófilos e Monócitos estão representados em %. Legenda: Min – Mínimo; Máx – Máximo.

	Ano 1			Ano 2			Ano 3						Ano 4					
	Seco			Chuvoso			Chuvoso			Seco			Chuvoso			Seco		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácias	2,0	1,4	3,7	1,9	1,4	2,5	2,1	1,0	3,2	2,0	1,1	2,7	2,1	1,8	2,3	2,4	1,8	3,1
Leucócito	7,8	2,9	10,9	7,3	2,9	11,8	6,2	2,7	10,9	6,2	2,7	11,8	7,2	2,9	10,8	7,3	4,5	10,2
Basófilos	1,1	0,0	6,0	0,1	0,0	2,0	0,3	0,0	2,0	0,6	0,0	7,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Eosinófilos	1,9	0,0	6,0	1,1	0,0	4,0	0,9	0,0	3,0	1,0	0,0	5,0	1,8	0,0	4,0	0,1	0,0	2,0
Linfócitos	21,8	6,0	36,0	32,8	12,0	56,0	27,9	16,0	42,0	30,2	16,0	61,0	24,5	6,0	48,0	24,4	11,0	40,0
Heterófilos	75,2	54,0	94,0	61,6	38,0	88,0	66,0	51,0	75,0	65,1	31,0	75,0	70,2	47,0	94,0	75,0	60,0	87,0
Monócitos	0,0	0,0	0,0	3,6	0,0	8,0	5,1	0,0	9,0	3,2	0,0	9,0	3,5	0,0	8,0	0,5	0,0	3,0
Campos por 100	95,7	48,0	184,0	76,3	47,0	97,0	77,2	13,0	113,0	90,3	30,0	135,0	80,9	48,0	107,0	48,2	28,0	80,0

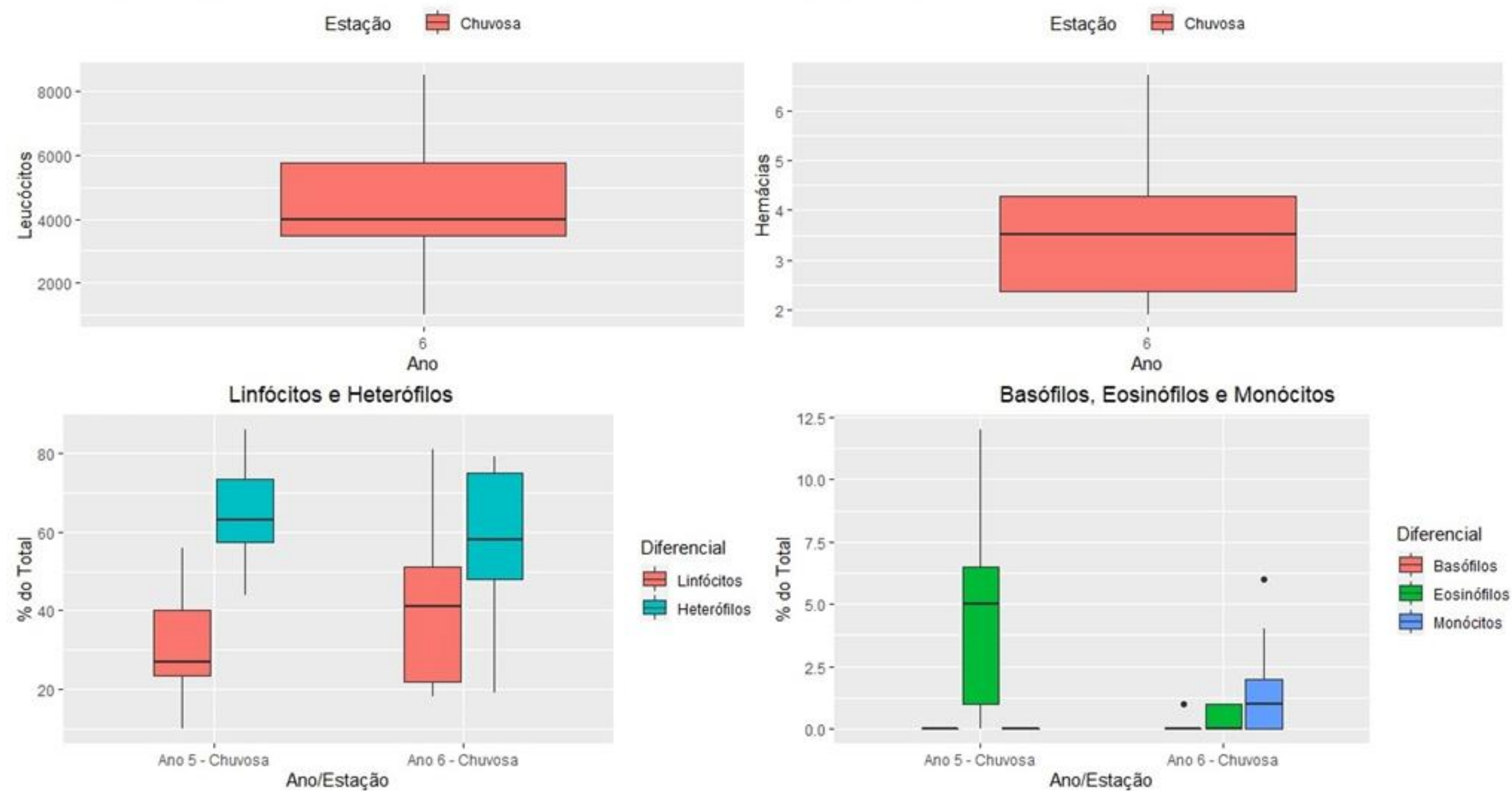
	Ano 5						Ano 6			Total					
	Chuvoso			Seco			Chuvoso			Chuvoso			Seco		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácias	2,3	1,2	3,0	3,5	2,3	4,5	3,3	1,4	8,9	2,3	1,0	8,9	2,2	1,1	4,5
Leucócitos	8,5	3,0	18,4	5,8	3,5	8,5	6,5	2,9	10,9	7,2	2,7	18,4	7,1	2,7	11,8
Basófilos	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	2,0	0,6	0,0	7,0
Eosinófilos	0,0	0,0	0,0	1,2	1,0	2,0	0,6	0,0	4,0	0,8	0,0	4,0	1,2	0,0	6,0
Linfócitos	29,7	4,0	41,0	42,4	19,0	67,0	26,1	10,0	55,0	28,9	4,0	56,0	25,9	6,0	67,0
Heterófilos	70,1	59,0	95,0	53,2	33,0	78,0	71,9	43,0	90,0	67,2	38,0	95,0	71,2	31,0	94,0
Monócitos	0,2	0,0	2,0	1,2	0,0	4,0	1,5	0,0	9,0	2,8	0,0	9,0	1,0	0,0	9,0
Campos por 100	81,6	28,0	115,0	48,0	0,0	83,0	200,8	159,0	297,0	94,9	13,0	297,0	78,7	0,0	184,0



Os parâmetros hematológicos de *Sula leucogaster* amostrados no arquipélago dos Abrolhos durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento em estações seca e chuvosa, foram demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos para termos um comparativo desses valores durante os anos e períodos sendo demonstrado valores de contagem de hemácia, leucócitos e percentuais de heterófilos, linfócitos, basófilos, eosinófilos e monócitos analisados pela hematoscopia avaliados em extensão sanguínea na contagem em campos de 100 células. Após o primeiro ano, até o sexto ano de monitoramento, algumas aves, apresentaram esses valores, abaixo dos valores considerados “normais” especialmente na estação chuvosa. Os leucócitos podem ainda ser divididos em granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos) e agranulócitos (linfócitos e monócitos). Os heterófilos são as principais células fagocíticas envolvidas na resposta inflamatória e participam dos processos de defesa a infecções bacterianas por meio de quimiotaxia, opsonização, fagocitose e lise (Clark et al., 2009), esta contagem, se mostrou superior em indivíduos a partir do segundo ano de monitoramento. Os valores não tiveram variações significativas quando comparados as estações, quando analisados em termos populacionais. A quantidade de indivíduos amostrados e local de amostragem, reflete uma tabela de parâmetros hematológicos mais fidedigna para essa espécie. Com isso, serão propostos valores hematológicos de *S. leucogaster* de vida livre com mais segurança. Em centros de reabilitação, quando os animais são admitidos, eles encontram-se debilitados e desnutridos, o que pode contribuir para o desenvolvimento de um quadro de anemia que melhora após a reabilitação. Ressalta-se que, como pode haver diferenças nesses parâmetros hematológicos devido a características particulares de cada sexo ou idade (Mitchell & Johns, 2008), é possível que essas diferenças encontradas estejam relacionadas a um único grupo de animais. Adicionalmente, o agrupamento de todas as aves pode ter dificultado a percepção de diferenças nos outros parâmetros do hemograma. Diante dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que não existem diferenças significativas na média do perfil hematológico de *S. leucogaster* adultos, entre as estações amostradas, em termos de população, e que esses são comparáveis e podem utilizar os mesmos valores de referência no momento da interpretação dos resultados do hemograma.



Figura 46: Contagem de hemácias, leucócitos e seus diferenciais de *Sterna hirundo*, na estação chuvosa do quinto e sexto ano de monitoramento. Os pontos pretos representam valores atípicos (*outliers*); as caixas coloridas representam percentis de 25% (limite inferior) e 75% (limite superior); a linha escura horizontal dentro da caixa representa a mediana; e as barras verticais representam valores mínimo (barra abaixo da caixa) e máximo (barra acima da caixa).



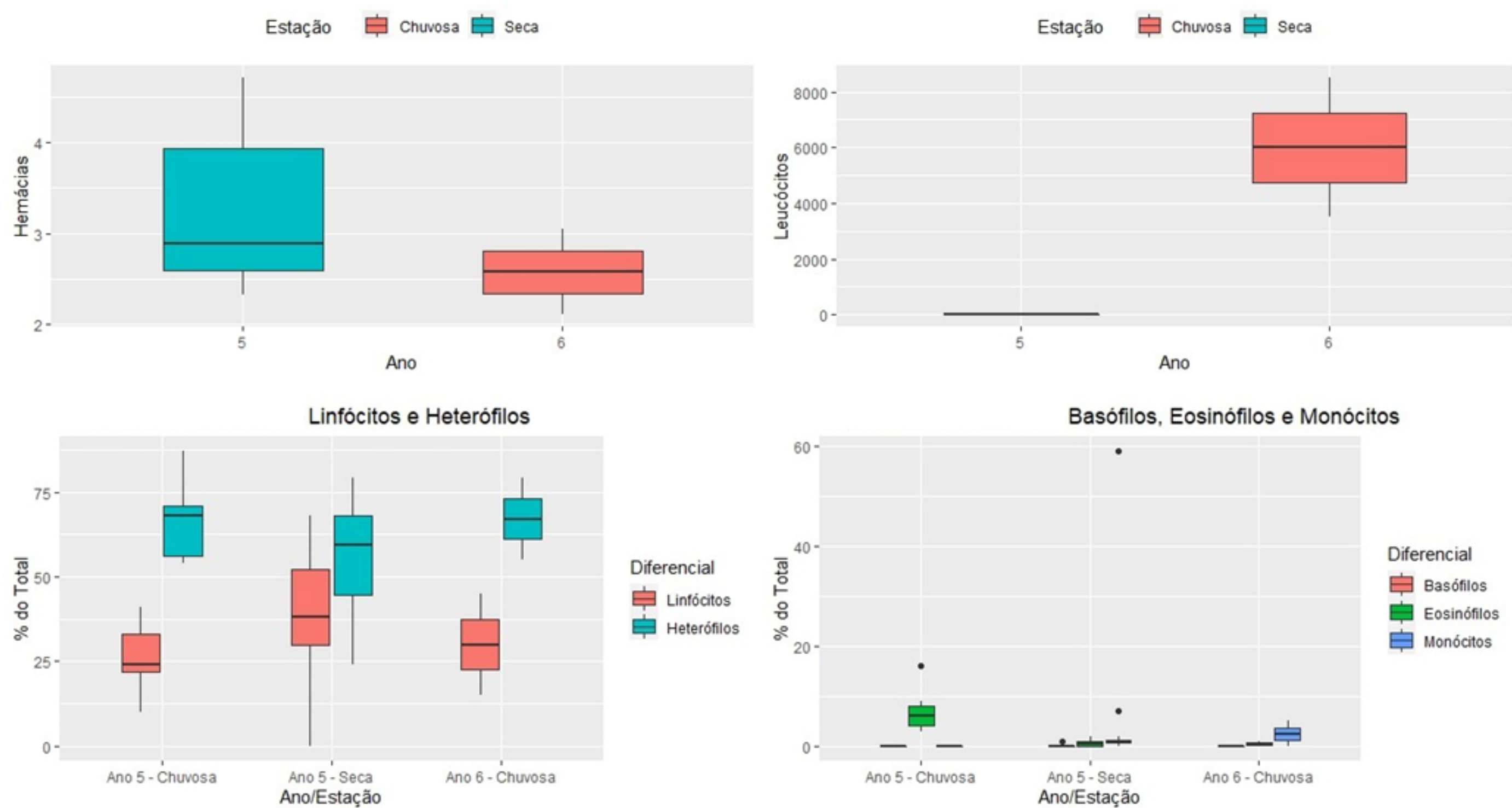
Os resultados das contagens das hemácias e leucócitos realizados, não mostraram alterações significativas durante os anos de monitoramento. Algumas aves apresentaram uma contagem de hemácias abaixo, no sexto ano, estação chuvosa. Não apresentaram sinais de regeneração (hemácias jovens), hemoconcentração e “roleux” eritrocitário. Resultados apresentados demonstram que uma predominância de heterófilos sobre os linfócitos foi observada, sendo os heterófilos com maior frequência em relação a todos os tipos celulares diferenciais. Em nenhuma amostra foi observado heterófilos imaturos ou qualquer sinal de regeneração, o que caracterizaria processos inflamatórios e/ou infecciosos agudos. Os outros tipos leucocitários apresentaram-se dentro do limite de normalidade, incluindo eosinófilos mais frequente que monócitos e basófilos, cuja presença é escassa. Os resultados da contagem dos parâmetros hematológicos (diferenciais) não indicaram nenhuma anormalidade, apesar da contagem de heterófilos estar elevada, o que pode ser considerado uma contagem de estresse de coleta quando comparada aos outros parâmetros (Fiorello et al., 2009). Uma heterofilia relativa sobre os linfócitos foi observada em todos os períodos analisados, sendo a presença de heterófilos com maior frequência em relação a todos os tipos celulares diferenciais (linfócito, basófilo, eosinófilo e monócito), comumente reportado na literatura para aves piscívoras e carnívoras (Clark et al., 2009; Fiorello et al., 2009)

Tabela 38: Parâmetros hematológicos de *Sterna hirundo* amostrados em Regência (Foz do Rio Doce) nas estações chuvosas dos Anos 5 e 6, demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos. Valores de Hemácia em (x106/mm3), Leucócitos ((x103/mm3), Basófilos, Eosinófilos, Linfócitos, Heterófilos e Monócitos estão representados em %. Legenda: Min – Mínimo; Máx – Máximo. \* Não tiveram amostras coletadas no período.

	Ano 5 Chuvoso			Ano 6 Chuvoso			Total Chuvoso		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácias	*	*	*	3,5	1,9	6,7	3,5	1,9	6,7
Leucócitos	*	*	*	4,4	1,0	8,5	4,4	1,0	8,5
Basófilos	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	1,0	0,0	0,0	1,0
Eosinófilos	4,7	0,0	12,0	0,5	0,0	1,0	2,9	0,0	12,0
Linfócitos	31,0	10,0	56,0	38,5	18,0	81,0	34,2	10,0	81,0
Heterófilos	64,7	44,0	86,0	59,5	19,0	79,0	62,5	19,0	86,0
Monócitos	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	6,0	0,7	0,0	6,0
Campos por 100	65,8	36,0	98,0	66,7	43,0	88,0	66,2	36,0	98,0

Os parâmetros hematológicos de *Sterna hirundo* amostrados na foz do Rio Doce, Espírito Santo, durante estação chuvosa do quinto e sexto ano de monitoramento foram demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos para termos um comparativo desses valores durante os anos e períodos sendo demonstrado valores de contagem de percentuais de heterófilos, linfócitos, basófilos, eosinófilos e monócitos analisados pela hematoscopia avaliados em extensão sanguínea na contagem em campos de 100 células. De acordo com o que temos de parâmetros hematológicos reportados (Fiorello et al., 2009), os valores encontrados no presente estudo, estão dentro dos limites. Contudo nossos resultados estão mais completos quando comparados com a literatura, pois temos resultados de hemácias e leucócitos de *S. hirundo* de vida livre.

Figura 47: Contagem de hemácias, leucócitos e seus diferenciais de *Thalasseus acutiflavus*, na estação chuvosa e seca do quinto ano de monitoramento e estação chuvosa do sexto ano. Os pontos pretos representam valores atípicos (*outliers*); as caixas coloridas representam percentis de 25% (limite inferior) e 75% (limite superior); a linha escura horizontal dentro da caixa representa a mediana; e as barras verticais representam valores mínimo (barra abaixo da caixa) e máximo (barra acima da caixa).



Os resultados das contagens das hemácias e leucócitos realizados, mostraram algumas alterações durante os anos de monitoramento. Algumas aves apresentaram a contagem de hemácias abaixo dos valores esperados para uma ave hígida, na estação chuvosa do sexto ano. Na maioria das espécies de aves, os valores normais de hemácias estão entre 35% e 55% (Campbell, 1994). Valores mais baixos são considerados indicadores de anemia, onde de 25% a 35% é considerado moderada e, menor que 20%, severa. Nas extensões sanguíneas, foi observado hemoconcentração e “roleux” eritrocitário, podendo ser associado a anemias imunomediadas, estresse por contenção e principalmente a desidratação (Fourie & Hatting, 1983). Além de hemácias jovens (sinais de regeneração), uma das explicações para este fenômeno é que como a vida média das hemácias das aves é mais curta que nos mamíferos, a regeneração é mais rápida. Também pode ser causa de regeneração infecções bacterianas crônicas ou agudas, fúngicas, clamídioses, toxinas e neoplasias (Capitelli & Crosta, 2013). A contagem de heterófilos mostrou-se elevada em ambas as estações. Uma heterofilia relativa sobre os linfócitos foi observada em todos os períodos analisados, sendo a presença de heterófilos com maior frequência em relação a todos os tipos celulares diferenciais (linfócito, basófilo, eosinófilo e monócito), comumente reportado na literatura para aves piscívoras e carnívoras (Clark et al., 2009). Em nenhuma amostra foi observado heterófilos imaturos ou qualquer outra alteração de regeneração, o que caracterizaria processos inflamatórios e/ou infecciosos agudos. Os outros tipos leucocitários apresentaram-se dentro do limite de normalidade para os indivíduos, incluindo eosinófilos, mais frequente que monócitos e basófilos, cuja presença é escassa.

Tabela 39: Parâmetros hematológicos de *Thalasseus acutiflavus* amostrados em Regência (Foz do Rio Doce) na estação chuvosa e seca do quinto ano de monitoramento e estação chuvosa do sexto ano demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos. Valores de Hemácia em ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ ), Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ ), Basófilos, Eosinófilos, Linfócitos, Heterófilos e Monócitos estão representados em %. Legenda: Min – Mínimo; Máx – Máximo.

	Ano 5						Ano 6			Total					
	Chuvoso			Seco			Chuvoso			Chuvoso			Seco		
	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.	Média	Min.	Máx.
Hemácia	*	*	*	3,2	2,3	4,7	3,4	1,9	6,7	2,6	2,1	3,1	3,2	2,3	4,7
Leucócito	*	*	*	6,8	1,3	14,6	6,0	3,5	8,5	6,0	3,5	8,5	6,8	1,3	14,6
Basófilos	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	1,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	0,0	1,0
Eosinófilo	6,9	3,0	16,0	0,6	0,0	2,0	0,5	0,0	1,0	5,7	0,0	16,0	0,6	0,0	2,0
Linfócitos	26,6	10,0	41,0	38,8	0,0	68,0	30,0	15,0	45,0	27,2	10,0	45,0	38,8	0,0	68,0
Heterófilos	66,6	54,0	87,0	56,3	24,0	79,0	67,0	55,0	79,0	66,6	54,0	87,0	56,3	24,0	79,0
Monócitos	0,0	0,0	0,0	4,9	0,0	59,0	2,5	0,0	5,0	0,5	0,0	5,0	4,9	0,0	59,0
Campos por 100	67,2	49,0	96,0	51,5	28,0	91,0	50,0	38,0	62,0	64,1	38,0	96,0	51,5	28,0	91,0

Os parâmetros hematológicos de *Thalasseus acutiflavus* amostrados na foz do Rio Doce, Espírito Santo, durante o quinto e sexto ano de monitoramento foram demonstrados com os intervalos de valores médios, mínimos e máximos para termos um comparativo desses valores durante os anos e períodos sendo demonstrado valores de contagem de percentuais de heterófilos, linfócitos, basófilos, eosinófilos e monócitos analisados pela hematoscopia avaliados em extensão sanguínea na contagem em campos de 100 células. Com nossos resultados, serão propostos valores de referência hematológicos para de *T. acutiflavus* de vida livre.

Tabela 40: Frequência dos microrganismos isolados em cultura de *Phaethon aethereus* no período chuvoso e seco durante os cinco anos de monitoramento e período chuvoso do sexto ano no arquipélago dos Abrolhos.

Microorganismos	Ano 2		Ano 3				Ano 4				Ano 5				Ano 6		Total			
	Chuvoso		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Chuvoso		Seco	
	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr
<i>Acinetobacter baumannii</i>	27	3,7	27	7,4	27	7,4	21	9,5	19	0	20	0	20	5	20	30	115	10	66	4,13
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	27	0	27	0	27	0	21	0	19	0	20	5	20	0	20	0	115	1	66	0
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	5	20	0	115	0,9	66	1,67
<i>Bacillus</i> sp.	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	10	20	40	20	10	115	4,9	66	13,3
<i>Bordetella</i> sp.	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Burkholderia cepacia</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Candida albicans</i>	27	7,4	27	3,7	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	3,2	66	0
<i>Candida krusey</i>	27	7,4	27	0	27	0	21	0	19	0	20	5	20	0	20	0	115	2,5	66	0
<i>Chryseobacterium</i> sp.	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	5	20	0	20	5	115	2,9	66	0
<i>Corynebacterium</i> spp.	27	3,7	27	0	27	0	21	4,7	19	15,8	20	0	20	0	20	0	115	1,7	66	5,27
<i>Enterobacter aerogenes</i>	27	11,1	27	0	27	3,7	21	4,7	19	0	20	0	20	5	20	5	115	4,2	66	2,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	27	3,7	27	0	27	0	21	0	19	0	20	10	20	0	20	0	115	2,7	66	0
<i>Enterococcus</i> sp.	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	5	20	0	20	0	115	1,9	66	0
<i>Escherichia coli</i>	27	33,3	27	7,4	27	18,5	21	19	19	10,5	20	0	20	15	20	0	115	12	66	14,7
<i>Klebsiella oxytoca</i>	27	7,4	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	10	20	0	20	0	115	4,4	66	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	18,5	27	0	27	7,4	21	28,5	19	0	20	5	20	15	20	10	115	12	66	7,47
<i>Proteus mirabilis</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27	3,7	27	0	27	3,7	21	19	19	10,5	20	10	20	5	20	15	115	9,5	66	6,4
<i>Salmonella</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Serratia marcescens</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	0	27	3,7	27	11,1	21	19	19	31,5	20	0	20	0	20	5	115	5,5	66	14,2
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	27	22,2	27	18,5	27	0	21	85,7	19	68,4	20	45	20	40	20	15	115	37	66	36,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	5	20	10	20	15	115	4,9	66	3,33
<i>Streptococcus viridans</i>	27	0	27	0	27	0	21	4,7	19	0	20	0	20	0	20	0	115	0,9	66	0



Durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento foram isolados 23 bactérias e dois fungos, totalizando 25 microorganismos, tendo a estação chuvosa com a maior frequência de bactérias e fungos positivos. Devido à sua alta mobilidade, aves entram em contato com diversos ambientes contrastantes, contendo diferentes gêneros e espécies bacterianas, com uma ampla variedade de perfis de resistência antimicrobiana e podem estar incorporando essas bactérias e/ou seus genes de resistência à sua (Teyssier et al., 2018). *Phaethon aethereus*, por exemplo, tem sua colônia no arquipélago dos Abrolhos e realizam movimentos ao longo da plataforma continental, e até em regiões oceânicas adjacentes. Dessas aves, foram identificadas bactérias de importância em saúde pública e global (estão na lista de bactérias de prioridade da OMS) (Tacconelli et al., 2018) nas amostras provenientes de Abrolhos, como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterobacter aerogenes*. Também foram identificadas outras enterobactérias, sendo *Escherichia coli* a espécie de importância mais frequente em todos os anos e períodos amostrados, com valores altos de frequência especialmente na estação chuvosa, seguido de *Klebsiella pneumoniae*, que só não esteve presente no Ano 3. Apesar do potencial zoonótico da maior parte das bactérias Gram-negativas, muitas das cepas fazem parte da microbiota de aves marinhas desempenhando um importante papel na manutenção da saúde do organismo, facilitando a absorção de nutrientes, desintoxicação e interações com o sistema imunológico (Grond et al., 2018). Outro fator marcante foi o alto número de aves com cultura com perfil multivirulento e multirresistentes. *Staphylococcus* coagulase negativa, *Corynebacterium* sp. e *Bacillus* sp. fazem parte da microbiota normal epidérmica e mucosas orais e genitais. Nenhuma das cepas encontradas por *Staphylococcus aureus* apresentou característica de MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina), o que pode caracterizar bactérias de colonizações e/ou saprófitas dos hospedeiros. Mesmo porque, as mesmas além de não serem MRSA, apresentam multi sensibilidades a vários grupos e gerações de antimicrobianos testados. Na estação chuvosa do quinto ano de monitoramento, a frequência de isolados foi menor do que os anos anteriores, contudo, foram isoladas duas novas bactérias de importância, *Chryseobacterium* sp. e *Stenotrophomonas maltophilia*, sendo a *S. maltophilia*, uma bactéria com a capacidade de se aderir à superfície mucosa e a dispositivos invasivos, o que torna a diferenciação entre infecção e colonização um verdadeiro desafio. A *S. maltophilia* possui resistência a muitas classes de antibióticos. Tem a capacidade de se aderir a corpos estranhos e formar biofilme, o que confere proteção contra as defesas do hospedeiro e aos agentes antimicrobianos. Possui mecanismos de resistência intrínsecos ou adquiridos, como a produção de beta-lactamases (penicilinas, cefalosporinas e carbapenêmicos), de acetiltransferases (cloranfenicol) e enzimas modificadoras de aminoglicosídeos (aminoglicosídeos), expressão de bombas de efluxo (tetraciclinas, cloranfenicol, eritromicina, norfloxacina e ofloxacina), presença de elementos genéticos móveis (sulfametoxazol-trimetoprima), entre outros (Brooke, 2021). As aves amostradas neste estudo apresentaram microorganismos com potencial patogênico. No entanto, a ausência de sinal clínico associada à sensibilidade dos patógenos a grande parte dos antibióticos a que foram expostos, sugere a higidez dos indivíduos. Este fato não descarta o potencial de transmissão de zoonoses para hospedeiros humanos e outras espécies de animais, uma vez que

muitas cepas bacterianas aqui descritas já foram implicadas em quadros nosocomiais grave. As aves que não apresentaram isolados bacterianos e/ou com perfis de resistência de interesse global, não indica que esses animais não tenham tido contato e que não sejam potenciais disseminadores de bactérias com tais perfis de resistência.

Tabela 41: Microrganismos com perfil de resistência aos antibióticos testados de importância em saúde global provenientes de suabes coletados de *Phaethon aethereus* no período chuvoso do quarto e quinto ano de monitoramento no arquipélago de Abrolhos.

Estação	Ano	Espécie	Anilha	Microrganismo com perfil de resistência	Antibiograma / resistência	Antibiograma/sensibilidade
Chuvosa	2022	<i>Phaethon aethereus</i>	P14059	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem, amicacina, meropenem, ceftriaxona, cefepime, gentamicina, ceftazidima, tobramicina, cefovecina	Ampicilina, ciprofloxacina, marbofloxacina, enrofloxacina, aztreonam, piperacilina tazobactam, amoxicilina clavulanato, cefalexina, tetraciclina, cefoxitina, levofloxacina
Chuvosa	2023	<i>Phaethon aethereus</i>	P11542	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Sulfametoxazol Trimetoprima	Imipenem, Amicacina, Ampicilina, Meropenem, Ciprofloxacina, Ceftriaxona, Cefepime, Marbofloxacina, Enrofloxacina, Aztreonam, Gentamicina, Ceftazidima, Piperacilina, Tazobactam, Amoxicilina clavulanato, Cefalexina, Tobramicina, Tetraciclina, Cefoxitina, Levofloxacina, Cefovecina, Ceftiofur, PenicilinaG

Os mecanismos de resistência de bactérias podem ser intrínsecos ou adquiridos, sendo que os primeiros já estão presentes em todas as amostras de determinadas cepas e os segundos, por sua vez, ocorrem por mutação ou pela transferência de plasmídeos, capazes de carrear mais de um gene de resistência associados (transmissão gênica horizontal). A resistência natural é uma característica intrínseca de um microrganismo, que ocorre sem uma exposição prévia ao antibiótico (Rice & Bonomo, 2005). Quanto a amostra de *P. aethereus* referente ao quarto ano de monitoramento um isolado de suabe de cloaca referente a coleta de 2022, estação chuvosa, em Abrolhos, apresentou perfil de resistência de interesse – um isolado identificado como *Pseudomonas aeruginosa*, que cresceu no meio de cultura ágar MacConkey suplementado com ciprofloxacina e com colistina. O isolado apresentou resistência aos antibióticos: Imipenem, amicacina, meropenem, ceftriaxona, cefepime, gentamicina, ceftazidima, tobramicina, cefovecina testadas. A *P. aeruginosa* é uma bactéria Gram-negativa, móvel, não esporulada, ocorre isolada ou aos pares, é estritamente aeróbica, cresce na faixa de 37 a 42°C. Reconhecidamente como patógeno oportunista, resistente a muitos antimicrobianos, tem sido isolada de água tratada e apresenta importante papel em surtos de gastroenterites veiculadas pela água. A bactéria pode causar doença em aves jovens e em crescimento, ovos férteis, provocando a morte do embrião e de aves recém-nascidas. Trata-se de um micro-organismo ubíquo, associado à água, ambiente úmido e sujo (Silva et al., 2000; Barnes, 2003). No Alabama, EUA, *Pseudomonas aeruginosa* foi responsável por uma infecção em pintinhos ocorrida nos nascedouros, causando onfalite e alta mortalidade (Vanderkerchove et al., 2004). No quinto ano de monitoramento, estação chuvosa, foi isolado de *P. aethereus*, de Abrolhos, a bactéria *Stenotrophomonas maltophilia* que apresentou resistência a sulfametoxazol-trimetoprima. A importância foi dada a esse isolado pelo fato que a droga de escolha para o tratamento é o sulfametoxazol-trimetoprima. *S. maltophilia* é um patógeno oportunista, com potencial de provocar infecções nosocomiais em indivíduos imunocomprometidos. Essas bactérias colonizam a superfície de equipamento médicos e fômites, como tubos traqueais, sondas urinárias e endoscópios, causando infecções severas (Brooke 2021). O estudo da heterogeneidade genética das cepas de *S. maltophilia* revelou a existência de vários novos grupos e sugeriu a adaptação deste patógeno aos seus habitats. Entre os fatores de virulência de *S. maltophilia* destacam-se o uso de motilidade, formação de biofilme, mecanismos de aquisição de ferro, componentes da membrana externa, sistemas de secreção de proteínas, enzimas extracelulares e mecanismos de resistência a antimicrobianos. *S. maltophilia* é intrinsecamente resistente a uma vasta gama de antimicrobianos e emprega diferentes métodos para se proteger da ação dessas drogas (Brooke, 2021). Recentemente, Dalazen et al. (2023) realizaram um estudo de vigilância microbiológica e genômica de bactérias Gram-negativas resistentes a cefalosporinas de amplo espectro e carbapenêmicos, colonizando aves selvagens na Amazônia Brasileira. Os autores isolaram duas cepas de *S. maltophilia* (SM79 e SM115) de aves da espécie choquilha-de-garganta-clara (*Isleria hauxwelli*), afetadas pela fragmentação e degradação amazônica. A presença de patógenos oportunistas multirresistentes em aves selvagens, representam um potencial problema ecológico, uma vez que esses animais podem promover facilmente a dispersão a longa distância de bactérias resistentes a antimicrobianos de importância médica. No entanto, estudos adicionais são necessários para avaliar o impacto clínico e o grau de patogenicidade deste patógeno oportunista humano em aves selvagens.

Tabela 42: Frequência dos microrganismos isolados em cultura de *Sula leucogaster* no período chuvoso e seco durante os cinco anos de monitoramento e período chuvoso do sexto ano, no arquipélago de Abrolhos. N: Número de amostras analisadas no período; %Fr: Frequência.

Microorganismos	Ano 1		Ano 2		Ano 3				Ano 4				Ano 5				Ano 6		Total			
	Seco		Chuvoso		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Seco		Chuvoso		Chuvoso		Seco	
	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr
<i>Acinetobacter baumannii</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	30	21	19	21	0	20	5	12	33	80	13	81	6
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	4,7	21	0	20	0	12	0	80	0	81	1,18
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	9,5	20	0	12	0	80	1,9	81	0
<i>Bacillus</i> sp.	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	0	20	15	12	0	80	0	81	3,75
<i>Bordetella</i> sp.	20	15	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	0	20	0	12	0	80	0	81	3,75
<i>Burkholderia cepacia</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	9,5	20	0	12	0	80	1,9	81	0
<i>Corynebacterium</i> sp.	20	0	21	0	16	6,2	20	0	10	0	21	0	21	4,7	20	0	12	0	80	2,2	81	0
<i>Enterobacter aerogenes</i>	20	0	21	9,5	16	0	20	10	10	0	21	4,7	21	9,5	20	15	12	17	80	7,1	81	7,43
<i>Enterobacter cloacae</i>	20	0	21	0	16	6,2	20	0	10	0	21	0	21	9,5	20	0	12	0	80	3,1	81	0
<i>Enterococcus</i> sp.	20	65	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	0	20	0	12	0	80	0	81	16,3
<i>Escherichia coli</i>	20	20	21	42,8	16	0	20	55	10	10	21	23,8	21	19	20	40	12	58	80	26	81	34,7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20	0	21	28,5	16	0	20	10	10	30	21	0	21	4,7	20	0	12	17	80	16	81	2,5
<i>Proteus mirabilis</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	4,7	20	0	12	0	80	0,9	81	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20	0	21	14,2	16	0	20	5	10	0	21	0	21	38	20	0	12	8,3	80	12	81	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	0	21	0	16	0	20	10	10	30	21	9,5	21	19	20	5	12	0	80	9,8	81	6,13
<i>Staphylococcus coagulase</i> negativa	20	0	21	9,5	16	0	20	20	10	0	21	19	21	38	20	60	12	0	80	9,5	81	24,8
<i>Staphylococcus</i> <i>saprophyticus</i>	20	0	21	0	16	0	20	0	10	0	21	0	21	0	20	10	12	0	80	0	81	2,5

Durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento foram isoladas 17 bactérias provenientes de *Sula leucogaster*, tendo a estação seca com a maior frequência de bactérias positivas. Devido à sua alta mobilidade, aves entram em contato com diversos ambientes contrastantes, contendo diferentes gêneros e espécies bacterianas, com uma ampla variedade de perfis de resistência antimicrobiana e podem estar incorporando essas bactérias e/ou seus genes de resistência à sua (Teyssier et al., 2018). Os indivíduos da espécie *S. leucogaster* por exemplo, têm suas colônias reprodutivas no arquipélago de Abrolhos e realizam migrações sazonais ao longo da região costeira do Oceano Atlântico. Foram identificadas bactérias de importância em saúde pública e global (estão na lista de bactérias de prioridade da OMS) (Tacconelli et al., 2018) nas amostras provenientes de Abrolhos, como *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Kebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* e *Bordetella* sp. *Escherichia coli* foi a bactéria de importância em saúde pública global com maior frequência nos anos e períodos amostrados, majoritariamente no período seco, sendo ausente somente na estação chuvosa do terceiro ano, seguida de *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter baumannii*. Na estação chuvosa, destacam-se *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Apesar do potencial zoonótico da maior parte das bactérias Gram-negativas, muitas das cepas fazem parte da microbiota de aves marinhas desempenhando um importante papel na manutenção da saúde do organismo, facilitando a absorção de nutrientes, desintoxicação e interações com o sistema imunológico (Grond et al., 2018). Outro fator marcante foi o alto número de aves com cultura com perfil multivirulento e multirresistentes. *Staphylococcus coagulase* negativa e *Corynebacterium* sp., ambas fazem parte da microbiota normal epidérmica e mucosas orais e genitais. Nenhuma das cepas encontradas por *Staphylococcus aureus* apresentou característica de MRSA (*Staphylococcus aureus* Resistente à Meticilina), o que pode caracterizar bactérias de colonizações e/ou saprófitas dos hospedeiros. Mesmo porque, as mesmas além de não serem MRSA, apresentam multi sensibilidades a vários grupos e gerações de antimicrobianos testados. As aves amostradas neste estudo apresentaram microrganismos com potencial patogênico, no entanto, a ausência de sinal clínico associada à sensibilidade dos patógenos a grande parte dos antibióticos a que foram expostos, sugere a higidez dos indivíduos. Este fato não descarta o potencial de transmissão de zoonoses para hospedeiros humanos e outras espécies de animais, uma vez que muitas cepas bacterianas aqui descritas já foram implicadas em quadros nosocomiais graves (Benskin et al., 2010). As aves que não apresentaram isolados bacterianos com os perfis de resistência de interesse global, não significa, que esses animais, não tenham tido contato e que não sejam potenciais disseminadores de bactérias com tais perfis de resistência. Indivíduos que não apresentaram isolados bacterianos e/ou com os perfis de resistência de interesse, não significa que esses animais não tenham tido contato e que não sejam potenciais disseminadores de bactérias com tais perfis de resistência.

Tabela 43: Microrganismos com perfil de resistência aos antibióticos testados de importância em saúde global em *Sula leucogaster* no período chuvoso durante os 5 anos e 4 meses de monitoramento no arquipélago dos Abrolhos.

Estação	Ano	Espécie	Anilha / Registro	Microrganismo com perfil de resistência	Antibiograma / resistência	Antibiograma / sensibilidade
Chuvosa	2020	<i>Sula leucogaster</i>	V00167	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem, amicacina, ampicilina, meropenem, ceftriaxona, cefepime, marbofloxacin, enrofloxacin, aztreonam, gentamicina, piperacilina tazobactam, amoxicilina clavulanato, cefalexina, tobramicina, tetraciclina, ceftiofina, ceftiofina	Ciprofloxacina, ceftazidima, levofloxacina
Chuvosa	2020	<i>Sula leucogaster</i>	V00166	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Imipenem, amicacina, ampicilina, meropenem, ceftriaxona, cefepime, marbofloxacin, enrofloxacin, aztreonam, gentamicina, piperacilina tazobactam, amoxicilina clavulanato, cefalexina, tobramicina, tetraciclina, ceftiofina, ceftiofina	Ciprofloxacina, ceftazidima, levofloxacina
Chuvosa	2022	<i>Sula leucogaster</i>	U61550	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Imipenem, amicacina, meropenem, ceftriaxona, cefepime, aztreonam, tobramicina, gentamicina, ceftazidima, tobramicina, ceftiofina	Ampicilina, ciprofloxacina, marbofloxacin, enrofloxacin, piperacilina tazobactam, amoxicilina clavulanato, cefalexina, tetraciclina, ceftiofina, piperacilina tazobactam, levofloxacona



Entre todas as amostras de *S. leucogaster*, três amostras de suabe de cloaca, duas coletadas na expedição de 2020, estação chuvosa, e uma na expedição seca de 2022, apresentaram perfil de resistência de interesse, após crescer em placas de ágar MacConkey suplementado com colistina, com resultado positivo no teste de disco combinado com EDTA. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, não tiveram crescimento estabelecido para continuidade do processo de caracterização, contudo, fica o relato da presença do microorganismos concomitante com o perfil multirresistente. A bactéria, identificada como *Acinetobacter baumannii*, apresentou resistência aos carbapenêmicos e, portanto, foi classificada como de prioridade crítica, considerando os critérios da Organização Mundial de Saúde. Além da resistência aos carbapenêmicos, esta cepa apresentou perfil de multirresistência. Considerando que cepas de *A. baumannii* resistentes aos carbapenêmicos são consideradas bactérias nosocomiais humanas, sendo raramente relatadas em animais silvestres, uma investigação abordando as características genéticas desta cepa foi iniciada. Para enfrentar esta crise de saúde global sem precedentes, a Organização Mundial de Saúde (OMS) publicou uma lista de bactérias de prioridade global, na qual a descoberta, pesquisa e desenvolvimento de novos antibióticos são imediatamente necessários. Nesta lista, as bactérias resistentes à antibióticos clinicamente importantes foram classificadas com base na mortalidade, impacto na saúde, prevalência de resistência, tendência de resistência de 10 anos, transmissibilidade, entre outros. No topo desta lista, ocupando os grupos de prioridade I e II, encontram-se as seguintes bactérias: *A. baumannii* e *P. aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos, enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos e/ou às cefalosporinas de 3ª geração (Tacconelli et al., 2018). Estas bactérias têm sido frequentemente encontradas na mucosa nasal, pele e trato gastrointestinal, podendo causar infecções oportunistas tanto em humanos quanto em animais (Price et al., 2017). Deste modo, a cepa *A. baumannii* de terá seu genoma sequenciado afim da obtenção de mais informações a respeito de sua origem. Análises de bioinformática serão realizadas para que se possa determinar sua linhagem, resistoma (genes de resistência a antimicrobianos), viruloma (genes de virulência), e grupo de incompatibilidade plasmidial. Além disso, análises subsequentes usando uma abordagem de filogenômica serão essenciais para estabelecer os relacionamentos evolutivos desta cepa.

Tabela 44: Características epidemiológicas, fenotípicas e genotípicas de bactérias resistentes a antibióticos isoladas da microbiota cloacal de *Phaethon aethereus* em novembro de 2018, estação chuvosa, no primeiro ano de monitoramento.

Característica	P16291 <sup>a</sup>	P16400
Espécie	<i>P. aethereus</i>	<i>P. aethereus</i>
Origem da amostra	Suabe de cloaca	Suabe de cloaca
Local	Abrolhos	Abrolhos
Data de coleta	Novembro/2018	Novembro/2018
Espécie bacteriana	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Perfil fenotípico de resistência	Resistência às quinolonas (NAL, CIP, ENR, LVX, MRB, MFX, NFX, OFX, PFX) <sup>b</sup>	Resistência à colistina (CIM = 8 µg/mL; NP teste positivo; teste de disco combinado com EDTA positivo)
Genes de resistência	---	<i>oqxA</i> , <i>oqxB</i> , <i>fosA</i> , <i>mdfA</i>
Mutações deletérias	---	PhoQ (L272P)
Elementos genéticos móveis	---	ND <sup>c</sup>
Genes de virulência	---	<i>entB</i>
Sorotipo de <i>E. coli</i>	---	NA <sup>d</sup>
Filogrupo de <i>E. coli</i>	---	NA <sup>d</sup>
ST/CC	---	ST34/CC7

<sup>a</sup> Isolado não sequenciado, por isso não apresenta todos os resultados;

<sup>b</sup> NAL, ácido nalidíxico; CIP, ciprofloxacina; ENR, enrofloxacin; LVX, levofloxacina; MRB, marbofloxacina; MFX, moxifloxacina; NFX, norfloxacina; OFX, ofloxacina; PFX, perfloxacina;

<sup>c</sup> ND, não detectado;

<sup>d</sup> NA, não se aplica; e NT, não tipado.

Entre todas as amostras de *P. aethereus*, dois isolados de suabe de cloaca referentes à coleta de novembro de 2018, estação chuvosa, em Abrolhos, apresentaram perfil de resistência de interesse – um isolado identificado como *E. coli* (ave de anilha P16291), que cresceu no meio de cultura ágar MacConkey suplementado com ciprofloxacina, e um isolado identificado como *Klebsiella pneumoniae* (ave de anilha P16400), que cresceu na placa de MacConkey suplementado com colistina. O isolado do espécime P16291 apresentou resistência a todas as quinolonas testadas – grupos relacionados de antibióticos derivados do ácido nalidíxico - (ácido nalidíxico, ciprofloxacina, enrofloxacin, levofloxacin, marbofloxacin, moxifloxacin, norfloxacin, ofloxacin e perfloxacin). O isolado do espécime P16400 apresentou resultado positivo no NP teste (indicando a degradação da colistina) e no teste de disco combinado com EDTA. Além disso, a concentração inibitória mínima (CIM) da colistina frente a esse isolado foi de 8 µg/mL, confirmando a resistência do mesmo ao antibiótico testado. Como esses resultados foram indicativos de uma possível produção de *mcr*, esse isolado foi submetido ao sequenciamento de genoma completo. Contudo, a presença do gene *mcr* não foi detectada no genoma dessa amostra. Em contrapartida, foram identificadas mutações pontuais nos genes *pmrA* (L162M), *pmrB* (S79G, V87M, A245E e N275K) e *phoQ* (L272P). Destas, somente a mutação em *phoQ* foi predita como deletéria. Adicionalmente, foram detectados genes de resistência a fluoroquinolonas (*oqxA* e *oqxB*), a fosfomicina (*fosA*) e a macrolídeos, lincosamidas e estreptogramina B (*mdfA*). A análise pela ferramenta PlasmidFinder não permitiu a detecção de nenhum plasmídeo. A análise de genes de virulência detectou a presença do gene *entB*, relacionado à biosíntese do sideróforo enterobactina. A análise de MLST, por sua vez, identificou a cepa como pertencente ao ST34, do complexo clonal 7. Essas enterobactérias frequentemente atuam como patógenos respiratórios particularmente entre aves imunossuprimidas e estressadas. Em situações adversas, *K. pneumoniae*, por exemplo, pode causar insuficiência renal, infecções pulmonares e um quadro de encefalite. As infecções sistêmicas são mais comuns em aves imunossuprimidas, porém, infecções locais podem ocorrer em algumas espécies (El Fertas-Aissani et al., 2013).

Tabela 45: Características epidemiológicas, fenotípicas e genotípicas de bactéria resistente a antibióticos isolada da microbiota cloacal de *Sula leucogaster* em abril de 2019, estação seca, no Ano 1.

Característica	U61943 <sup>a</sup>
Espécie da ave	<i>S. leucogaster</i>
Origem da amostra	Suabe de cloaca
Local	Arquipélago de Abrolhos - BA
Data de coleta	Abril/2019
Espécie bacteriana	<i>Escherichia coli</i>
Perfil fenotípico de resistência	Resistência à colistina (teste de disco combinado com EDTA positivo)
Genes de resistência	---
Mutações deletérias	---
Elementos genéticos móveis	---
Genes de virulência	---
Sorotipo de <i>E. coli</i>	---
Filogrupo de <i>E. coli</i>	---
ST/CC	---

<sup>a</sup> Isolado não sequenciado, por isso não apresenta todos os resultados.

Entre todas as amostras de *S. leucogaster*, apenas uma amostra de suabe de cloaca coletada na expedição de abril de 2019 (ave de anilha U61943), estação seca, apresentou um perfil de resistência de interesse, após crescer em placas de ágar MacConkey suplementado com colistina, com resultado positivo no teste de disco combinado com EDTA. Todas as amostras coletadas durante os outros anos de monitoramento testadas apresentaram resultados negativos para a presença de bactérias multirresistentes. As cepas de *Escherichia coli* patogênicas para as aves causam infecções, localizadas ou sistêmicas. A importância para saúde pública se deve ao fato de que as aves são susceptíveis à colonização por *E. coli*, um importante patógeno com alto perfil zoonótico (Price et al., 2017).

Tabela 46: Frequência dos microrganismos isolados em cultura de *Sterna hirundo* nos períodos chuvoso e seco do quinto ano de monitoramento, e período chuvoso do sexto ano, coletados em Regência (Foz do Rio Doce). N: Número de amostras analisadas no período; %Fr: Frequência.

Microorganismos	Ano 5				Ano 6		Total			
	Chuvoso		Seco		Chuvoso		Chuvoso		Seco	
	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr
<i>Acinetobacter baumannii</i>	23	0	23	0	18	11,1	41	5,55	23	*
<i>Bacillus sp</i>	23	4,3	23	0	18	16,6	41	10,5	23	*
<i>Chryseobacterium sp.</i>	23	0	23	0	18	5,5	41	2,75	23	*
<i>Enterobacter aerogenes</i>	23	21,7	23	28	18	11,1	41	16,4	23	*
<i>Enterobacter cloacae</i>	23	0	23	0	18	5,5	41	2,75	23	*
<i>Enterococcus fecalis</i>	23	4,3	23	4,3	18	0	41	2,15	23	*
<i>Enterococcus sp.</i>	23	21,7	23	28	18	0	41	10,9	23	*
<i>Escherichia coli</i>	23	13	23	4,3	18	27,7	41	20,4	23	*
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23	8,7	23	4,3	18	5,5	41	7,1	23	*
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	4,7	23	4,3	18	33,3	41	19	23	*
<i>Serratia marcescens</i>	23	4,7	23	0	18	0	41	2,35	23	*
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	23	13	23	13	18	16,6	41	14,8	23	*
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	23	0	23	0	18	5,5	41	2,75	23	*

Foram isoladas e identificadas 11 bactérias de *Sterna hirundo* durante o quinto ano, e estação chuvosa do sexto ano. *Enterobacter aerogenes*, *Enterococcus* sp., *Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae* foram as bactérias de importância em saúde pública global com maior frequência no período chuvoso. Além da ocorrência de *Stenotrophomonas maltophilia*, um patógeno oportunista com potencial de provocar infecções nosocomiais em indivíduos imunocomprometidos. Essas bactérias colonizam a superfície de equipamento médicos e fômites, como tubos traqueais, sondas urinárias e endoscópios, causando infecções severas (Benskin et al., 2010). O estudo da heterogeneidade genética das cepas de *S. maltophilia* revelou a existência de vários novos grupos e sugeriu a adaptação deste patógeno aos seus habitats. Entre os fatores de virulência de *S. maltophilia* destacam-se o uso de motilidade, formação de biofilme, mecanismos de aquisição de ferro, componentes da membrana externa, sistemas de secreção de proteínas, enzimas extracelulares e mecanismos de resistência a antimicrobianos (Brooke, 2021) Vale destacar, primariamente, a predominância de mecanismo de resistência AMPC, que são capazes de hidrolisar cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, cefovecina e ceftazidima, mas sabidamente, não têm ação sobre carbapenêmicos. Uma importante particularidade desse mecanismo de resistência, diz respeito à sua expressão fenotípica no antibiograma, onde a bactéria, poderá apresentar sensibilidades às cefalosporinas, quando a produção da enzima estiver “reprimida.” No entanto, a resistência poderá se desenvolver ao longo da exposição. Em segundo, o bacilo gram negativo classificado como não fermentador de glicose, são microrganismos aeróbios, não esporulados, que se caracterizam pela incapacidade de utilizar carboidratos como fonte de energia por meio de fermentação, degradando-os pela via oxidativa, porém, também apresentando multi sensibilidades. Outro ponto, foi a presença de gram positivos identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa, que fazem parte da microbiota epidérmica, mucosas orais e genitais dessas aves. Os isolados de *Enterococcus* sp., sensíveis a penicilinas de primeira e segunda geração, além das sensibilidades a outros antibióticos, caracterizando uma cepa totalmente poli sensível, além de crescimentos raros leveduriformes de microbiota saprófita.

Tabela 47: Frequência dos microrganismos isolados em cultura de *Thalasseus acutiflavus* amostrados no período chuvoso e seco do quinto ano de monitoramento, e período chuvoso do sexto ano, em Regência (Foz do Rio Doce). N: Número de amostras analisadas no período; %Fr: Frequência.

Microorganismos	Ano 5				Ano 6		Total			
	Chuvoso		Seco		Chuvoso		Chuvoso		Seco	
	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr	N	%Fr
<i>Bacillus</i> sp.	9	11,1	30	3,3	2	0	11	5,55	30	3,3
<i>Candida krusey</i>	9	0	30	3,3	2	0	11	0	30	3,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9	1	30	6,6	2	0	11	0,5	30	6,6
<i>Escherichia coli</i>	9	33,3	30	17	2	0	11	16,7	30	16,6
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	9	0	30	13	2	0	11	0	30	13,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	0	30	10	2	100	11	50	30	10
<i>Pseudomonas putida</i>	9	0	30	6,6	2	0	11	0	30	6,6
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	0	30	6,6	2	0	11	0	30	6,6
<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	9	33,3	30	53	2	0	11	16,7	30	53,3



Foram identificados, bacilos gram negativos fermentadores de glicose, cocos gram positivos, bacilos gram positivos e raras leveduras, totalizando seis bactérias isoladas de importância global, um fungo e duas bactérias saprófitas. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter aerogenes* foram as bactérias de importância em saúde pública global (Price et al., 2017) com maior frequência no período chuvoso, além de isolados de *Bacillus* sp. e *Staphylococcus* coagulase negativa. Vale destacar a predominância de mecanismo de resistência AMPC, que são capazes de hidrolisar cefalosporinas de terceira geração, como a ceftriaxona, cefovecina e ceftazidima, mas, sabidamente, não têm ação sobre carbapenêmicos. Uma importante particularidade desse mecanismo de resistência, diz respeito, à sua expressão fenotípica no antibiograma, onde a bactéria, poderá apresentar sensibilidades às cefalosporinas, quando a produção da enzima estiver “reprimida.” No entanto, a resistência poderá se desenvolver ao longo da exposição (El Fertas-Aissani et al., 2013). Em segundo, o bacilo gram negativo classificado como não fermentador de glicose, são microrganismos aeróbios, não esporulados, que se caracterizam pela incapacidade de utilizar carboidratos como fonte de energia por meio de fermentação, degradando-os pela via oxidativa, porém, também apresentando multi sensibilidades (Price et al., 2017). Vale ressaltar que a presença de gram positivos identificados como *Staphylococcus* coagulase negativa, fazem parte da microbiota epidérmica, mucosas orais e genitais dessas aves. Os isolados de *Enterococcus* sp., sensíveis a penicilinas de primeira e segunda geração, além das sensibilidades a outros antibióticos, caracterizam-se como uma cepa totalmente poli sensível, além de crescimentos raros leveduriformes de microbiota saprófita.

Tabela 48: Resultados das análises virais de suabes coletados de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster*, provenientes do arquipélago dos Abrolhos, e de *Sterna hirundo*, *Sternula supercililaris* e *Thalasseus acutiflavus*, provenientes de Regência, Foz do Rio Doce, durante o período chuvoso e seco, dos cinco anos de monitoramento e período chuvoso do sexto ano. Neg – Negativo para todas as amostras; \* Amostras não coletadas no período.

Arquipélago dos Abrolhos							
Espécie / Período	Chuvoso	Seco	Vírus testados				
<i>Phaethon aethereus</i>	Suabes	Suabes	Influenza	Herpesvírus	Adenovírus	Circovírus	Avulavírus
Ano 1 (2018/2019)	22	16	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
Ano 2 (2019/2020)	8	-	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.
			Herpesvírus	Metapneumovírus	Coronavírus		
Ano 3 (2020/2021)	16	8	Neg.	Neg.	Neg.		
Ano 4 (2021/2022)	8	5	Neg.	Neg.	Neg.		
Ano 5 (2022/2023)	5	20	Neg.	Neg.	Neg.		
Ano 6 (2023/2024)	19	*	Neg.	Neg.	Neg.		
<i>Sula leucogaster</i>	Suabes	Suabes	Influenza	Herpesvírus	Adenovírus	Circovírus	Avulavírus
Ano 1 (2018/2019)	*	20	Neg.	Neg.	Neg.		Neg.
Ano 2 (2019/2020)	8	-	Neg.	Neg.	Neg.		Neg.
			Herpesvírus	Metapneumovírus	Coronavírus		
Ano 3 (2020/2021)	8	8	Neg	Neg	Neg		
Ano 4 (2021/2022)	8	6	Neg	Neg	Neg		
Ano 5 (2022/2023)	5	20	Neg	Neg	Neg		
Ano 6 (2023/2024)	12	*	Neg	Neg	Neg		
Regência/Foz do Rio Doce							
<i>Sterna hirundo</i>	Suabes	Suabes	Herpesvírus	Metapneumovírus	Coronavírus		
Ano 5 (2022/2023)	23	23	Neg	Neg	Neg		
Ano 6 (2023/2024)	19	*	Neg	Neg	Neg		
<i>Sternula supercililaris</i>	Suabes	Suabes					
Ano 5 (2022/2023)	4	4	Neg	Neg	Neg		
Ano 6 (2023/2024)	0	*					
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Suabes	Suabes					
Ano 5 (2022/2023)	9	30	Neg	Neg	Neg		
Ano 6 (2023/2024)	2	*	Neg	Neg	Neg		

As amostras de suabe de orofaringe e cloaca coletadas, das espécies *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster*, apresentaram resultados negativos para os vírus testados (Influenza, Newcastle, Herpesvírus, Adenovírus, Circovírus e Avulavírus) nos anos 1 e 2. A partir do terceiro ano, o painel viral foi alterado, sendo pesquisados: Herpesvírus, Metapneumovírus e Coronavírus, e a partir do quinto ano de monitoramento começaram as análises de *Sterna hirundo*, *Sternula supercililaris* e *Thalasseus acutiflavus*, sendo todos os resultados negativos. O fato de não terem sido isolados fragmentos do genoma viral, não exclui a possibilidade de circulação de diferentes vírus entre os animais. A exclusão de Influenza (IA) e Newcastle (Avulavírus - DNC) foi devido ao fato de que as amostras que são coletadas exclusivamente pelo serviço oficial, devem seguir o Plano de Vigilância de IA e DNC publicado em julho de 2022 pelo MAPA, e devem ser processadas exclusivamente pela rede LFDA, de acordo com a programação do MAPA. Portanto, até que o MAPA altere seu entendimento, o IB – CEAV não pode processar amostras para o diagnóstico de IA. Sendo o IB – CEAV o laboratório parceiro para análises virais das amostras de aves marinhas do presente projeto, apesar de ser credenciado pelo MAPA, não estão permitidas as análises de amostras de aves silvestres para fins de pesquisa, até o presente.

Tabela 49: Resultados da análise parasitária de amostras de sangue coletadas de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster*, provenientes do arquipélago dos Abrolhos, e de *Sterna hirundo*, *Sternula supercililaris* e *Thalasseus acutiflavus* provenientes de Regência, Foz do Rio Doce, durante o período chuvoso e seco, dos cinco anos de monitoramento, e período chuvoso do sexto ano. Neg – Negativo para todas as amostras; \* Amostras não coletadas no período.

Abrolhos			
Espécie / Período	Chuvoso	Seco	Parasita testado
<i>Phaethon aethereus</i>	Sangue	Sangue	<i>Borrelia</i> sp.
Ano 1 (2018/2019)	22	16	Neg.
Ano 2 (2019/2020)	8	-	Neg.
Ano 3 (2020/2021)	16	8	Neg.
Ano 4 (2021/2022)	8	5	Neg.
Ano 5 (2022/2023)	5	20	Neg.
Ano 6 (2023/2024)	19	*	Neg.
<i>Sula leucogaster</i>	Sangue	Sangue	<i>Borrelia</i> sp.
Ano 1 (2018/2019)	*	20	Neg.
Ano 2 (2019/2020)	8	-	Neg.
Ano 3 (2020/2021)	8	8	Neg.
Ano 4 (2021/2022)	8	6	Neg.
Ano 5 (2022/2023)	5	20	Neg.
Ano 6 (2023/2024)	12	*	Neg.
Regência/Foz do Rio Doce			
<i>Sterna hirundo</i>	Sangue	Sangue	<i>Borrelia</i> sp.
Ano 5 (2022/2023)	23	23	Neg.
Ano 6 (2023/2024)	18	*	Neg.
<i>Sternula supercililaris</i>	Sangue	Sangue	Neg.
Ano 5 (2022/2023)	4	4	Neg.
Ano 6 (2023/2024)	0	*	Neg.
<i>Thalasseus acutiflavus</i>	Sangue	Sangue	Neg.
Ano 5 (2022/2023)	9	30	Neg.
Ano 6 (2023/2024)	2	*	Neg.

Todas as amostras de sangue de todas as aves testadas apresentaram resultados negativos para *Borrelia* spp. Os achados negativos para *Borrelia* sp. através do sangue não excluem a circulação do patógeno em questão nas aves, já que, de acordo com a literatura disponível, muito se discute a dificuldade de se encontrar o parasita no sangue, sendo mais comum ser encontrado diretamente no vetor, no caso, o carrapato (Dall'agnol et al., 2017).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO

As aves marinhas que se reproduzem em Abrolhos permanecem utilizando áreas similares para alimentação desde o período pré-rompimento, ou seja, o entorno do Arquipélago dos Abrolhos, com incursões em direção à foz do rio Doce. No entanto, ao longo do PMBA, o uso de áreas no entorno do talude foi intensificado por *P. aethereus*, sugerindo uma necessidade de busca de alimento em áreas mais afastadas da colônia. Para *S. leucogaster*, a composição da dieta pós-rompimento pouco variou em relação ao pré-rompimento, visto que as presas consumidas permaneceram as mesmas. Os resultados indicam que *S. leucogaster* permanece consumindo as presas no entorno de Abrolhos de forma similar ao período pré-rompimento. Embora com forte sobreposição à dieta do pré-rompimento, *P. aethereus* apresentou um aumento na riqueza de espécies das presas no pós-rompimento, o que é condizente com a alteração nas áreas de forrageio. As variações encontradas na composição na dieta de *P. aethereus* podem estar associadas à necessidade de diversificação das presas consumidas, a partir de uma potencial variação na disponibilidade de presas preferenciais no entorno do arquipélago. Dessa forma, o consumo de presas similares entre o pré e pós-rompimento, e entre os anos subsequentes, pode ser considerada uma armadilha ecológica, na qual as presas consumidas passaram a estar contaminadas, contribuindo para biomagnificação de contaminantes inorgânicos nos tecidos das aves.

Ao longo de todo o período do PMBA, as contagens de aves nas praias e na plataforma continental na foz do Rio Doce e adjacências indicaram marcada concentração de indivíduos na foz do rio Doce, onde normalmente são observados grandes bandos, em especial de trinta-réis (Charadriiformes: Sternidae). Chama a atenção também a presença marcante de petréis (Procellariiformes: Procellariidae) na plataforma continental. Durante os períodos chuvosos, foram registrados os maiores números de aves aquáticas nas praias quando comparados aos períodos secos. As maiores abundâncias, riquezas e diversidades de espécies têm sido observadas nos setores de Regência e Povoação ao longo do PMBA, trechos que ficam imediatamente ao sul e ao norte da foz do rio Doce, respectivamente. Diferente da praia, no mar houve um maior número de registros de aves durante o período seco, embora a diferença tenha sido pequena. Em relação às transecções, as maiores abundâncias, densidades e diversidade foram registradas na transecção alinhada à foz do rio Doce e na transecção no extremo norte. Todos esses resultados indicam que há uma forte permanência de uso da região do entorno da foz do rio Doce para alimentação por dezenas de aves marinhas.

A riqueza e abundância de aves aquáticas registradas, incluindo espécies migratórias, demonstram a importância da região da foz do rio Doce e costa adjacente como área de alimentação e descanso para o grupo. Essa importância é reforçada pela presença de espécies ameaçadas em nível nacional ou mesmo em nível global. No entanto, o maior número de aves aquáticas registradas nas praias durante o período chuvoso, aparentemente associado com a maior presença de espécies migratórias, é um fator de preocupação em relação à contaminação das aves, pois no período chuvoso ocorre recontaminação da região costeira a partir dos rejeitos ainda presentes no leito do rio Doce. Assim

como para as aves costeiras, esse é um fator de preocupação em relação à contaminação das aves marinhas, devido aos rejeitos depositados na plataforma continental sofrerem remobilização em eventos de maré meteorológica. A exposição aos contaminantes de espécies migratórias oriundas de colônias em ilhas brasileiras, mas também no hemisfério norte e da região subantártica, faz com que essas espécies funcionem como biovetores, ampliando espacialmente o impacto dos rejeitos, inclusive atingindo organismos da comunidade insular terrestre das colônias, e organismos marinhos adjacentes (e.g. corais e organismos associados).

De modo geral, foi observado um aumento nas concentrações de As e Cd entre os períodos pré e pós-rompimento, associado a uma diminuição em elementos essenciais. Adicionalmente, tem sido observadas altas concentrações de elementos não essenciais (Cd, Pb, Hg e As) nas presas preferenciais das aves, como sardinhas, agulhinhas, peixes-voadores, e pequenos atuns, entre outros. Esse resultado, associado ao supramencionado, de que as aves permaneceram usando as mesmas áreas e presas entre os períodos pré e pós-rompimento, representa a ilustração do conceito de armadilha ecológica, na qual os organismos utilizam recursos de baixa qualidade, o que pode levar a efeitos deletérios em níveis de população e espécie. No período pós-rompimento, no âmbito do PMBA, As, Hg, Cd e Pb (elementos não-essenciais) apresentaram correlação entre si e com Mn nas penas de *P. aethereus* e *S. leucogaster*, o qual é o segundo elemento mais abundante na barragem de Fundão, sugerindo que a ocorrência desse traçador dos rejeitos está relacionada com metais e um metaloide (As) potencialmente tóxicos. Em particular, para penas, a campanha do Ano 3 chuvoso (fevereiro de 2021) se distinguiu por apresentar valores elevados de As, Hg, Cd, Cr e Mn, enquanto as campanhas do período anterior ao rompimento (fevereiro e agosto de 2011) apresentaram valores mais elevados de elementos essenciais, particularmente Zn e Fe. No Ano 6, foi observado novo pico nas concentrações de grande parte dos elementos analisados, reforçando a contaminação crônica quase 10 anos após o rompimento. As aves da família Sternidae, recentemente incluídas nas análises a partir do Novo Ciclo do PMBA (início em agosto de 2022), e amostradas na foz do Rio Doce, apresentaram valores ainda mais elevados de As, Cd, Hg e Pb nas penas em relação às aves marinhas de Abrolhos amostradas durante o mesmo período (março de 2023). Embora com menor massa corporal e, portanto, explorando presas menores, essas aves estão diretamente expostas aos rejeitos ocorrentes na foz do Rio Doce, visto que utilizam a foz para alimentação durante o período não reprodutivo para espécies migratórias (e.g. *Sterna hirundo*), mas ao longo de todo o ano para espécies residentes (e.g. *Thalasseus acutiflavus* e *Sterna hirundinacea*, ambas ameaçadas de extinção no Brasil). Por fim, é importante destacar as altas concentrações de contaminantes nas presas das aves. É interessante notar que as famílias de presas com as maiores concentrações de contaminantes são as presas preferenciais das aves, como Dorosomatidae (sardinhas), Hemiramphidae (agulhinhas), e Exocoetidae (peixes-voadores). Portanto, essas são as principais vias de contaminação das aves. A relevância desse resultado pode ser estendida ainda para outras questões, como o fato de algumas dessas espécies também serem eventualmente consumidas por humanos, ou também por serem presas de espécies-alvo de pescarias na região.

Desde o Ano 1, as aves vêm demonstrando uma elevação nos números de leucócitos totais, especialmente nos números de heterófilos, números esses mais significativos nos períodos chuvosos, o que pode ser indicativo de processo inflamatório. Outro achado que se manteve em evolução foram os números baixos de hemácias, ou seja, ao longo do PMBA, foi aumentando o número de aves que apresentaram esse parâmetro abaixo da normalidade, novamente presente em maior quantidade na estação chuvosa, podendo assim ser caracterizado como potencial anemia com leucocitose por neutrofilia, principalmente. Outros achados mais recentes foram de células mais jovens, um pequeno percentual de regeneração com uma marcada presença de *rouleaux* eritrocitário, que ocorre geralmente em situações de alta atividade da medula óssea devido ao aumento de gamaglobulinas no sangue, muitas vezes mediada por algum agente infeccioso ou em resposta a inflamação. Outro fator a ser considerado foi a notável desidratação das aves em ambos os períodos. Contudo, em aves que vieram a apresentar esse sinal clínico a partir do Ano 5, também foi observada intensa leucopenia, associada a infecções endotoxêmicas e septicêmicas, doenças nutricionais, anafilaxia, reações autoimunes, principalmente agentes infecciosos e seguido de policitemia. Adicionalmente, destaca-se a presença de bactérias multirresistentes de prioridade global publicada pela lista da Organização Mundial de Saúde (OMS): *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* resistentes aos carbapenêmicos; enterobactérias resistentes aos carbapenêmicos e/ou às cefalosporinas de 3ª geração; *Enterococcus* spp. resistentes à vancomicina (VRE); *Staphylococcus* spp. resistentes à meticilina (MRSA) ou vancomicina (VRSA); *Klebsiella oxytoca* resistentes às cefalosporinas; *K. pneumoniae* resistentes às cefalosporinas; *Enterobacter aerogenes* resistente às cefalosporinas; e o primeiro relato de isolamento de *Stenotrophomonas maltophilia* que apresentou resistência a sulfametoxazol-trimetoprima, droga de escolha para o tratamento de aves marinhas de vida livre. Todos esses achados foram em períodos chuvosos, sendo isolados desde o Ano 1. Tivemos resultados de *Escherichia coli* com perfil de resistência de importância, sendo essa a única bactéria de importância global, isolada em período chuvoso e seco. A disseminação de bactérias multirresistentes no ecossistema marinho vêm sendo reportada como uma ameaça global a saúde pública, devido ao alto potencial patogênico desses agentes. É possível que o desenvolvimento de mecanismos de resistência a antibióticos esteja relacionado à presença de altas concentrações de metais pesados no ambiente. Este fato pode ser explicado pela similaridade entre as vias de resistência a metais e antimicrobianos e a ocorrência de resistência cruzada entre os dois compostos.

Em 2018, a população de *Sula leucogaster* possuía 676 aves, e em 2023 possuía 314 aves. Em 1994, a população foi estimada em 800 aves e, em 2011, chegou a 1292 aves. Atualmente, está reduzida a cerca de 300 aves. Nesse contexto, os dados sugerem que *S. leucogaster* pode estar em um processo de extinção local em Abrolhos, de modo que a causa fundamental pode estar associada à extrema exposição aos contaminantes oriundos dos rejeitos da barragem. Por outro lado, o tamanho populacional de *P. aethereus* aumentou para cerca de 1000 adultos reprodutores. O aparente aumento no tamanho populacional de *P. aethereus* pode estar relacionado ao efeito da desratização do arquipélago em 2022, uma vez que a predação por ratos era considerada o principal fator responsável pelas falhas reprodutivas da espécie. No entanto, os resultados também podem mostrar a resiliência da espécie diante dos potenciais impactos do rejeito, uma vez que tem sido observada uma alteração



na composição da dieta, e uma exploração de áreas mais afastadas da colônia em atividades de forrageio, indicando uma capacidade de buscar recursos de melhor qualidade. Por fim, o tamanho populacional de *Sterna hirundinacea* nas ilhas do Espírito Santo demonstra um forte declínio entre os valores pretéritos registrados (anos de 1988 e 2006 = 3609 adultos) e as atuais contagens obtidas em campo: 226 em 2021; e 57 em 2023. Da mesma forma, os valores de sucesso reprodutivo de ovos e filhotes nos poucos ninhos registrados nas Ilhas Itatiaia, seguem a mesma tendência de declínio: 50% em 2019; e 0% em 2023. Tais resultados podem estar associados diretamente à exposição aos contaminantes presentes no rejeito da barragem, visto que o entorno das áreas reprodutivas e as áreas de alimentação da espécie foram severamente atingidas. Adicionalmente, segundo o Painel de Observação da Influenza Aviária mantido pelo Ministério de Agricultura e Pecuária, o Espírito Santo é o segundo Estado da federação com o maior número de focos da doença no Brasil, correspondendo a mais de 20% de todos os focos do país, e as espécies da família Sternidae são as mais impactadas em nível nacional, sendo que *S. hirundinacea* é a terceira espécie com o maior número de focos no Brasil. Tal impacto da Influenza Aviária sobre os trinta-réis no Espírito Santo pode estar diretamente associado à uma probabilidade maior de infecção das aves na região devido a uma potencial diminuição na imunidade ocasionada pela contaminação por elementos-traço não essenciais, como tem sido observada neste Tema.

Em termos de diversidade genética, observamos que os valores dos parâmetros estudados flutuam ao longo dos anos para ambas as espécies. No entanto, as flutuações são menos acentuadas para *S. leucogaster*, sugerindo uma maior estabilidade genética nessa espécie. Em contraste, *P. aethereus* apresenta uma leve diminuição nos valores descritivos da diversidade genética (*i.e.* média de alelos encontrados, riqueza alélica e diversidade gênica) em relação ao período pré-rompimento. Não podemos associar diretamente essa perda aos impactos dos rejeitos. A resposta dos organismos à exposição a contaminantes pode ser complexa e dependente da história de vida das espécies. Estudos prévios em outros organismos mostram que a exposição prolongada a substâncias tóxicas pode aumentar a diversidade genética em algumas populações, que podem acumular uma maior quantidade de mutações deletérias e diminuir sua viabilidade em longo prazo. Por outro lado, uma diminuição na diversidade genética também pode ocorrer por pressão seletiva, resultando no aumento das frequências dos genótipos mais aptos e na diminuição ou eliminação dos genótipos menos aptos às novas condições ambientais. Em ambos os casos, é necessário o monitoramento das populações em longo prazo, já que os efeitos dos contaminantes sobre a diversidade genética só podem ser avaliados com base nas mudanças observadas entre várias gerações. Considerando que o tempo de geração dessas espécies é estimado em torno de 15-20 anos, os resultados obtidos durante esses cinco anos de projeto (apenas sete anos após o rompimento), podem estar associados a outros fatores, e uma amostragem de longo prazo seria necessária para identificar os verdadeiros efeitos dos rejeitos sobre a diversidade genética dessas populações.

A partir da análise de dados pretéritos, dados obtidos pré-PMBA, e dados obtidos ao longo do PMBA, é possível concluir que a exposição aguda e crônica aos contaminantes presentes nos rejeitos têm desencadeado processos com potencial de levar populações inteiras de aves marinhas à extinção na



região. O lançamento dos rejeitos na plataforma continental adjacente à foz do rio Doce não foi suficiente para indisponibilizar alimento para as aves marinhas, visto que as aves utilizadas como indicadores do impacto (*S. leucogaster* e *P. aethereus*) permanecerem capturando as mesmas presas e em regiões similares àquelas do período pré-rompimento. No entanto, comparações pré e pós-rompimento evidenciam um aumento nas concentrações de elementos não essenciais às aves, como Arsênio e Cádmio, demonstrando que os rejeitos contaminaram diretamente o alimento das aves. Comparações realizadas entre anos e estações no período do PMBA, demonstram claramente que as concentrações de elementos associados aos rejeitos, como Arsênio, Cádmio, Chumbo, Mercúrio, e Manganês, oscilam de acordo com a dinâmica hídrica da bacia do Rio Doce e com eventos de maré meteorológica na região costeira. Picos nas concentrações de tais elementos são observados em períodos chuvosos, o que é condizente com o aumento da vazão do Rio Doce e maior entrada de rejeitos na plataforma continental (área de alimentação das aves marinhas) oriundos do leito do rio. Nesse contexto, a permanência de utilização para alimentação das aves marinhas na área impactada pelos rejeitos na plataforma continental representa uma armadilha ecológica, pois as aves continuam a ser atraídas para tais áreas devido à ocorrência de presas, mas após o rompimento as presas passaram a estar expostas aos contaminantes presentes nos rejeitos. Os contaminantes possuem capacidade de ocasionar distúrbios fisiológicos, os quais podem ser observados, por exemplo, através de parâmetros sanitários. As espécies indicadoras do impacto têm apresentado elevação nos parâmetros associados com processos inflamatórios, quadros de anemia e desidratação, ocorrência de bactérias de prioridade de saúde pública e global listadas pela OMS, bem como bactérias multirresistentes a antibióticos. Adicionalmente, as aves marinhas que se reproduzem no Espírito Santo (e.g. *Sterna hirundinacea*) estão entre as mais impactadas pela Influenza Aviária em todo o Brasil, as quais tiveram suas populações devastadas em 2023, o que pode estar associado com uma queda na imunidade ocasionada pela exposição crônica aos contaminantes presentes no rejeito. De forma similar, a população de *Sula leucogaster* em Abrolhos tem apresentado acentuado declínio ao longo do PMBA, e ainda maior quando os números são comparados com dados pretéritos. A espécie possui como estratégia de forrageio a busca por presas em áreas próximas à costa, incluindo descartes da pesca de arrasto como recurso alimentar. Os resultados podem ser seguramente extrapolados para as dezenas de espécies que têm sido registradas utilizando a foz do Rio Doce e adjacências para alimentação. As consequências da exposição crônica aos contaminantes possuem potencial de causar efeitos deletérios em níveis populacional e de espécie, inclusive a extinção local, o que é particularmente relevante para espécies ameaçadas de extinção, como *P. aethereus* (EN), *P. lepturus* (EN), *S. hirundinacea* (VU), *Thalasseus acutiflavus* (VU), *T. maximus* (EN), *Pterodroma arminjoniana* (CR), entre outras.

## 5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

Das amostragens ao longo de todo o período tivemos as seguintes situações imprevistas:

- Meta 1 – contagens de aves nas praias:

- Em março de 2021, ainda sob restrições de contato e recomendações de isolamento social, a pesquisadora responsável pela contagem de aves na praia teve sintomas de Covid-19, no dia anterior à realização da amostragem planejada e, por isso, não foi possível a substituição imediata ou recuperação em tempo para a execução da amostragem do mês.

- Em dezembro de 2021, não foi possível realizar a contagem de aves no setor Povoação devido a problemas mecânicos com o quadriciclo utilizado para o deslocamento. Em janeiro de 2022, a região ao norte da foz do Rio Doce recebeu chuvas intensas e o acesso a Povoação foi interrompido, pois a estrada estava inundada, o que impediu a realização da contagem de aves nesse trecho. Também em razão do grande volume de chuva, não foi possível percorrer o trecho completo do setor Pontal do Ipiranga, pois foram abertos canais entre algumas lagoas e o mar, impedindo a passagem do quadriciclo. De fevereiro a abril de 2022, da mesma forma, a região ao norte da foz do Rio Doce recebeu chuvas intensas e não foi possível percorrer os trechos completos dos setores Povoação e Pontal do Ipiranga, pois foram abertos canais entre algumas lagoas e o mar impedindo a passagem do quadriciclo. Destaca-se, entretanto, que a não realização destas atividades acima não implicou em qualquer prejuízo para a análise de dados, geração e interpretação dos resultados.

- Metas 2 e 3:

Para Sternidae da Foz do Rio Doce, era prevista a coleta de músculo de presas para as estimativas de contribuição para a dieta. Entretanto, a obtenção dessas amostras é realizada através da coleta oportunista de regurgitados espontâneos das aves no momento da captura, mas as aves não regurgitaram durante as amostragens do período chuvoso e seco do Ano 5, e período chuvoso do Ano 6. Não há indução de regurgitação pois é considerada uma técnica muito invasiva e com elevado grau de estresse às aves, muitas das quais, desta família, são ameaçadas de extinção. Pela mesma razão, não foram obtidos regurgitados espontâneos para as aves de Abrolhos no período seco do Ano 5 e no período chuvoso do Ano 6. Desse modo, não houve acréscimo dessa informação para as análises de ecologia trófica e análise de elementos-traço. Apesar disso, o conjunto de amostras e dados obtidos até o momento com esta abordagem/técnica permite importantes conclusões a respeito das presas utilizadas pelas aves, e lança luz sobre as principais vias de contaminação para as aves.

- Meta 4:

- Em virtude da pandemia e fechamento do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos, interrompemos nossas coletas de dados referente à demografia e reprodução de *Phaethon aethereus* e *Sula leucogaster* no arquipélago dos Abrolhos no início de 2020 até final de 2021, comprometendo a sequência da amostragem e a análise temporal destes dados. Em 2021, não houve atividade reprodutiva de *Sterna hirundinacea* nas ilhas monitoradas e, em 2022, houve antecipação da temporada para final de junho, coincidindo com o período em que, por determinação da Fundação Renova, não houve atividades de campo do PMBA/Fest.

- Ao longo do período amostral alguns fatores associados às condições climáticas também dificultaram e/ou inviabilizaram a periodicidade necessária da amostragem para a eficiente análise dos resultados de sucesso reprodutivo, em alguns anos em Abrolhos, criando lacunas na interpretação do desenvolvimento de alguns ninhos, especialmente em 2020 e 2021.

- Adicionalmente, houve incompatibilidade entre a metodologia proposta e o trabalho realizado pela equipe do Parque Nacional, inviabilizando a análise do sucesso reprodutivo de alguns ninhos a partir de agosto de 2022, quando a equipe do Parque solicitou que os ninhos localizados numa região da ilha conhecida como “Mato Verde” não fossem mais utilizados no monitoramento. Assim, interrompemos o monitoramento em 55 ninhos desta localidade, mas adicionamos outros ninhos em outras ilhas do arquipélago, ampliando a amostragem para cerca de 144 ninhos.

- Em maio de 2023, em virtude do surto de gripe aviária no Brasil, especialmente em *Sterna hirundinacea*, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) decretou estado de emergência zoonosológica em todo o território nacional, acarretando a suspensão do desembarque nas ilhas do Espírito Santo e, conseqüentemente, inviabilizando a marcação dos ninhos, a coleta de dados sobre o estado reprodutivo e a amostragem biológica da espécie nas ilhas de reprodução, visto que a restrição foi sobreposta temporalmente ao período reprodutivo da espécie.

- No arquipélago dos Abrolhos, não foi detectada a presença de aves infectadas pelo vírus da influenza aviária H5N1, mas o MAPA e a Agência Estadual de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB) também adotaram medidas preventivas, inviabilizando a coleta e o transporte de material biológico no período seco do Ano 5. De modo geral, os pequenos imprevistos representam uma parcela pequena do total de métodos, amostras e dados obtidos, não impactando nas interpretações e conclusões, as quais permaneceriam inalteradas caso os dados e amostras tivessem sido obtidos conforme planejamento inicial.

- Meta 5:

- Dado que mudanças nas composições genéticas das populações, especialmente de vertebrados, acontecem ao longo de períodos de tempo muito extensos, a amostragem anual é mais adequada do que a sazonal ou mensal para monitorar a diversidade genética em longo prazo. A amostragem adequada de uma população reprodutora de ave marinha requer que contenha amostras de vários momentos, incluindo também o pico reprodutivo. Por esse motivo, desde o início do projeto, o desenho amostral prevê a análise genética de 20 amostras por espécie por ano. É importante salientar que as amostras para genética são selecionadas preferencialmente para representar adequadamente a população, ou seja, é necessário abranger vários meses ou períodos ao longo do ano, garantindo assim uma melhor representação da população já que *S. leucogaster* e *P. aethereus* em Abrolhos. Também é importante levar em conta o fato de que nem todas as amostras selecionadas inicialmente podem ser analisadas, pois algumas são perdidas em diferentes etapas de seu processamento, qualidade e quantidade do DNA extraído, dentre outros, o que reduz o tamanho amostral inicial. Por exemplo, amostras que não atingem os parâmetros de qualidade durante a extração do DNA, ou na construção das bibliotecas genômicas, ou que foram sequenciadas e geraram poucas leituras, ou que não passam

nos filtros feitos posteriormente durante as análises dos dados. Portanto, procuramos sempre iniciar com um tamanho amostral um pouco maior que as 20 amostras de cada espécie e de cada ano indicadas no Plano de trabalho inicial do projeto, e para o qual seguimos utilizando o mesmo padrão. Assim, as amostras coletadas no mês de janeiro corresponderiam ao ano 6 do projeto, que finaliza no mês de setembro e para o qual necessitamos coletar amostras em outros meses e em número maior. Destacamos que a abordagem da análise é sobre a população (índices e parâmetros calculados são para o grupo todo de amostras analisadas do ano), distinto da análise do indivíduo (valores de cada indivíduo nas planilhas de dados). Isso explica porque algumas análises são possíveis, mas outras não são possíveis com a amostragem de apenas um mês realizada em janeiro de 2024.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA G. G.; SAMPAIO-ESILVA T. A.; SILVA-MATOS D. M. Influence of the invasive grass *Urochloa decumbens* on nest-site selection by brown booby *Sula leucogaster* on Castilho Island, Brazil. **Marine Ornithology**, v. 48, 111–117, 2020.
- ALVES, V. S., *et al.* Aves marinhas de Abrolhos - Bahia, Brasil. In: BRANCO, J.O. (ed.). **Aves marinhas insulares brasileiras: bioecologia e conservação**. Itajaí: Univali. p. 213–232, 2004.
- ALVES, V.S., SOARES, A.B.A., COUTO, G.S., RIBEIRO, A.B.B., EFE, M.A. Aves do Arquipélago dos Abrolhos, Bahia, Brasil. **Ararajuba** 5, 209–218, 1997.
- ANCONA S.; CALIXTO-ALBARRÁN I.; DRUMMOND H. Effect of El Niño on the diet of a specialist seabird, *Sula nebouxii*, in the warm eastern tropical Pacific. **Marine Ecology Progress Series**, v. 462, 261–271, 2012.
- ANDREWS, S. **FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data**. 2010. Disponível em <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>.
- ARNES, H. J.; VAILLACOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis In: SAYF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11th. ed. Ames: Iowa State University Press, p. 631–656, 2003.
- BARNES, H. J.; VAILLACOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacillosis In: SAYF, Y.M. **Diseases of poultry**. 11th. ed. Ames: Iowa State University Press, p. 631–656, 2003.
- BAUER, A. B.; LINHARES, B. A.; NUNES, G. T.; COSTA, P. G.; ZEBRAL, Y. D.; BIANCHINI, A.; BUGONI, L. Temporal changes in metal and arsenic concentrations in blood and feather of tropical seabirds in the area impacted by one of the largest environmental disaster associated with mining. **Environmental Research**, v. 248, 118240, 2024.
- BEARHOP, S., RUXTON, G. D., & FURNESS, R. W. Dynamics of mercury in blood and feathers of great skuas. **Environmental Toxicology and Chemistry: an International Journal**, v. 19, p. 1638–1643, 2000.

- BENJAMINI, Y.; HOCHBERG, Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)**, v. 57, p. 289–300, 1995.
- BENSKIN, C. M. H., RHODES, G., PICKUP, R. W., WILSON, K., HARTLEY, I. R. Diversity and temporal stability of bacterial communities in a model passerine bird, the zebra finch. **Molecular Ecology**, v. 19, p. 5531–5544, 2010.
- BIBBY, C.; JONES, M.; MARSDEN, S. **Expedition field techniques: bird surveys**. London: Royal Geographical Society, 1992.
- BOEKEN M. Breeding success of red-billed tropicbirds *Phaethon aethereus* on the Caribbean island of Saba. **Ardea**, v. 104, 263–271, 2016.
- BRANCO, J. O.; BARBIERI, E., & FRACASSO, H. A. A. Técnicas de pesquisa em aves marinhas. In: **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Editora Technical Books, p. 219–235, 2010.
- BROOKE, J. S. Advances in the microbiology of *Stenotrophomonas maltophilia*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 34, e0003019, 2021
- BROOKE, J. S. New strategies against *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 12, p. 1–4, 2014.
- BROWER, J. E.; ZAR, J. H. **Field and laboratory methods for general ecology**. Iowa: HMC Company, 1998.
- BROWN, S. C.; BIZARRO, J. J.; CAILLIET, G. M., & EBERT, D. A. Breaking with tradition: redefining measures for diet description with a case study of the Aleutian skate *Bathyrja aleutica* (Gilbert 1896). **Environmental Biology of Fishes**, v. 95, p. 3–20, 2011.
- BURGER, J., & GOCHFELD, M. Effects of chemicals and pollution on seabirds. In: SCHREIBER, E. A. & BURGER, J. (Eds.), **Biology of marine birds**, Boca Raton, CRC Press. p. 503–544, 2001.
- CAMPBELL, T. W. Hematology In: RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON L. R. **Avian medicine: principles and application**. Lake Worth: Wingers Publishing, p. 176-198, 1994
- CAMPBELL, Terry W. Hematologia das Aves. In: THRALL, M. A. et al. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 507–586, 2015.
- CAPITELLI, R.; CROSTA, L. Overview of psittacine blood analysis and comparative retrospective study of clinical diagnosis, hematology and blood chemistry in selected psittacine species. **Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice**, Texas, v. 16, p. 71–120, 2013.
- CARBONERAS, C. Family Sulidae (Gannets & Boobies), pp. 312–325. In: **Handbook of the Birds of the World** (del Hoyo, J.; A. Elliott & J. Sargatal, eds). Vol. 1. Lynx Edicions, Barcelona, Spain. 1992.

- CARREIRO, A. R. *et al.* High-throughput sequencing reveals prey diversity overlap between sympatric Sulids in the tropical Atlantic. **Food Webs**, v. 33, e00258, 2022.
- CASTILLO-GUERRERO, J. A.; PIÑA-ORTIZ, A.; ENRÍQUEZ-PAREDES, L.; VAN DER HEIDEN, A. M.; HERNÁNDEZ-VÁZQUEZ, S.; SAAVEDRA-SOTELO, N. C.; FERNÁNDEZ, G. Low genetic structure and diversity of Red-billed tropicbirds in the Mexican Pacific. **Journal of Field Ornithology**, v. 91, p. 142–155, 2020.
- CASTILLO-GUERRERO, J. A.; GUEVARA-MEDINA, M. A.; MELLINK, E. Breeding ecology of the red-billed tropicbird *Phaethon aethereus* under contrasting environmental conditions in the Gulf of California. **Ardea**, v. 99, 61–71, 2011.
- CHANG, C. C.; CHOW, C. C.; TELLIER, L. C.; VATTIKUTI, S.; PURCELL, S. M.; LEE, J. J. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets. **GigaScience**, v. 4, 7, 2015.
- CHEN, S.; ZHOU, Y.; CHEN, Y.; GU, J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics**, v. 34, p. i884–i890, 2018.
- CHEREL, Y.; HOBSON, K. A. Geographical variation in carbon stable isotope signatures of marine predators: a tool to investigate their foraging areas in the Southern Ocean. **Marine Ecology Progress Series**, v. 329, p. 281–287, 2007.
- CLARK, P. *et al.* **Atlas of Clinical Avian Hematology**. Reino Unido: Wiley-blackwell, 2009.
- DALAZEN, G.; SELLERA, F. P.; FUENTES-CASTILLO, D.; SANO, E.; FONTANA, H.; CARDOSO, B.; ESPOSITO, F.; SILVEIRA, L. F.; MATUSHIMA, E. R.; LINCOPAN, N. *Stenotrophomonas maltophilia* belonging to novel sequence types ST473 and ST474 in wild birds inhabiting the Brazilian Amazonia. **Current Microbiology**, v. 81, 20, 2023.
- DALL'AGNOL, B.; MICHEL, T.; WECK, B.; SOUZA, U.; WEBSTER, A.; LEAL, B. *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes longiscutatus* ticks from Brazilian Pampa. **Ticks Tick Borne Disease**, v. 8, p. 928–932, 2017.
- DANECEK, P. *et al.* Twelve years of SAMtools and BCFtools. **Gigascience**, v. 10, giab008, 2021.
- DAR, E.; OVERCAST I. ipyrad: interactive assembly and analysis of RADseq datasets. **Bioinformatics**, v. 36, p. 2592–2594, 2020.
- DEL HOYO, J.; HELLIOU, A.; SARGATAL, J. **Handbook of the birds of the world. Vol. 3. Hoatzin to Auks**. Barcelona: Linx Edicions, 1996.
- DO, C.; WAPLES, R. D.; PEEL, D.; MACBETH, G. M.; TILLET, B. J.; OVENDEN, J. R. NeEstimator V2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. **Molecular Ecology Resources**, v. 14, p. 209–214, 2014.
- DOMINGUEZ, J. M. L. The coastal zone of Brazil: an overview. **Journal of Coastal Research**, v. 39, p. 16–20, 2006.



- EFE M. A. Aves marinhas das ilhas do Espírito Santo. p.101-118. In: **Aves marinhas e insulares brasileiras: bioecologia e conservação** (Organizado por Joaquim Olinto Branco). Editora da UNIVALI, Itajaí, SC, 2004.
- EL FERTAS-AISSANI, R.; MESSAI, Y.; ALOUACHE, S.; BAKOUR, R. Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens. **Pathologie Biologie**, v. 61, p. 209–216, 2013.
- EL MOUSADIK, A.; PETIT, R. J. High level of genetic differentiation for allelic richness among populations of the argan tree [*Argania spinosa* (L.) Skeels] endemic to Morocco. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 92, p. 832–839, 1996.
- EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, p. 564–567, 2010.
- FIORELLO, C. V. et al. Hematology and absence of hemoparasites in breeding common terns (*Sterna hirundo*) from Cape Cod, Massachusetts. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 40, p. 409–413, 2009.
- FOURIE, F. R.; HATTINGH, J. Comparative haematology of some south african birds. **Comparative Biochemistry and Physiology. Part A: Comparative Physiology**, Oxford, v. 74A, p. 443–448, 1983.
- FRACASSO, H. A. A.; BRANCO, J. O. Reproductive success of South American terns (*Sterna hirundinacea*) from Cardos Islands, Florianópolis, SC, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, v. 84, p. 527–536, 2012.
- FRERET-MEURER, N. V.; ANDREATA, J. V.; ALVES, M. A. S. Avifauna associated with an otter-trawl fishery in a tropical estuary. **Marine Ornithology**, v. 48, 283–287, 2020.
- GOUDET, J. FSTAT: a computer program to calculate F-Statistics. **Journal of Heredity**, v. 86, p. 485–486, 1995.
- GOULD, P. J.; FORSELL, D. J. Techniques for shipboard surveys of marine birds. **US Fish and Wildlife Service**, 1989.
- GOVAN, E.; PARNELL, A. **simmr: a stable isotope mixing model, 2023**. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=simmr>>. Acesso em: 03 de março de 2024.
- GROND K.; LANCTOT R. B.; JUMPPONEN A.; SANDERCOCK B. K. Recruitment and establishment of the gut microbiome in Arctic shorebirds. **FEMS microbiology ecology**, v. 93, 142, 2017.
- HAMBLIN, M. T.; WARBURTON, M. L.; BUCKLER, E. S. Empirical comparison of simple sequence repeats and single nucleotide polymorphisms in assessment of maize diversity and relatedness. **PLoS ONE**, v. 2, e1367, 2007.



- HANGHØJ, K.; MOLTKE, I.; ANDERSEN, P. A.; MANICA, A.; KORNELIUSSEN, T. S. Fast and accurate relatedness estimation from high-throughput sequencing data in the presence of inbreeding. **GigaScience**, v. 8, p. 1–9, 2019.
- HARRISON, P. **Seabirds: an identification guide**. Houghton Mifflin Harcourt, 1985.
- HEINEMANN, D. A rangefinder for pelagic bird censusing. **Journal of Wildlife Management**, v. 45, p. 489–493, 1981.
- HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes ii: factors influencing diet-tissue fractionation. **The Condor**, v. 94, p.189–197, 1992.
- HURLBERT, S. H. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters. **Ecology**, v. 52, p. 577–586, 1971.
- IBAÑEZ A. E. et al. Deleterious effects of mercury contamination on immunocompetence, liver function and egg volume in an antarctic seabird. **Chemosphere**, v. 346, 140630, 2024.
- ICMBio. Relatório anual do Programa de Monitoramento das Aves Marinhas do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos. 2021.
- IUCN. The IUCN red list of threatened species. Versão 2023-1. <https://www.iucnredlist.org>. Acessado em 15 de fevereiro de 2024, 2024.
- JACKSON, A.L.; INGER, R.; PARNELL A.C.; BEARHOP. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER – Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. **Journal of Animal Ecology**, v. 80, p. 595–602, 2011.
- JAENSCH, S.; CLARK, P. Haematological characteristics of response to inflammation or traumatic injury in two species of black cockatoos: *Calyptorhynchus magnificus* and *C. funereus*. **Comparative Clinical Pathology**, v. 13, p. 9–13, 2004.
- JENKINS, E.; GULKA, J.; YURKOWSKI, D. J.; LE FRANÇOIS, N. R.; WONG, E.; DAVOREN, G. K. Isotopic discrimination ( $\delta^{15}\text{N}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) in captive and wild common murres (*Uria aalge*) and Atlantic puffins (*Fratercula arctica*). **Physiological and Biochemical Zoology**, v. 93, p. 296–309, 2020.
- JONES, B. et al. Widespread gene flow between oceans in a pelagic seabird species complex. **Molecular Ecology**, v. 26, 5716–5728, 2017.
- KORNELIUSSEN, T. S.; ALBRECHTSEN, A.; NIELSEN, R. ANGSD: analysis of Next Generation Sequencing Data. **BMC Bioinformatics**, v. 15, 356, 2014.
- KORUNES, K. L.; SAMUK, K. Pixy: unbiased estimation of nucleotide diversity and divergence in the presence of missing data. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, p. 1359–1368, 2021.
- KREBS, C. J. **Ecological methodology**. Menlo Park: Addison-Welsey Educational, 1999.
- LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with burrows-wheeler transform. **Bioinformatics**, v. 25, p. 1754–1760, 2009.

- MADDEN, H. **Breeding success of red-billed tropicbirds at Pilot Hill, St. Eustatius – Year 3 (2014-2015)**. 2014. Disponível em <https://www.dcbd.nl/>
- MAGOZZI, S.; YOOL, A.; VANDER SANDEN, M.B.; WUNDER, C. N.; TRUEMAN C. N. Using ocean models to predict spatial and temporal variation in marine carbon isotopes. *Ecosphere*, v. 8. e01763, 2017.
- MANCILLA-MORALES, M. D.; VELARDE, E.; AGUILAR, A.; CONTRERAS-RODRÍGUEZ, A.; EZCURRA, E.; ROSAS-RODRÍGUEZ, J. A.; SOÑANEZ-ORGANIS, J. G.; RUIZ, E. A. Strong philopatry, isolation by distance, and local habitat have promoted genetic structure in Heermann's gull. *Diversity*, v. 14, p. 1–23, 2022.
- MANCINI, P. L.; BUGONI, L. Resources partitioning by seabirds and their relationship with other consumers at and around a small tropical archipelago. *ICES Journal of Marine Science*, v. 71, p. 2599–2607, 2014.
- MANCINI, P. L.; HOBSON, K. A.; BUGONI, L. Role of body size in shaping the trophic structure of tropical seabird communities. *Marine Ecology Progress Series*, v. 497, p. 243–257, 2014.
- MANCINI, P. L.; SERAFINI, P. P.; BUGONI, L. Breeding seabird populations in Brazilian oceanic islands: historical review, update and a call for census standardization. *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 24, p. 94–115, 2016.
- MARANDEL, F.; CHARRIER, G.; LAMY, J. B.; LE CAM, S.; LORANCE, P.; TRENKEL, V. M. Estimating effective population size using RADseq: effects of SNP selection and sample size. *Ecology and Evolution*, v. 10, p. 1929–1937, 2020.
- McMAHON K. W.; HAMADY, L. L.; THORROLD S. R. A review of ecogeochemistry approaches to estimating movements of marine animals. *Limnology and Oceanography*, v. 58, p. 697–714, 2013.
- MEISNER, J.; ALBRECHTSEN, A. Inferring population structure and admixture proportions in low-depth NGS data. *Genetics*, v. 210, p. 719–731, 2018.
- MILOT, E.; WEIMERSKIRCH, H.; BERNATCHEZ, L. The seabird paradox: dispersal, genetic structure and population dynamics in a highly mobile, but philopatric albatross species. *Molecular Ecology*, v. 17, p. 1658–1673, 2008.
- MITCHELL, E. B.; JOHNS, J. Avian hematology and related disorders. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, v. 11, p. 501–522, 2008.
- MOLECULAR ECOLOGY RESOURCES PRIMER DEVELOPMENT CONSORTIUM. Permanent genetic resources added to molecular ecology resources database 1 October 2010–30 November 2010. *Molecular Ecology Resources*, v. 11, p. 418–421, 2011.
- MORRIS-POCOCK, J. A.; ANDERSON, D. J.; FRIESEN, V. L. Mechanisms of global diversification in the Brown Booby (*Sula leucogaster*) revealed by uniting statistical phylogeographic and multilocus phylogenetic methods. *Molecular Ecology*, v. 20, p. 2835–2850. 2011.

- MORRIS-POCOCK, J. A.; HENNICKE, J. C.; FRIESEN, V. L. Effects of long-term isolation on genetic variation and within-island population genetic structure in Christmas Island (Indian Ocean) seabirds. **Conservation Genetics**, v. 13, p. 1469–1481, 2012.
- NASCIMENTO, I. L. S.; AZEVEDO-JÚNIOR, S. M. Dieta das aves marinhas no Parque Nacional dos Abrolhos, Bahia, Brasil. **Ornithologia**, v. 1, p. 75–92, 2005.
- NEI, M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annals of Human Genetics**, v. 41, p. 225–233, 1977.
- NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, p. 5269–5273, 1979.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 70, 3321–3323, 1973.
- NUNES, G. T. *et al.* Ecological trap for seabirds due to the contamination caused by the Fundão dam collapse, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 807, 151486, 2022.
- NUNES, G. T.; BERTRAND, S.; BUGONI, L. Seabirds fighting for land: phenotypic consequences of breeding area constraints at a small remote archipelago. **Scientific Reports**, v. 8, 665, 2018.
- NUNES, G. T.; BUGONI, L. Local adaptation drives population isolation in a tropical seabird. **Journal of Biogeography**, v. 45, p. 332–341, 2018.
- NUNES, G. T.; EFE, M. A.; FREITAS, T. R. O; BUGONI, L. Conservation genetics of threatened red-billed tropicbirds and white-tailed tropicbirds in the southwestern Atlantic Ocean. **The Condor**, v. 119, p. 251–260, 2017.
- ONLEY, D.; SCOFIELD, P. Albatrosses, petrels and shearwaters of the world. **Bloomsbury Publishing**, 2013.
- PACHECO, J. F.; SILVEIRA, L. F.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; BENCKE, G. A.; BRAVO, G. A.; ... PIACENTINI, V. Q.. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee—second edition. **Ornithology Research**, v. 29, p. 94–105, 2021.
- PARNELL, A.; INGER, R. **Stable Isotope Mixing Models in R with simmr**, 2023. Disponível em: <<https://cran.r-project.org/web/packages/simmr/vignettes/simmr.html#step-4-checking-the-algorithm-converged>> Acesso em: 16 de março de 2024.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAIEx 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, p. 288–295, 2006.
- PETERSON, B. K.; WEBER, J. N.; KAY, E. H.; FISHER, H. S.; HOEKSTRA, H. E. Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo snp discovery and genotyping in model and non-model species. **PLoS One**, v. 7, e37135, 2012.

- PINKAS, L.; OLIPHANT, M. S.; IVERSON, I. L. K. Food habits of albacore, bluefin, tuna, and bonito in Californian waters. **Fisheries Bulletin**, v. 152, p. 1–105, 1971.
- PMBA/FEST. Programa de Monitoramento de Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I. **Relatório Anual do PMBA/FEST RT-39D**, 2021.
- R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Áustria, 2020.
- RICE, L. B.; BONOMO, R. A. Genetic and biochemical mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. In: LORIAN, V. (Ed.). **Antibiotics in Laboratory Medicine**. Baltimore: Lippincot Williams and Wilkins, p. 441-476, 2005.
- ROMANUK, T. N.; HAYWARD, A.; HUTCHINGS, J. A. Trophic level scales positively with body size in fishes. **Global Ecology and Biogeography**, v. 20, p. 231–240, 2011.
- SARMENTO, R.; BRITO, D.; LADLE, R. M.; LEAL, G. R.; EFE, M. A. Invasive house (*Rattus rattus*) and brown rats (*Rattus norvegicus*) threaten the viability of red-billed tropicbird (*Phaethon aethereus*) in Abrolhos National Park, Brazil. **Tropical Conservation Science**, v.7, p. 614–627, 2014.
- SERRANO, I. L.; AZEVEDO-JÚNIOR, S. M. Dietas das aves marinhas no Parque Nacional dos Abrolhos, Bahia, Brasil. **Ornithologia**, v. 1, p.75–92, 2005.
- SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 2001.
- SILVA, N.; CANTÚSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica da água**. Campinas: ITAL, 2000.
- STROMDAHL, E. Y. et al. DNA evidence of *Borrelia lonestari* in *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) removed from humans. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 5557–5562, 2003.
- SUNDE, J.; YILDIRIM, Y.; TIBBLIN, P.; FORSMAN, A. Comparing the performance of microsatellites and radseq in population genetic studies: analysis of data for pike (*Esox lucius*) and a synthesis of previous studies. **Frontier in Genetics**, v. 11, p. 1–17, 2020.
- TACCONELLI, E.; CARRARA, E.; SAVOLDI, A.; HARBARTH, S.; MENDELSON, M.; MONNET, D. L.; ZORZET, A. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 18, p. 318–327, 2018.
- TASKER, M. L.; JONES, P. H.; DIXON, T. I. M.; BLAKE, B. F. Counting seabirds at sea from ships: a review of methods employed and a suggestion for a standardized approach. **The Auk**, v. 101, 567–577, 1984.
- TAYLOR, S. A. et al. Isolation and characterization of ten microsatellite loci in blue-footed (*Sula nebouxi*) and Peruvian boobies (*Sula variegata*). **Journal of Ornithology**, v. 151, p. 525–528, 2010.

- TAYLOR, S. A.; ANDERSON, D. J.; FRIESEN, V. L. Evidence for asymmetrical divergence-gene flow of nuclear loci, but not mitochondrial loci, between seabird sister species: blue-footed (*Sula nebouxi*) and Peruvian (*S. variegata*) boobies. **PLoS One**, v. 8, 62256, 2013
- TEYSSIER, A., LENS, L., MATTHYSEN, E., WHITE, J. Dynamics of gut microbiota diversity during the early development of an avian host: evidence from a cross-foster experiment. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, 1524, 2018.
- VANDERKERCHOVE, D.; DE HERDT, P.; LAESENS, H.; PASMANS, F. Risk factors associated with colibacillosis outbreaks in caged layer flocks. **Avian Pathology**, Huntington, v. 33, p. 337–342, 2004.
- VARELA, A. I.; BROKORDT, K.; VIANNA, J. A. et al. Are threatened seabird colonies of the Pacific Ocean genetically vulnerable? The case of the red-tailed tropicbird, *Phaethon rubricauda*, as a model species. **Biodiversity and Conservation**, v. 33, p. 1165–1184, 2024.
- VINZON, S. B.; GALLO, M. N.; GABIOUX, M.; FONSECA, D. L.; ACHETE, F. M.; GHISOLFI, R. D.; MILL, G. N.; FONSECA, S. A. R.; QUARESMA, V. S.; OLIVEIRA, K. S. S.; BRIGAGÃO, G.; MACHADO, L. G. The role of waves in the resuspension and transport of fine sediment and mine tailings from the Fundão Dam failure, Doce River, Brazil. **International Journal of Sediment Research**, v. 39, p. 44–60, 2024.
- WALKER, S. E.; SANDER, J. E. Effect of BioSentry 904 and ethylenediaminetetraacetic acid-tris disinfecting during incubation of chicken eggs on microbial levels and productivity of poultry. **Avian diseases**, v. 48, p. 238–243, 2004.
- WAPLES, R. S.; DO, C. Linkage disequilibrium estimates of contemporary *N<sub>e</sub>* using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. **Evolutionary Applications**, v. 3, 244–262, 2010.
- WOOD, A. G.; NAEF-DAENZER, B.; PRINCE, P. A.; CROXALL, J. P. Quantifying habitat use in satellite-tracked pelagic seabirds: application of kernel estimation to albatross locations. **Journal of Avian Biology**, v. 31, p. 278–286, 2000.
- ZIMMERMAN, S. J.; ALDRIDGE, C. L.; OYLER-MCCANCE, S. J. An empirical comparison of population genetic analyses using microsatellite and SNP data for a species of conservation concern. **BMC Genomics**, v. 21, p. 1–16. 2020.