

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

**Material Suplementar Ambiente Marinho**

**Tema: Ictiofauna e Carcinofauna**

**RT- 52/OUT 25**

**RSE2025 PMBA/FEST-UFES**

Vitória,

Outubro 2025

## **EQUIPE TÉCNICA**

Prof. Dr. Maurício Hostim Silva (coordenador)

Profa. Dra. Ana Paula Cazerta Farro

Prof. Dr. Carlos Werner Hackradt

Profa. Dra. Fabiana César Félix Hackradt

Prof. Dr. Felipe Alexandre Lisboa de Miranda Daros

Prof. Dr. Jean-Christophe Joyeux

Profa. Dra. Juliana Castro Monteiro Pirovani

Anna Beatriz Borges Martins

André Luiz Rodrigues de Lima

Carolyne Pereira Rodrigues de Souza

Ciro Colodetti Vilar de Araujo

Dahiani Nunes Bossi

Drienne Messa Faria

Edirlan Cardim dos Santos

Gabriela Singulani de Brito

Gabriele Ortolane Medeiros

Gisele Monfradini dos Santos

Giulia da Silva Marchiori

Helder Coelho Gabiroba

Helen Audrey Pichler

Herick Simas dos Santos

Julia Pohl Altafin

Juliana Martins de Andrade

Julien Chiquieri

Karis Itchel Tuñón Valdés

Kathiani Victor Bastos

Leandro Pirovani de Sant'Ana

Lorena Lopes Almeida

Lorena Ziviani Bevitório

Luisa Corrêa Venturato Moreira

Manoela da Silva Pereira

Mariana Antunes da Silva

Mariana Teschima

Mario Vinicius Condini

Natália Priscila Alves Bezerra

Pedro Moreno Villatoro Requena

Rayelle Panciere Lima

Rebeka Ferreira Martins

Rhayane Santos Terra

Ricardo Alves de Oliveira Souza

Ronaldo Ruy de Oliveira Filho

Ryan Carlos de Andrades

Samuel Rocha de Miranda Xavier

Vanessa Kuboyama Marques De Oliveira

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>METODOLOGIA .....</b>	<b>6</b>
2.1	COLETA .....	6
2.1.1	Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha .....	6
2.1.2	Ecologia trófica .....	7
2.1.3	Recrutamento .....	8
2.1.4	Genética populacional.....	10
2.1.5	Microquímica de otólitos.....	12
2.1.6	Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos.....	12
2.2	ANÁLISE DE DADOS.....	13
2.2.1	Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha .....	13
2.2.2	Recrutamento .....	14
2.2.3	Ecologia trófica .....	16
2.2.4	Genética populacional.....	18
2.2.5	Microquímica de otólitos.....	21
2.2.6	Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos.....	23
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	25
2.4	ALTERAÇÕES NA MALHA/FREQUÊNCIA AMOSTRAL E ESCOPO REALIZADOS EM OUTUBRO DE 2024: SUAS CONSEQUÊNCIAS NAS ANÁLISES DA SÉRIE HISTÓRICA DE INDICADORES.....	26
<b>3</b>	<b>RESULTADOS DOS INDICADORES .....</b>	<b>27</b>
3.1	COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES.....	28
3.1.1	Ictiofauna estuarina/marinha .....	28
3.1.2	Carcinofauna estuarina/marinha .....	40
3.2	COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES ESTUARINOS.....	51
3.3	PADRÕES TEMPORAIS DA DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA .....	70
3.4	PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS .....	71



3.5	PADRÕES ESPACIAIS DA ECOLOGIA TRÓFICA E CONDIÇÃO CORPORAL .....	73
3.6	ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA.....	83
3.6.1	Crustáceos marinhos .....	83
3.6.2	Peixes estuarinos .....	86
3.7	MICROQUÍMICA DE OTÓLITOS .....	93
3.8	BIOLOGIA REPRODUTIVA .....	127
3.8.1	Peixes estuarinos/marinhos .....	127
3.8.2	Crustáceos estuarinos/marinhos .....	134
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO .....	137
5	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS .....	140
6	REFERÊNCIAS .....	141

## 1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

A malha e frequência amostrais do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest-UFES) passou por modificações ao longo do tempo, visando seu aperfeiçoamento para atendimento aos objetivos do Programa. Estas alterações foram orientadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) e aprovadas pelo Comitê Interfederativo (CIF), por meio de: (1) Ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019 (para o período de transição), (2) Proposta Técnica de continuidade do monitoramento, apresentadas e aprovadas em 2022, visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest-UFES-UFES” e (3) Ofício SEI Nº 32/2024/CTBio/DIBIO/ICMBio, Nota Técnica nº 1/2024-CTBio/DIBIO/ICMBio e Deliberação CIF nº 803, de 08 de agosto de 2024.

As modificações implementadas encontram-se nos seguintes Materiais Suplementares, os quais contemplam todo o período de execução do PMBA/Fest-UFES: 1) MS – Malha amostral, que apresentam as estações amostrais executadas ao longo do tempo por todos os Anexos/Temas, separados por cada marco temporal histórico mencionado acima (“Ano 1”, “Transição”, “Novo Ciclo” e “Deliberação 803”); 2) Frequência amostral, o qual contempla o histórico da periodicidade amostral (seguindo os mesmos Anexos/Temas contemplados no item 1) e 3) MS – Mapas históricos das malhas amostrais, que apresenta os mapas das malhas amostrais (incluindo as estações) executadas por todos os Anexos/Temas.

Segue o detalhamento temporal, como forma de esclarecer a execução dentro dos marcos históricos: “Ano 1” (setembro de 2018 e setembro de 2019); “Transição” (outubro de 2019 e julho de 2022); “Novo Ciclo” (agosto de 2022 a setembro de 2024) e “Deliberação 803” (outubro de 2024 a março de 2026). O grupo da Ecotoxicologia é uma exceção a esta historicidade, pois iniciou a amostragem referente ao “Novo Ciclo” em janeiro de 2023 e segue com a “Deliberação 803”, na periodicidade já informada.

## 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/Fest-UFES 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) e na Deliberação CIF nº 803, de 08 de agosto de 2024. 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-UFES a fim de determinar os indicadores.

### 2.1 COLETA

#### 2.1.1 Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha

Para a descrição da ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha de substrato consolidado, foram realizadas amostragens mensais (Ano 1, entre outubro/2018 e setembro/2019) e trimestrais (entre

novembro/2019 e janeiro/2025) na porção do baixo rio Doce e sua área marinha adjacente (local do impacto). Além disso, representando um gradiente de impacto, foram também amostrados os estuários e áreas marinhas adjacentes aos rios São Mateus (~120 km ao norte do rio Doce, em Conceição da Barra/ES) e Piraquê-Açú (~48 km ao sul do rio Doce). Em cada estuário, foram amostrados dois pontos internos, localizados a 2 e 4 km da foz, e quatro pontos externos (área marinha adjacente), sendo o primeiro localizado a 2 km da foz, e os demais a 4 km da foz, em forma de cruz.

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

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

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

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

### 2.1.2 Ecologia trófica

Diversidade trófica/isotópica e concentração de lipídeos em peixes: Para avaliar a evolução das métricas de diversidade trófica ao longo dos anos, foram selecionadas seis espécies de peixes coletadas no estuário do rio Doce, antes (novembro de 2015) e depois (junho de 2016, junho e novembro de 2019, julho e novembro de 2020, julho e novembro/dezembro de 2021, junho e dezembro de 2022, junho e dezembro de 2023, junho/julho e novembro de 2024) da chegada do Material Ligado ao Desastre (MLD) em Regência, ES. As coletas de 2015 e 2016 foram realizadas previamente ao acordo de cooperação que originou o PMBA/Fest-UFES pelo Laboratório de Ictiologia da UFES. As espécies estudadas foram o amoré-flecheiro (*Ctenogobius* spp.), amoré-preto (*Eleotris pisonis*), carapicu (*Eucinostomus argenteus*), amoré-lira (*Evorthodus lyricus*), bagre-guri (*Genidens genidens*) e o peixe-cachimbo (*Microphis lineatus*). Estas espécies pertencem a cinco famílias (Gobiidae, Eleotridae, Gerreidae, Ariidae e Syngnathidae) e possuem características ecológicas distintas. Todos

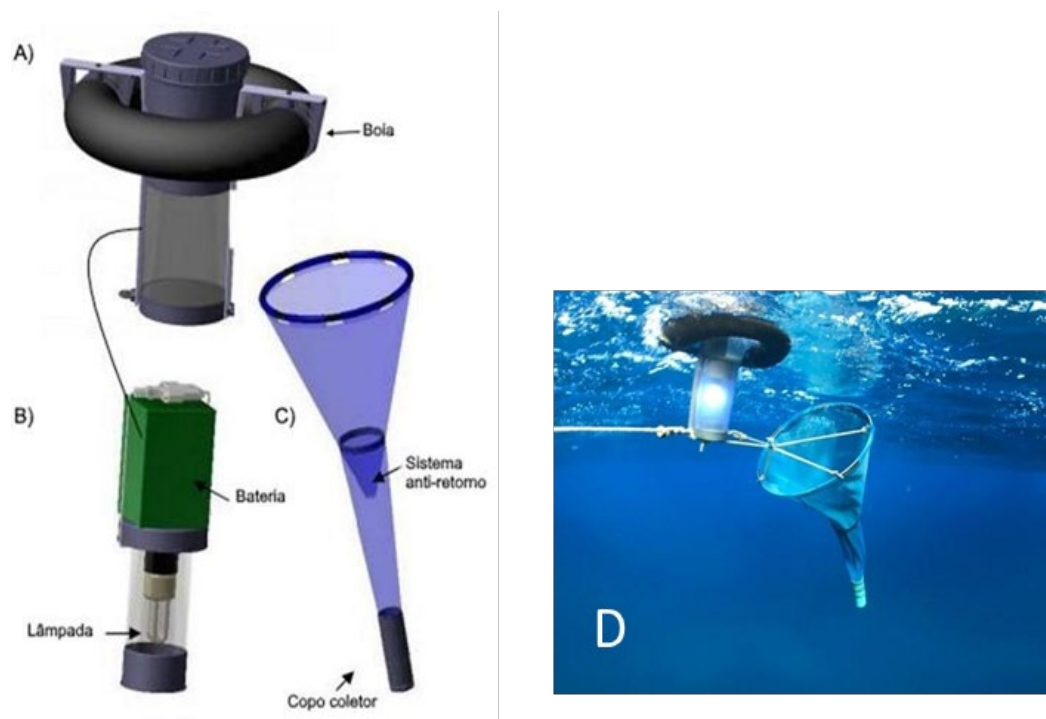
os peixes foram fixados em solução formalina 10% e posteriormente preservados em álcool 70% para evitar viés do método de preservação nas comparações isotópicas.

Indivíduos do bagre-guri (*Genidens genidens*) e do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) foram coletados no estuário do rio Doce e em dois estuários controles (São Mateus e Itapemirim), onde não foi identificada a presença de MLD (NASCIMENTO *et al.*, 2022). As coletas do bagre-guri foram realizadas com redes de arrasto com portas nos três estuários em fevereiro (rio Doce e São Mateus) e maio (Itapemirim) de 2022, janeiro (rio Doce e São Mateus), fevereiro (São Mateus), março (Itapemirim) de 2023, janeiro de 2024 e 2025. Já os indivíduos de *C. parallelus* foram capturados por pescadores locais utilizando redes de espera, redes de arrasto com portas e linha de mão, entre maio de 2022 e janeiro de 2025. Em todos os estuários as capturas de robalo-peva ocorreram durante os períodos secos e chuvosos, mas os meses das capturas em 2022 e 2023 variaram entre os estuários (Itapemirim: maio de 2022, março, abril e julho de 2023, e janeiro de 2024; rio Doce: abril, maio, junho, julho, agosto, setembro e dezembro de 2023, e janeiro de 2024 e 2025; São Mateus: abril, maio, junho, julho, agosto, setembro, novembro e dezembro de 2023, e janeiro de 2024 e 2025). Os peixes foram conservados em gelo imediatamente após a captura. Visto que a salinidade é um parâmetro chave para estruturação das comunidades estuarinas, em todos os locais as coletas do bagre-guri ocorreram nas zonas oligohalinas dos estuários. Dessa forma, os valores de salinidade nos locais de coleta foram similares (cerca de 0–4 ppt).

### 2.1.3 Recrutamento

Para o monitoramento do recrutamento larval de peixes nos ambientes estuarinos, quatro regiões marinhas foram amostradas durante os anos de 2019 a 2024: rio Doce (zona Impacto), rio Piraquê-Açú (Controle 1), rio São Mateus (Controle 2) e rio Mucuri (Controle 3). Em 2025, o Controle 3 foi removido da malha amostral. As campanhas seguiram uma frequência semestral durante todo o período de monitoramento, exceto durante os meses de dezembro/2020 e maio/2022 onde as coletas tiveram uma frequência trimestral. Para a captura das pós-larvas de peixes, foram utilizadas armadilhas luminosas do tipo CARE® (ECOCEAN, Figura 1). Essas armadilhas são compostas de três partes: sistema flutuante / impermeável (que permite que a armadilha fique na superfície da água), parte de iluminação (18 horas de duração da luz, bateria recarregável de chumbo selada 12V/12, Temporizador de 12V), e a parte de coleta das pós-larvas (rede cônica de malha 2 x 2 mm, coletor de PVC fixado na extremidade da rede). Nove armadilhas de luz foram instaladas em pontos pré-estabelecidos dentro de cada local de amostragem. A instalação das armadilhas ocorreu antes do pôr do sol e sua recuperação ao amanhecer. A instalação das armadilhas luminosas ocorreu durante duas noites consecutivas em cada local por campanha, totalizando 18 amostras por local. As armadilhas foram instaladas na superfície em posição vertical com auxílio de uma âncora, ligadas por cabos e correntes a uma boia de sinalização (LECAILLON, 2004) e com uma distância de aproximadamente 300 m entre armadilhas (FÉLIX-HACKRADT *et al.*, 2013; CATALÁN *et al.*, 2014).

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

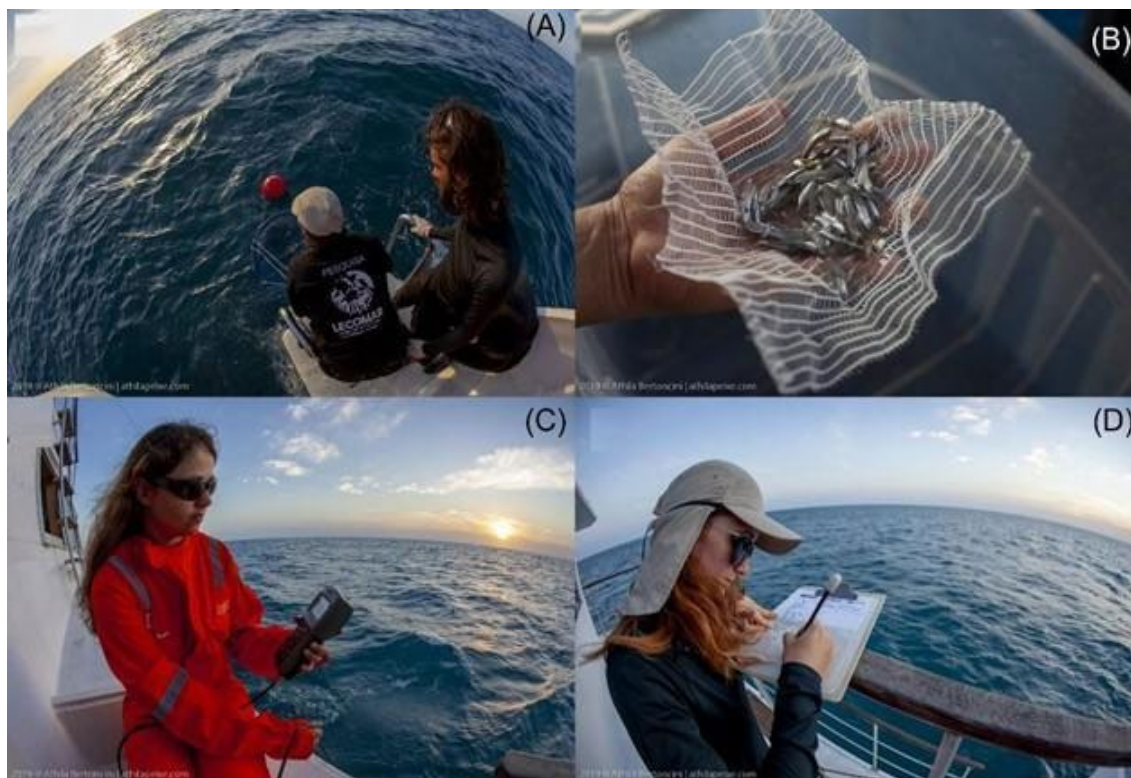


Após 12 horas de imersão, as armadilhas foram retiradas e as amostras coletadas foram transferidas para potes (devidamente etiquetados com informações sobre a data, hora e local da coleta) contendo álcool 70% para a sua preservação (FÉLIX-HACKRADT *et al.*, 2013). Após a coleta, as amostras foram levadas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

Concomitante às coletas de recrutamento larval, variáveis físico-químicas (temperatura, salinidade, pH, oxigênio dissolvido e turbidez) foram mensuradas utilizando uma sonda multiparâmetros Horiba. A profundidade do local de instalação das armadilhas foi obtida com sonar da embarcação e as variáveis meteoceanográficas (altura de ondas, direção e intensidade do vento, direção e intensidade da corrente, % iluminada da lua etc.) foram obtidas através de visualização direta (Figura 2) ou extraídas no portal do Centro de Previsão de tempo e Estudos Climáticos (CPTEC: [www.cptec.inpe.br](http://www.cptec.inpe.br)) e Surf guru ([www.surfguru.com.br](http://www.surfguru.com.br)). Devido a um possível problema de calibração do sensor de turbidez da sonda multiparâmetros, o coeficiente de atenuação difusa (KD490 nm) foi acessado via sensoriamento remoto e utilizado como proxy da turbidez. Para isso, os dados do sensor MODIS-Aqua (*Level-3, 8-day period*) disponibilizado pelo portal Ocean color da NASA (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/l3/order/>) foram processados no software SeaDAS (Seadas-7.5.3).



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



#### 2.1.4 Genética populacional

Peixes estuarinos: Foram avaliados peixes estuarinos provenientes de coletas realizadas em três unidades amostrais: rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú, entre outubro de 2018 e janeiro de 2025 pelo Laboratório de Ecologia de Peixes Marinhos (CEUNES/UFES).

As coletas de tecido dos peixes (pequena amostra de músculo) foram realizadas pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES. As amostras coletadas foram armazenadas em microtubos contendo álcool 96%, acondicionados a -20°C no banco de tecidos do LGCA. Todos os microtubos foram identificados e etiquetados (Figura 3) e todas as informações do indivíduo, como a sigla da espécie (identificação morfológica), o arrasto, o ponto, o rio e a data de coleta foram planilhadas.

Figura 3: Exemplo de etiqueta contendo todas as informações dos peixes marinhos amostrados. Indivíduo da espécie *Diapterus rhombeus* coletado no rio São Mateus em 16 de novembro de 2018.



Crustáceos marinhos: Os crustáceos marinhos foram incluídos no escopo do PMBA/Fest-UFES a partir do Ano 4. Foram avaliados indivíduos provenientes de coletas realizadas em três unidades amostrais: rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú, entre setembro de 2021 e janeiro de 2025 pelo Laboratório de Ecologia de Peixes Marinhos (CEUNES/UFES).

As coletas de tecido dos crustáceos marinhos (pequena amostra de músculo) foram realizadas pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES. As amostras coletadas foram armazenadas em microtubos contendo álcool 96%, acondicionados a -20°C no banco de tecidos do LGCA. Todos os microtubos foram identificados e etiquetados (Figura 4) e todas as informações do indivíduo, como a sigla da espécie (identificação morfológica), o arrasto, o ponto, o rio e a data de coleta foram planilhadas.

Figura 4: Exemplo de etiqueta contendo todas as informações dos crustáceos amostrados. Indivíduo da espécie *Callinectes sapidus* coletado no rio São Mateus em 16 de outubro de 2022.



### 2.1.5 Microquímica de otólitos

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

### 2.1.6 Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos

Para o estudo de reprodução de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos, coletas mensais foram realizadas na porção do baixo rio Doce (Regência - Linhares/ES) e sua área marinha adjacente e nos estuários e áreas marinhas adjacentes ao rio São Mateus (Conceição da Barra/ES). O período amostral foi de outubro/2022 até março/2025. Três espécies de peixes de interesse comercial, abundantes e amplamente distribuídas ao longo da costa do Espírito Santo foram selecionadas: *Centropomus parallelus* (robalo-peva), *Genidens genidens* (bagre-guri) e *Eugerres brasilianus* (carapeba). Para a coleta de crustáceos foram selecionados o camarão marinho *Xiphopenaeus kroyeri* (Decapoda: Penaeidae) e siris estuarinos do gênero *Callinectes* (Decapoda, Portunidae) que contemplam as atividades de subsistência dos pescadores locais.

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

As coletas para captura dos camarões marinhos da espécie *X. kroyeri* (sete-barbas) foram realizadas com auxílio de barco camaroeiro equipado com rede de arrasto de fundo com portas, a mesma utilizada nas amostragens padronizadas da ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha (ver 2.1.1). Foram estabelecidos quatro pontos amostrais na área marinha adjacente ao rio Doce e três ao Rio São Mateus, baseados nos transectos realizados nas amostragens padronizadas da ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha. Os arrastos foram realizados por 15 minutos em cada ponto por campanha. Os camarões sete-barbas coletados em cada arrasto foram ensacados, identificados de acordo com o ponto amostral e armazenados em gelo. Fêmeas maduras, em estágio II e III de maturação gonadal foram fixadas em Bouin e identificadas de acordo com o ponto amostral para processamento em laboratório. A captura de siris estuarinos foi realizada com auxílio de pescadores locais, por meio de armadilhas de pesca passiva (covos), nas duas localidades. Após a coleta, os indivíduos foram armazenados em gelo e encaminhados para o laboratório. Devido à escassez de



informações a respeito da abundância e diversidade de espécies de siris que compõem as áreas amostradas e as oscilações naturais que elas apresentam por conta de especificidades dos ciclos de vida, não foi delimitado uma única espécie-alvo para as análises dos indicadores de biologia reprodutiva e as análises realizadas com as espécies mais abundantes obtidas ao longo do período amostrado.

## 2.2 ANÁLISE DE DADOS

### 2.2.1 Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha

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

Para acessar a representatividade do esforço amostral, a riqueza de espécies (diversidade alfa) foi estimada e comparada usando o estimador de incidência não-paramétrico Chao 2 (GOTELLI & COLWELL, 2011) por meio do pacote iNEXT da plataforma R (CHAO *et al.*, 2019). Posteriormente, foram calculadas a densidade (número de indivíduos - N) e biomassa (g) de peixes e crustáceos por unidade de área (CPUA - Captura por Unidade de Área), dividindo-se N ou biomassa pela área varrida pela rede, multiplicadas por 100. A área varrida pela rede foi calculada por  $A = D \cdot 10,25m \cdot 0,5$ , onde: A = área varrida em metros; D = distância percorrida pela rede; 10,25 é o comprimento da corda da parte inferior da rede; 0,5 é o fator equivalente a área varrida no arrasto, conforme SPARRE & VENEMA (1995). Assim, a densidade foi expressa em número de indivíduos/100m<sup>2</sup>, enquanto a biomassa foi expressa em g/100m<sup>2</sup>.

Foram calculadas médias por área (interna, pontos 0 - apenas para o Piraquê-Açú, 1 e 2, exceto Piraquê-Açú; externa – pontos 3, 4, 5 e 6) para cada estuário (rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú) dos indicadores da comunidade: densidade, biomassa e riqueza (número de espécies). Os períodos avaliados foram constituídos como segue: Ano 1 = Chuvoso 1 – C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019); Seco 1 – S1 (maio e julho/2019); Ano 2 = Chuvoso 2 – C2 (novembro/dezembro de 2019 e fevereiro/2020); Seco 2 – S2 (não amostrado devido à pandemia de COVID-19); Ano 3 = Chuvoso 3 – C3 (janeiro/2021 – não incluído para não desequilibrar as análises); Seco 3 – S3 (maio e julho/2021); Ano 4 = Chuvoso 4 – C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022); Seco 4 – S4 (abril/2022 e agosto/2022); Ano 5 = Chuvoso 5 – C5 (outubro/2022 e janeiro/2023); e Seco 5 – S5 (abril/2023 e julho/2023); Ano 6

= Chuvoso 6 – C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), Seco 6 – S6 (abril/2024 e julho/2024) e Ano 7 = Chuvoso 7 – C7 (outubro/2024 e janeiro/2025).

Para detectar diferenças espaço-temporais significativas nos indicadores das comunidades de peixes e crustáceos, os dados foram avaliados usando um modelo linear multifatorial de efeitos mistos (Análise de variância multivariada permutacional – PERMANOVA) (ANDERSON, 2008), a partir de matrizes de similaridade de Bray-Curtis (matriz multivariada) ou distância Euclidiana (matriz univariada). Para ambos, foram considerados quatro fatores: “Local” (fixo, Diretamente Impactado: rio Doce; Indiretamente Impactado: São Mateus e Piraquê-Açú); “Estuário” (aleatório, rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú, aninhados em Local); “Área”, (aleatório, Externa e Interna, aninhado em Estuário); e Período (fixo, C1, S1, C2, S3, C4, S4, C5, S5, C6, S6, C7). Utilizou-se nestas análises a soma dos quadrados do Tipo III (parcial) e 9999 permutações dos resíduos sob o modelo reduzido (ANDERSON, 2017). Quando diferenças significativas foram detectadas, o teste “*a posteriori*” pareado foi empregado usando a mesma rotina. Para as análises univariadas, os dados de densidade e biomassa foram transformados em Log (x+1). Para as análises multivariadas de densidade e biomassa, os dados foram previamente transformados em raiz quarta, visando reduzir a influência de espécies dominantes no cálculo das matrizes de similaridade. A seguir, utilizando-se uma matriz multivariada de densidade (linhas = arrastos; colunas = espécies) foi empregada a análise de Similaridade de Percentagens (SIMPER), para determinar as espécies que mais contribuíram para as dissimilaridades na distribuição espacial da densidade entre as áreas de cada estuário.

As relações entre a estrutura de comunidade e as variáveis ambientais foram avaliadas por meio de modelos de regressão lineares baseados em distância (DistLM), seguindo a rotina Best para escolha da melhor combinação de variáveis preditoras e o critério ACCc para escolha do modelo com melhor ajuste (ANDERSON, 2008). A visualização do resultado foi feita por meio de análise de redundância baseada em distância (dbRDA), baseada em uma matriz de abundância em termos de densidade (número de indivíduos/100m<sup>2</sup>) e frequência de ocorrência das espécies (McARDLE & ANDERSON, 2001).

### 2.2.2 Recrutamento

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

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

Para avaliar o efeito do rompimento da Barragem de Fundão sobre os indicadores ecológicos utilizamos análises de variância por permutação (PERMANOVA), de maneira multivariada, para a estrutura da assembleia de peixes (composição e abundância de espécies), e de forma univariada para a abundância total, biomassa total, comprimento total (CT) médio, e diversidade alfa (0D, 1D e 2D). Todas as métricas univariadas foram calculadas por amostra, ou seja, por unidade de esforço (CPUE), resultando em 18 amostras em cada local por campanha de campo. Contudo, devido à alta variabilidade temporal no aporte larval entre noites consecutivas, se calcula a média da CPUE para cada armadilha entre as duas noites para ser utilizada nas análises subsequentes, totalizando 9 amostras por local/campanha de campo. Para as análises de variância, os valores de abundância e biomassa foram transformados por  $\text{Log}(x+1)$ . As análises univariadas e multivariadas foram baseadas na matriz de similaridade de Bray-Curtis. Para ambos os modelos, a soma dos quadrados foi do tipo I (sequencial), no qual os efeitos fixos somam zero para termos mistos. *P* valores foram obtidos usando 9999 permutações. Os fatores incluídos nos modelos foram: Tempo ("T", aleatório, e variável com o número de campanhas), Zona ("Z", fixo, ortogonal com o Tempo, correspondente aos estuários amostrados) e Impacto vs Controles ("IvsC", fixo, ortogonal com o Tempo, contraste entre a variância do impacto e a média da variação entre os controles). Considerando o objetivo dos indicadores, as interpretações das análises de variância foram baseadas, majoritariamente, no contraste Impacto vs Controles e suas interações com demais fatores analíticos (ANDERSON, 2008). As análises de variância por permutação foram feitas no software Primer (versão 6.1.13).

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

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

### 2.2.3 Ecologia trófica

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

Amostras do tecido da musculatura epaxial de cada indivíduo foram extraídas e dispostas em estufa (60°C) durante 24 horas. Posteriormente, o tecido foi macerado, encapsulado em cápsulas de estanho e usado para determinação de assinaturas isotópicas de carbono e nitrogênio. As análises isotópicas de  $^{13}\text{C}$  e  $^{15}\text{N}$  foram conduzidas usando um analisador elementar (FLASH 2000, Thermo Scientific) acoplado em um espectrômetro de massa de razão isotópica (Delta V Plus, Thermo Scientific, Bremen – Germany). Os resultados obtidos foram expressos em notação  $\delta$  (‰) a partir dos valores de referência em acordo a equação  $\delta X = [(R_{\text{amostra}}/R_{\text{referência}})-1] \times 10^3$ , onde X é  $^{13}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}$ , e R é a razão correspondente a  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$  ou  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ .

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

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

As assinaturas isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  utilizadas nas análises de diversidade trófica do bagre-guri e robalo-peva foram matematicamente corrigidas para remover o viés da elevada concentração de lipídeos, sempre que a razão entre o carbono e o nitrogênio elementar (razão C:N) individual foi superior a 3,5, como proposto por POST *et al.* (2007). A comparação do nicho isotópico (área da elipse corrigida) do robalo-peva entre estuários só foi possível entre rio Doce e São Mateus, visto que os indivíduos capturados para isótopos no estuário do rio Itapemirim eram de tamanho (comprimento total) muito inferior daqueles coletados nos demais estuários, o que poderia enviesar os resultados.

**Padrões temporais da concentração de lipídeos:** Os dados brutos de razão C:N (sem correção matemática) foram analisados para as seis espécies no contexto temporal, visto que este é um importante indicador da concentração de lipídeos nos peixes (POST *et al.*, 2007; FAGAN *et al.*, 2011). A variação da métricas de diversidade trófica (amplitude de  $\delta^{13}\text{C}$  e  $\delta^{15}\text{N}$  e SEAc) foi analisada por meio de regressões lineares, enquanto a variação nos valores de razão carbono e nitrogênio foi verificada por meio de modelos generalizados aditivos (GAM) utilizando distribuição gaussiana testando os valores de C:N ao longo do tempo (amostragens) com o período do ano (estação do ano) adicionado como efeito aleatório.

**Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal:** Todos os indivíduos foram medidos (mm) e pesados (g) em laboratório. Amostras do tecido da musculatura epaxial de cada indivíduo do bagre-guri foram extraídas e dispostas em estufa (60°C) durante 24 horas. Posteriormente, o processamento das amostras e a análise dos isótopos estáveis se deu seguindo o protocolo mencionado para as espécies de peixes do indicador “Diversidade trófica/isotópica em peixes”. As amplitudes dos nichos isotópicos dos bagres-guri e dos robalos-peva coletados no rio Doce e nos dois estuários controles (São Mateus e Itapemirim) foram estimados por meio de inferência Bayesiana no pacote ‘SIBER’ do software R (JACKSON *et al.*, 2011) através da determinação das áreas das elipses corrigidas (*Standard Ellipse Area corrected for small sample size*, SEAc).

Para a análise da dieta do bagre-guri e do robalo-peva, os itens alimentares encontrados no estômago de cada indivíduo foram identificados e quantificados usando um estereomicroscópio. A área, o peso e o volume ocupado por cada táxon identificado nos estômagos foram registrados. O peso foi aferido mediante o uso de balança de precisão de 0,01 miligramas. Para calcular o volume, os itens foram colocados em provetas graduadas com álcool e o deslocamento do líquido foi registrado (em ml). Para medir a área superficial ocupada pelas presas, o conteúdo estomacal foi distribuído uniformemente sobre uma placa de Petri com uma grade milimetrada e a área (mm<sup>2</sup>) ocupada por cada presa foi registrada.

O índice de repleção, um indicador trófico da intensidade e atividade alimentar, foi calculado para cada indivíduo das duas espécies por meio da razão entre o peso das presas consumidas e o peso eviscerado (*G. genidens*) ou peso total (*C. parallelus*) do indivíduo x 100.

A condição corporal das duas espécies selecionadas foi analisada usando o Índice de Massa Escalonado (PEIG & GREEN, 2009):

$$\text{Índice de Massa Escalonado (IMS)} = M_i \left[ \frac{CP_0}{CP_i} \right]^{b_{EPR}}$$

no qual  $M_i$  e  $CP_i$  são a massa (em g) e o comprimento padrão (*G. genidens*) ou comprimento total (*C. parallelus*) (em mm) de cada espécime, respectivamente,  $CP_0$  é o comprimento padrão ou total médio e  $b_{EPR}$  é a inclinação da reta de uma regressão linear entre o logaritmo da massa e o logaritmo do comprimento padrão, calculada com o método do eixo principal reduzido. Diferentemente de outros métodos (p.ex. o Coeficiente de Condição Relativo e o Coeficiente de Condição de Fulton), este índice

não é influenciado pelo tamanho dos indivíduos e não assume uma relação isométrica entre o peso e o comprimento (ou seja,  $b = 3$ ), o que frequentemente não ocorre (PEIG & GREEN, 2010).

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

Para testar a hipótese que a composição da dieta, a atividade alimentar e a condição corporal dos peixes no rio Doce foram diferentes dos locais de referência (controles), foram utilizadas análises de variância assimétricas (PERMANOVAs; ANDERSON, 2008). As PERMANOVAs foram baseadas no índice de similaridade de Bray-Curtis (dieta) ou em matrizes de distância Euclidiana (atividade alimentar e condição corporal). Para *G. genidens*, as análises incluíram três fatores: anos (fixo, com três níveis: 2022, 2023 e 2024), locais (fixo, com dois níveis: impacto e controles) e estuários (aleatório, com três níveis aninhados em locais: rio Doce, rio Itapemirim e rio São Mateus). Para *C. parallelus*, foram considerados apenas dois fatores ("locais" e "estuários"), devido à ausência ou baixo número de amostras em determinados anos. Antes das análises, o peso, o volume e a área das presas foram transformados em raiz quadrada para reduzir a influência das presas dominantes. O índice de repleção foi transformado usando o arco seno e o IMS foi transformado em logaritmo natural para reduzir a heterogeneidade das variâncias, que foi avaliada por meio do teste de Levene. Os valores de "p" foram determinados usando 4999 permutações dos resíduos sob um modelo reduzido. Quando o número de permutações possíveis foi insuficiente para realizar o teste com um poder razoável, a significância das diferenças foi calculada usando o procedimento de Monte Carlo (ANDERSON, 2008).

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

#### 2.2.4 Genética populacional

Todos os indivíduos de peixes estuarinos e crustáceos marinhos coletados para a genética populacional foram previamente identificados morfológicamente e molecularmente (DNA *Barcoding*). O DNA das amostras foi extraído a partir do protocolo de solução salina (BRUFORD *et al.*, 1992) e quantificado em espectrofotômetro. As soluções de DNA extraído foram diluídas para 20 ng/ $\mu$ L para padronizar as reações seguintes.



Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de peixes estuarinos, foram avaliados indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2025, sendo 252 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus paralellus*), 114 indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*), 134 indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) e 109 indivíduos de Maria-luísia (*Paralonchurus brasiliensis*).

Sequências parciais dos genes mitocondriais: ATPase 6 e 8, região controle (D-loop), tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções dos genes 12s rRNA e tRNA-Thr foram amplificadas utilizando-se os primers detalhados na Tabela 1. Depois de amplificados, os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com Gelred, visualizados e foto-documentados sob UV. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, as reações foram purificadas utilizando a enzima exoSap-IT e enviadas para sequenciamento em empresa terceirizada.

Tabela 1: Primers do DNA mitocondrial utilizados na amplificação dos fragmentos de DNA para a genética populacional das espécies de peixes estuarinos: *Genidens genidens* (bagre-guri), *Centropomus parallelus* (robalo-peva), *Cynoscion jamaicensis* (pescada-branca) e *Paralonchurus brasiliensis* (maria-luísia).

Primer	Sequência	Referência	Espécie/ Gene
<b>H8331</b>	5'AAAGCRTYRGCCCTTTTAAGC3'	HUGHES & HILLYER (2006)	<i>G. genidens</i> / ATPase 6 e 8
<b>L9236</b>	5'GTTAGTGGTCAKGGGCTTGGRTC3'		
<b>L15990 snk</b>	5'TACCGTCAACTCCCAAAGCTA3'	CHAPA (2012)	<i>C. parallelus</i> / D-loop
<b>CRSNOOK4H</b>	5'CTGCCCTCTGGAAATAATGCTRGGC3'		
<b>L1</b>	5'CCTAACTCCCAAAGCTAGGTATTC3'	RODRIGUES <i>et al.</i> (2008)	<i>C. jamaicensis</i> / D-loop
<b>H2</b>	5'CCGGCAGCTCTTAGCTTTAACTA3'		
<b>LTHR</b>	5'AGCTCAGCGCCAGAGCGCCGGTCTTGTA3'	LEE <i>et al.</i> (1995)	<i>P. brasiliensis</i> / D-loop, genes tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções do genes 12s rRNA e tRNA-Thr
<b>LTHR</b>	5'AGCTCAGCGCCAGAGCGCCGGTCTTGTA3'	LEE <i>et al.</i> (1995)	<i>P. brasiliensis</i> / D-loop, genes tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções do genes 12s rRNA e tRNA-Thr

Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de crustáceos marinhos foram avaliados indivíduos coletados entre setembro de 2021 e janeiro de 2025 sendo 137 indivíduos de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e 123 de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*). Sequências parciais dos genes mitocondriais: Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) e 16S rRNA foram amplificadas utilizando-se os primers detalhados na Tabela 2. Depois de amplificados, os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com Gelred, visualizados e foto-documentados sob UV. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, as reações foram purificadas utilizando-se a enzima ExoSap-IT e enviadas para sequenciamento em empresa terceirizada.

Tabela 2: Primers utilizados na amplificação dos fragmentos de DNA utilizados para a genética populacional das espécies de crustáceos marinhos: *Xiphopenaeus kroyeri* e *Farfantepenaeus subtilis*.

Primer	Sequência	Referência	Espécie/ Gene
<b>Fish F1</b>	5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3'	WARD <i>et al.</i> (2005)	<i>X. kroyeri</i> / COI
<b>Fish R2</b>	5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3'		
<b>COH6</b>	5'TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA3'	SCHUBART & HUBER (2006)	<i>F. subtilis</i> / COI
<b>COL6b</b>	5'TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA3'	MANTELATO <i>et al.</i> (2016)	
<b>16S-AR</b>	5'ACG CCT GTT TAT CAA AAA CAT3'	PALUMBI <i>et al.</i> (1996)	<i>X. kroyeri</i> e <i>F. subtilis</i> / 16S rRNA
<b>16S-BR</b>	5'CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T3'		

Todas as sequências do DNA mitocondrial de peixes e crustáceos marinhos geradas foram manualmente editadas através da função 'de novo assembly', disponível no programa Geneious Prime e alinhadas com o algoritmo MUSCLE (EDGAR, 2004) no programa MEGA v.6 (TAMURA *et al.* 2013).

Os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica,  $F_{ST}$  par-a-par e a Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre diferentes localidades, baseada no  $F_{ST}$  com 1.000 permutações, foram calculados no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER *et al.*, 2010). As redes de haplótipos foram construídas a partir do algoritmo Median-Joining do programa PopArt (LEIGH *et al.*, 2015).

Para as análises do DNA nuclear de peixes estuarinos foram avaliados indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2025. Já para os crustáceos marinhos foram avaliados indivíduos coletados entre setembro de 2021 e janeiro de 2025. No entanto, os indivíduos de peixes estuarinos e crustáceos marinhos de 2025 serão incluídos nas análises das populações como um todo no próximo relatório anual. Foram utilizados SNPs (*Single Nucleotide Polimorphisms*) e avaliadas 20 amostras de robalo-peva (*Centropomus parallelus*), 10 de bagre-guri (*G. genidens*), 14 de pescada-branca (*C. jamaicensis*), nove de camarão-rosa (*F. subtilis*). A extração do DNA foi realizada a partir do protocolo de solução salina (BRUFORD *et al.*, 1992) e/ou fenol-clorofórmio (SAMBROOK *et al.*, 1989). Para a otimização da extração, 1 µl de B-Mercaptoethanol foi acrescentado ao final da metodologia. O DNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro, diluído para 35 ng/µl e encaminhado para uma empresa terceirizada. A biblioteca foi montada a partir da metodologia 2bRAD e a digestão foi realizada com a enzima de restrição 1 U BsaXI (New England Biolabs, cat. no. R0609). A ligação dos adaptadores específicos e, posteriormente, a adição dos barcodes foram realizadas por PCR e para o sequenciamento utilizou-se a plataforma Illumina Nova PE150.

A fim de mesclar as leituras emparelhadas foi utilizado o programa Pear (versão 0.9.6) (ZHANG *et al.*, 2014) e as leituras foram processadas por meio de um *script* Perl, personalizado para cortar sequências de adaptadores e remoção das leituras com qualidade *Phred Quality Score* <30. A montagem do



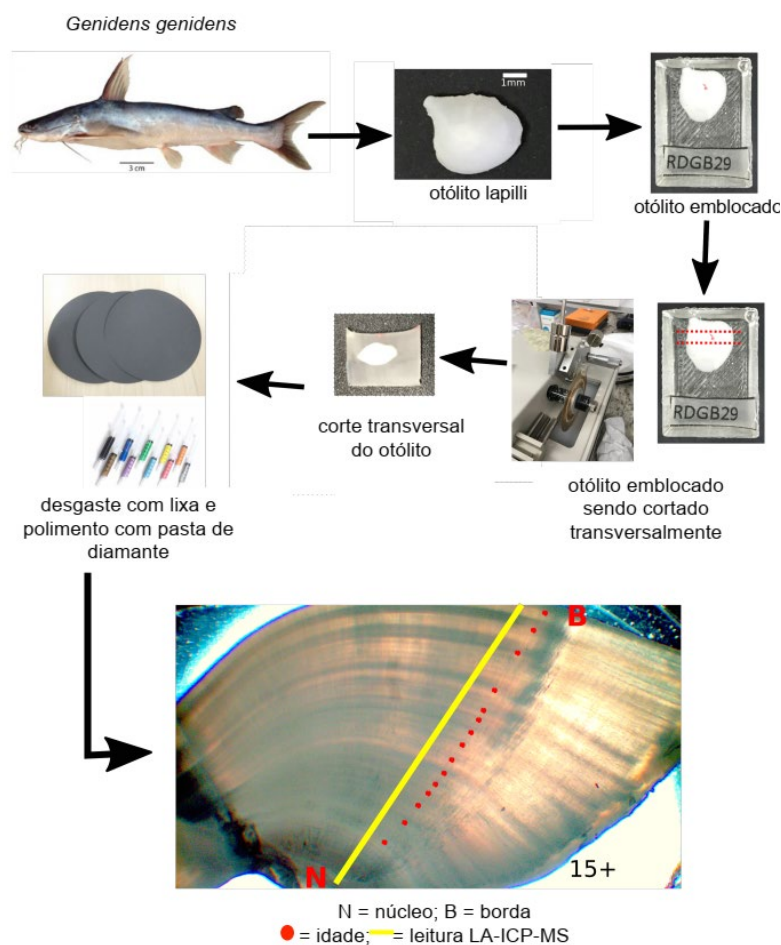
catálogo de marcadores e o rastreamento dos SNPs foram realizados utilizando a abordagem de novo e posteriormente Refmap, ambos com o uso do STACKS (CATCHEN *et al.*, 2011). Foram utilizados três parâmetros para o rastreamento dos SNPs, sendo o primeiro  $M=1$  para determinar o número de incompatibilidades toleradas entre dois alelos em um determinado loci, o segundo  $m=2$  para determinar o número de leituras idênticas mínimas necessárias para iniciar um possível alelo e o terceiro  $n=1$  para determinar o número de incompatibilidades toleradas entre dois loci durante a construção do catálogo. Em seguida, foi construída a referência de novo utilizando o programa Bowtie2 (v2.2.4). Ao final, o programa Populations (STACKS) foi utilizado para selecionar SNPs que genotiparam em pelo menos 90% dos indivíduos de cada população ( $r=0,90$ ). SNPs que apresentaram valor de frequência mínima de alelos (MAF)  $<0,01$  foram excluídos. A heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ) e os índices de fixação ( $F_{ST}$ ) foram calculados no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER *et al.*, 2010).

Para estimar os níveis e direções do fluxo gênico entre as unidades amostrais das espécies de *C. parallelus*, *G. genidens*, *C. jamaicensis* e *F. subtilis* foram calculadas as taxas de migração através da função *divMigrate* no pacote *diveRsity* apresentados em Rstudio (KEENAN *et al.*, 2013).

### 2.2.5 Microquímica de otólitos

No laboratório os otólitos foram limpos em câmara de ultrassom com água ultrapura para retirada dos tecidos aderentes. Posteriormente foram emblocados em resina epóxi, cortados em seções delgadas (150-200  $\mu\text{m}$ ), desbastados com lixas de carboneto de silício até o plano do núcleo, e finalmente polidos com pastas de diamantes e montadas em lâmina de vidro convencional com uma gota de resina epóxi (Figura 5). Após secagem e polimerização da resina, as lâminas foram descontaminadas com água ultrapura durante 3 minutos em câmara de ultrassom, lavadas abundantemente com água ultrapura e deixadas secar numa câmara de fluxo laminar. As análises químicas elementares, foram realizadas para diferentes fases do ciclo de vida dos peixes (do nascimento até a data da coleta), visando compreender o uso das regiões estuarinas contempladas no monitoramento ao longo da vida da espécie. As análises químicas foram realizadas por espectrometria de massas com plasma acoplado indutivo por ablação a laser (ICP-MS-LA). Serão obtidas as leituras de um conjunto de isótopos usualmente informativos nos otólitos ( $^7\text{Li}$ ,  $^{11}\text{B}$ ,  $^{23}\text{Na}$ ,  $^{25}\text{Mg}$ ,  $^{27}\text{Al}$ ,  $^{31}\text{P}$ ,  $^{39}\text{K}$ ,  $^{45}\text{Sc}$ ,  $^{48}\text{Ti}$ ,  $^{51}\text{V}$ ,  $^{52}\text{Cr}$ ,  $^{55}\text{Mn}$ ,  $^{56}\text{Fe}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ ,  $^{66}\text{Zn}$ ,  $^{75}\text{As}$ ,  $^{79}\text{Br}$ ,  $^{82}\text{Se}$ ,  $^{85}\text{Br}$ ,  $^{86}\text{Sr}$ ,  $^{98}\text{Mo}$ ,  $^{114}\text{Cd}$ ,  $^{133}\text{Cs}$ ,  $^{138}\text{Ba}$ ,  $^{139}\text{La}$ ,  $^{140}\text{Ce}$ ,  $^{203}\text{Hg}$ ,  $^{208}\text{Pb}$  e  $^{238}\text{U}$ ) conjuntamente com o cálcio ( $^{43}\text{Ca}$ ), que funciona como um padrão interno.

Figura 5 Processamento dos otólitos para análises de microquímica



Os dados apresentados estão divididos em duas fases: Fase I, segue as premissas da TR1, onde foram analisados 275 exemplares de *Centropomus parallelus* (100 exemplares), *C. undecimalis* (100 exemplares) e *Genidens genidens* (75 exemplares), entre janeiro e maio de 2019, nos estuários do Rio Doce, Ipiranga, São Mateus e Caravelas; Fase II, segue as premissas da TR2, onde foram analisados 363 exemplares de *Centropomus parallelus* (118 exemplares), *Eugerres brasiliensis* (110 exemplares) e *Genidens genidens* (135 exemplares), entre 2022 e janeiro de 2024, nos estuários do Itapemirim, Piraquê-Açu, Rio Doce e São Mateus.

Através dos perfis das razões Sr:Ca (correlação positiva com a salinidade; Kraus & Secor, 2004) e Ba:Ca (correlação negativa com salinidade; Tabouret et al., 2010), uso do habitat foi padronizado em quatro tipos: Tipo I (peixes de água doce/estuarino oportunistas), indivíduos que ocuparam, em grande parte de sua vida, as regiões de água doce, realizando incursões para região estuarina; Tipo II (peixes exclusivamente estuarinos), passam toda sua vida na região estuarina; Tipo III (peixes estuarinos/marinhos), indivíduos que ocuparam, em grande parte de sua vida, as regiões estuarinas, realizando incursões para região marinha; e Tipo IV (peixes estuarinos/água doce), indivíduos que ocuparam, no início da vida, as regiões estuarinas, migrando ao longo da sua história de vida para

ambiente de água doce. Assinatura química e conectividade entre os estuários, foram analisadas através de análise multivariada permutacional (PERMANOVA) e análise canônica de coordenadas principais no software PRIMER + PERMANOVA V.7. A comparação das razões elemento:Ca na borda do otólito (momento de captura) foi realizada usando uma análise de variância não paramétrica de Kruskal Wallis e teste de pares de Dunn, com o pacote agricolae (MENDIBURU, 2023) em ambiente R, uma vez que os dados não apresentavam normalidade e homogeneidade. O nível de significância estatística ( $\alpha$ ) foi de 0,05. Os dados são apresentados como valores médios  $\pm$  desvio padrão. Os perfis cronológicos das razões elemento:Ca foram gerados através dos perfis cronológicos entre a borda e o núcleo dos otólitos

## 2.2.6 Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos

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

Para os camarões sete-barbas (*X. kroyeri*) foram obtidos os pesos úmidos totais (em gramas) de cada arrasto. Em seguida, uma subamostra equivalente a 500g foi retirada aleatoriamente e o número de indivíduos contados. Assim, a abundância total foi estimada para o arrasto. Os indivíduos subamostrados mensalmente em cada ponto foram identificados quanto ao sexo (presença de petasma nos machos e télico nas fêmeas), pesados (g) e mensurados por meio de um paquímetro (precisão 0,1mm) em relação ao comprimento da carapaça (CC), correspondendo à distância linear do ângulo orbital até a margem posterior da carapaça. O estágio de maturação de fêmeas foi identificado de acordo com a coloração das gônadas: estágio I (imatura, IM), estágio II (em desenvolvimento, ED), estágio III (desenvolvida, DE) e estágio IV (rudimentar, RU). Os machos foram identificados por observação macroscópica do petasma, sendo os não fusionados considerados imaturos e os fusionados com ampolas cheias, desenvolvidos e com ampolas vazias, rudimentar. As fêmeas fixadas em Bouin, em estágios de maturação II e III foram dissecadas e pesadas para análise de índice gonadosomático (IGS).

Os siris foram identificados de acordo com MELO (1996) e mensurados com paquímetro graduado (0,1mm), utilizando-se como medida padrão a largura da carapaça (LC), exceto o espinho lateral. O estágio de maturação morfológica externa foi analisado de acordo com HAEFNER (1990), sendo a fase de maturação morfológica dos jovens (imaturos) e adultos (maduros) diferenciada pelo formato e a aderência do abdome ao esternito torácico, considerando juvenis àqueles indivíduos que possuem o

abdome selado. Em seguida, os indivíduos foram separados em cinco grupos demográficos: macho imaturo, macho adulto, fêmea imatura, fêmea adulta e fêmea ovígera. Para análise macroscópica das gônadas, as carapaças de machos e fêmeas foram recortadas e rebatidas, e os estágios de desenvolvimento gonadal determinados de acordo com a coloração e o tamanho em relação ao hepatopâncreas e à cavidade torácica. Quatro estágios de desenvolvimento foram considerados: IM = imaturo, RU = rudimentar (adultos com gônadas não maduras), ED = em desenvolvimento e DE = desenvolvido. As fêmeas maduras com gônadas desenvolvidas e em desenvolvimento foram pesadas e suas gônadas dissecadas para análise de índice gonadosomático e fator de condição.

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

Para a descrição do ciclo reprodutivo foram analisadas as variações mensais do IGS (índice gonadosomático), o qual considera o peso dos ovários ou testículos e o peso total do indivíduo. O IGS foi estimado para todos os indivíduos, sendo que um aumento desse indicador reflete um aumento no peso das gônadas, indicando assim atividade reprodutiva (VAZZOLER, 1996).

#### Análise morfológica das gônadas de peixes e crustáceos

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

## 2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

No início do monitoramento, o TR4 indicava a avaliação de genética de populações de peixes estuarinos e recifais através de 2 marcadores moleculares: mitocondriais e nucleares. No entanto, a região de controle não codificante (Dloop) do DNA mitocondrial não se mostrou eficaz na resolução do indicador diversidade genética neste estudo. Possivelmente os iniciadores (primer) utilizados, amplificaram a região central conservada (CCD) o que impossibilitou a verificação do grau de variabilidade genética presente nas espécies e inferir sobre a diversidade, desta forma, optou-se por seguir o monitoramento apenas com os marcadores nucleares microssatélites, que se mostram eficazes na verificação da diversidade genética, estrutura genética populacional, diferenciação populacional e fluxo gênico. Em relação às análises estatísticas, estas foram concentradas no software R, com a utilização de pacotes estatísticos genéticos, visando facilitar e otimizar o tempo de obtenção de resultados.

No Ano 4 foram incluídos os peixes estuarinos e crustáceos marinhos, anteriormente não contemplados no escopo do PMBA/Fest-UFES, nas análises do Indicador “Índices de diversidade e estruturação Genética”, essas análises foram realizadas com a utilização do DNA mitocondrial e SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) do DNA nuclear pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES. No RA 2023 foram apresentados resultados do DNA mitocondrial e SNPs para duas espécies de crustáceos marinhos: camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*); e três espécies de peixes estuarinos: bagre-guri (*Genidens genidens*), robalo-peva (*Centropomus parallelus*), pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*). No RA2024, foram adicionados resultados da espécie *Paralichthys brasiliensis* (Maria-luiza). Nesse relatório (RSE 2025) foram mantidos os resultados populacionais do DNA Nuclear (SNPs) do RA 2024 para todas as seis espécies avaliadas até o momento, sendo apresentados, com os indivíduos até 2025, resultados parciais (Extração do DNA, quantificação, controle de qualidade, montagem parcial de biblioteca genômica) visto que, até o momento da escrita desse relatório os dados brutos dessas novas amostras ainda estavam em etapa de processamento.

Em outubro de 2024, a avaliação da diversidade genética de populações de peixes recifais e algumas espécies de peixes estuarinos através de marcadores moleculares microssatélites que compunha o indicador “Índices de diversidade e estruturação Genética”, foi entregue no RA2024 com 15 espécies avaliadas, em consonância com o TR4. A partir de então, essa atividade foi alterada no escopo do plano de trabalho do tema *Ictiofauna e carcinofauna marinha e estuarina* para restringir-se somente a avaliação genética de espécies estuarinas e mediante novos marcadores moleculares, como os SNPs, e realizadas pela equipe do Laboratório de Genética e Conservação Animal (LGCA) do CEUNES, UFES.

## 2.4 ALTERAÇÕES NA MALHA/FREQUÊNCIA AMOSTRAL E ESCOPO REALIZADOS EM OUTUBRO DE 2024: SUAS CONSEQUÊNCIAS NAS ANÁLISES DA SÉRIE HISTÓRICA DE INDICADORES

A partir de outubro de 2024, foram excluídas do plano de trabalho do Tema Ictiofauna e Carcinofauna marinha e estuarina, as seguintes atividades:

- Monitoramento das assembleias de peixes recifais através de censo visual, que se estendia desde Abrolhos (recifes costeiros e arquipélago) e as ilhas de Guarapari, incluindo recifes Esquecidos, APA Costa das Algas e litoral de Vitória.
- Coletas no rio Itapemirim, para análises de Ecologia Trófica.

A partir de outubro de 2024, o subtema recrutamento larval sofreu alterações de malha amostral com a exclusão do rio Mucuri, reduzindo de 4 para 3 os estuários monitorados; são eles: rio Doce (Impacto), rio Piraquê-Açu (Controle 1) e rio São Mateus (Controle 2). Essa alteração, fragiliza a força analítica de detecção de impactos ambientais oriundos do MLD, pois diminui o número de comparações estatísticas entre as amostras obtidas do ambiente impactado com as amostras obtidas nos ambientes controles (reduzidos a 2). Contudo, a PERMANOVA permite lidar com o desbalanceamento entre o número de amostras e níveis de fatores, pois trabalha com permutações de dados internos. O impacto é percebido quando há significância no fator *IvsC*, onde a média dos valores obtidos na região Impacto é contrastada com a média dos valores obtidos em todas as regiões controle, ou na interação ortogonal deste com o tempo  $T \times IvsC$  na análise de variância. De forma que se há detecção de impacto, mesmo com o desenho amostral fragilizado pela perda de localidades controle, é factual a sua existência.

Além disso, as coletas no rio Itapemirim, relacionadas ao subtema Ecologia Trófica, foram descontinuadas em 2025. Isso reduziu o número de estuários controles e, em consequência, a robustez das análises visando a detecção de impactos do MLD na ecologia trófica.



### **3 RESULTADOS DOS INDICADORES**

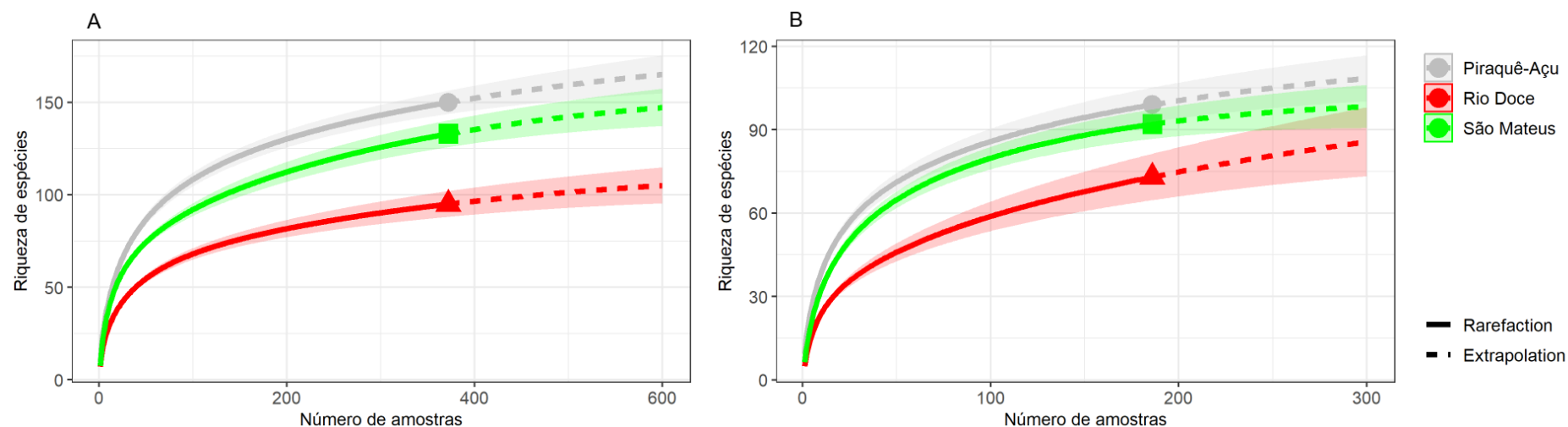
Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest-UFES e obtidos ao longo de todo monitoramento na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito 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-UFES 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 COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES

#### 3.1.1 Ictiofauna estuarina/marinha

Figura 6: Composição e estrutura de comunidades e populações. Curvas de rarefação e riqueza esperada (extrapolação) das espécies de peixes estuarinos/marinhos, baseadas no número de unidades amostrais coletadas nas áreas internas (A – 186 arrastos por área) e externas (B – 372 arrastos por área) dos rios Piraquê-Açu, Doce e São Mateus entre outubro/2018 e janeiro/2025. As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança de 95%.





As curvas de rarefação das áreas externas e internas dos três estuários estudados ainda não atingiram as assíntotas, indicando que ainda há possibilidade de novos registros de espécies de peixes estuarinos/marinhos, mesmo que raras, na continuidade do monitoramento. Como observado anteriormente (FEST, 2025), as áreas internas (Figura 6A) apresentaram menor riqueza de espécies de peixes estuarinos/marinhos no rio Doce, enquanto nos estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açu), a riqueza foi similar. Entre as áreas externas (Figura 6B), o rio Doce apresentou também menor riqueza de espécies em relação aos estuários indiretamente impactados, como observado nas áreas internas. Os valores mais baixos de riqueza de espécies observados tanto na área interna quanto na área externa do rio Doce podem estar associados aos impactos de atividades antropogênicas, uma vez que a baixa riqueza de espécies é comumente vinculada a ambientes impactados por ações humanas (VIANA & LUCENA-FRÉDOU, 2014).

Ao longo deste monitoramento, entre outubro/2018 e janeiro/2025, foram coletados 131.584 peixes estuarinos/marinhos, sendo 31.282 no rio Doce. Nos estuários indiretamente impactados, foram coletados 36.805 no rio São Mateus e 63.497 no rio Piraquê-Açu. O rio Doce apresentou menor riqueza (135 espécies identificadas) que os estuários indiretamente impactados (São Mateus, 165 espécies; Piraquê-Açu, 178), porém, a família Sciaenidae apresentou a maior riqueza nos três estuários (rio Doce - RD, 21 espécies; São Mateus - SM, 25; Piraquê-Açu - PA, 25), tanto nas áreas internas (RDI, 12; SMI, 15; PAI, 12) quanto nas externas (RDE, 16; SME, 22; e PAE, 25). Houve pequeno decréscimo na dominância do bagre-guri (*Genidens genidens*) no rio Doce, em relação ao observado anteriormente (FEST, 2025). Porém, no período atual a espécie dominou tanto em abundância (constituindo 16,0% do total), quanto em biomassa (48,6%), sobretudo em RDI (40,7% da abundância; 67,4% da biomassa). Por outro lado, *G. genidens* também dominou em biomassa em SMI, porém representou apenas 12,3%, com menor dominância que em RDI. Nas áreas externas, o cangoá *Stellifer brasiliensis* dominou a abundância no rio Doce (RDE, 21,2%), enquanto a sardinha mole (*Chirocentron bleekermanus*) foi dominante em SME (32,4%) e PAE (29,3%). Destaca-se a dominância em biomassa exercida pela raia-lixa *Hypanus guttatus* em RDE (15,8%) e em SME (14,1%). Esta espécie, categorizada como NT (Perigo Iminente; IUCN, 2025) é pouco estudada, mas é frequente nas pescarias de pequena escala no nordeste brasileiro (SILVA *et al.*, 2018; GIANETI *et al.*, 2019), onde o declínio nas capturas é observado (OLIVEIRA *et al.*, 2021). No Rio Doce, mesmo com baixa abundância (<0,2% do total) e biomassa (0,1%), destaca-se a presença de espécies cuja categoria de ameaça são NT devido ao seu valor comercial no Espírito Santo (FRAGA *et al.*, 2019). Dentre estas, destacam-se o ariacó/vermelho (*Lutjanus synagris*), o baiacu-ará/arara (*Lagocephalus laevigatus*) e o robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Ainda, foram coletados 118 exemplares do bagre rabo-seco *Paragenidens grandoculis*, espécie Criticamente Ameaçada (CR) e endêmica do baixo rio Doce (FRAGA *et al.*, 2019). Por outro lado, a ocorrência de espécies não nativas é relatada pelos pescadores da região do rio Doce, dentre estas, a piranha vermelha (*Pygocentrus nattereri*, 4 indivíduos) e a curimba (*Prochilodus lineatus*, 1 indivíduo) foram coletadas durante o presente monitoramento.

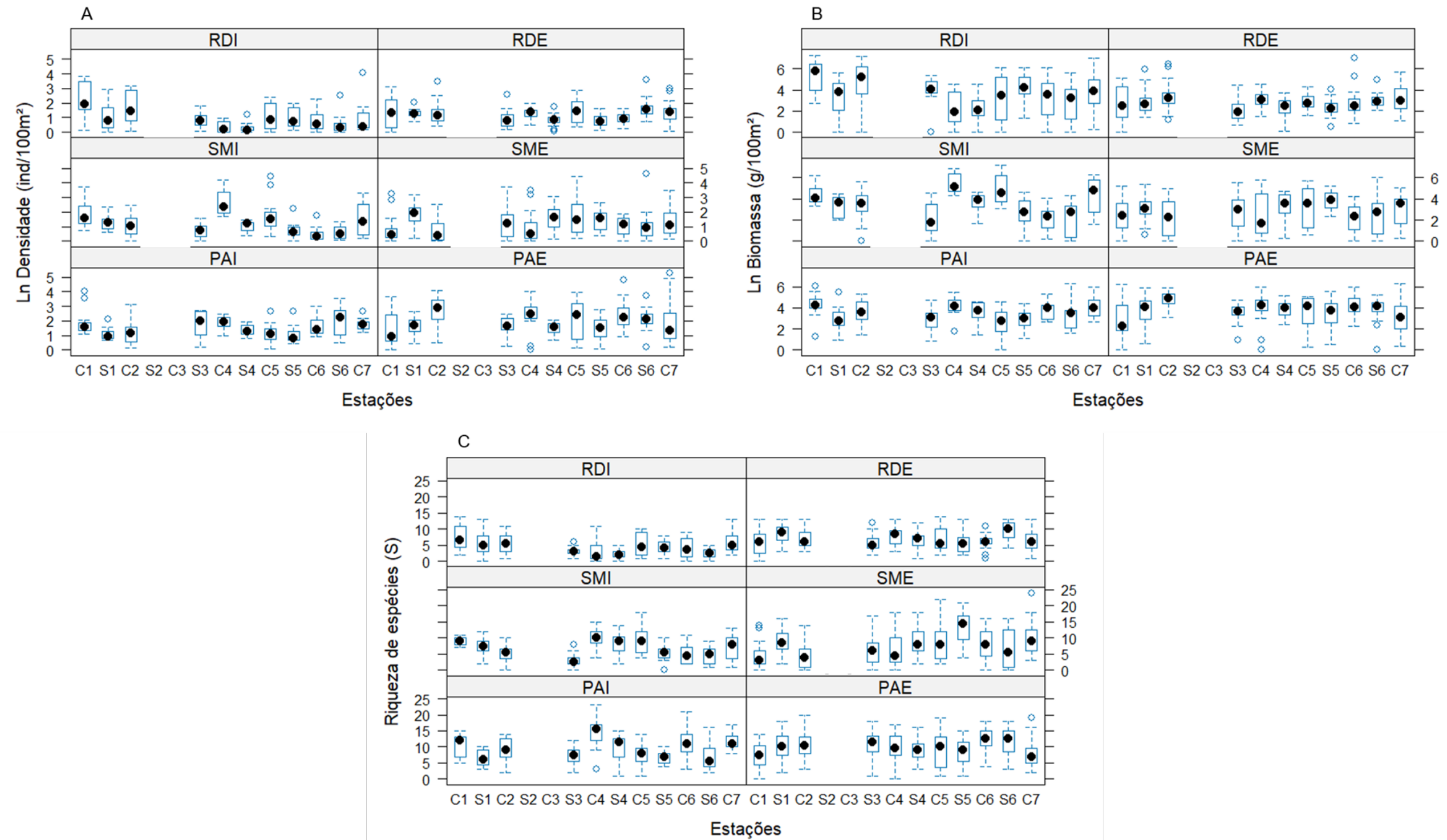
Tabela 3: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m<sup>2</sup>) e biomassa (g/100m<sup>2</sup>) transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Períodos: chuvosos e secos ao longo dos anos de monitoramento, onde: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7 (outubro/2024 e janeiro/2025). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário); GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, Pseudo-F = valor da estatística, p = probabilidade associada ao teste (p < 0,05 = valores significativos, em negrito), \* indica p com teste Monte Carlo.

Fatores	GL	Densidade			Biomassa			Riqueza		
		SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p
Local: I vs ID	1	37,009	0,8056	0,5376*	11,83	0,33911	0,6676*	27,066	1,4355	0,4435*
Período	10	36,028	0,90043	0,5574	82,049	0,79877	0,6498	7,4703	0,42159	0,9094
Estuário (Local)	1	45,939	7,3163	0,0736*	34,885	0,99518	0,3867*	18,855	3,1474	0,4435*
Local x Período	10	34,666	0,86641	0,5925	89,414	0,87048	0,5957	9,122	0,5148	0,8667
Área (Estuário (Local))	3	18,837	10,029	<b>0,0001</b>	105,16	19,809	<b>0,0001</b>	17,972	20,582	<b>0,0001</b>
Estuário (Local) x Período	10	40,011	1,1504	0,3774	102,72	1,2585	0,2986	17,719	1,2004	0,3242
Área (Estuário (Local)) x Período	30	104,34	5,5551	<b>0,0001</b>	244,85	4,6121	<b>0,0001</b>	44,284	5,0715	<b>0,0001</b>
Resíduo	1122	702,47			1985,5			326,57		
Total	1187	1039,4			2661,4			472,14		

Com base nos resultados não significativos da interação entre os fatores Local x Período (Tabela 3), não houve diferenças nos indicadores densidade, biomassa e riqueza entre os estuários, durante os períodos analisados, demonstrando que o rio Doce e estuários indiretamente impactados apresentaram distribuições espaço-temporais similares entre si destes indicadores ao longo dos sete anos de monitoramento. Por outro lado, houve diferenças significativas no fator Área x Período, demonstrando a influência dos períodos chuvosos e secos nas diferenças entre as áreas internas e externas de cada estuário nos indicadores densidade (rio Doce e Piraquê-Açu) e biomassa (nos três estuários), mas apenas o rio Doce exibiu diferenças significativas na riqueza de espécies (Figura 7) entre as áreas internas e externas, como já observado anteriormente (FEST, 2025)

A ausência de diferenças significativas dos indicadores densidade, biomassa e riqueza (interação entre os fatores Local x Período) entre o rio Doce e os estuários indiretamente impactados vem sendo observada desde o início das análises (FEST, 2020; FEST, 2021; FEST, 2024; FEST, 2025). Porém, como os peixes apresentam mobilidade e podem mudar de habitat de acordo com as flutuações ambientais, é provável que a estrutura da comunidade de peixes estuarinos esteja sendo afetada pelo Material Ligado ao Desastre (MLD). Tais deslocamentos populacionais dos peixes refletem em mudanças na composição e na estrutura das comunidades (MOLINA *et al.*, 2020), porém, ao longo do PMBA/Fest-UFES estas mudanças foram mais conspícuas entre as áreas (interna e externa) de cada estuário (Figura 7). Os impactos antropogênicos eliminam *taxa* mais sensíveis, deixando espaço para a dominância de espécies mais tolerantes (ATTRILL & DEPLEDGE, 1997). No presente monitoramento, na área interna do rio Doce, foi observada a ampla dominância em abundância (40,7% do total) e biomassa (67,4%) do bagre *Genidens genidens*, uma espécie resiliente, utilizada como sentinela por ser residente em estuários, cuja dominância indica impacto por ações antropogênicas (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2013).

Figura 7: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m<sup>2</sup>), (B) biomassa (g/100m<sup>2</sup>) e (C) riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM - São Mateus e PA - Piraquê-Açú); Período: chuvoso (C) e seco (S) dos 7 anos de monitoramento, sendo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7 (outubro/2024 e janeiro/2025). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no *boxplot* indica o valor médio.



Apesar da ausência de diferenças significativas na PERMANOVA na comparação entre o rio Doce e estuários indiretamente impactados (Tabela 3), o teste *a posteriori* demonstrou que os valores de densidade, biomassa e riqueza apresentaram tendência significativa ( $p < 0,05$ ) à diminuição entre C1 e S4 na área interna do rio Doce (RDI, Figura 7). A partir de C5, período de chuvas intensas em todas as áreas monitoradas, houve picos na densidade, biomassa e riqueza em RDI. Com relação ao relatório anterior (FEST, 2025), os valores de densidade e biomassa foram mantidos e houve aumento na riqueza. Este aumento também foi observado em PAI. Nas áreas internas dos locais indiretamente impactados (Piraquê-Açu e São Mateus) também foram observadas diferenças significativas entre os períodos, com eventuais aumentos ou diminuições, entretanto, houve picos de densidade, biomassa e riqueza em C4, período chuvoso anterior à C5, observado no rio Doce. Em RDI, a partir de C5 houve aumento de densidade e biomassa, e valores mantidos nos períodos subsequentes, porém a riqueza voltou a declinar e apenas em C7 aumentou novamente. Quanto às áreas externas, os valores variaram significativamente entre os períodos tanto no rio Doce quanto nos estuários impactados indiretamente, mas sem tendência sazonal conspícua. Estas áreas apresentam maior homogeneidade nas variáveis abióticas, estando menos sujeitas a variações do que as áreas internas.

O estuário do rio Doce (RDI) apresenta baixa salinidade, com valores médios próximos de zero durante o ano todo. Uma vez que maiores valores de salinidade podem propiciar a entrada de espécies de peixes marinhos nos estuários, aumentando a riqueza, seria então esperado que o estuário do rio Doce apresentasse menores valores dos indicadores densidade, biomassa e riqueza (CONDINI *et al.*, 2022), em comparação com os estuários indiretamente impactados. Além disso, flutuações espaço-temporais eram esperadas nos estudos de comunidades, porém o declínio nos valores de densidade (até S4) e riqueza observados na área interna do rio Doce ao longo do tempo, pode ser consequência dos efeitos do MLD, como já foi observado por FERNANDES *et al.* (2020) na comunidade zooplanctônica costeira. CONDINI *et al.* (2022) já haviam observado menores valores de riqueza em RDI, porém, como não há estudos anteriores ao rompimento, apenas com o monitoramento dos últimos anos está sendo possível observar as tendências sazonais e compará-las entre os estuários.

Comunidades ictiofaunísticas são consideradas bons indicadores da condição ambiental, uma vez que representam um grupo diversificado de formas, hábitos de vida e, consequentemente, de ocupação de habitats (WHITFIELD & ELLIOTT, 2002). No caso do rio Doce, o estuário mais impactado, destaca-se a menor riqueza de espécies, cujos valores refletem condições locais e regionais dos estuários (VASCONCELOS *et al.*, 2015). Como não há estudos anteriores ao rompimento na área interna do rio Doce (RDI), o declínio observado na riqueza de espécies nesta área reforça a relevância dos peixes como indicadores. Além disso, destaca-se a importância do presente monitoramento como o início da descrição de padrões espaço-temporais da ocorrência da ictiofauna no rio Doce, propiciando o emprego futuro de indicadores integrativos (PINNA *et al.*, 2023) e, posteriormente, de medidas de restauração.

Tabela 4: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura de comunidade (composição e densidade transformada em raiz quarta) de peixes estuarinos, e as variáveis abióticas preditoras para cada período (ver Figura 8).

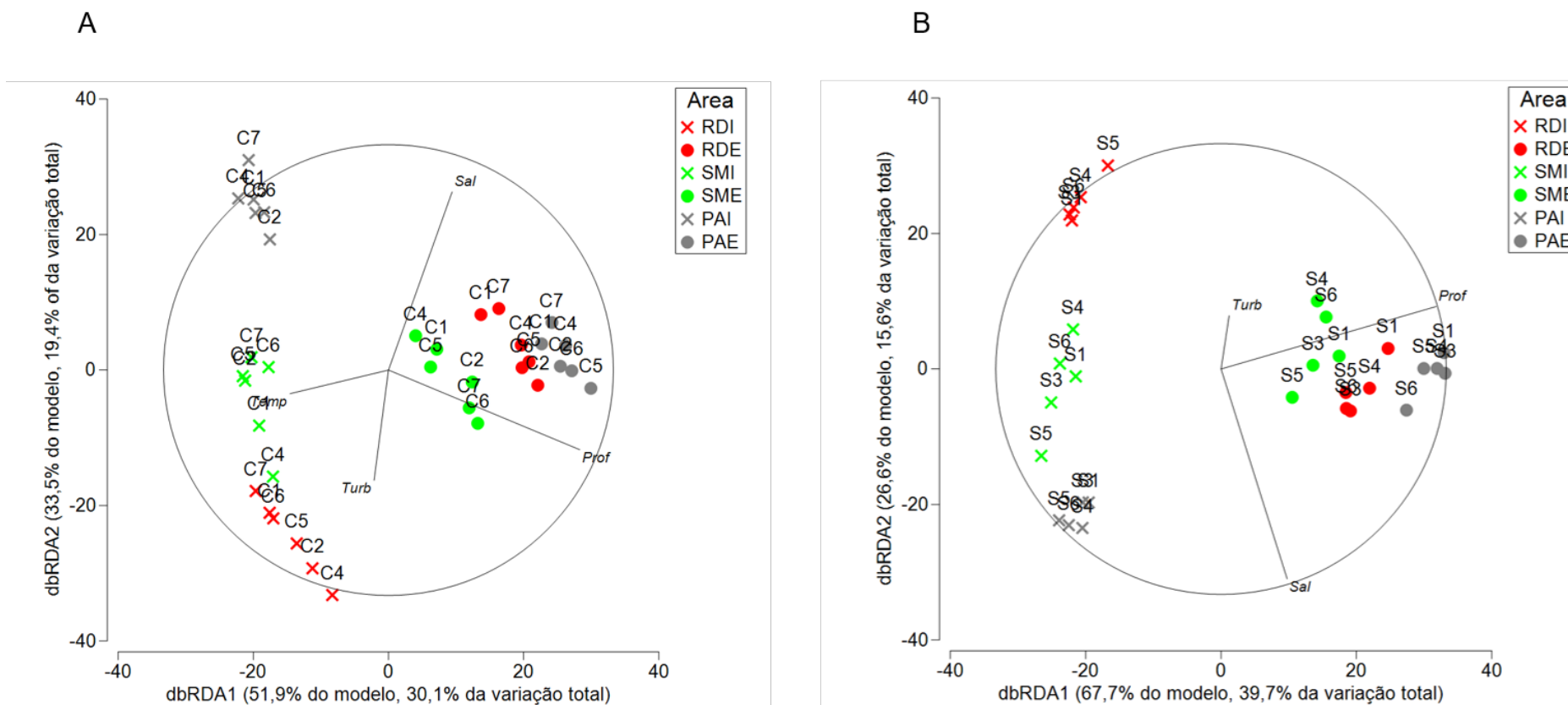
Período chuvoso			Período seco		
Variáveis selecionadas	AICc	R <sup>2</sup>	Variáveis selecionadas	AICc	R <sup>2</sup>
Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	235,58	0,58	Salinidade, turbidez, profundidade	197,95	0,59
Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	235,94	0,61	Salinidade, profundidade	198,24	0,54
Salinidade, turbidez, profundidade	235,98	0,54	Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	199,40	0,61
Temperatura, pH, salinidade, turbidez, profundidade	236,19	0,60	Temperatura, Salinidade, profundidade	199,66	0,56
pH, salinidade, turbidez, profundidade	236,61	0,57	pH, salinidade, turbidez, profundidade	199,71	0,60
Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	236,95	0,56	pH, salinidade, profundidade	199,83	0,56
Temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	237,73	0,62	Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	199,96	0,60
Temperatura, salinidade, profundidade	237,95	0,52	Oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	200,02	0,56
pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	238,39	0,58	Temperatura, pH, salinidade, turbidez, profundidade	201,20	0,62
Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	238,42	0,54	Temperatura, pH, salinidade, profundidade	201,33	0,58



Durante os períodos chuvosos, todas as variáveis ambientais analisadas (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez e profundidade) apresentaram correlação significativa ( $p < 0,05$ ) com a distribuição espaço-temporal da densidade (Tabela 4). Destaca-se que a turbidez havia sido observada como fator de menor importância na distribuição espaço-temporal da ictiofauna até o relatório anual de 2022 (análises até agosto de 2022, FEST, 2023). Desde então, a influência da turbidez na distribuição da ictiofauna observada mesmo no período seco merece atenção, pois sabe-se que esta variável está diretamente relacionada a presença do MLD. Ademais, esta variável foi responsável pela homogeneização de comunidades de pós-larvas de peixes e diminuição da diversidade beta na área adjacente ao rio Doce (BARRILLI *et al.*, 2024), trazendo consequentes modificações na estrutura das comunidades de peixes. A significância desta variável no período analisado no presente documento é observada desde as intensas chuvas em C5 (mais de 1400 mm acumulados entre outubro/22 e janeiro/23, Fonte: CEMADEN – Estação Linhares Centro - <http://www2.cemaden.gov.br>). Salinidade é uma variável conhecidamente limitante na distribuição espaço-temporal das comunidades ictiofaunísticas em locais onde a amplitude de temperatura é menor, como em estuários tropicais (MOLINA *et al.*, 2020). Os pulsos de entrada de água doce nos estuários, influenciados pelos períodos chuvosos, ocasionam diminuição da salinidade constituindo uma barreira fisiológica para peixes. Tais pulsos de pluviosidade aumentam a disponibilidade de nutrientes, tornando os estuários locais atrativos para o desenvolvimento das espécies, ocasionando picos de densidade, biomassa e riqueza como observados em C5 no rio Doce (Figura 8). Apesar de apresentar valores de salinidade próximos a zero o ano todo, aparentemente, o rio Doce depende mais destes nutrientes aportados por estes pulsos do que os estuários indiretamente impactados (Piraquê-Açu e São Mateus), pois estes últimos apresentaram picos também em outros períodos chuvosos.

A profundidade é uma variável que pode influenciar na distribuição espacial ontogenética dos peixes, onde os juvenis ocupam águas mais rasas enquanto os adultos são mais observados em águas mais profundas (JAUREGUIZAR *et al.*, 2016). A profundidade influenciou a distribuição de robalos-peva (*Centropomus parallelus*), peixes de importância comercial que têm sido observados mais associados a águas mais profundas do rio Doce, o que não foi observado no rio São Mateus (área indiretamente impactada) (FEST, 2025). Além disso, no primeiro ano do presente estudo, VILAR *et al.* (2022) observaram que as variáveis influenciadas diretamente pelo rompimento (por exemplo, turbidez, oxigênio dissolvido e pH) influenciaram mais na estruturação das comunidades de peixes do rio Doce do que aquelas que variam sazonalmente. Desta forma, a ausência de estudos ictiofaunísticos anteriores ao rompimento, somada às evidências de declínio da riqueza, notadamente no estuário do rio Doce, reforçam a necessidade de um monitoramento espaço-temporal amplo e de longo prazo, visando conhecer as flutuações naturais da ictiofauna estuarina/marinha na área afetada pelo rompimento.

Figura 8: Composição e estrutura de comunidades e populações. Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) para avaliação das relações entre a estrutura de comunidade de peixes estuarinos/marinhos e as variáveis ambientais preditoras nos períodos chuvoso (A) e seco (B). Foram amostradas as áreas internas (I) e externas (E) dos estuários do rio Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA), nos períodos chuvosos e secos, sendo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7 (outubro/2024 e janeiro/2025), relacionando as variáveis ambientais (temperatura (Temp), pH, oxigênio dissolvido, salinidade (Sal), turbidez (Turb, log x+1) e profundidade (Prof)) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento *Best* e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m<sup>2</sup>) e frequência de ocorrência.





No período chuvoso (Figura 8A), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 85,4% do modelo, e 49,5% da variação total. Neste período, destaca-se a turbidez como fator preponderante na similaridade da área interna do rio Doce (RDI) em todos os períodos, o que foi observado apenas na área interna do estuário indiretamente impactado do rio São Mateus, em C4. Em C4, foram observados picos de densidade, biomassa e riqueza apenas nos estuários impactados indiretamente (SMI e PAI), mas não no rio Doce (Figura 7). Neste período, observou-se ainda, a influência da turbidez, principalmente em RDI. No período seco (Figura 8B), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 94,3% do modelo, e 55,3% da variação total dos dados de densidade. Neste período foi observada maior similaridade entre as áreas internas dos estuários indiretamente impactados (SMI e PAI), porém, nas áreas externas, houve maior similaridade entre o rio Doce e cada um dos estuários indiretamente impactados. Neste período, a profundidade influenciou mais as áreas externas. Foi possível observar que na área interna do rio Doce, os períodos secos amostrados foram mais similares entre si do que os períodos chuvosos. Isso ocorre porque nestes últimos há maior oscilação nas variáveis ambientais, como turbidez e salinidade, refletindo em maiores diferenças na distribuição da densidade.

A turbidez havia sido uma variável preponderante na distribuição da densidade do período chuvoso no relatório anterior (FEST, 2025) e foi apontada pelas análises no presente documento devido às chuvas excessivas observadas nas áreas estudadas, entre outubro/2022 e janeiro/2023 (em C5) (mais de 1400 mm acumulados no período, Fonte: CEMADEN – Estação Linhares Centro - <http://www2.cemaden.gov.br>). Por outro lado, dentre as variáveis ambientais analisadas, salinidade e profundidade influenciaram a distribuição da densidade tanto no período chuvoso quanto no seco. Porém eventos extremos, como o alto volume de chuvas observado em C5, aumentam o aporte de águas continentais, aumentando a turbidez e influenciando a distribuição da densidade dos peixes, sobretudo na área interna do rio Doce. Estudos sobre os indicadores das comunidades ictiofaunísticas estuarinas/marinhas atingidas pelo MLD são escassos fora do âmbito do rompimento da Barragem de Fundão que afetou o Rio Doce. No entanto, eventos como dragagens, que aumentam a turbidez das águas (conforme observado no presente estudo), foram apontados como responsáveis pela diminuição da densidade de algumas espécies, indicando mudança na estrutura das comunidades ictiofaunísticas durante tais eventos (BARLETTA *et al.*, 2016) no sul do Brasil. Desta forma, é de se esperar que as chuvas, além de aumentarem o aporte de sedimento continental nos rios naturalmente, remobilizam o MLD, aumentando a turbidez, que influencia a estrutura da comunidade de peixes estuarinos, como observado após o evento de chuva extrema.

As variações espaço-temporais dos indicadores da ictiofauna não são conhecidas antes do rompimento, então não é possível afirmar que o decréscimo dos valores da riqueza observados no monitoramento na área interna do rio Doce seja diferente do esperado. Porém, o monitoramento permitiu observar que este decréscimo ocorreu exatamente na área interna do rio Doce, e esta, dentre as analisadas, foi a atingida diretamente pelo MLD. Nas áreas indiretamente impactadas, não foram observadas tendências sazonais, indicando que a área interna do rio Doce apresentou variações espaço-temporais diferentes das demais áreas estudadas.

Tabela 5: Composição e estrutura de comunidades e populações. Análise de Similaridade de Percentagens (SIMPER), destacando as cinco espécies de peixes estuarinos/marinhos que mais contribuíram (%) para a dissimilaridade média entre as áreas do estuário diretamente impactado (RD – rio Doce) e dos estuários indiretamente impactados (SM – São Mateus e PA – Piraquê-Açú), utilizando-se a média de densidade (ind./100m<sup>2</sup>). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). São mostradas cinco das espécies que mais contribuíram para as dissimilaridades.

Espécies	Densidade Média	Densidade Média	Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
	RDI	RDE		
<b>Dissimilaridade média - RDI x RDE = 97,80%</b>				
<i>Genidens genidens</i> (bagre-guri/caçari)	25,9	0	13,24	13,24
<i>Stellifer brasiliensis</i> (cangoá)	1,49	14,25	7,27	20,51
<i>Symphurus plagusia</i> (língua-de-mulata/linguado)	0	13,6	7,24	27,76
<i>Paralonchurus brasiliensis</i> (Maria-Luíza)	0	8,79	4,68	32,43
<i>Genidens barbatus</i> (bagre branco)	7,41	0,04	3,80	36,23
<b>Dissimilaridade média - SMI x SME = 96,99%</b>				
<i>Achirus lineatus</i> (linguado)	12,25	0,05	6,70	6,70
<i>Lycengraulis grossidens</i> (manjubão)	11,03	0,25	6,06	12,76
<i>Chloroscombrus chrysurus</i> (palombeta)	6,21	5,08	5,21	17,97
<i>Chirocentrodon bleekermanus</i> (sardinha-mole)	0,46	9,12	4,97	22,94
<i>Haemulopsis corvinaeformis</i> (coró)	0,56	4,89	2,79	25,72
<b>Dissimilaridade média - PAI x PAE = 96,31%</b>				
<i>Eucinostomus argenteus</i> (escrivão/carapicú)	12,37	0,68	6,55	6,55
<i>Anchoa januaria</i> (manjuba)	12,0	0,02	6,27	12,82
<i>Chirocentrodon bleekermanus</i> (sardinha-mole)	0,80	9,44	4,92	17,74
<i>Achirus lineatus</i> (linguado)	8,39	0,31	4,33	22,07
<i>Stellifer brasiliensis</i> (cangoá)	0,05	7,93	4,11	26,18

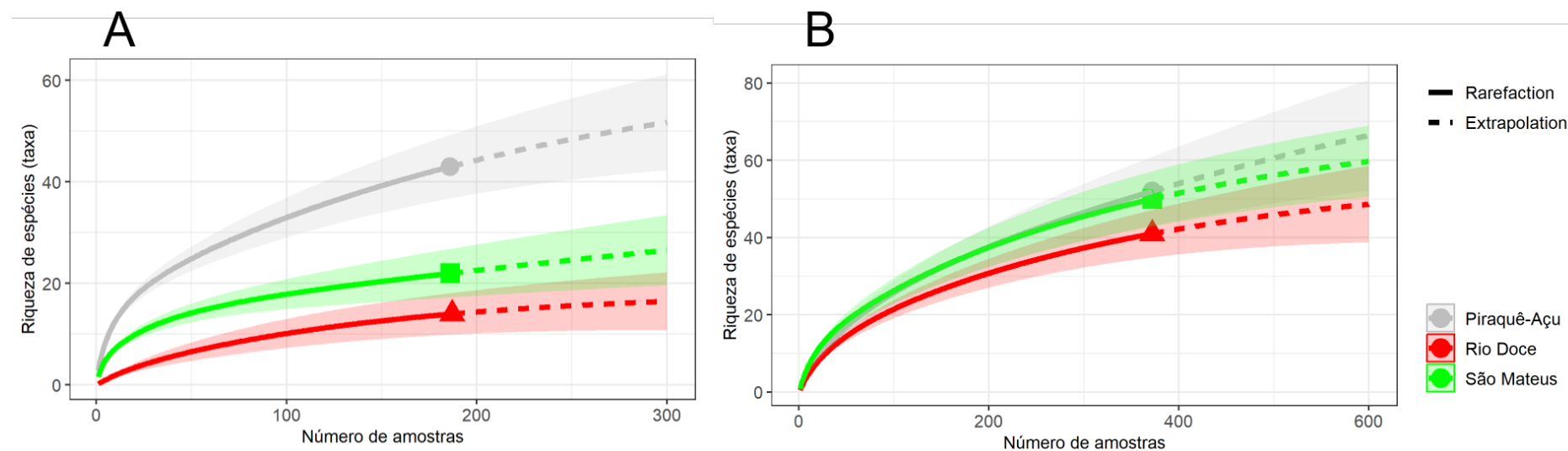
As análises de Similaridade de Percentagens (SIMPER) (Tabela 5) da densidade (ind./100m<sup>2</sup>), no nível de 70%, revelaram a contribuição de poucas espécies para as dissimilaridades observadas entre as áreas interna e externa dos estuários do rio Doce (21 espécies), São Mateus (32) e Piraquê-Açu (30). A dominância de poucas espécies é esperada para regiões estuarinas (MAGURRAN & HENDERSON, 2003), porém o valor mais baixo (14 espécies compondo em torno de 70% da densidade) foi observado na área interna do rio Doce, enquanto nas áreas internas do São Mateus (25 espécies) e Piraquê-Açu (26 espécies) estes valores foram maiores. Na área interna do rio Doce, destaca-se a contribuição do bagre-guri *Genidens genidens*, que exibiu ampla dominância, com a densidade média mais de três vezes maior que o bagre-branco *Genidens barbatus*, a segunda espécie dominante, como já observado anteriormente (FEST, 2025). Devido a características fisiológicas e morfológicas, os peixes da família Ariidae a qual pertencem *G. genidens* e *G. barbatus* são naturalmente abundantes em estuários (VILAR *et al.*, 2022), porém *G. genidens* é uma espécie resiliente e tolerante a ações antropogênicas, sendo abundante em estuários impactados, onde espécies menos tolerantes são desfavorecidas (SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2013). Portanto, a dominância de *G. genidens* pode ser considerada um indicador de ambiente antropicamente impactado, ainda que este impacto possa ou não estar relacionado ao MLD.

As áreas internas dos estuários indiretamente impactados apresentaram espécies que mais contribuíram para a dissimilaridade entre as áreas (SML, *Achirus lineatus*; PAI, *Eucinostomus argenteus*), diferentes daquelas observadas na área interna do rio Doce. Além disso, na área externa, *S. brasiliensis* contribuiu mais no rio Doce e *Chirocentrodon bleekerianus* dominou nos estuários indiretamente impactados, o que já havia sido observado no relatório anterior (FEST, 2025).

As espécies que mais contribuíram para a dissimilaridade entre as áreas neste estudo, apontadas pela SIMPER, são comumente capturadas nos arrastos de fundo voltados à pesca do camarão sete-barbas (BARRETO *et al.*, 2018). Dentre estas, os bagres *G. genidens* e *G. barbatus*, além dos linguados *Achirus lineatus* e *S. plagusia*, são apontados por CONDINI *et al.* (2022) como espécies indicadas para monitoramento, pois vivem associadas ao fundo e são zoobentívoras, refletindo as condições do sedimento. Destaca-se também a necessidade de proteção da área interna do rio Doce, considerando que *G. barbatus* é classificada como “Em Perigo” na avaliação do diagnóstico das espécies ameaçadas de extinção para o estado do Espírito Santo (FRAGA *et al.*, 2019).

### 3.1.2 Carcinofauna estuarina/marinha

Figura 9: Composição e estrutura de comunidades e populações. Curva de rarefação e estimativas de riqueza (extrapolação) baseadas no número de unidades amostrais da macrofauna de crustáceos coletadas nas áreas internas (A – 186 amostras por área) e externas (B – 372 amostras por área) dos rios Piraquê-Açu (a), Doce (b) e São Mateus (c) entre outubro/2018 e janeiro/2025. As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança de 95%.



Os resultados das curvas de rarefação calculadas para as seis áreas monitoradas (Figura 9; duas áreas em cada estuário) não atingiram a assíntota, o que indica a possibilidade de que outras espécies de crustáceos venham a ser coletadas com aumento do esforço amostral. A exceção é a área interna do Rio Doce, para qual a curva já mais está próxima à estabilidade. Nesse sentido, ainda que o esforço amostral já realizado nas áreas monitoradas pelo PMBA/Fest-UFES tenha permitido a caracterização da macrofauna bentônica de crustáceos estuarinos e marinhos costeiros, outras espécies raras e potencialmente mais sensíveis a mudanças ambientais locais e regionais poderão ser adicionadas à lista de espécies identificadas com a continuidade do monitoramento. A menor riqueza de espécies (14 espécies) até o último período chuvoso analisado (C7 = outubro/2024 e janeiro/2025) foi obtida na área interna do rio Doce. A extrapolação observada para esta área apresenta uma pequena sobreposição à área interna do rio São Mateus (Figura 9), indicando maior semelhança na predição da curva. Considerando as áreas externas, o rio Doce também apresentou menor riqueza de espécies em relação a São Mateus e Piraquê-Açu, mas uma curva também ascendente. Este reduzido número de espécies no rio Doce pode ser reflexo de impactos antrópicos como pesca, poluição e ao MDL, principalmente considerando a magnitude dos efeitos causados pelo volume de MDL lançado sobre as comunidades biológicas ao longo do rio e nas zonas estuarinas e marinhas costeiras adjacentes. Porém, como já discutido em relatórios anteriores (FEST, 2024), artigos publicados em revistas de grande penetração científica (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2023; 2025) e observado para a ictiofauna (CONDINI *et al.*, 2023), este resultado não pode ser atribuído exclusivamente ao Material Ligado ao Desastre (MLD) devido à heterogeneidade de habitats na área de monitoramento e, em particular, à baixa salinidade na área interna do rio Doce. Um total de 185.166 indivíduos da macrofauna bentônica de crustáceos foi coletado nos três estuários e suas áreas marinhas costeiras adjacentes, pertencentes a 104 espécies identificadas dentre um total de 144 táxons amostrados. Até o último período chuvoso de amostragens foram coletados 40.795 indivíduos no rio Doce, pertencentes a 57 táxons (45 espécies identificadas), sendo 14 táxons na área interna e 51 táxons na área externa. Na área interna do rio São Mateus (22 táxons) e área externa (65 táxons) foram coletados 56.566 indivíduos, pertencentes a 69 táxons (50 espécies identificadas). Na área interna do rio Piraquê-Açu (43 táxons) e área externa (57 táxons) foram coletados 87.805 indivíduos, pertencentes a 70 táxons (52 espécies). A família Portunidae (9 espécies – 14 morfotipos) foi a mais representativa em número de espécies identificadas, seguida de Penaeidae (7 espécies – 11 morfotipos) e Panopeidae (6 espécies – 9 morfotipos).

Tabela 6: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m<sup>2</sup>) e biomassa (g/100m<sup>2</sup>) de crustáceos estuarinos/marinhos transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Período: chuvosos e secos dos 5 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7(outubro/2024 e janeiro/2025). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário); GL = graus de liberdade, SQ = soma dos quadrados, Pseudo-F = valor da estatística, *p* = probabilidade associada ao teste (*p* < 0,05 = valores significativos, em negrito). Asterisco (\*) = *p* obtido pelo método de Monte Carlo.

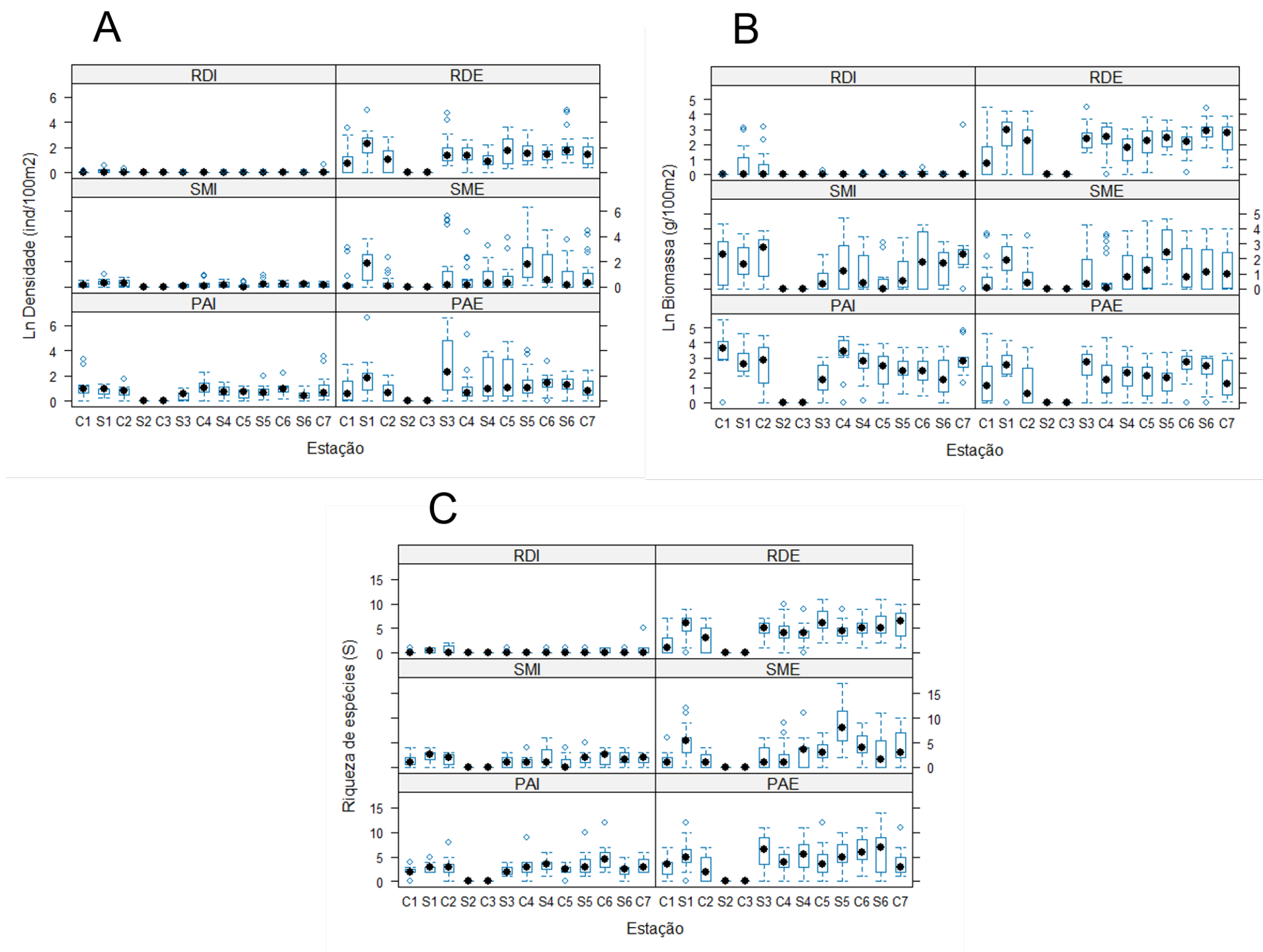
		Densidade (ind/100m <sup>2</sup> )			Biomassa (g/100m <sup>2</sup> )			Riqueza (S)		
Fatores	GL	SS	Pseudo-F	P(perm)	SS	Pseudo-F	P(perm)	SS	Pseudo-F	P(perm)
Local: I vs ID	1	1,7	0,0342	0,8838*	87,8	0,8299	0,5349*	100,8	0,3131	0,6675*
Período	10	34,9	2,4309	0,0882	42,7	1,7106	0,204	326,4	2,1035	0,1227
Estuário (Local)	1	48,9	0,5332	0,5156*	105,8	0,8107	0,4357*	321,8	0,4619	0,5424*
Local x Período	10	10,0	0,6962	0,7137	21,8	0,8737	0,5804	131,8	0,8498	0,599
Área (Estuário (Local))	3	275,4	103,0800	<b>0,0001</b>	391,5	109,6100	<b>0,0001</b>	2090,5	155,2600	<b>0,0001</b>
Estuário (Local) x Período	10	14,3	0,5127	0,8602	24,9	0,4718	0,8928	155,2	0,9042	0,5369
Área (Estuário (Local)) x Período	30	83,9	3,1423	<b>0,0001</b>	158,6	4,4398	<b>0,0001</b>	514,8	3,8232	<b>0,0001</b>
Resíduos	1122	999,1			1335,8			5035,5		
Total	1187	1539,8			2131,2			9266,7		



Os resultados das análises sobre os dados de densidade, biomassa e riqueza de espécies mostraram que não houve diferença significativa na variação espaço-temporal da comunidade de crustáceos entre a área impactada (rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açu), tal como observado na interação dos fatores Local x Período apresentada nas PERMANOVAS (Tabela 6). Por outro lado, há um efeito significativo da interação Área x Período sobre a comunidade, indicando que a variação da comunidade de crustáceos em cada estuário possui uma relação de dependência conjunta em termos de áreas (interna e externa) e períodos (chuvosos e secos) analisados. A visualização gráfica destes resultados está apresentada na Figura 10.

De acordo com o último relatório do PMBA/Fest-UFES (FEST, 2024), este padrão é recorrente ao longo de todo monitoramento. No entanto, embora não demonstrem diferença entre os locais monitorados, o impacto causado por atividades antrópicas e o efeito da heterogeneidade de habitat e das flutuações sazonais de fatores ambientais e processos ecológicos têm papéis fundamentais sobre os padrões de composição específica e distribuição da carcinofauna estuarina e marinha (RAMOTH *et al.*, 2023). Diante destas considerações, é, portanto, esperado que ao longo do tempo sejam observadas diferenças faunísticas nas zonas estuarinas e marinhas costeiras em cada local monitorado (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2025).

Figura 10: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m<sup>2</sup>), (B) biomassa (g/100m<sup>2</sup>) e (C) riqueza de espécies (S) de crustáceos estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD – rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM – São Mateus e PA – Piraquê-Açú); Períodos: chuvosos (C) e secos (S) dos 5 anos de monitoramento, sendo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7 (outubro/2024 e janeiro/2025). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ln = logaritmo natural. Ponto preto no boxplot indica o valor médio.



Não houve diferença significativa quanto à densidade (ind./100m<sup>2</sup>) de crustáceos (Figura 10A; Tabela 6) na área impactada (rio Doce) e nas áreas indiretamente impactadas (rio São Mateus e rio Piraquê-Açu). Para todos os locais, as menores médias de densidade foram obtidas nas áreas internas. Cabe reforçar que S2 e C3 se referem ao período da pandemia de Covid e, portanto, não foram incluídos nas análises. As áreas internas dos três estuários monitorados apresentaram baixos valores de densidade, com pouca variabilidade e média zero constante no rio Doce. Como esperado, as áreas externas (zona marinha costeira adjacente) apresentaram maiores médias nos três locais. Quanto aos períodos, a variação da densidade de crustáceos na área externa foi semelhante em todos os locais monitorados, sendo a maior média obtida no período seco (S1) para o Rio Doce e São Mateus, e S3 em Piraquê-Açu. Estes resultados indicam homogeneidade na dinâmica espaço-temporal das comunidades, ainda que observada maior variabilidade para SM e PA nos períodos secos (S3, S4 e S5).

Os resultados obtidos para a biomassa (g/100m<sup>2</sup>) de crustáceos (Figura 10B) demonstram um padrão semelhante ao obtido para a densidade, sem diferença significativa na variação da área impactada e áreas indiretamente impactadas. As áreas internas também possuem menores médias de biomassa, principalmente na área interna (estuário) do rio Doce, e uma maior variabilidade em SM e PA. Nas áreas externas, a variação temporal da biomassa foi semelhante em todos os locais amostrados. A partir do período S3, um padrão de variação diferenciado vem sendo observado entre os três estuários, com uma maior estabilidade do valor médio de biomassa no rio Doce.

As análises de riqueza de espécies (S) de crustáceos (Figura 10C) corroboram os resultados de densidade e biomassa, com os menores números de espécies nas áreas internas, e o menor valor obtido na área interna (estuário) do rio Doce. O valor médio de riqueza de espécies tem sido semelhante entre as localidades a partir do período seco (S3) até o último período seco analisado (S6), e com valor médio de 4 a 6 espécies por amostra.

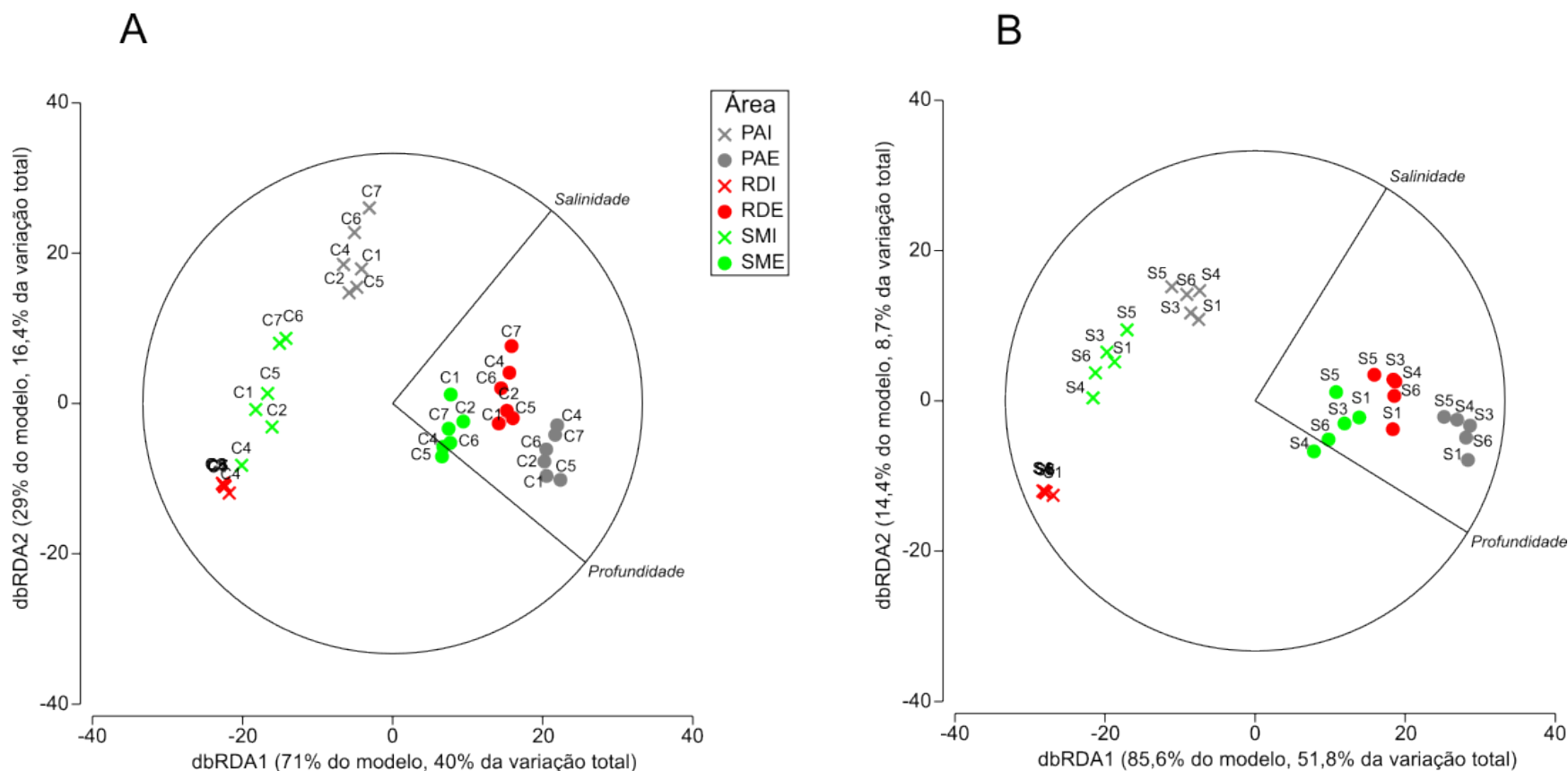
A presença de outliers nos gráficos indica variações mais extremas nos dados. Estas variações podem estar relacionadas à ocorrência de eventos incomuns ou condições excepcionais que levaram a picos de densidade, biomassa e riqueza de espécies nas áreas amostradas.

Tabela 7: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura das assembleias (composição e densidade) de crustáceos e as variáveis abióticas preditoras para cada período (ver Figura 11).

Chuvoso			Seco		
Variáveis selecionadas	AICc	R <sup>2</sup>	Variáveis selecionadas	AICc	R <sup>2</sup>
Salinidade, Profundidade	209,86	0,56	Salinidade, Profundidade	178,98	0,60
Temperatura, Salinidade, Profundidade	210,10	0,59	Salinidade, Turbidez, Profundidade	179,65	0,63
Oxigênio Dissolvido, Salinidade, Profundidade	211,42	0,57	Temperatura, Salinidade, Profundidade	179,77	0,62
Salinidade, Turbidez, Profundidade	211,42	0,57	Temperatura, Salinidade, turbidez, Profundidade	180,39	0,65
Temperatura, Salinidade, turbidez, Profundidade	211,58	0,60	pH, Salinidade, Profundidade	180,85	0,61

As análises de modelos lineares baseados em distância (DistLM) visando determinar as relações espaço-temporais da macrofauna bentônica de crustáceos e variáveis abióticas nas áreas monitoradas foram realizadas separadamente por período (Tabela 7). Os melhores modelos (menores valores de AICc) obtidos indicaram salinidade e profundidade como variáveis preditoras com maior contribuição acumulada (56% e 60%, respectivamente) para os padrões observados nas comunidades. Estes resultados caracterizam a influência ambiental significativa nos padrões de composição e distribuição da carcinofauna na área de abrangência do monitoramento do PMBA/Fest-UFES, mas principalmente associada às diferentes condições de salinidade e profundidade entre as zonas estuarinas e marinhas costeiras adjacentes. As análises também apontam o efeito da temperatura e turbidez com aumento do coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>), que são variáveis cuja influência sobre os padrões de abundância e distribuição da fauna de crustáceos é reconhecidamente importante no rio Doce durante o período chuvoso (OLIVEIRA-FILHO et al., 2025), porém com contribuição relativa substancialmente menor. A visualização gráfica dos resultados está apresentada na Figura 11.

Figura 11: Composição e estrutura de comunidades e populações. Análise de Redundância baseada em distância (dbRDA) para avaliação das relações entre a estrutura de comunidade de crustáceos e as variáveis ambientais preditoras no período chuvosos (A) e secos (B). Foram amostradas as áreas internas (I) e externas (E) dos estuários do rio Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA), nos 5 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e junho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e junho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023), C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), S6 (abril/2024 e julho/2024) e C7 (outubro/2024 e janeiro/2025), relacionando as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez (log) e profundidade) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento Best e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m<sup>2</sup>) e frequência de ocorrência.



As análises de redundância (dbRDA) realizadas para o período chuvoso (Figura 11A) capturaram 100% da variação ajustada ao modelo e 56,4% da variação total dos dados analisados. Este resultado mostra que a maior parte do efeito ambiental sobre os padrões de composição e distribuição da fauna de crustáceos nas áreas e estações amostradas se deve às variações de salinidade e profundidade, enquanto um percentual também relevante (43,6%) está relacionado à influência de outros fatores ambientais ou processos ecológicos não mensurados. Para o período seco, foi obtido um resultado semelhante (Figura 11B), com os eixos da dbRDA representando 100% de ajuste ao modelo e 60,5% da variação total dos dados. Conclui-se, portanto, que independente do período do ano, salinidade e profundidade foram as variáveis ambientais preditoras mais importantes para a estruturação das comunidades de crustáceos ao longo destes anos de monitoramento do PMBA/Fest-UFES (Figura 11). As áreas externas, mais profundas e com maior nível de salinidade (exceto a área interna de PA), são reconhecidas por apresentarem maior homogeneidade na composição e distribuição da fauna de crustáceos independente da estação (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2023). Com a inclusão do último período chuvoso (C7), os padrões gerais da comunidade no período chuvoso (Figura 11A) passaram a ser ainda mais semelhantes aos padrões observados no período seco, sugerindo que a variação interanual da composição e distribuição da fauna de crustáceos macrobentônicos nas áreas internas e externas dos estuários monitorados são bem caracterizadas por uma elevada homogeneidade faunística. Ainda assim, diferenças nos padrões da comunidade relativas aos níveis de salinidade e efeito das chuvas são evidentes numa comparação entre as áreas internas: Rio Doce possui sempre baixos níveis de salinidade, São Mateus com influência intermediária da drenagem fluvial e do influxo da cunha salina proveniente da área marinha adjacente, e Piraquê-Açu com grande influência marinha. Além disso, o agrupamento das áreas externas reflete a própria distribuição latitudinal dos três locais ao longo da costa (SM-norte, RD-central, e PA-sul), indicando maior semelhança faunística e compartilhamento de espécies entre locais mais próximos independente do período do ano. A salinidade é um fator ambiental determinante para a variação da composição e distribuição da macrofauna bentônica em ecossistemas estuarinos e costeiros adjacentes (BERNARDINO *et al.*, 2018), que inclui os crustáceos (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2025). Nesse sentido, as diferenças observadas na área interna do Rio Doce (estuário) não podem ser exclusivamente atribuídas ao impacto do MLD, uma vez que a baixa salinidade típica desta área pode naturalmente influenciar a densidade, a biomassa e a riqueza de espécies de crustáceos, refletindo nos menores valores observados em relação ao ambiente marinho adjacente ou mesmo outros ambientes estuarinos caracterizados pela intrusão de um maior volume de água marinha (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2023). Diante destes resultados, fica evidente a importância e a necessidade do monitoramento a longo prazo da fauna de crustáceos macrobentônicos na área impactada pelo MLD, para que possibilite uma compreensão mais aprofundada da dinâmica espacial e temporal desta comunidade e possa servir como subsídio à elaboração de planos de ação e avaliação das futuras medidas de reparação e mitigação dos efeitos do MLD.



Tabela 8: Composição e estrutura da comunidade de crustáceos estuarinos e marinhos. Análise do percentual de similaridade (SIMPER) da contribuição das espécies de crustáceos entre as áreas internas (I) e externas (E) dos rios Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA) baseada nos dados de densidade transformados pela raiz quarta usando o índice de similaridade de Bray-Curtis.

Espécies	Densidade média		Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
	RDI	RDE		
<b>Dissimilaridade média - RDI x RDE = 99,41</b>	<b>RDI</b>	<b>RDE</b>		
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0	0,85	28,08	28,08
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0	0,54	17,18	45,26
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,02	0,31	10,7	55,96
<i>Nematopalaemon schmitti</i> (barriga branca)	0	0,27	7,56	63,53
<i>Exhippolysmata oplophoroides</i> (camarão espinho)	0	0,21	6,03	69,56
<i>Hepatus pudibundus</i> (caranguejo-baú)	0	0,15	4,13	73,69
<b>Dissimilaridade média - SMI x SME = 96,11</b>	<b>SMI</b>	<b>SME</b>		
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,14	0,28	14,55	14,55
<i>Callinectes danae</i> (siri azul)	0,23	0,02	12,27	26,82
<i>Farfantepenaeus paulensis</i> (camarão rosa)	0,13	0,05	9,11	35,93
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0	0,38	8,81	44,74
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0	0,22	6,44	51,18
<i>Peisos petrunkevitchi</i> (mossoroca)	0	0,27	4,87	56,05
<i>Callinectes sapidus</i> (siri azul)	0,09	0	4,67	60,72
<i>Rimapenaeus constrictus</i> (camarão ferrinho)	0,01	0,16	4,35	65,07
<i>Leander paulensis</i>	0	0,15	3,92	68,99
<i>Farfantepenaeus subtilis</i> (camarão rosa)	0,06	0,05	3,78	72,77
<b>Dissimilaridade média - PAI x PAE = 91,15</b>	<b>PAI</b>	<b>PAE</b>		
<i>Callinectes danae</i> (siri azul)	0,57	0,06	15,98	15,98
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0,13	0,54	12,42	28,41
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0,07	0,45	9,92	38,33
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,19	0,3	8,88	47,2
<i>Farfantepenaeus paulensis</i> (camarão rosa)	0,25	0,09	7,79	54,99
<i>Peisos petrunkevitchi</i> (mossoroca)	0,02	0,35	5,32	60,31
<i>Farfantepenaeus subtilis</i> (camarão rosa)	0,16	0,1	4,99	65,3
<i>Rimapenaeus constrictus</i> (camarão ferrinho)	0,08	0,16	4,22	69,53
<i>Litopenaeus schmitti</i> (camarão-branco)	0,07	0,09	3,12	72,65

O percentual de dissimilaridade (SIMPER) indicou que a fauna de crustáceos macrobentônicos na área de monitoramento é caracterizada por uma comunidade basal composta de aproximadamente 14 espécies, das quais cinco são dominantes (*Xiphopenaeus kroyeri*, *Sicyonia dorsalis*, *Callinectes danae*, *Callinectes ornatus* e *Farfantepenaeus paulensis*) (Tabela 8). As espécies *Xiphopenaeus kroyeri*, *Sicyonia dorsalis* e *Callinectes ornatus* são espécies com ampla distribuição na costa brasileira e dominantes em toda área de monitoramento, enquanto *Nematopalaemon schmitti*, *Exhippolysmata oplophoroides* e *Hepatus pudibundus* apresentaram destaque de representatividade restrita na área externa do rio Doce (em relação a São Mateus e Piraquê-Açu). A contribuição acumulada destas seis espécies em termos de densidade média representou 73,69% da diferença observada na composição específica das áreas interna e externa do Rio Doce. É evidente que a densidade do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) (~30%) na área externa do rio Doce (0,89 ind/100m<sup>2</sup>) é um fator determinante para este resultado, uma vez que esta área é reconhecida como um dos mais importantes pólos pesqueiros da espécie no país (MUSIELLO-FERNANDES *et al.*, 2020). Em São Mateus, além do siri *C. ornatus*, o siri-azul (*C. danae*) desempenha um papel fundamental na estrutura da comunidade de crustáceos, sendo *C. ornatus* mais abundantes na área externa e *C. danae* na área interna, com contribuição acumulada de 26,82% para os padrões observados. No Piraquê-Açu, o siri azul (*C. danae*) e o camarão sete-barbas dividem a dominância da macrofauna bentônica de crustáceos, e continuam apresentando padrão oposto de maior densidade média nas áreas interna e externa, respectivamente, com contribuição acumulada de 28,41% para a diferença observada entre estas áreas. Finalmente, é importante ressaltar que a ocorrência do camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis* e *F. subtilis*) foi particularmente relevante em São Mateus e Piraquê-Açu, para onde dados genéticos indicam a existência uma única ampla população (FEST, 2024), uma espécie de grande interesse comercial na costa brasileira (COSTA *et al.*, 2007).

### 3.2 COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES ESTUARINOS

Tabela 9: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Abundância total por espécie (taxa) de pós-larvas de peixe capturada com armadilha de luz nas referidas zonas marinhas (Impacto= rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) durante as campanhas (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, janeiro/2022, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/2023, dezembro/2023, julho/2024 e janeiro/2025).

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>					2													2		2
	<i>Acanthurus</i> sp.														1		1				1
Albulidae	<i>Albula</i> sp.	1																	1		1
	<i>Albula vulpes</i>				8				1	2							4	6	1		11
Alosidae	<i>Brevoortia</i> sp.			4											1				5		5
Apogonidae	<i>Astrapogon puncticulatus</i>				11	1		1	1	1			2	3	1	13	23	3	4	4	34
	<i>Astrapogon stellatus</i>				1		1										1		1		2
	<i>Phaeoptyx pigmentaria</i>					1											1				1
Ariidae	<i>Genidens genidens</i>						1										1				1
Ariomatidae	<i>Arioma</i> sp.								1									1			1
Atherinidae	<i>Atherinomorus stipes</i>		3			8											1		3	7	11
	<i>Membras dissimilis</i>								4											4	4
Atherinopsidae	<i>Atherinella brasiliensis</i>						28		5	10	327		7	135	2		2110 pt	1	165	327	514
	<i>Atherinella</i> sp.	2		20								2					2			22	24
	<i>Atherinopsidae</i> spp.				1												1				1
Balistidae	<i>Canthidermis maculata</i>										1						1				1
Batrachoididae	<i>Porichthys porosissimus</i>													1			1				1
Blenniidae	<i>Blenniidae</i> spp.	3				3				2			1				3	3		3	9
	<i>Entomacrodus vomerinus</i>									1									1		1

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Hypleurochilus pseudoaequipinnis</i>					2														2	2
	<i>Hypleurochilus</i> sp.				2							6					8				8
	<i>Hypsoblennius invemar</i>					1	4	1				19		7			14	4	9	5	32
	<i>Hypsoblennius</i> sp.				1									1	3	27	7	1	22	2	32
	<i>Parablennius marmoreus</i>	4		4		3	1	3			1						2	7	1	6	16
	<i>Scartella cristata</i>	2			5						1		1				2	1	5	1	9
Bothidae	<i>Bothus lunatus</i>	1					3										4				4
	<i>Bothus ocellatus</i>	4				1	8										12		1		13
	<i>Bothus</i> sp.					1				2		2	2	1		2	9	1			10
Carangidae	<i>Carangidae</i> spp.						1			17	1						6	5	8		19
	<i>Caranx bartholomaei</i>		38	2	3	39				23	1	12	2	11	3	7	2	4	74	61	141
	<i>Caranx crysos</i>				87			1	1	3		85	16			46	33	108	88	10	239
	<i>Caranx hippos</i>		1		1	10		1									3	6	3	1	13
	<i>Caranx latus</i>	1	2			13					2	1					3	10	5	1	19
	<i>Caranx ruber</i>				1			1	1			4							6	1	7
	<i>Caranx</i> sp.													22	15		10	9	16	2	37
	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	274	13	8		49	803	42	632	178	39		5		31		61	936	929	148	2074
	<i>Decapterus macarellus</i>				2			1									1	2			3
	<i>Decapterus punctatus</i>					2											1	1			2
	<i>Decapterus</i> sp.									2				1			1		2		3
	<i>Naucrates ductor</i>								1								1				1
	<i>Oligoplites saurus</i>				1	9				1		1					11		1		12
	<i>Oligoplites</i> sp.									2								1	1		2
	<i>Selene vomer</i>					2								4			6				6

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Seriola</i> sp.														3				3		3
	<i>Trachinotus goodei</i>								1					1			2				2
Centropomidae	<i>Centropomus undecimalis</i>	1															1				1
Characidae	<i>Hyphessobrycon eques</i>									3							3				3
Clupeiformes/Dorosomatidae	<i>Clupeidae</i> spp.	3062		16	1286	4003	7	49	10	333	13	182		76			50	83	3894	5010	9037
	<i>Harengula clupeola</i>										10			2			2	1		9	12
	<i>Harengula</i> sp.		73																67	6	73
	<i>Opisthonema oglinum</i>	3	328	8										1			2		334	4	340
	<i>Opisthonema</i> sp.			2											7		2		5	2	9
	<i>Sardinella aurita</i>			4							2	9						2	10	3	15
Congridae	<i>Ariosoma</i> sp.									1							1				1
	<i>Conger</i> sp.												1		1	13	15				15
	<i>Congridae</i> spp.									4	3						7				7
Coryphaenidae	<i>Coryphaena equiselis</i>										1							1			1
Cynoglossidae	<i>Symphurus plagusia</i>	1	5		68				1								64	5	1	5	75
	<i>Symphurus</i> sp.					2												2			2
Dactylopteridae	<i>Dactylopterus volitans</i>		2							2							1	2	1		4
Diodontidae	<i>Chilomycterus spinosus</i>															7		7			7
Eleotridae	<i>Eleotridae</i> spp.										1						1				1
	<i>Eleotris pisonis</i>				3						4						5	2			7
Elopidae	<i>Elops saurus</i>							7		5	1	6	5	11	25	2	45	14	2	1	62
	<i>Elops</i> sp.	3				4			4								8	1	2		11
Engraulidae	<i>Anchoa cf. cubana</i>										2						1	1			2
	<i>Anchoa filifera</i>									29	19						1	17	3	27	48
	<i>Anchoa lyoleps</i>			8														4	2	2	8

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Anchoa marinii</i>											3						1		2	3
	<i>Anchoa</i> sp.	1	129	89						5					1		24	19	163	19	225
	<i>Anchoa tricolor</i>										65						2	55		8	65
	<i>Anchoviella cayennensis</i>			12													6		1	5	12
	<i>Anchoviella lepidentostole</i>									2										2	2
	<i>Anchoviella</i> sp.	1	61	20													21	4	57		82
	<i>Engraulidae</i> spp.	363			1725	9927	8		132	203	1071	82	31	37	5	32	116	471	10601	2428	13616
	<i>Engraulis eurystole</i>		5																5		5
	<i>Lycengraulis grossidens</i>	35											6	11	6	4	4	7	6	45	62
Ephippidae	<i>Chaetodipterus faber</i>				1		4			4							8	1			9
Exocoetidae	<i>Exocoetus</i> sp.													3					3		3
	<i>Parexocoetus brachypterus</i>									1								1			1
Fistulariidae	<i>Fistularia petimba</i>						1											1			1
	<i>Fistularia</i> sp.															1		1			1
	<i>Fistularia tabacaria</i>					1	2	1		1		2					3	4			7
Gerreidae	<i>Diapterus rhombeus</i>											3							3		3
	<i>Eucinostomus</i> sp.										1	20					4	3	8	6	21
	<i>Gerreidae</i> spp.	2309	223		352	277	80	57	263	432	59	26	367	53	4	68	817	730	2544	479	4570
	<i>Ulaema lefroyi</i>			174													91	53	21	9	174
Gobiidae	<i>Bathygobius</i> sp.						1	2									1		2		3
	<i>Gobiidae</i> spp.	2					1										3				3
	<i>Gobionellus</i> sp.						2										2				2
	<i>Gobiosoma hemigymnum</i>									1										1	1
	<i>Gobius</i> sp.								1								1				1
Gonostomatidae	<i>Gonostoma</i> sp.	2															1	1			2



Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
Haemulidae	<i>Haemulidae</i> spp.												1	1			2				2
	<i>Haemulon</i> sp.					1				2		1		21					21	4	25
	<i>Orthopristis chrysoptera</i>	1															1				1
Hemiramphidae	<i>Hemiramphidae</i> spp.									1							1				1
	<i>Hemiramphus brasiliensis</i>			1		4				9				1			3	8	4		15
	<i>Hemiramphus</i> sp.									4							4				4
	<i>Hyporhamphus</i> sp.					1													1		1
	<i>Hyporhamphus unifasciatus</i>									2							1	1			2
Kyphosidae	<i>Kyphosus sectatrix</i>		1														1				1
Labridae	<i>Doratonotus megalepis</i>					1	1										2				2
	<i>Halichoeres brasiliensis</i>	1																1			1
	<i>Halichoeres poeyi</i>			1	2							2					1	3		1	5
	<i>Halichoeres</i> sp.				1							7		4		2	10	2	2		14
	<i>Labridae</i> spp.								1	1				6			4		4		8
	<i>Scaridae</i> spp.						1										1				1
	<i>Scarus</i> sp.				2														2		2
Labrisomidae	<i>Gobioclinus kalisherae</i>			1	3												4				4
	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	3		1	3	2				6		7		5		27	19	7	24	4	54
	<i>Labrisomus</i> sp.														1		1				1
	<i>Malacoctenus delalandii</i>					3														3	3
	<i>Malacoctenus</i> sp.											2				2	2		2		4
	<i>Malacoctenus triangulatus</i>						1	1									1			1	2
	<i>Malacoctenus zaluari</i>	3			5	1											4	1	4		9
Lutjanidae	<i>Lutjanus alexandrei</i>									3	1						1	1		2	4
	<i>Lutjanus analis</i>					9			1			1		5			2		4	10	16

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Lutjanus chrysurus</i>			1	1	11		1	1				3	7			8	5	1	11	25
	<i>Lutjanus cyanopterus</i>	2																		2	2
	<i>Lutjanus griseus</i>							1									1				1
	<i>Lutjanus jocu</i>				1	8	1											5	1	4	10
	<i>Lutjanus sp.</i>	1	18		2			1				5	4		6	11	1	14	27	6	48
	<i>Lutjanus synagris</i>				1	2	1		2	1		5	1				5	1		7	13
Megalopidae	<i>Megalops atlanticus</i>											2								2	2
Microdesmidae	<i>Microdesmus bahianus</i>		1							2									3		3
Monacanthidae	<i>Aluterus heudeloti</i>									3							2		1		3
	<i>Aluterus monocerus</i>					1														1	1
	<i>Aluterus schoepfi</i>					1				1								2			2
	<i>Aluterus scriptus</i>					3											3				3
	<i>Cantherhines macrocerus</i>						2	2	3									5		2	7
	<i>Cantherhines pullus</i>						4	1	44									49			49
	<i>Catherhines pullus</i>							1									1				1
	<i>Stephanolepis hispidus</i>	14		5	41	101	1	3	3	8	8			5	26	13	20	194	7	7	228
Mugilidae	<i>Mugil brevisrostris</i>								1										1		1
	<i>Mugil curema</i>						1					17					16			2	18
	<i>Mugil sp.</i>	29	3	13	14	64	6	2		21	7		6	12	1	6	100	38	37	9	184
Mullidae	<i>Mulloidichthys martinicus</i>					2						2		1			4	1			5
	<i>Mullus auratus</i>					1													1		1
	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	2				7				2							4	3	2	2	11
	<i>Upeneus parvus</i>															16	3	2	11		16
Muraenidae	<i>Gymnothorax moringa</i>					1			1								2				2
	<i>Gymnothorax nigromarginatus</i>						1		1								2				2

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Gymnothorax ocellatus</i>					2											2				2
	<i>Gymnothorax</i> sp.	2			12	2	1						1	1	4		23				23
	<i>Muraenidae</i>									1								1			1
Ophichthidae	<i>Ahlia egmontis</i>					2						1	1	1			4	1			5
	<i>Myrophis punctatus</i>						3		1				3				6	1			7
	<i>Ophichthidae</i> spp.		1											3	2	8	11	3			14
Ostraciidae	<i>Acanthostracion polygonius</i>			1													1				1
	<i>Acanthostracion quadricornis</i>					1											1				1
	<i>Acanthostracion</i> sp.	1			28	34			5								58	9		1	68
	<i>Ostraciidae</i> spp.									2							2				2
Paralichthyidae	<i>Citharichthys</i> sp.									45		6	1	9		7	60	6	2		68
	<i>Etropus crossotus</i>					1	17										5	1	9	3	18
	<i>Paralichthyidae</i>									6	1						5	2			7
Pempheridae	<i>Pempheris schomburgkii</i>				1												1				1
Pimelodidae	<i>Pimelodidae</i> spp.									1			1				1	1			2
Polynemidae	<i>Polydactylus oligodon</i>		3																	3	3
	<i>Polydactylus virginicus</i>	1	1	3	5	8				2	1	1		1	2	4	8	2	4	15	29
Pomacanthidae	<i>Holacanthus</i> sp.													1			1				1
	<i>Pomacanthus paru</i>		1															1			1
	<i>Pomacanthus</i> sp.											1							1		1
Pomacentridae	<i>Abudefduf saxatilis</i>	1		8		16	2			11				4	2	18	17	3	36	6	62
	<i>Chromis flavicauda</i>			1															1		1
	<i>Chromis</i> sp.													1			1				1
	<i>Stegastes</i> sp.											1				3	2	2			4
Pomatomidae	<i>Pomatomus saltatrix</i>									5							2		3		5

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
Pristigasteridae	<i>Chirocentrodon bleekermanus</i>									4	4						1	2		5	8
	<i>Odontognathus mucronatus</i>								6								6				6
	<i>Pellona harroweri</i>	1	17						37	1	10	9	19	26	10		60	19	42	9	130
Rachycentridae	<i>Rachycentron canadum</i>					2				1							3				3
Sciaenidae	<i>Corvula batabana</i>		1														1				1
	<i>Cynoscion</i> sp.						8	3	10								18		3		21
	<i>Isopisthus parvipinnis</i>						1	2	2				28				33				33
	<i>Larimus breviceps</i>									4							4				4
	<i>Larimus</i> sp.						2												2		2
	<i>Lonchurus elegans</i>					1											1				1
	<i>Macrodon ancylodon/atricauda</i>										224						224				224
	<i>Menticirrhus americanus</i>					2	1	1									2	1	1		4
	<i>Menticirrhus</i> sp.				1					1							2				2
	<i>Micropogonias</i> sp.							1									1				1
	<i>Odontoscion dentex</i>					1											1				1
	<i>Paralonchurus brasiliensis</i>					7											7				7
	<i>Sciaenidae</i> spp.						2		16	6	3		47	1			70	4	1		75
	<i>Scianidae</i> spp.							1									1				1
	<i>Stellifer rastrifer</i>												11				11				11
	<i>Stellifer</i> sp.	8				1	2	4	20				75				102	1	7		110
	<i>Umbrina coroides</i>								3								3				3
Scombridae	<i>Euthynnus alleteratus</i>									4										4	4
	<i>Sarda sarda</i>			4		19		2										2	18	5	25
	<i>Scomberomorus brasiliensis</i>	9	52			1	2			1									62	3	65
	<i>Scomberomorus cavalla</i>					7				4	3			1		3	2		8	8	18

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Scomberomorus regalis</i>			1															1		1
	<i>Scomberomorus</i> sp.								1		3						3			1	4
	<i>Scombridae</i> sp.						1			1	4						5		1		6
Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>					1				2	1						2	2			4
	<i>Scorpaena</i> sp.								1						2	4	7				7
Serranidae	<i>Diplectrum</i> sp.						1					1					2				2
	<i>Epinehelus morio</i>						1										1				1
Sparidae	<i>Archosargus probatocephalus</i>								1	1	2						2			2	4
	<i>Archosargus</i> sp.	1	1															1	1		2
	<i>Calamus</i> sp.										3									3	3
	<i>Diplodus argenteus</i>										1									1	1
	<i>Sparidae</i> spp.									2							2				2
Stromatidae	<i>Peprilus paru</i>				1													1			1
	<i>Peprilus</i> sp.	4																4			4
Syngnathidae	<i>Anarchopterus</i> sp.	2															2				2
	<i>Bryx dunckeri</i>						1			1							2				2
	<i>Hippocampus erectus</i>							1									1				1
	<i>Hippocampus reidi</i>			1	6						1						5	2		1	8
	<i>Syngnathidae</i>									1									1		1
	<i>Syngnathus elucens</i>								1			1		4			4	1	1		6
Synodontidae	<i>Saurida caribbaea</i>	2																		2	2
	<i>Synodus foetens</i>	10			2	9						1							15	7	22
	<i>Synodus intermedius</i>	1																		1	1
	<i>Synodus</i> sp.			1								3					1	1	2		4
Tetraodontidae	<i>Lagocephalus laevigatus</i>			1					1					2		7	9		1	1	11

Família	Espécie	Campanha															Localidade				
		12/18	05/19	12/19	12/20	02/21	04/21	07/21	12/21	03/22	05/22	01/23	07/23	12/23	07/24	01/25	I	C1	C2	C3	Total
	<i>Sphoeroides</i> sp.					12			2	7				14		1	29	5	2		36
	<i>Sphoeroides spengleri</i>			2													2				2
Trichiuridae	<i>Trichiurus lepturus</i>										1						1				1
Triglidae	<i>Prionotus punctatus</i>	21	8			11	2			33	1	2	153	14	4	3	235	14	1	2	252
	<i>Prionotus roseus</i>	9					1										10				10
	<i>Triglidae</i> spp.						2										2				2
Tripterygiidae	<i>Enneanectes altivelis</i>					1											1				1
Uranoscopidae	<i>Astroscopus ygraecum</i>									1	2						2	1			3
	<b>Total</b>	<b>6204</b>	<b>991</b>	<b>417</b>	<b>3691</b>	<b>14726</b>	<b>1026</b>	<b>195</b>	<b>1224</b>	<b>1484</b>	<b>1906</b>	<b>543</b>	<b>801</b>	<b>532</b>	<b>169</b>	<b>357</b>	<b>2904</b>	<b>3041</b>	<b>19478</b>	<b>8843</b>	<b>34266</b>
	<b>Riqueza</b>	<b>45</b>	<b>26</b>	<b>31</b>	<b>39</b>	<b>65</b>	<b>47</b>	<b>30</b>	<b>41</b>	<b>69</b>	<b>42</b>	<b>40</b>	<b>29</b>	<b>45</b>	<b>27</b>	<b>29</b>	<b>167</b>	<b>98</b>	<b>96</b>	<b>79</b>	<b>226</b>



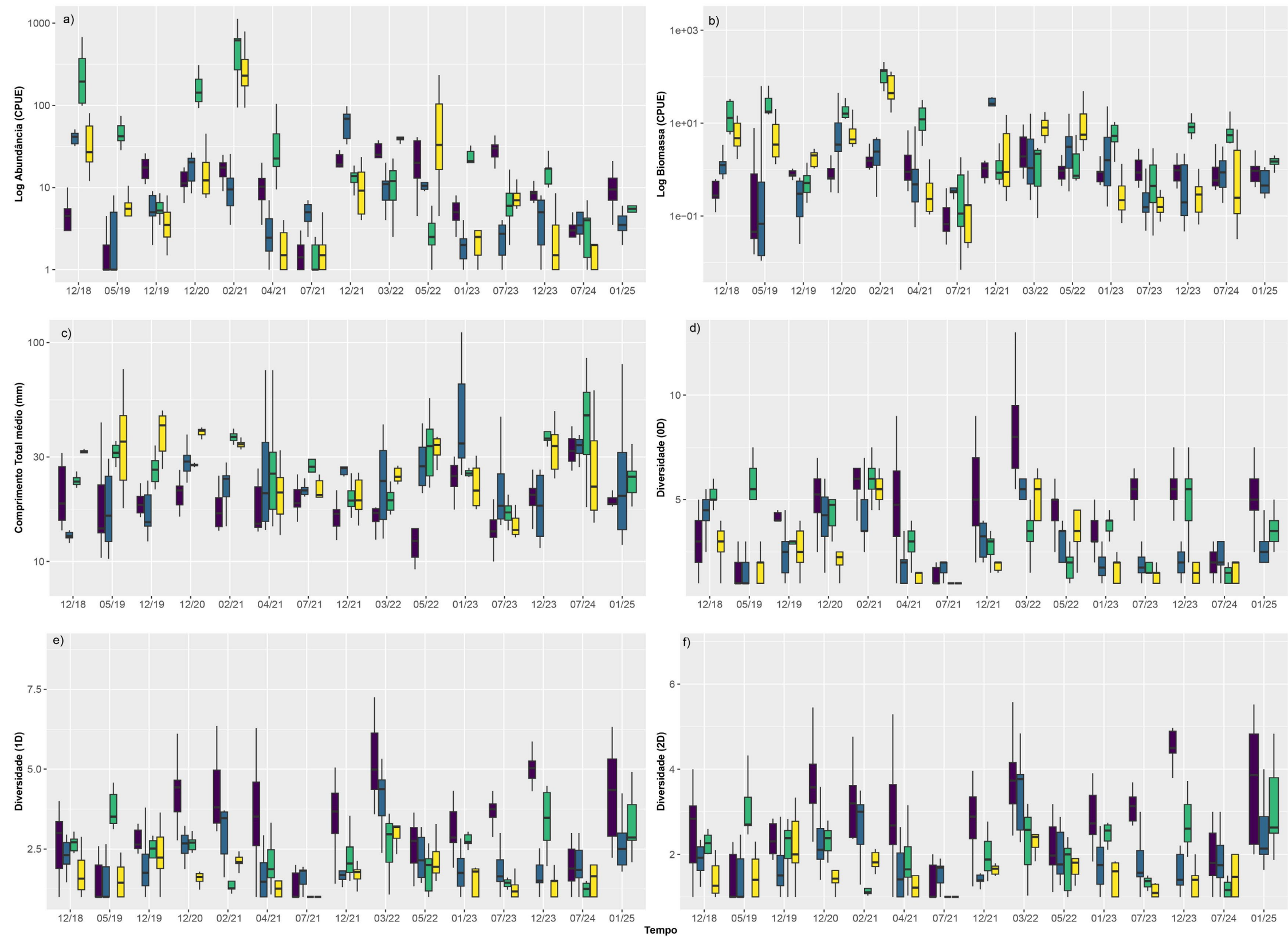
Durante os anos de monitoramento do recrutamento larval foram realizadas 15 campanhas, as quais somaram 34.266 indivíduos (classe Actinopterygii), distribuídas em 226 *taxa* pertencentes a 66 famílias, sendo as famílias Engraulidae, Clupeiformes/Dorosomatidae e Gerreidae (as mais abundantes), e as famílias Sciaenidae, Carangidae e Engraulidae (as mais diversas) (Tabela 9). A zona controle 2 (São Mateus) segue sendo a localidade com a maior abundância de pós-larvas (19.478), enquanto a área Impacto (rio Doce) contém o menor número de indivíduos registrados (2.904). A partir de 2025, a localidade de Mucuri (Controle 3) foi excluída da malha amostral, conforme o plano de trabalho atual (Deliberação CIF nº 803). Temporalmente, a maior abundância ocorreu na amostragem de fevereiro/2021, onde foram coletadas 14.726 indivíduos e a menor na amostragem de julho/2024, com 169 pós-larvas. Entretanto, o maior valor de riqueza absoluta de espécies (167) foi registrado na localidade Impacto, seguido da área controle 1 (98), área controle 2 (96) e área controle 3 (90). Apesar dos altos valores de turbidez atuando como um fator limitante para o desenvolvimento dos primeiros estágios de vida dos peixes marinhos, aproximadamente 73,8% das espécies identificadas no monitoramento foram registradas na zona de impacto (rio Doce). A região funciona como um ecótono, havendo contribuições de diferentes tipos de peixes associados a distintos regimes de salinidades (fauna estuarina e marinha) e habitats (lamoso, arenoso e recifal), promovendo uma maior diversidade de espécies de pós-larvas (RRDM - RT49, 2024). No entanto, a área impacto segue limitando a presença de espécies representantes das famílias Clupeidae, Engraulidae e Carangidae, que contemplam espécies dominantes e numerosas, amplamente distribuídas nos demais estuários brasileiros, que se alimentam do plâncton e passam grande parte de sua vida no ambiente pelágico. A persistência do MLD em suspensão parece estar limitando a ocupação dessas espécies no ambiente marinho próximo à foz do rio Doce.

Tabela 10: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Resultado da análise de variância por permutação entre as zonas marinhas (Impacto= rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) e períodos de amostragem (dezembro2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/2023, dezembro/2023, julho/2024 e janeiro/2025), baseadas em matrizes de similaridade de Bray-Curtis da abundância total [Log(x+1)], biomassa total [Log(x+1)] comprimento total médio e composição de espécies [abundância Log(x+1)] de pós-larvas de peixes. Fatores: Tempo ("Te"; treze níveis, aleatório); Zona ("Zo"; Fixo, ortogonal com o tempo, quatro níveis, zona impacto (1) e controles (3)). Contraste Impacto vs Controles (lvsC), GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados, PF = estatística pseudo-F, p = valor de significância. Valores significativos (P < 0,05) em negrito.

Fatores	GL	Composição			Abundância			Biomassa			Comprimento total			Diversidade <sup>0</sup> D			Diversidade <sup>1</sup> D			Diversidade <sup>2</sup> D		
		SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p
Te	14	5.16E+05	19.897	<b>0.001</b>	1.19+05	34.615	<b>0.001</b>	1.47+05	11.311	<b>0.001</b>	25171	7.888	<b>0.001</b>	1.15+05	21.280	<b>0.001</b>	52139	11.261	<b>0.001</b>	40308	9.079	<b>0.001</b>
Zo	3	80588	2.253	<b>0.001</b>	15192	1.841	0.134	59617	3.861	<b>0.003</b>	19163	6.499	<b>0.002</b>	39592	6.129	<b>0.002</b>	44498	8.458	<b>0.001</b>	33135	6.795	<b>0.001</b>
lvsC	1	42172	3.172	<b>0.001</b>	904.17	0.334	0.673	29546	6.894	<b>0.003</b>	15059	30.250	<b>0.001</b>	26797	10.906	<b>0.002</b>	38980	19.444	<b>0.002</b>	28855	14.505	<b>0.003</b>
Te x Zo	41	4.98E+05	6.547	<b>0.001</b>	1.15+05	11.371	<b>0.001</b>	2.14+05	5.618	<b>0.001</b>	40999	4.387	<b>0.001</b>	89908	5.663	<b>0.001</b>	73203	5.398	<b>0.001</b>	67841	5.217	<b>0.001</b>
Te x lvsC	14	1.89E+05	5.397	<b>0.001</b>	38551	6.286	<b>0.001</b>	60982	3.374	<b>0.001</b>	7034.5	1.673	<b>0.033</b>	35038	4.862	<b>0.001</b>	28588	4.852	<b>0.001</b>	28375	5.143	<b>0.001</b>
Res	426	7.90E+05			1.05E+05			3,97+05			97087			1.64E+05			1.40E+05			1.35E+05		
Total	484	1.90E+06			3.54E+05			8,29+05			1.85E+05			4.15E+05			3.21E+05			2.85E+05		

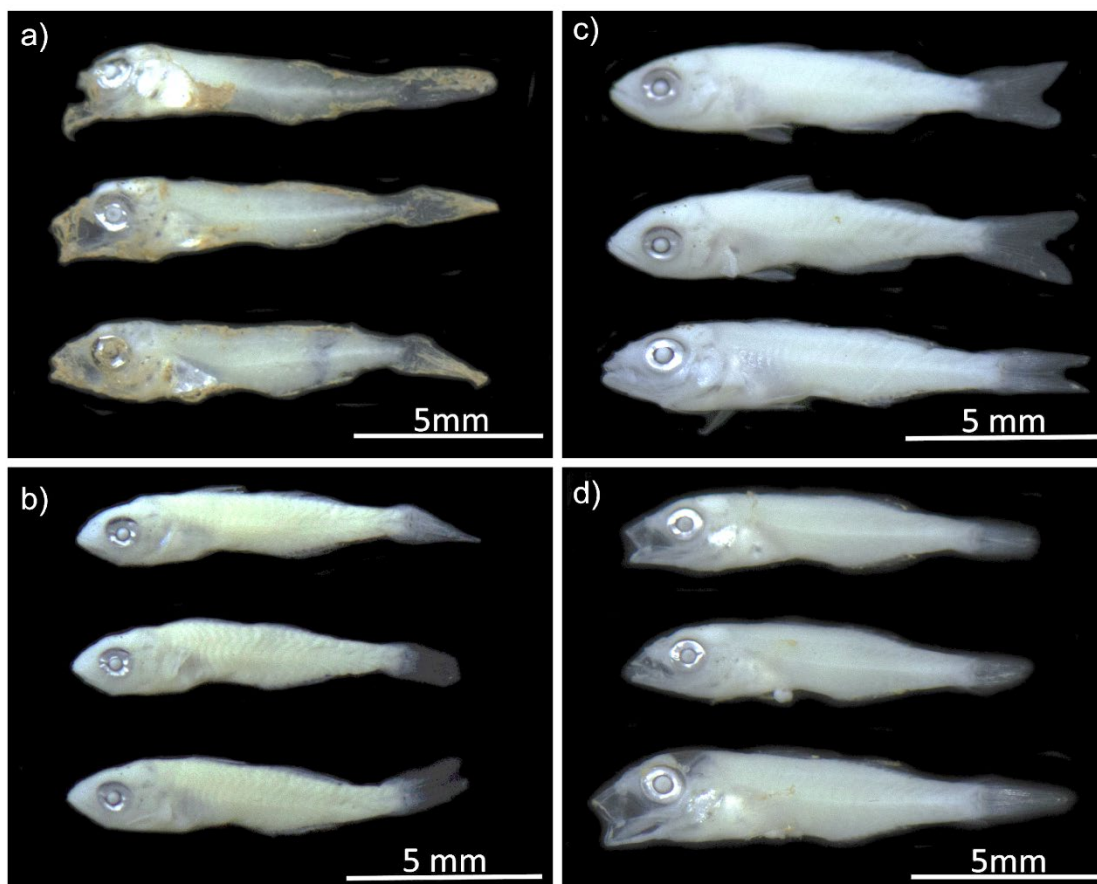
Por meio das análises de variância dos índices ecológicos, mesmo com a remoção de um dos controles (rio Mucuri), foi possível identificar uma resposta significativa do impacto [I vs C] do rompimento da Barragem de Fundão sobre a composição de espécies, biomassa e na diversidade de espécies, raras (<sup>0</sup>D), comuns (<sup>1</sup>D) e dominantes (<sup>2</sup>D) na área marinha do rio Doce, exceto para a abundância. Adicionalmente, para todos os índices essa resposta ao impacto variou significativamente ao longo do tempo [I vs C x Tempo], demonstrando um efeito temporal significativo na detecção do impacto em todos os descritores (Tabela 10). A partir de 2025, a localidade de Mucuri (Controle 3) foi excluída da malha amostral, conforme o plano de trabalho atual (Deliberação CIF nº 803). No entanto, a PERMANOVA, sendo uma análise de variância por permutação, consegue lidar com o desbalanceamento amostral entre anos distintos, compensando a ausência de dados mediante permutações internas de dados existentes. Desta forma, a análise reforça a contínua detecção de diferenças entre a zona Impacto e as zonas controle para a quase totalidade dos índices monitorados.

Figura 12: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Abundância (a), Biomassa (b), comprimento total (c) e valores de diversidade alfa, representados pela ordem de diversidade (d) 0D = abundâncias desconsideradas, maior representatividade de espécies raras; (e) 1D – Maior peso para as espécies comuns ; (f) 2D– Maior peso para espécies dominantes de pós-larvas de peixes nas zonas marinhas (I= rio Doce, C1= Piraquê-Açú, C2= São Mateus e C3= rio Mucuri) e períodos (Tempo) de amostragem (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/23, dezembro/2023, julho/204 e janeiro/2025). CPUE= Captura por unidade de esforço.



Em janeiro de 2025 observaram-se maiores valores de abundância e dos índices de diversidade verdadeira ( $^0D$ ,  $^1D$  e  $^2D$ ) na zona de impacto, em comparação com as demais zonas (Figura 12A, D-F). Importante ressaltar que a partir de 2025, a localidade de Mucuri (Controle 3) foi excluída da malha amostral, conforme o plano de trabalho atual (Deliberação CIF nº 803). O maior número de espécies e indivíduos nas zonas amostradas ocorreram, em média, durante os verões. Contudo, a abundância não apresentou diferenças significativas entre as zonas. Ainda é observada a tendência de pós-larvas de menores tamanhos na zona impacto quando comparado aos controles (I vs C), como já citado nos relatórios anteriores, onde em média a biomassa e os comprimentos totais médios foram significativamente menores na zona impacto, e persistente ao longo de todo o monitoramento (Figura 12C). O comprimento e a biomassa são importantes parâmetros da assembleia de peixes, pois refletem de forma conjunta a variação do número de indivíduos e o seu tamanho, além de indicar a estrutura de um ambiente. Ambientes perturbados podem ser representados por espécies numericamente abundantes, mas que contribuem pouco em biomassa (BLANCHARD *et al.*, 2004; MARIN *et al.*, 2023 (Figura 12B). Essa característica também se observa na diversidade ponderada pelas abundâncias de espécies comuns e dominantes ( $^1D$  e  $^2D$ ), respectivamente (Figura 12E, F), onde a zona impacto apresentou os maiores valores em comparação às demais zonas. Apesar de uma tendência de recuperação da diversidade de pós-larvas ao longo dos últimos anos na zona de impacto, nota-se, até o momento, um efeito temporal significativo em todos os descritores, especialmente quando analisados pelo contraste (I vs C x Te) e pela interação (Zo x Te), o que demonstra a importância do contínuo monitoramento desses indicadores para o controle das flutuações temporais e sazonais naturais às populações marinhas.

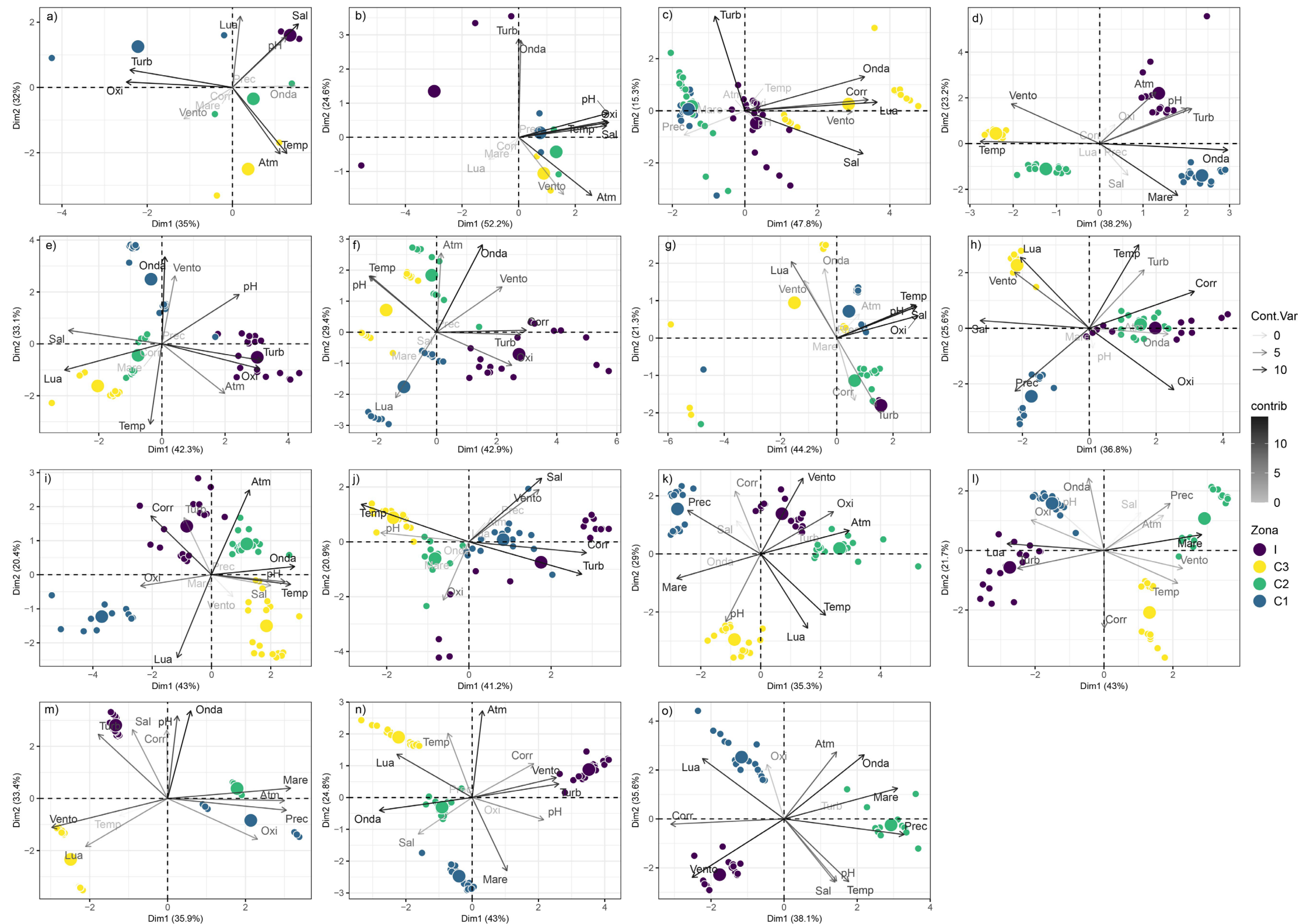
Figura 13: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Pós-larvas de Gerreidae (*Eucinostomus* sp.) capturadas na Zona impacto (a), e nas áreas controles: rio Piraquê-Açu (b), rio São Mateus (c) e rio Mucuri (d).



Ainda é recorrente a presença de MLD aderida na superfície corpórea (Figura 13) de alguns exemplares que, somado aos outros indicadores testados, evidenciam os efeitos do MLD sobre a assembleia de pós-larvas de peixes coletados na área marinha do rio Doce e adjacências. Contaminantes tóxicos, como os níveis elevados de metais, representam um potencial estressor das assembleias de larvas de peixes, como já registrado para a região marinha do estuário do rio Doce e Costa das Algas (BONECKER *et al.*, 2022). Nesses locais, larvas de Sciaenidae, Tetraodontidae, Monacanthidae, Carangidae, Pomacentridae e Serranidae foram coletadas com deformidades e trato digestório destruído (FEST, 2024). Níveis elevados de metais na área marinha do rio Doce também induziram respostas negativas na comunidade zooplancônica, com perda de diversidade e aumento na abundância de espécies oportunistas (FEST, 2024). Em relatórios anteriores foram apresentadas pós-larvas das famílias Monacanthidae (i.e., *Catherhines pullus*) e Gerreidae, assim como ovos não identificados, com MLD aderida à superfície, corroborando os efeitos encontrados para o Ictioplâncton, evidenciando a persistência do efeito do MLD ao longo do desenvolvimento larval (FEST, 2023).



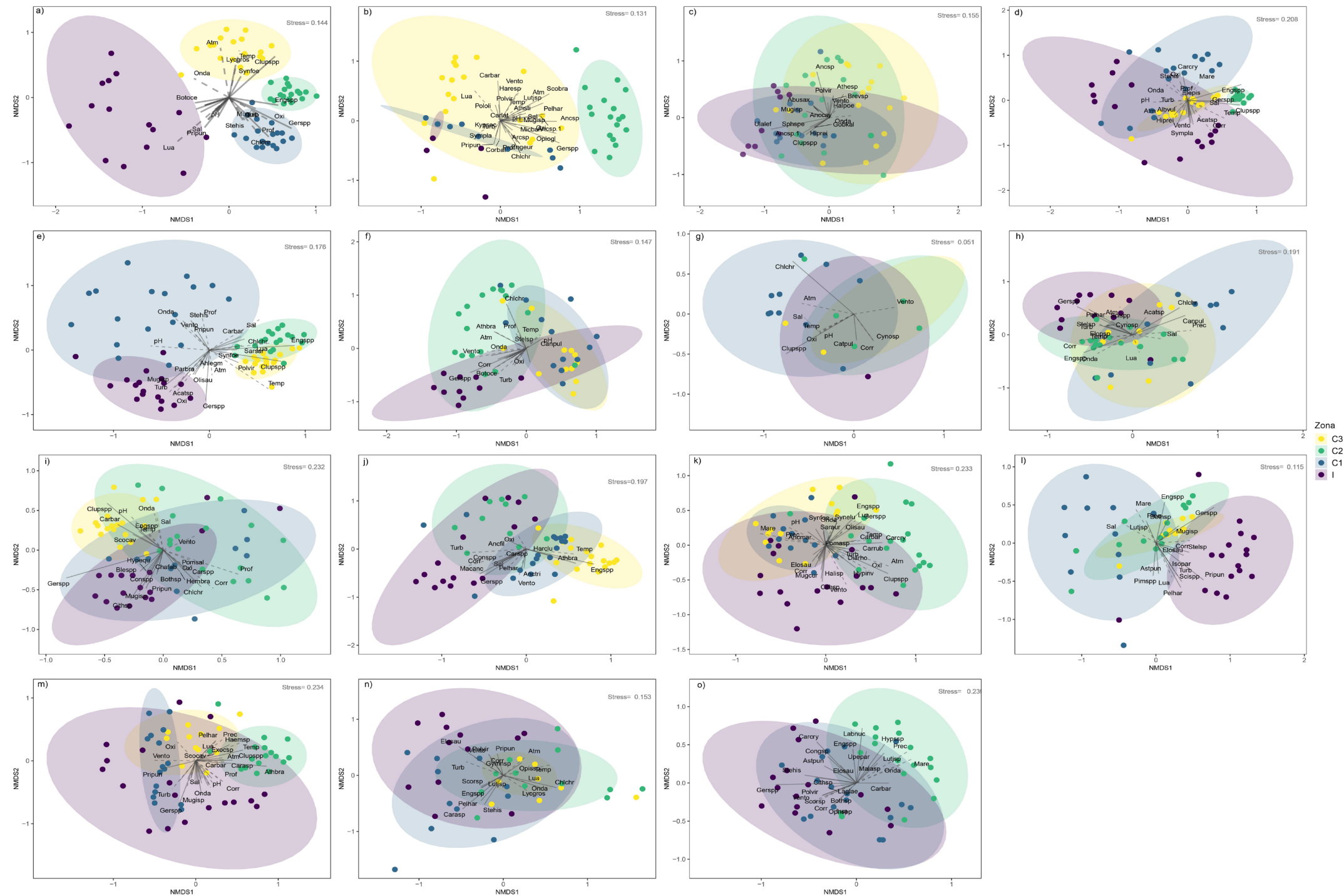
Figura 14: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Ordenação de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais amostradas nas regiões marinhas da zona Impacto (rio Doce), Controle 1 (rio Piraquê-Açú), Controle 2 (rio São Mateus) e Controle 3 (rio Mucuri) ao longo do período de amostragem - dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), fevereiro/2021 (e), abril/2021 (f), julho/2021 (g), dezembro/2021 (h), março/2022 (i), maio/2022 (j), janeiro/2023 (k), julho/23 (l), dezembro/2023 (m), julho/2024 (n) e janeiro/2025 (o), indicando a contribuição de cada variável (Cont.Var) para a ordenação das amostras. Códigos: Temperatura superficial da água (sst), Clorofila (clo), claridade da água (KD490), Salinidade (sal), Oxigênio dissolvido (oxi), Turbidez (turb), Intensidade corrente (corr), Altura de onda (onda), iluminação da lua (lua), Pressão atmosférica (atm) e Intensidade do vento (vento).





Como observado na análise de componentes principais (Figura 14), a turbidez é a principal variável que caracteriza e diferencia a zona Impacto das demais, com exceção do período chuvoso de 2025, onde a turbidez deu lugar ao vento como variável mais influente nas amostras oriundas do rio Doce. Em geral, nas zonas controles, as variáveis mais representativas foram temperatura superficial da água, salinidade, oxigênio, corrente, maré e precipitação. Os altos valores de turbidez registrados nas zonas Impacto e, em alguns momentos, Controle 1, são ocasionados principalmente pelas partículas em suspensão na água em consequência de um contínuo aporte do MLD ao sistema costeiro que, influenciados pelas correntes e ventos, se mantêm em suspensão. A turbidez é relevante para o monitoramento ambiental, já que faz o papel de indicador do efeito do impacto, pois o aporte fluvial e a variação da maré podem contribuir com o deslocamento do MLD para todas as direções.

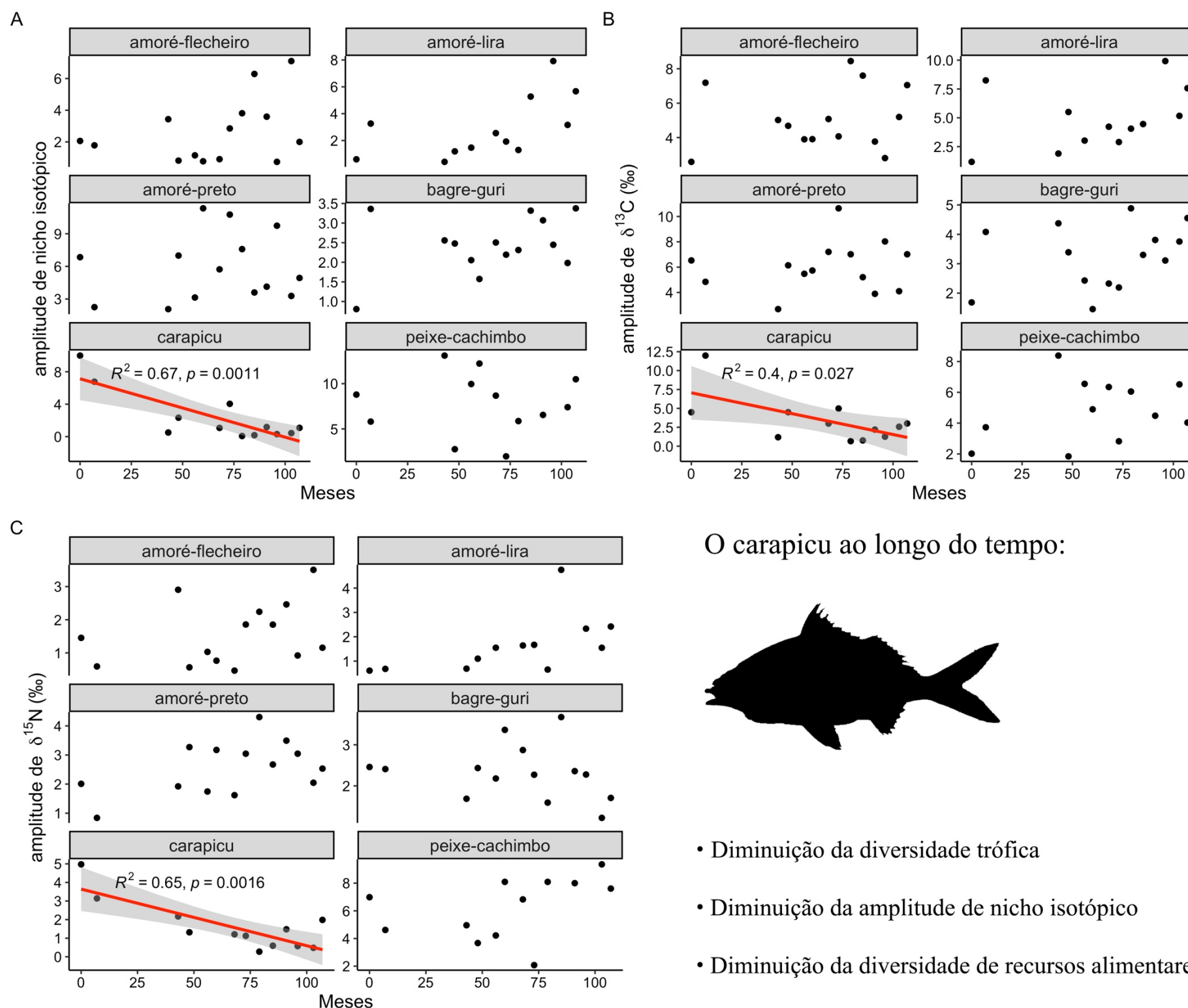
Figura 15: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Ordenação de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da composição e abundância de espécies de pós-larvas de peixes baseado na matriz de similaridade de Bray-Curtis, com as correlações ( $r^2$ ) significativas (envfit,  $p < 0,01$ ) das variáveis ambientais (linha pontilhada) e espécies (linha sólida) com os eixos da ordenação para dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), fevereiro/2021 (e), abril/2021 (f), julho/2021 (g), dezembro 2021 (h), março 2022 (i), maio 2022 (j), janeiro 2023 (k), julho 2023 (l), dezembro 2023 (m), julho/2024 (n) e janeiro/2025 (o). A elipse representa um intervalo de confiança de 95% (distribuição (t) dos dados) para cada uma das zonas marinhas de coleta (I= rio Doce, C1= rio Piraquê-Açu, C2= rio São Mateus e C3= rio Mucuri). Códigos ambientais: lua=porção iluminada da lua, atm= pressão, sal=salinidade, corr= velocidade corrente, oxi= oxigênio dissolvido, mare= amplitude de variação da maré no período de coleta, turb= turbidez, vento= velocidade vento. Códigos das espécies: abusax = *Abudefduf saxatilis*, acansp = *Acanthurus* sp., alusch = *Aluterus schoepfi*, anarsp = *Anarchopterus* sp., athbra = *Atherinella brasiliensis*, botoce= *Bothus ocellatus*, canmac = *Cantherhines macrocerus*, carbart = *Carangoides bartholomaei*, carhip = *Caranx hippos*, chlcry = *Chloroscombrus chrysurus*, cluspp= Clupeidae spp., corbat = *Corvula batabana*, elepis = *Eleotris pisonis*, engspp = Engraulidae spp., etrocro = *Etropus crossotus*, gerspp= Gerreidae spp., hypyse = *Hypoleurochilus pseudoaequipinnis*, hypssp = *Hyporhamphus* sp. lutjss = *Lutjanus* sp., lutjoc = *Lutjanus jocu*, lutgri = *Lutjanus griseus*, Macanc = , macrodon ancyllodon, mugisp = *Mugil* sp., olisau = *Oligoplites saurus*, ortcry = *Orthopristis chrysoptera*, polvir = *Polydactylus virginicus*, pompar = *Pomacanthus paru*, priros= *Prionotus roseus*, pripun= *Prionotus punctatus*.



A composição da assembleia de pós-larvas de peixes manteve o padrão observado em relatórios anteriores, com uma maior homogeneização da composição em função do período amostral (Figura 15). Valores mais elevados de abundância e riqueza de espécies registrados nos meses mais quentes, o que pode ser associado à intensa atividade reprodutiva da maioria das espécies amostradas, contribui para a maior similaridade entre as zonas amostrais, enquanto durante os meses mais frios, há maior individualização das assembleias capturadas nas distintas zonas. Os resultados também apontaram que, sob condições específicas, como baixa energia das ondas e menor turbidez, as áreas marinhas próximas ao rio Doce ainda conseguem sustentar assembleias de pós-larvas semelhantes às das zonas de controle. Contudo, esses ambientes permanecem vulneráveis a eventos recorrentes de ressuspensão do MLD, que promovem a alteração da comunidade e maior seletividade das espécies, contribuindo para uma maior diferenciação. Além disso, a presença e abundância das famílias Clupeiformes/Dorosomatidae, Engraulidae e Gerreidae foi determinante para a similaridade/dissimilaridade entre as amostras, dada sua dominância em número e ampla ocorrência nas áreas estudadas (Tabela 9).

### 3.3 PADRÕES TEMPORAIS DA DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA

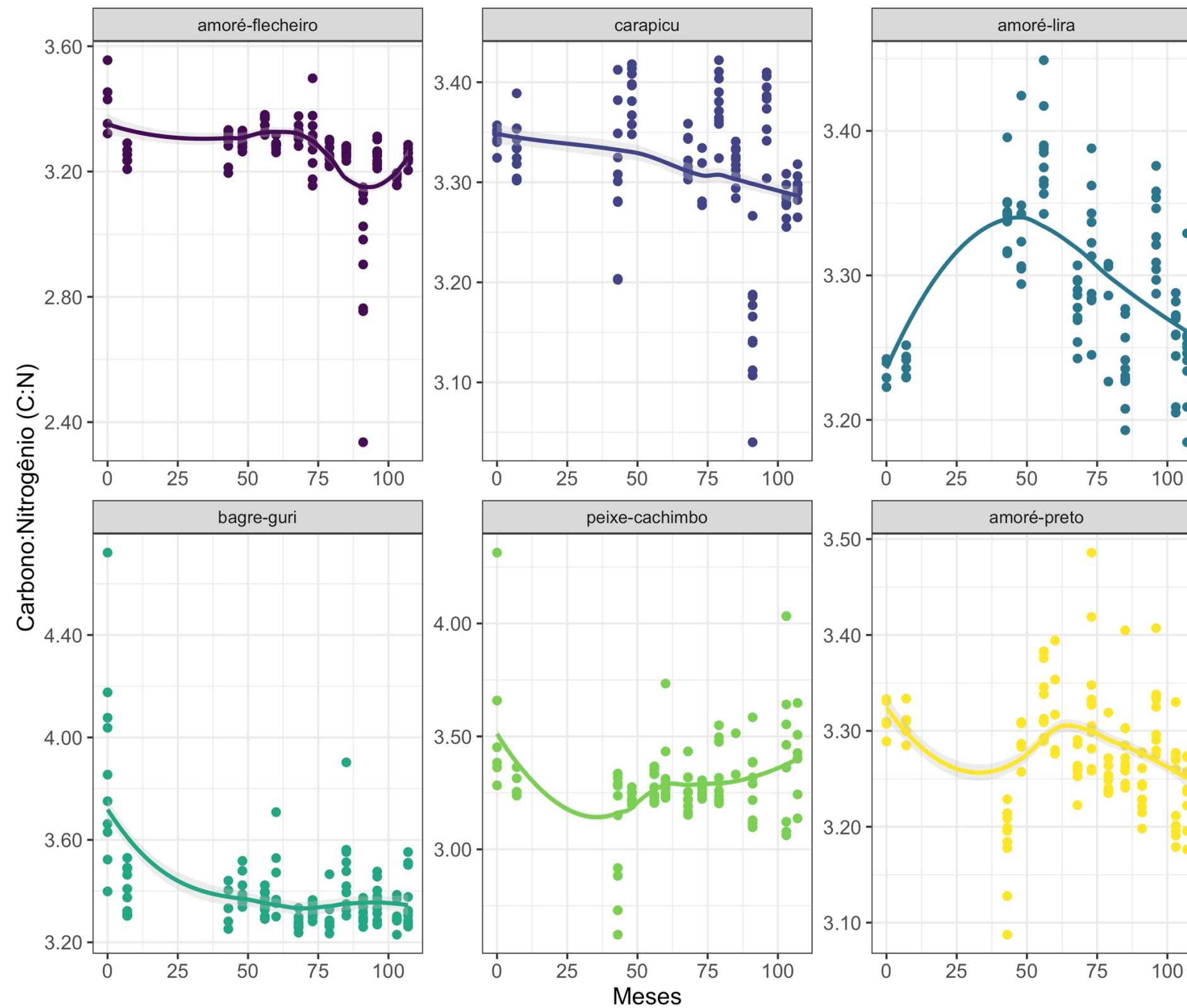
Figura 16: Padrões temporais da diversidade trófica/isotópica. Variação da (A) amplitude do nicho isotópico (área da elipse corrigida), (B) amplitude de  $\delta^{13}\text{C}$  e (C) amplitude de  $\delta^{15}\text{N}$  de seis espécies de peixes estuarinos do rio Doce ao longo do período de monitoramento (meses). O mês "0" corresponde às coletas realizadas no intervalo de 1–2 dias antes da chegada do Material Ligado ao Desastre (MLD) no estuário do rio Doce (novembro de 2015). Correlações significativas estão com linha de tendência vermelha e respectivos valores de  $R^2$  e  $p$ .



Entre as seis espécies estuarinas monitoradas, o carapicu (*Eucinostomus argenteus*) apresentou tendência significativa de diminuição do nicho isotópico, amplitude de  $\delta^{15}\text{N}$  e amplitude de  $\delta^{13}\text{C}$  ao longo do período de monitoramento. As demais espécies não apresentaram padrões na evolução destes indicadores até o presente momento. O carapicu se alimenta geralmente de pequenos organismos presentes no sedimento, como poliquetas e moluscos (VASCONCELLOS *et al.*, 2018). A fauna que vive no sedimento do estuário do rio Doce foi afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão e, consequentemente, pela contaminação por metais em escalas aguda e crônica (GOMES *et al.*, 2017; COPPO *et al.*, 2023). Por exemplo, vários táxons de poliquetas que habitavam o estuário do rio Doce no período pré-impacto não foram registrados após a chegada do MLD (GOMES *et al.*, 2017). Portanto, a diminuição da amplitude do nicho e da diversidade isotópica dos recursos consumidos pelo carapicu pode estar relacionada à escassez dos recursos-alvo da espécie no estuário do rio Doce.

### 3.4 PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS

Figura 17: Padrões temporais da concentração de lipídeos. Modelos aditivos generalizados para os dados de razão carbono e nitrogênio de seis espécies de peixes estuarinos do rio Doce ao longo do período de monitoramento (meses). As áreas sombreadas das curvas indicam o intervalo de confiança de 95%. O mês "0" corresponde às coletas realizadas no intervalo de 1–2 dias antes da chegada do MLD no estuário do rio Doce (novembro de 2015).



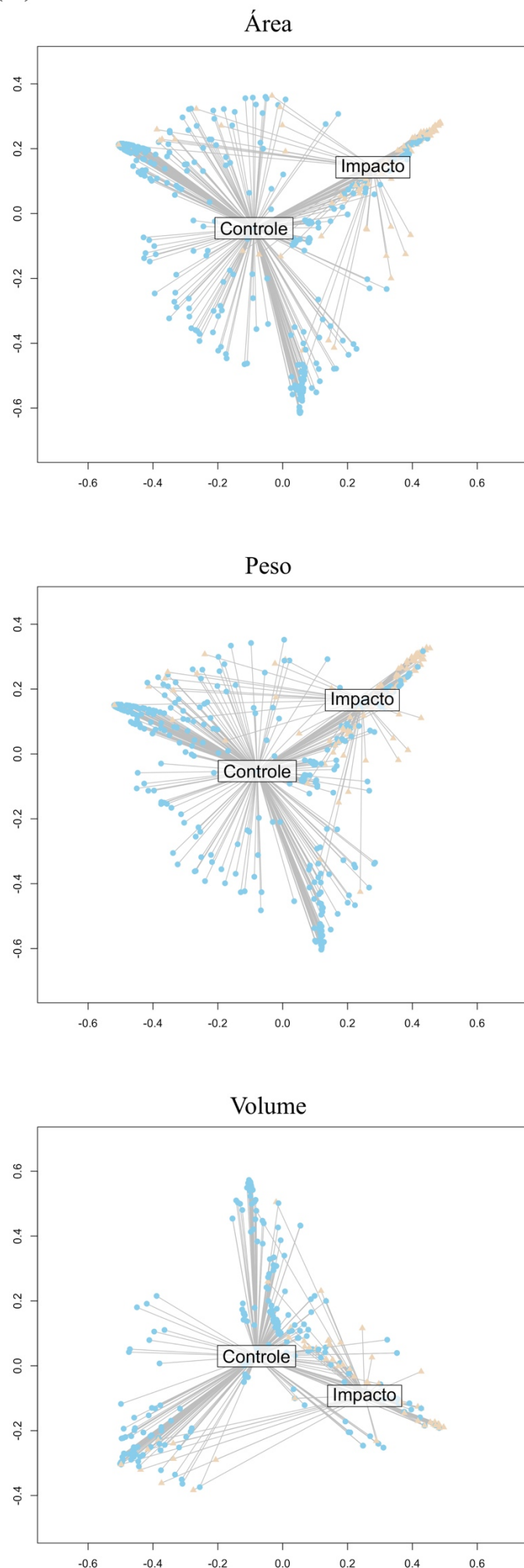


A razão C:N é um parâmetro bioquímico que serve como indicador da concentração de lipídeos em tecidos de peixes e outros animais. O modelo mais parcimonioso explicou 49,3 % da desviância (*deviance*, em inglês) com um  $R^2$  ajustado de 0,46. Dessa forma, o modelo indicou uma diminuição das concentrações de lipídeos em função do tempo (i.e., amostragens) extremamente significativa ( $p < 0,001$ ) para o amoré-flecheiro, bagre-guri e o peixe-cachimbo e significativa ( $p < 0,05$ ) para o amoré-lira. Tal diminuição pode estar associada a um efeito crônico do rompimento da Barragem de Fundão na estocagem de energia (lipídeos) por essas espécies de peixes. Isso pode ocorrer em função de menor disponibilidade de presas “ótimas” no estuário do rio Doce ao longo do tempo. Adicionalmente, o período (estação do ano) teve efeito sobre as concentrações de lipídeos ao longo do tempo de maneira significativa para o amoré-preto e carapicu e extremamente significativa ( $p < 0,001$ ) para o amoré-flecheiro e bagre-guri ( $p < 0,001$ ).

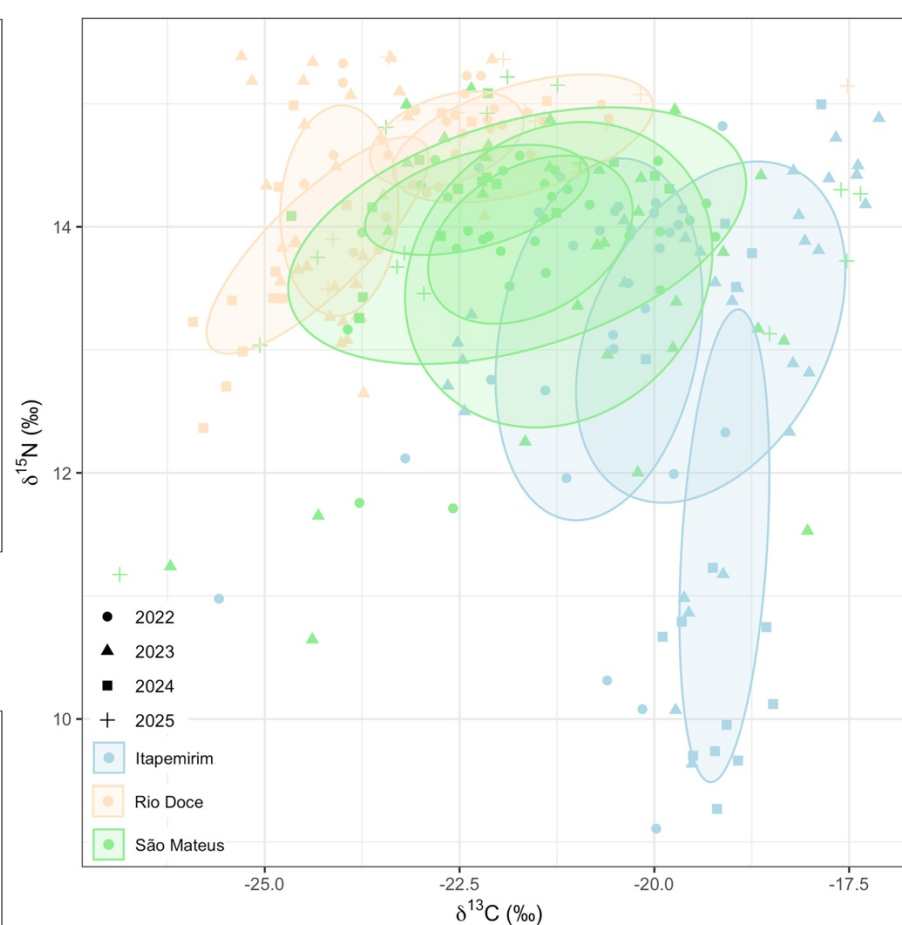
### 3.5 PADRÕES ESPACIAIS DA ECOLOGIA TRÓFICA E CONDIÇÃO CORPORAL

Figura 18: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. A) Amplitude do nicho alimentar baseado na área ocupada, peso e volume das presas consumidas pelo bagre-guri no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022, 2023, 2024 e 2025 (este último ano sem amostragens no rio Itapemirim, conforme o Plano de Trabalho referente à Deliberação nº 803). Número de estômagos analisados: 62 em 2022, 65 em 2023 e 36 em 2024 no rio Itapemirim; 12 em 2022, 62 em 2023, 26 em 2024 e 20 em 2025 no rio Doce; e 86 em 2022, 32 em 2023, 33 em 2024 e 32 em 2025 no São Mateus. (B) Amplitude do nicho isotópico baseado na área da elipse corrigida (%2). (C) Breve sumário dos achados deste relatório para a espécie sentinela bagre-guri (*Genidens genidens*), baseado nos resultados da variação na composição da dieta e amplitude do nicho alimentar (1 e 2), amplitude do nicho isotópico (3) e índice de repleção (4)

#### (A) Nicho alimentar



#### (B) Nicho isotópico



#### (C) Panorama geral



O bagre-guri no estuário do Rio Doce apresenta\*:

- Dieta pobre em recursos<sup>1</sup>
- Menor amplitude do nicho alimentar<sup>2</sup>
- Menor amplitude do nicho isotópico<sup>3</sup>
- Menor atividade alimentar<sup>4</sup>

\* comparação feita com os estuários dos rios Itapemirim e São Mateus como controles

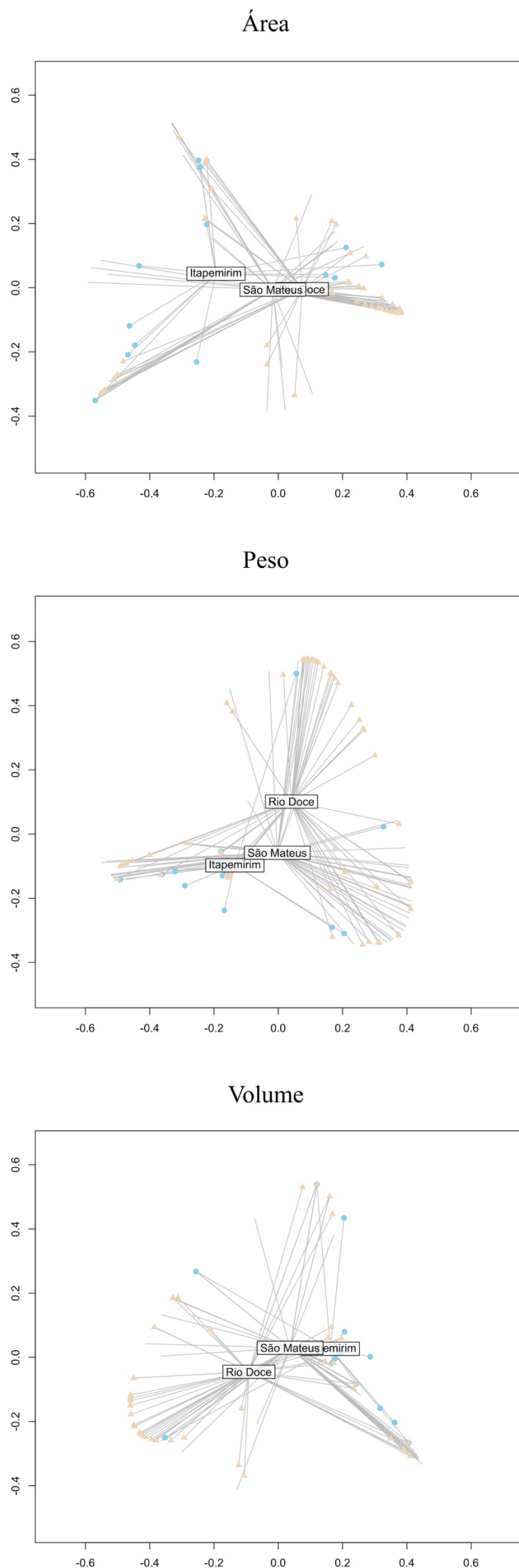


A composição da dieta do bagre-guri (*Genidens genidens*) variou significativamente entre o local impactado e os controles, seja considerando a área (PERMANOVA:  $F = 3,314$ ;  $P(\text{MC}) = 0,056$ ), o peso (PERMANOVA:  $F = 3,595$ ;  $P(\text{MC}) = 0,026$ ) ou o volume (PERMANOVA:  $F = 3,434$ ;  $P(\text{MC}) = 0,033$ ) das presas. Além disso, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) no local impactado foi significativamente menor do que nos controles, com base nas três métricas analisadas: área (PERDISP:  $F = 47,186$ ;  $P = 0,0002$ ), peso (PERDISP:  $F = 30,041$ ;  $P = 0,0002$ ) e volume (PERDISP:  $F = 113,440$ ;  $P = 0,0002$ ). Similarmente, a amplitude do nicho isotópico no rio Doce foi menor do que nos controles em todos os anos analisados (2022, 2023, 2024 e 2025), exceto entre São Mateus e rio Doce em 2024. A amplitude do nicho isotópico ( $\text{‰}^2$ , área da elipse corrigida) do bagre-guri para o rio Doce, Itapemirim e São Mateus, respectivamente, foram 1,15, 6,07 e 2,68 em 2022, 2,06, 7,15, 7,71 em 2023, 2,45, 3,49 e 1,87 em 2024 e 2,50 (rio Doce) e 9,26 (São Mateus) em 2025. Vale ressaltar que em 2025 as coletas foram realizadas somente no rio Doce e São Mateus, seguindo a deliberação da nova malha amostral. Os resultados apresentados para os anos de 2022, 2023 e 2024 suportam a hipótese que a dieta e a diversidade trófica do bagre-guri são marcadamente diferentes e menos diversas no local impactado, em comparação às áreas não afetadas pelo MLD.

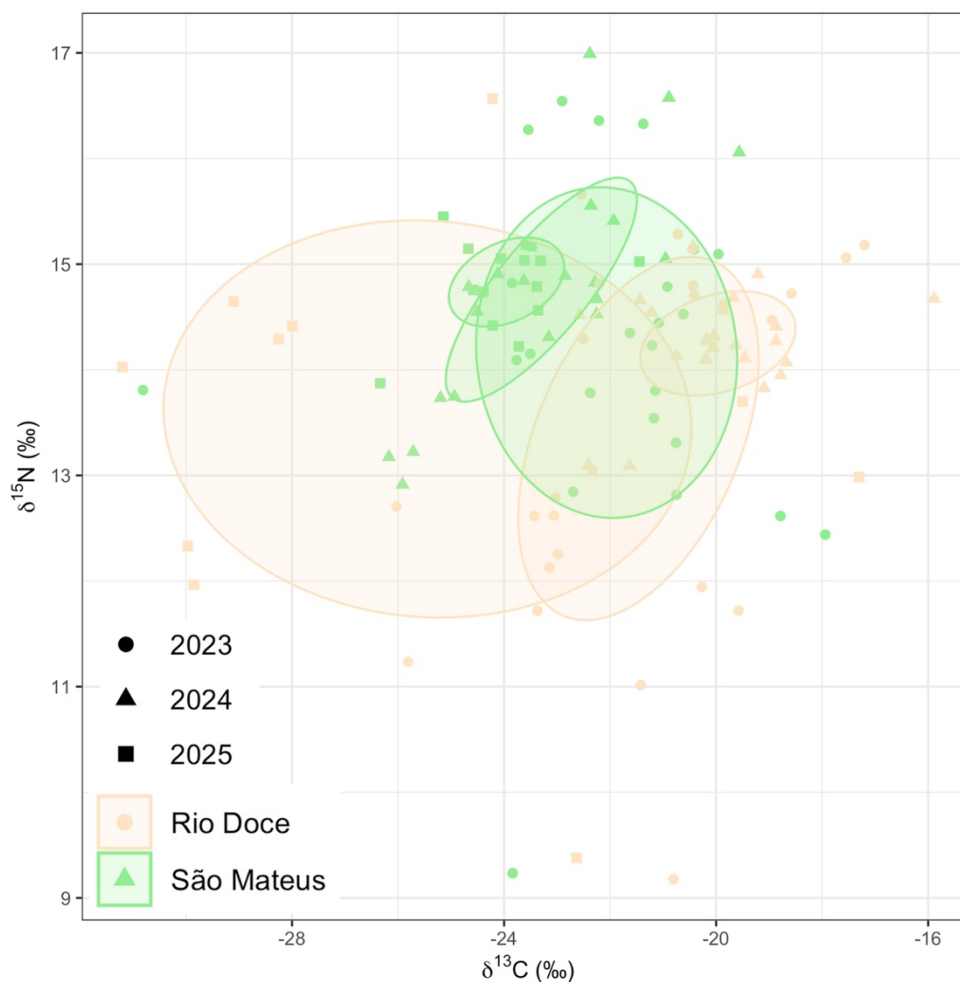
Considerando apenas os dados de 2025, a composição da dieta do bagre-guri variou de forma consistente com os anos anteriores (2022, 2023 e 2024). Houve uma mudança significativa entre o Rio Doce e o São Mateus com base na área (PERMANOVA:  $F = 16,662$ ;  $P(\text{MC}) = 0,0002$ ), no peso (PERMANOVA:  $F = 16,298$ ;  $P(\text{MC}) = 0,0002$ ) e no volume (PERMANOVA:  $F = 13,773$ ;  $P(\text{MC}) = 0,0002$ ) das presas. A continuidade dessa avaliação considerando, pelo menos, dois estuários controles é fundamental para que em breve possamos avaliar as flutuações temporais da ecologia trófica no rio Doce (local impactado) em relação a áreas não impactadas dentro de uma abordagem impacto vs. controle.

Figura 19: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. A) Amplitude do nicho alimentar baseado na área ocupada, peso e volume das presas consumidas pelo robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2025. Número de estômagos analisados: 15 no rio Itapemirim; 51 no rio Doce; e 65 no São Mateus. (B) Amplitude do nicho isotópico baseado na área da elipse corrigida (%<sup>2</sup>). (C) Breve sumário dos achados deste relatório para a espécie sentinela robalo-peva (*Centropomus parallelus*), baseado nos resultados da composição da dieta e amplitude do nicho alimentar (1 e 2), amplitude do nicho isotópico (3) e índice de repleção (4).

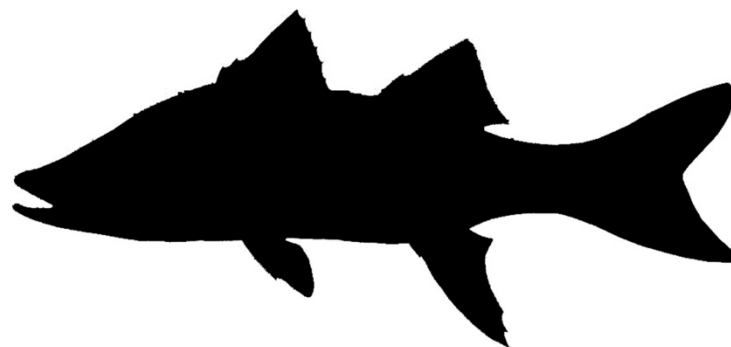
### (A) Nicho alimentar



### (B) Nicho isotópico



### (C) Panorama geral



O robalo-peva no estuário do Rio Doce apresenta\*:

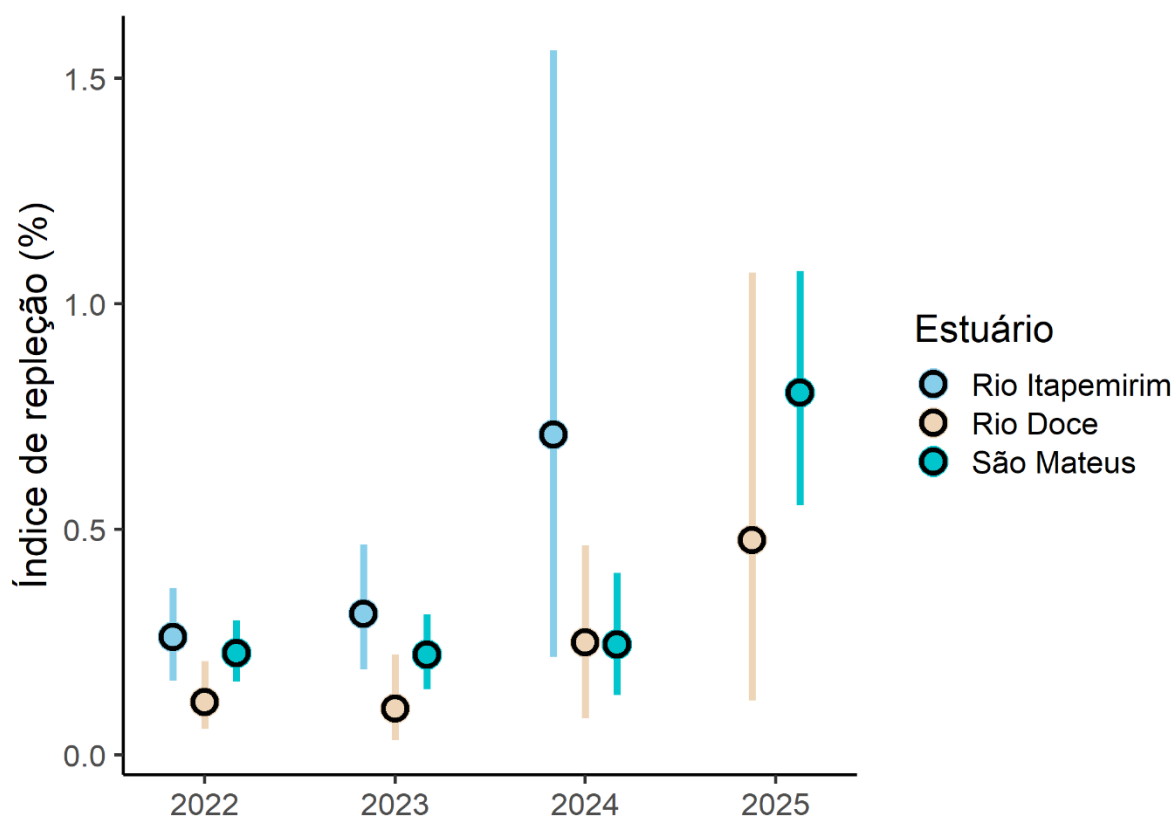
- Dieta similar em recursos consumidos<sup>1</sup>
- Amplitude do nicho alimentar similar<sup>2</sup>
- Amplitude do nicho isotópico variável<sup>3</sup>
- Atividade alimentar similar<sup>4</sup>

\* comparação feita com os estuários dos rios Itapemirim e São Mateus como controles (exceto para nicho isotópico)

Em contraste aos resultados observados para o bagre-guri, não foram identificadas diferenças significativas na dieta do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) entre o rio Doce e os controles, tanto para a área (PERMANOVA:  $F = 0,543$ ;  $P(\text{MC}) = 0,768$ ) quanto para o peso (PERMANOVA:  $F = 0,621$ ;  $P(\text{MC}) = 0,758$ ) e o volume (PERMANOVA:  $F = 0,972$ ;  $P(\text{MC}) = 0,536$ ) das presas. Por outro lado, a dieta foi significativamente diferente entre os controles, considerando os três parâmetros analisados ( $P < 0,001$  em todas as comparações), o que deve ter contribuído para a falta de significância estatística nas comparações entre o local impactado e os demais estuários. A maior parte dos indivíduos de *C. parallelus* (21 de 36) obtidos em 2025 estavam com o estômago vazio ou com presas em estado avançado de digestão, o que impossibilitou a identificação das mesmas. Por isso, os dados de dieta desses indivíduos não foram analisados estatisticamente, nem apresentados neste relatório.

Adicionalmente, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) do robalo-peva também não diferiu entre o local impactado e os controles, com base na área (PERDISP:  $F = 2,326$ ;  $P = 0,242$ ), no peso (PERDISP:  $F = 1,539$ ;  $P = 0,292$ ) ou no volume (PERDISP:  $F = 3,395$ ;  $P = 0,102$ ) das presas. A partir dos resultados encontrados, foi rejeitada a hipótese que a dieta do robalo-peva no rio Doce é diferente daquela observada em estuários não impactados pelo rompimento da Barragem de Fundão. No entanto, a amplitude do nicho isotópico ( $\text{‰}^2$ , área da elipse corrigida) do robalo-peva foi menor no estuário do rio Doce (11,25 e 2,24) quando comparado ao estuário do São Mateus (12,36 e 3,70) nos anos de 2023 e 2024, o que corrobora parcialmente a hipótese que a diversidade trófica do robalo-peva no rio Doce é inferior daquela observada em estuários não impactados pelo rompimento da Barragem de Fundão. Por outro lado, em 2025 a amplitude do nicho isotópico do robalo-peva foi expressivamente maior no rio Doce (31,96) em comparação com o estuário do São Mateus (1,43). Tal largura de nicho se deve a alguns indivíduos da população do rio Doce que pertencem ao nosso universo amostral apresentarem assinaturas isotópicas de  $\delta^{13}\text{C}$  inferiores a  $-27\text{‰}$ , o que provavelmente implica em movimentos realizados para porções a montante do estuário para alimentação.

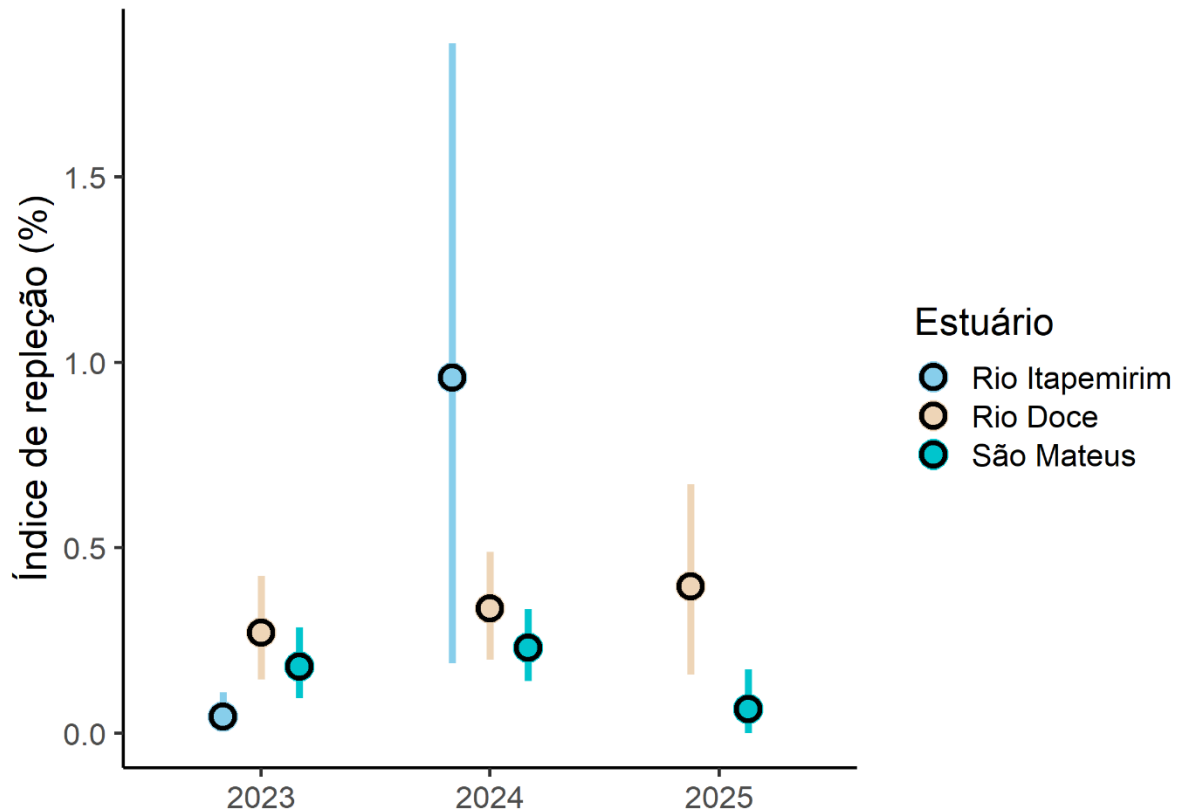
Figura 20: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média ( $\pm$  Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do bagre-guri (*Genidens genidens*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022, 2023, 2024 e 2025. Número de indivíduos analisados: 85 em 2022, 125 em 2023 e 44 em 2024 no rio Itapemirim; 58 em 2022, 95 em 2023, 31 em 2024 e 48 em 2025 no rio Doce; e 120 em 2022, 85 em 2023, 38 em 2024 e 51 em 2025 no São Mateus.



O Índice de repleção mede a quantidade de alimento no estômago de cada indivíduo, ponderada pela sua respectiva massa, e foi utilizado para investigar o potencial efeito da poluição pelo MLD na atividade alimentar do bagre-guri. O valor médio do índice no rio Doce foi significativamente menor do que nos controles (PERMANOVA:  $F = 15,612$ ;  $P(MC) = 0,040$ ) ao longo do período estudado (PERMANOVA, interação Ano x Local:  $F = 0,114$ ;  $P(MC) = 0,893$ ), sugerindo que a intensidade alimentar do bagre-guri (*Genidens genidens*) no estuário pode ter sido afetada pelo aporte de poluentes. Por outro lado, não houve diferença significativa entre os controles (PERMANOVA:  $F = 0,804$ ;  $P(MC) = 0,360$ ) nem entre os anos (PERMANOVA:  $F = 1,118$ ;  $P(MC) = 0,294$ ). Os resultados são consistentes com aqueles apresentados nos relatórios anteriores e reforçam a ideia de que a redução na disponibilidade de presas consumidas pela ictiofauna após o rompimento (GOMES *et al.*, 2017; COPPO *et al.*, 2023), pode ter efeitos crônicos na atividade alimentar dos peixes.

Em 2025, as amostragens no estuário do rio Itapemirim foram descontinuadas, conforme as diretrizes estabelecidas pelo Plano de Trabalho da nova fase do monitoramento da biodiversidade aquática nas regiões dulcícola, costeira e marinha do Espírito Santo, de abril de 2024. Por essa razão, não foi possível incluir os dados de 2025 no modelo estatístico descrito acima. Neste período, o valor médio do índice de repleção do bagre-guri no rio Doce foi menor do que no estuário do rio São Mateus, consistente com o padrão observado em 2022 e 2023. Estes resultados demonstram que, apesar da tendência de aumento do índice ao longo dos anos no Rio Doce, a quantidade de alimento ingerida por *G. genidens* na área impactada ainda é inferior àquela observada no estuário controle.

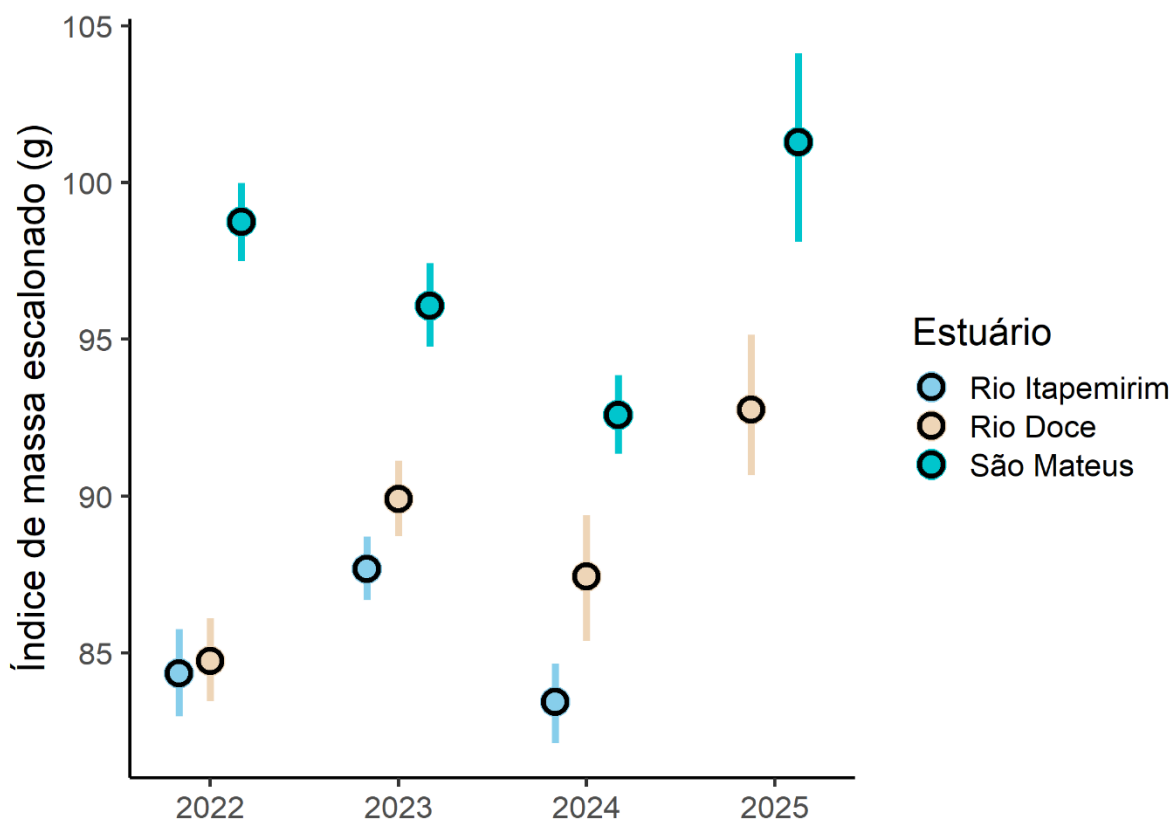
Figura 21: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média ( $\pm$  Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2023, 2024 e 2025. Número de indivíduos analisados: 37 em 2023 e 13 em 2024 no rio Itapemirim; 108 em 2023, 112 em 2024 e 21 em 2025 no rio Doce; e 134 em 2023, 128 em 2024 e 15 em 2025 no São Mateus.



A intensidade alimentar do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), mensurada por meio do índice de repleção, foi similar entre o rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA:  $F = 0,360$ ;  $P(\text{MC}) = 0,660$ ) nos dois anos analisados (PERMANOVA, interação Ano x Local:  $F = 0,400$ ;  $P(\text{MC}) = 0,753$ ). Além disso, não houve diferença no índice de repleção entre os controles (PERMANOVA:  $F = 2,871$ ;  $P(\text{MC}) = 0,096$ ). Esses resultados indicam que, apesar da perda de potenciais presas em consequência da chegada do MLD no rio Doce, o robalo-peva mantém um padrão de alimentação estatisticamente equivalente aos observados em estuários não impactados.

O padrão encontrado em 2025 foi consistente com aquele observado nos anos anteriores. O índice de repleção do robalo-peva no Rio Doce foi, em média, novamente maior do que no estuário controle. Observou-se também uma tendência de aumento na atividade alimentar do robalo ao longo do tempo na área impactada, que pode estar relacionada a um incremento gradual na disponibilidade de presas. De forma geral, os resultados do índice de repleção sugerem que espécies com dietas distintas, como *G. genidens* (zoobentívoro) e *C. parallelus* (carnívoro), podem responder de forma diferente às alterações ecossistêmicas provocadas pelo MLD.

Figura 22: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média ( $\pm$  Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do bagre-guri (*Genidens genidens*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022, 2023, 2024 e 2025. Número de indivíduos analisados: 84 em 2022, 195 em 2023 e 118 em 2024 no rio Itapemirim; 90 em 2022, 151 em 2023, 82 em 2024 e 46 em 2025 no rio Doce; e 98 em 2022, 122 em 2023, 131 em 2024 e 17 em 2025 no São Mateus.

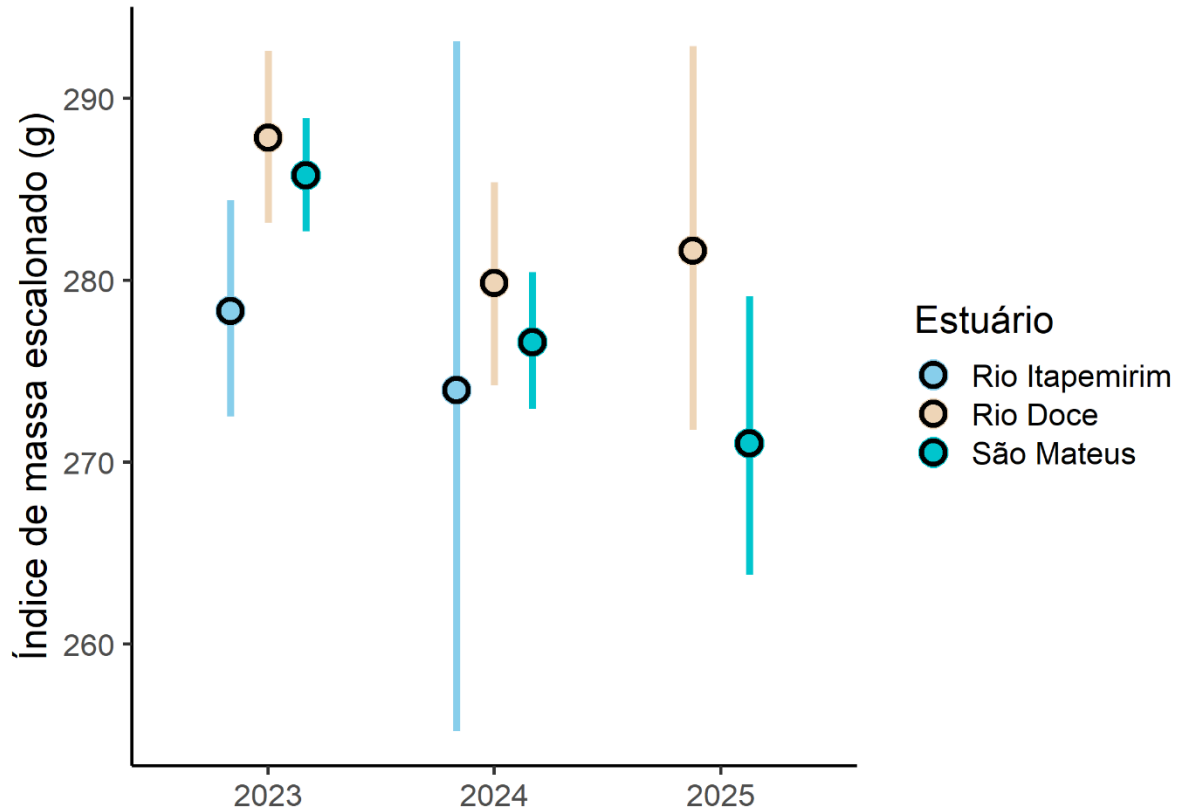




O Índice de Massa Escalonado (IMS) padroniza o comprimento dos indivíduos e ajusta suas massas com base em uma relação peso-comprimento (PEIG & GREEN, 2010). Ele tem sido amplamente utilizado como indicador de condição corporal e de distúrbios antrópicos em ecossistemas aquáticos e terrestres (e.g. BÓKONY *et al.*, 2012; MACEDA-VEIGA *et al.*, 2014; SEBASTIANO *et al.*, 2021). Existem fortes evidências que a poluição e outros distúrbios humanos afetam negativamente a condição corporal dos indivíduos, incluindo desde peixes (MACEDA-VEIGA *et al.*, 2014; PIERCE *et al.*, 2020) até aves (SEBASTIANO *et al.*, 2021) e mamíferos (WILLEMS *et al.*, 2021). No presente estudo, porém, não foram identificadas diferenças significativas na condição do bagre-guri entre o Rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA:  $F = 0,133$ ;  $P(\text{MC}) = 0,774$ ), considerando indivíduos coletados cerca de seis/sete anos após o rompimento da Barragem de Fundão. Por outro lado, houve diferença significativa no IMS entre os anos (PERMANOVA:  $F = 19,723$ ;  $P = 0,0002$ ) e, também, entre os controles (PERMANOVA:  $F = 328,640$ ;  $P = 0,0002$ ). A variabilidade natural na condição corporal dos indivíduos entre estuários, evidenciada pela expressiva diferença entre os controles, dificulta identificar potenciais efeitos relacionados ao MLD. Entretanto, a ocorrência de impactos negativos da contaminação em longo prazo, nas reservas de energia e no *fitness* dos peixes do Rio Doce, não deve ser descartada frente aos resultados obtidos nos indicadores anteriores.

Em 2025, o IMS do bagre-guri no Rio Doce permaneceu menor do que no estuário de São Mateus, como observado em 2022, 2023 e 2024. Isso pode ser parcialmente explicado pela menor atividade alimentar na área impactada em comparação ao controle, como evidenciado pelo índice de repleção, que por sua vez pode ter afetado negativamente a condição corporal dos indivíduos de *G. genidens*.

Figura 23: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média ( $\pm$  Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2023, 2024 e 2025. Número de indivíduos analisados: 36 em 2023 e 13 em 2024 no rio Itapemirim; 126 em 2023, 87 em 2024 e 19 em 2025 no rio Doce; e 220 em 2023, 117 em 2024 e 15 em 2025 no São Mateus.



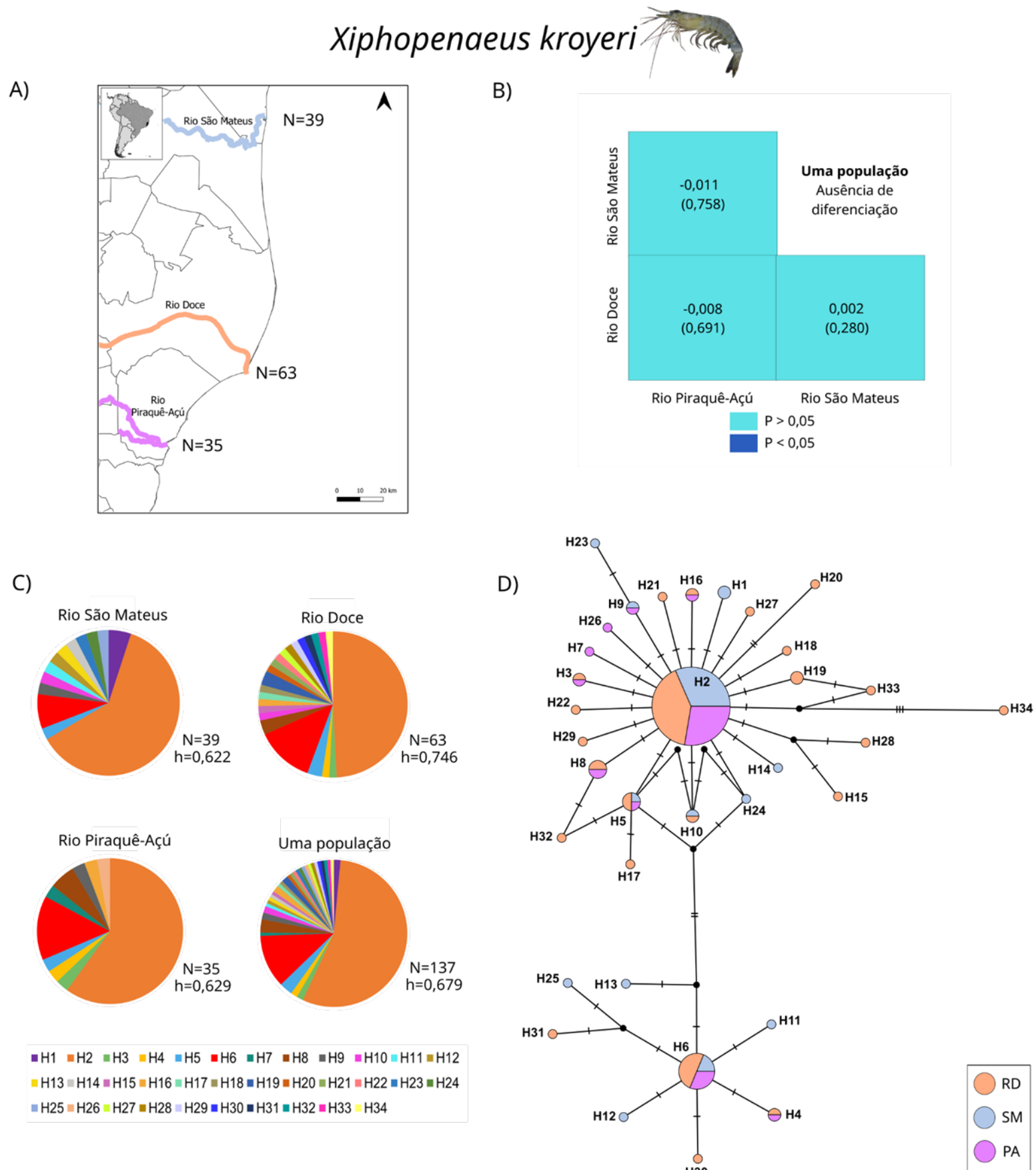
Os resultados das análises da condição corporal do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) são consistentes com aqueles encontrados para o bagre-guri. Não foram encontradas diferenças significativas na condição do robalo entre o rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA:  $F = 1,103$ ;  $P(MC) = 0,503$ , assim como não foram identificadas diferenças entre os controles (PERMANOVA:  $F = 0,3,101$ ;  $P(MC) = 0,079$ ). Por outro lado, houve uma diferença significativa na condição corporal do robalo-peva entre os anos (PERMANOVA:  $F = 16,442$ ;  $P(MC) = 0,0002$ ), tanto na área impactada quanto nos controles (PERMANOVA, interação Ano x Local:  $F = 0,026$ ;  $P(MC) = 0,873$ ). Esses resultados sugerem que o robalo-peva é capaz de manter uma condição corporal similar entre os estuários estudados, apesar das alterações ambientais provocadas pelo MLD na foz do rio Doce. Adicionalmente, os resultados também demonstram que as variações temporais são mais importantes do que as variações espaciais observadas.

Em 2025, houve um aumento no índice de massa escalonado do robalo-peva no rio Doce em comparação a 2024, enquanto no São Mateus há uma tendência de declínio desde 2023. A diferença entre estes dois estuários nos valores de condição corporal também aumentou em relação a 2024. Um padrão similar foi identificado para o índice de repleção, que pode ter influenciado a condição corporal dos indivíduos.

### 3.6 ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA

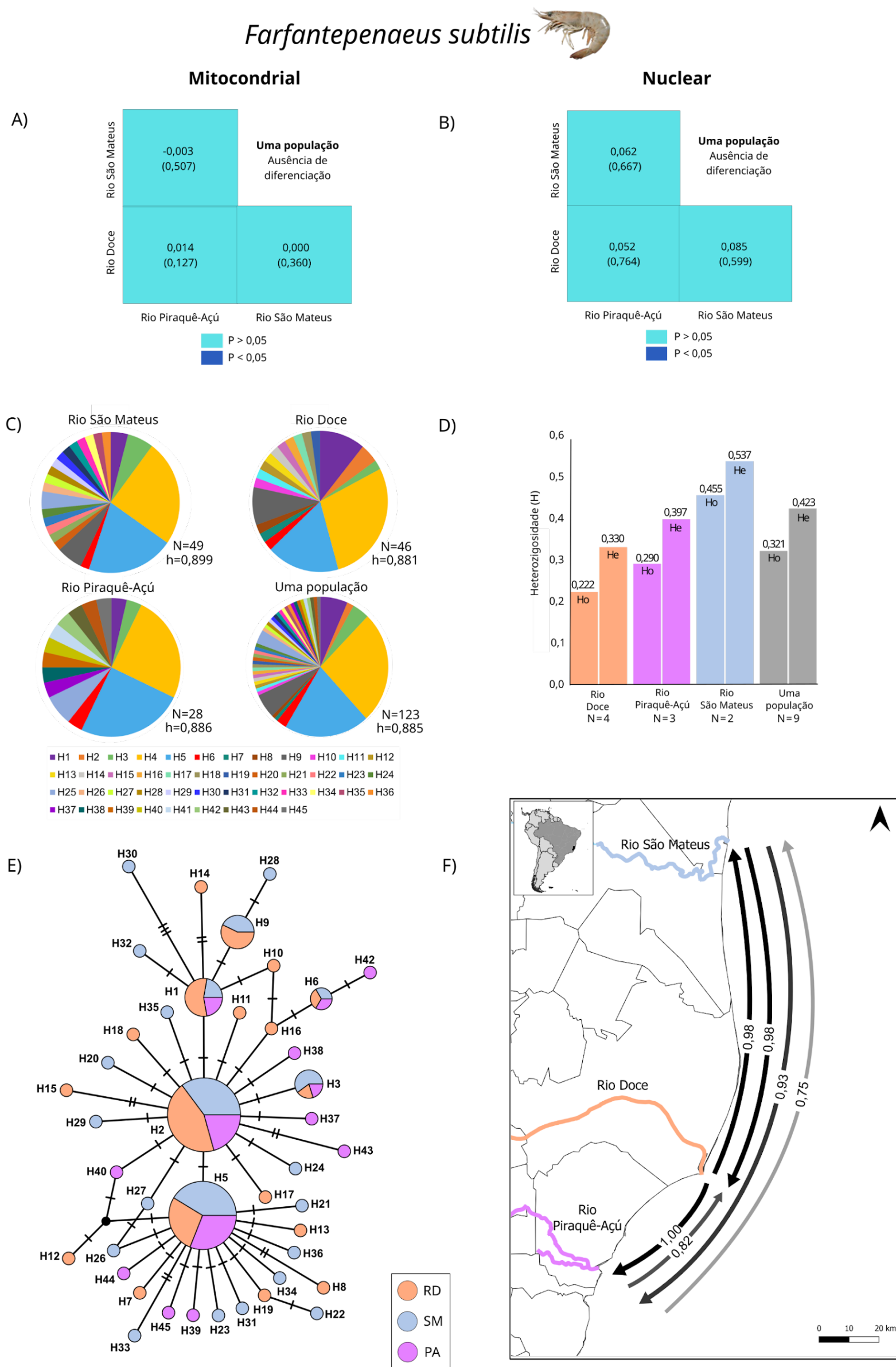
#### 3.6.1 Crustáceos marinhos

Figura 24: Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial de 137 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) Mapa da região amostrada B) Gráfico de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  par-a-par), valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica. D) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto, diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açú (PA); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. Imagem ilustrativa da espécie: Darryl Felder



Para o DNA mitocondrial, os 137 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) foram avaliados com os marcadores moleculares COI e 16S rRNA concatenados (1055 pb). Os testes de estruturação  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,004$ ;  $P=0,602$ ) demonstram a ausência de diferenciação entre as unidades amostrais avaliadas, indicando a presença de apenas uma população. A AMOVA também evidenciou que a maior quantidade de variação se encontra dentro das populações (100,44%), o que indica um alto fluxo gênico entre as localidades. Os resultados demonstram valores de diversidade genética moderados para a única população encontrada ( $h=0,679$ ), sendo os menores valores encontrados para o rio São Mateus ( $h=0,622$ ), quando se considera cada unidade amostral (rio). Na rede de haplótipos, é possível observar a presença de 34 haplótipos no total, sendo o haplótipo 2 (Hap\_2) o mais frequente em todos os rios avaliados. Foram observados haplótipos compartilhados entre as três unidades amostrais (H2, H5 e H6), além da presença de haplótipos exclusivos para todos os rios.

Figura 25. Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial (N=123) e nuclear (N=9) de indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) e B) Gráficos de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  par-a-par) mitocondrial e nuclear, respectivamente; valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica D) Gráfico de heterozigiosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ). E) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açú (PA); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. F) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú), onde cada seta representa a direção do fluxo gênico e as cores indicam a sua intensidade (preto para o mais intenso e degradê de cinza para os menos intensos). \*Os resultados populacionais do DNA nuclear são de indivíduos coletados entre setembro de 2021 e janeiro de 2024, que serão atualizados no relatório anual. Imagem ilustrativa da espécie: Laure Corbari.



Para o DNA mitocondrial, os 123 espécimes do camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) foram avaliados com os marcadores moleculares COI e 16S rRNA concatenados (950 pb). Os testes de estruturação  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=-0,003$ ;  $P=0,291$ ) indicam ausência de diferenciação entre os rios avaliados e presença de uma única população. A AMOVA também evidenciou que a maior quantidade de variação se encontra dentro das populações (99,69%), o que indica um alto fluxo gênico entre as unidades amostrais. A diversidade haplotípica foi alta para única população identificada e para todas as unidades amostrais avaliadas, sendo que para o rio São Mateus foram encontrados os valores mais altos ( $h=0,899$ ) e para o rio Doce os mais baixos ( $h=0,881$ ). A rede de haplótipos apresentou 45 haplótipos organizados em formato de estrela, ocorrendo a maior frequência dos haplótipos 2 e 5 (H2 e H5) nas três unidades amostrais, com muitos haplótipos exclusivos.

Os resultados da população descritos a seguir são os do RA 2024 (indivíduos coletados entre setembro de 2021 e janeiro de 2024). Nove amostras foram analisadas a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de reads brutos variou de 298.818 a 578.405 e os reads filtrados de 82.762 a 136.632. Todos os reads foram padronizados para 27 pb. Foi detectado um total de 2.732 SNPs, com ausência de *missing data*. Também para esses marcadores foi encontrada ausência de diferenciação populacional significativa quando comparados os rios São Mateus, rio Doce e Piraquê-Açú, a partir das análises de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,063$ ;  $P=0,655$ ), sendo o maior valor de variação encontrado dentro das populações (93,66%), o que indica presença de uma única população com um alto fluxo gênico entre as unidades amostrais. Os resultados encontrados a partir da função *divMigrate* também indicam forte fluxo gênico entre as unidades amostrais, sendo o rio Doce com a maior taxa de migração identificada para os rios Piraquê-Açú (Taxa de migração = 1) e São Mateus (Taxa de migração = 0,98), o que significa que esse rio contribui com maior quantidade de migrantes para o rio Piraquê-Açú e São Mateus. O rio São Mateus também apresentou altas taxas de migração para o rio Doce (Taxa de migração = 0,98) e rio Piraquê-Açú (Taxa de migração = 0,93). Os resultados de fluxo gênico reforçam a importância do rio Doce e rio São Mateus na composição das populações de camarão-rosa no Espírito Santo. Considerando o número de SNPs avaliados, foram detectados níveis altos de diversidade para a única população identificada ( $H_o=0,321$ ;  $H_e=0,423$ ). Apesar de ocorrer fluxo gênico entre as unidades amostrais e ausência de diferenciação, é possível observar menores índices de diversidade para o rio Doce ( $H_o=0,222$ ;  $H_e=0,330$ ) e Piraquê-Açú ( $H_o=0,290$ ;  $H_e=0,397$ ), mesmo com maior número amostral em comparação com o rio São Mateus ( $H_o=0,455$ ;  $H_e=0,537$ ).

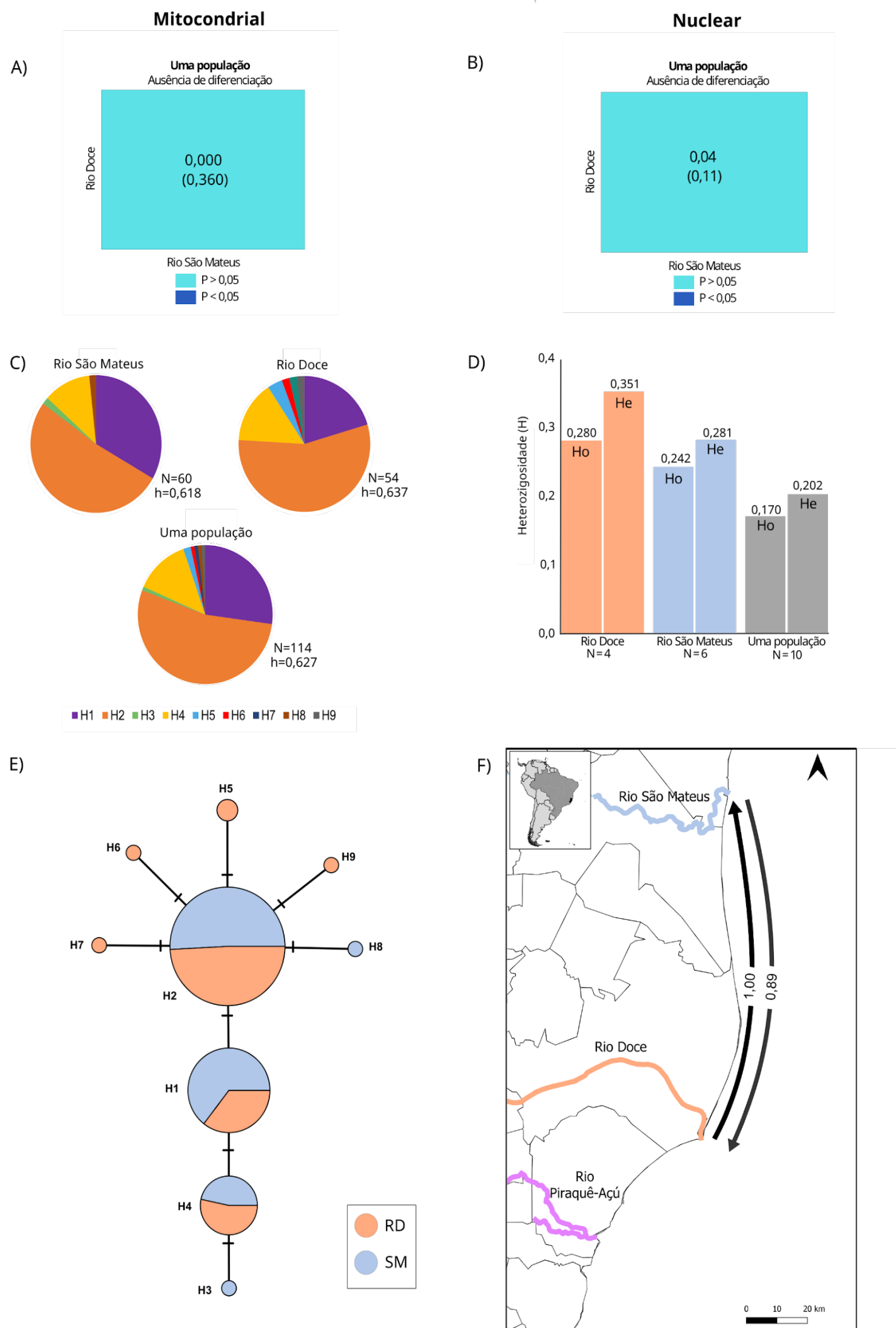


### 3.6.2 Peixes estuarinos

Figura 26: Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial (N=114) e nuclear (N=10) de indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) do rio Doce e rio São Mateus. A) e B) Gráficos de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  par-a-par) mitocondrial e nuclear, respectivamente; valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica. D) Gráfico de heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ). E) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM) e rio Doce (RD); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. F) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce e rio São Mateus), onde cada seta representa a direção do fluxo gênico e as cores indicam a sua intensidade (preto para o mais intenso e degradê de cinza para os menos intensos). \*Os resultados populacionais do DNA nuclear são de indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024, que serão atualizados no relatório anual.

Imagem ilustrativa da espécie: Ivan Sazima.

## *Genidens genidens*



Para o DNA mitocondrial, os 114 indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) foram avaliados com o marcador molecular mitocondrial ATPase (823 pb). Os resultados dos testes de estruturação  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,002$ ;  $P=0,326$ ) evidenciaram ausência de diferenciação genética entre as unidades amostrais, indicando que os bagres-guri dos rios São Mateus e Doce pertencem a uma única população. Os resultados da AMOVA indicaram que a maior quantidade de variação se encontra dentro das populações (99,84 %), o que aponta alto fluxo gênico entre as unidades amostrais. Os resultados de diversidade genética demonstram valores moderados de diversidade haplotípica para a única população identificada ( $h=0,627$ ), sendo que o rio Doce apresentou maior valor ( $h=0,637$ ) quando comparado ao rio São Mateus ( $h=0,618$ ). Quanto à rede de haplótipos foi possível observar a presença de nove haplótipos, com maior frequência para três haplótipos (H1, H2 e H4) presentes em ambos os rios. Verifica-se alguns haplótipos exclusivos para os dois rios. Esses dados podem gerar uma preocupação, caso seja detectada uma tendência de diminuição ao longo do tempo, visto que valores baixos de diversidade genética aumentam a vulnerabilidade da população diminuindo sua capacidade de permanecer e/ou se restabelecer no ambiente após alterações ambientais de origem natural ou antrópica. Vale ressaltar que o aumento do número amostral de quase duas vezes (incremento de 51 indivíduos) não refletiu em um maior valor de diversidade haplotípica e do número de haplótipos. Ao contrário, o número de haplótipos que já era baixo, foi de oito para nove somente, e, o valor de diversidade haplotípica decresceu de 0,661 para 0,627. Dessa forma, essa espécie merece especial atenção quanto ao monitoramento dos índices de diversidade genética.

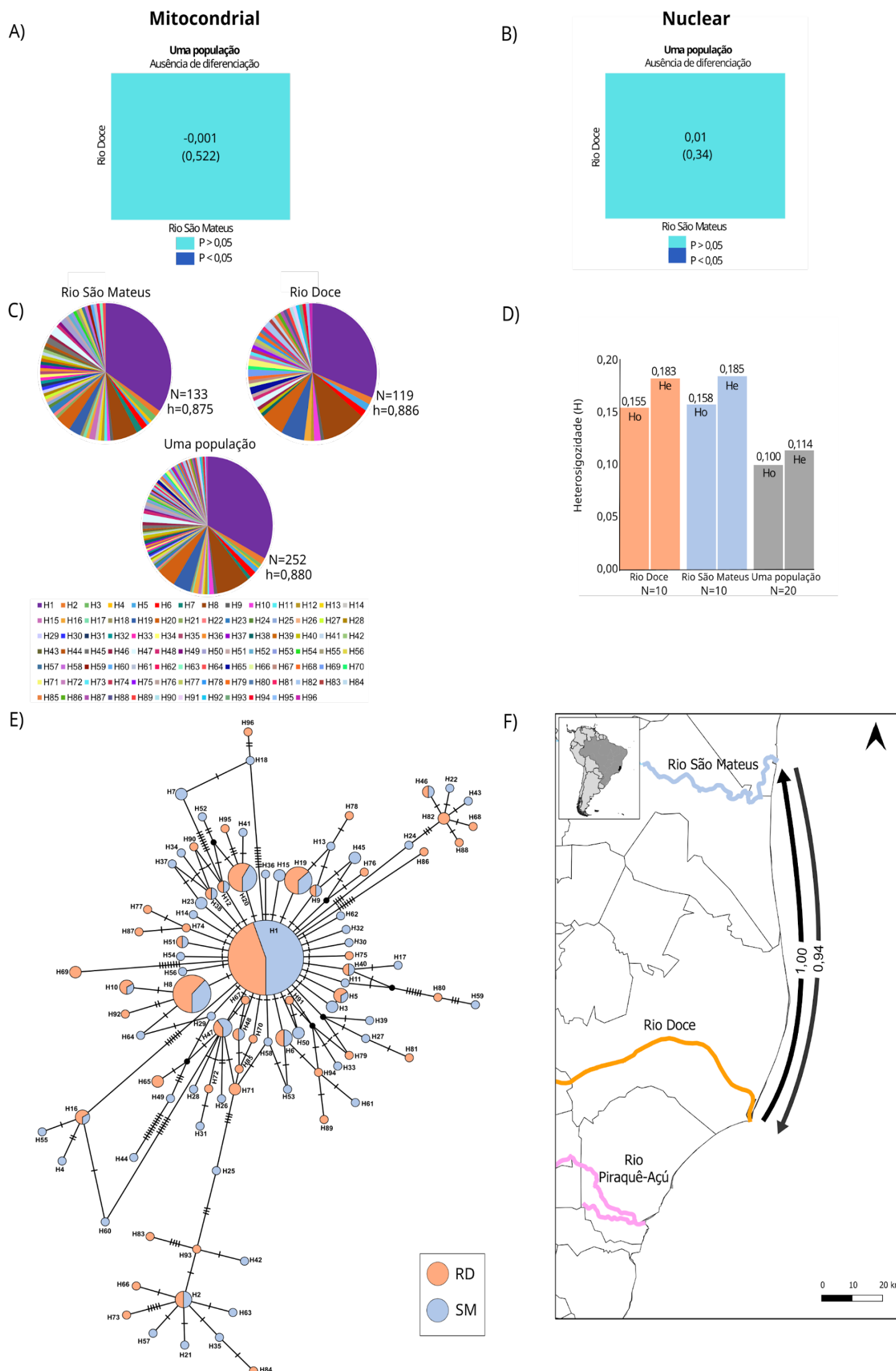
Os resultados da população descritos a seguir são os do RA 2024 (incluindo indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024). Dez amostras foram analisadas a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de reads brutos variou de 362.606 a 531.912 por amostra. Após as filtrações, o número total de reads mantido variou de 111.346 a 143.180 por amostra e todos os reads foram padronizados para 27 pb. Após a prospecção de SNPs, o conjunto de dados final resultou em 3.375 SNPs com porcentagem de *missing data* estimada em 5,31%. Foi possível detectar ausência de diferenciação populacional entre os rios São Mateus e rio Doce nas análises de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,04$ ;  $P=0,1$ ), sendo a maior quantidade de variação encontrada dentro das populações (95,72%). Portanto, os indivíduos dos rios São Mateus e rio Doce possuem alto fluxo gênico e representam uma única população. Foram encontrados valores moderados de heterozigosidade observada e esperada ( $H_o=0,170$ ;  $H_e=0,202$ ) para a única população identificada, considerando o número de SNPs avaliados. Os resultados da função *divMigrate* indicam forte fluxo gênico entre os rios amostrados, sendo maior do rio Doce para o rio São Mateus (1,00), o que demonstra a importância desse rio na composição de bagres-guri das unidades amostrais adjacentes.



Figura 27: Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial (N=252) e nuclear (N=20) de indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) do rio Doce e rio São Mateus. A) e B) Gráficos de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  par-a-par) mitocondrial e nuclear, respectivamente; valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica. D) Gráfico de heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ). E) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto, diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM) e rio Doce (RD); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. F) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce e rio São Mateus), onde cada seta representa a direção do fluxo gênico e as cores indicam a sua intensidade (preto para o mais intenso e degradê de cinza para os menos intensos). \*Os resultados populacionais do DNA nuclear são de indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024, que serão atualizados no relatório anual.

Imagem ilustrativa da espécie: Carla Isobel.

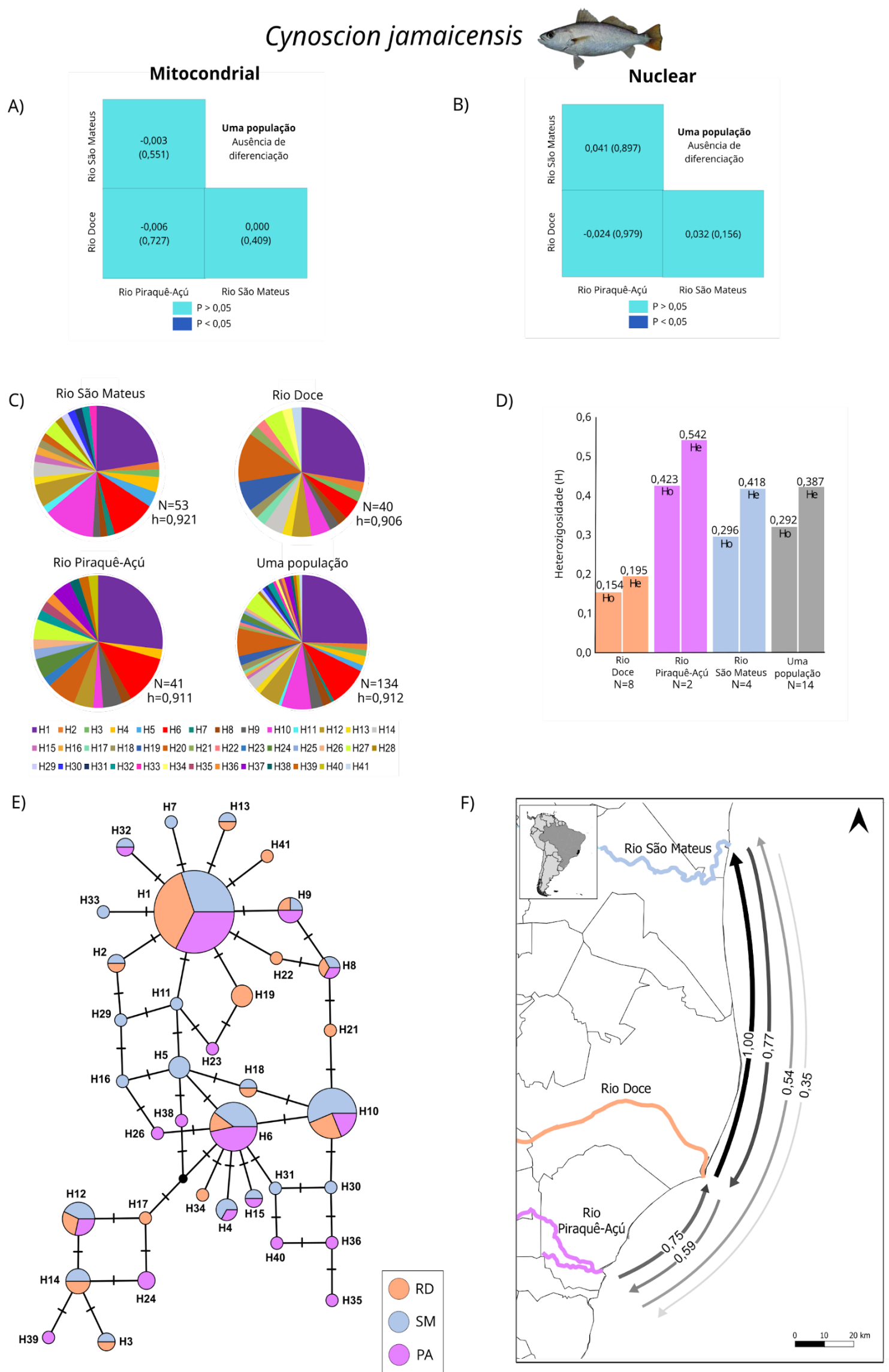
## *Centropomus parallelus*



Para o DNA mitocondrial, os 252 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) foram avaliados com o marcador D-loop (452 pb). Foi evidenciada ausência de diferenciação genética entre os indivíduos do rio Doce e o rio São Mateus de acordo com os valores de  $F_{ST}$  par-a-par e de AMOVA ( $F_{ST}=-0,001$ ;  $P=0,522$ ), e maior quantidade de variação dentro das populações (100,12%), o que indica que os indivíduos desses dois rios compõem uma única população com alto fluxo gênico entre os rios. Os resultados de diversidade haplotípica foram altos para a única população identificada ( $h=0,880$ ), sendo que o maior valor encontrado foi para o rio Doce ( $h=0,886$ ). Quanto à rede de haplótipos, foram identificados 96 haplótipos no total, ocorrendo em maior frequência o haplótipo 1 (H1), compartilhado entre o rio Doce e o rio São Mateus. Foram verificados vários haplótipos compartilhados e exclusivos para os dois rios.

Os resultados da população descritos a seguir são os do RA 2024 (incluindo indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024). O número de reads brutos para as 20 amostras analisadas da biblioteca 2bRAD variou de 271.447 a 457.624 por amostra. O número total de reads mantido após as filtrações variou de 102.405 a 136.392 por amostra e foram padronizados para 27 pb. Após a prospecção de SNPs resultaram 12.848 SNPs com porcentagem 4,25% de *missing data*. Foi possível detectar ausência de diferenciação genética entre os rios São Mateus e rio Doce, a partir dos valores de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,01$ ;  $P=0,53$ ) não significativos, o que sugere que os indivíduos amostrados nos rios São Mateus e rio Doce pertencem a uma única população com alto fluxo gênico. A maior quantidade de variação foi encontrada dentro das populações (99,24%). Foram encontrados valores moderados de heterozigosidade observada e esperada para a única população identificada ( $H_o=0,100$ ;  $H_e=0,114$ ), considerando que esta espécie possui maior número de SNPs avaliados. Os resultados da função *divMigrate* indicam forte fluxo gênico entre os rios avaliados, sendo o maior fluxo gênico do rio Doce para o rio São Mateus (1,00), ressaltando a importância desse rio para áreas adjacentes.

Figura 28: Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial (N=134) e nuclear (N=14) de indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) e B) Gráficos de diferenciação populacional ( $F_{ST}$ ) mitocondrial e nuclear, respectivamente; valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica. D) Gráfico de heterozigosidade observada ( $H_o$ ) e esperada ( $H_e$ ). E) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açú (PA); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. F) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú), onde cada seta representa a direção do fluxo gênico e as cores indicam a sua intensidade (preto para o mais intenso e degradê de cinza para os menos intensos). \* Os resultados populacionais do DNA nuclear são de indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024, que serão atualizados no relatório anual. Imagem ilustrativa da espécie: Robertson Ros.



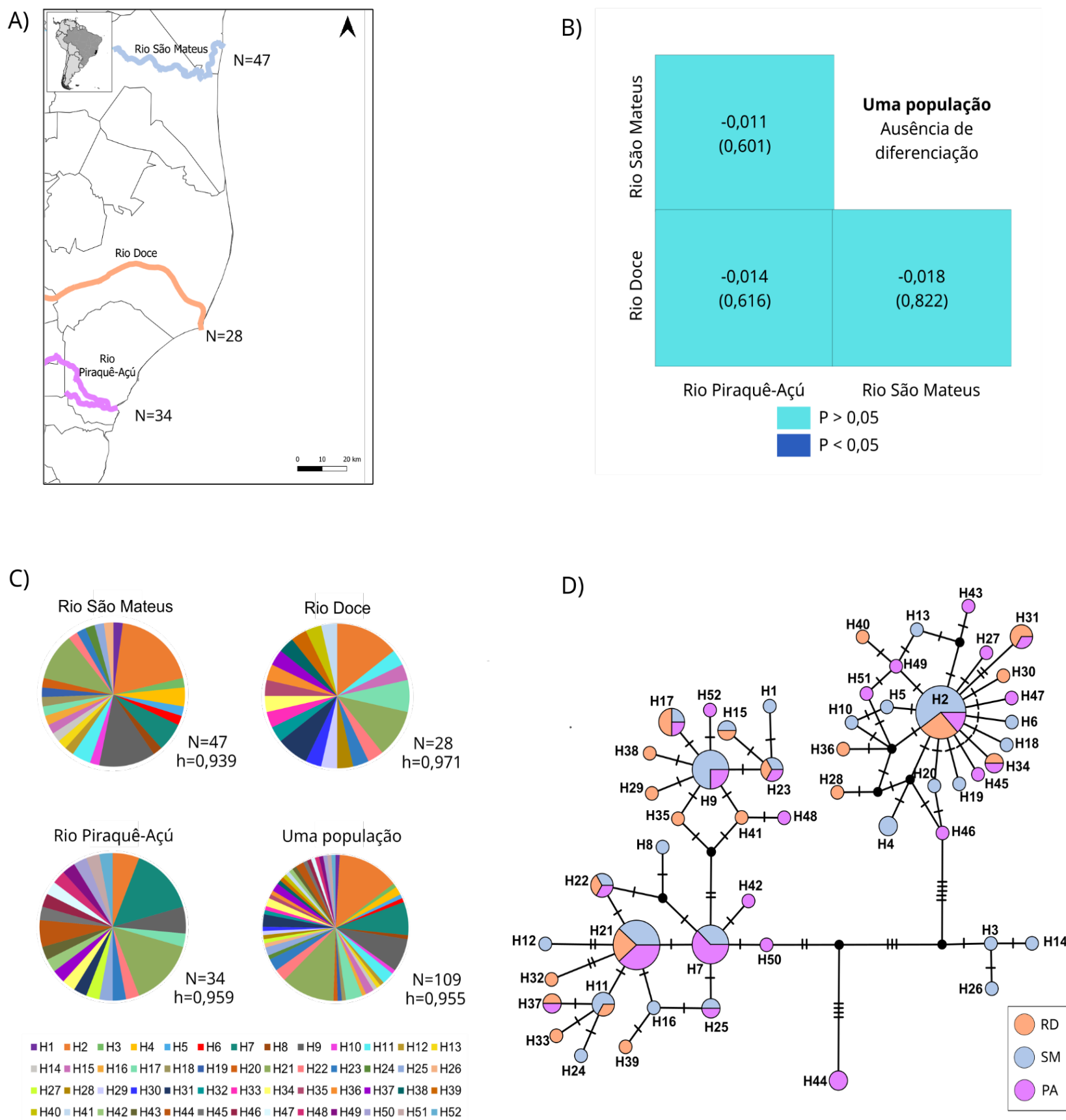
Para o DNA mitocondrial, os 134 indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) foram avaliados para o marcador D-loop (576 pb). Foi detectada ausência de diferenciação no teste de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=-0,002$ ;  $P=0,625$ ), sendo então os indivíduos de pescada-branca do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú pertencentes a uma mesma população. Os resultados da AMOVA também evidenciaram que a maior quantidade de variação se encontra dentro das populações (100,27%), o que indica alto fluxo gênico entre os rios. Foram detectados elevados valores de diversidade haplotípica na única população identificada ( $h=0,912$ ) e considerando as três unidades amostrais analisadas, sendo o rio São Mateus apresentou a maior diversidade haplotípica ( $h=0,921$ ). Quanto à rede de haplótipos é possível observar 41 haplótipos, com maior frequência do H1, compartilhado entre os três rios, além da existência de outros cinco haplótipos também compartilhados entre as três unidades amostrais (H6, H8, H9, H10, H12).

Os resultados da população descritos a seguir são os do RA 2024 (incluindo indivíduos coletados entre outubro de 2018 e janeiro de 2024). O número de reads brutos das 14 amostras analisadas variou de 316.466 a 458.409 por amostra. Após as filtrações, esses valores variaram de 265.688 a 423.657 por amostra, sendo todos os reads padronizados para 27 pb. Foram verificados 2.330 SNPs, com porcentagem de *missing data* de 13,58%. Foi detectada ausência de diferenciação populacional a partir das análises de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST}=0,014$ ;  $P=0,744$ ), sendo a maior quantidade de variação encontrada dentro das populações (98,58%), o que indica um alto fluxo gênico entre as localidades. Portanto, os indivíduos dos rios avaliados pertencem a uma única população. Considerando o número de SNPs avaliados, foram detectados altos níveis de heterozigosidade para a única população identificada ( $H_o=0,292$ ;  $H_e=0,387$ ). Apesar de ocorrer fluxo gênico entre os rios, é possível observar menores índices de diversidade para o rio Doce ( $H_o=0,154$ ;  $H_e=0,195$ ), mesmo com um maior número amostral em comparação com as outras unidades amostrais. Os resultados da função *divMigrate* indicaram alto fluxo gênico (1,00) do rio Doce para o rio São Mateus e moderado do rio São Mateus para o rio Doce (0,77). Esses resultados reforçam a importância do rio Doce na contribuição de migrantes para áreas adjacentes.



Figura 29: Índices de diversidade e estruturação genética mitocondrial de 109 indivíduos de Maria-luísia (*Paralonchurus brasiliensis*) provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) Mapa da região amostrada. B) Gráfico de diferenciação populacional ( $F_{ST}$  par-a-par); valores de P estão entre parênteses. C) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica. D) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açú (PA); quanto maior o círculo maior o número de indivíduos que possuem esse haplótipo; cada traço entre os haplótipos caracteriza um passo mutacional que diferencia um haplótipo do outro. Imagem ilustrativa da espécie: Raphael Macieira.

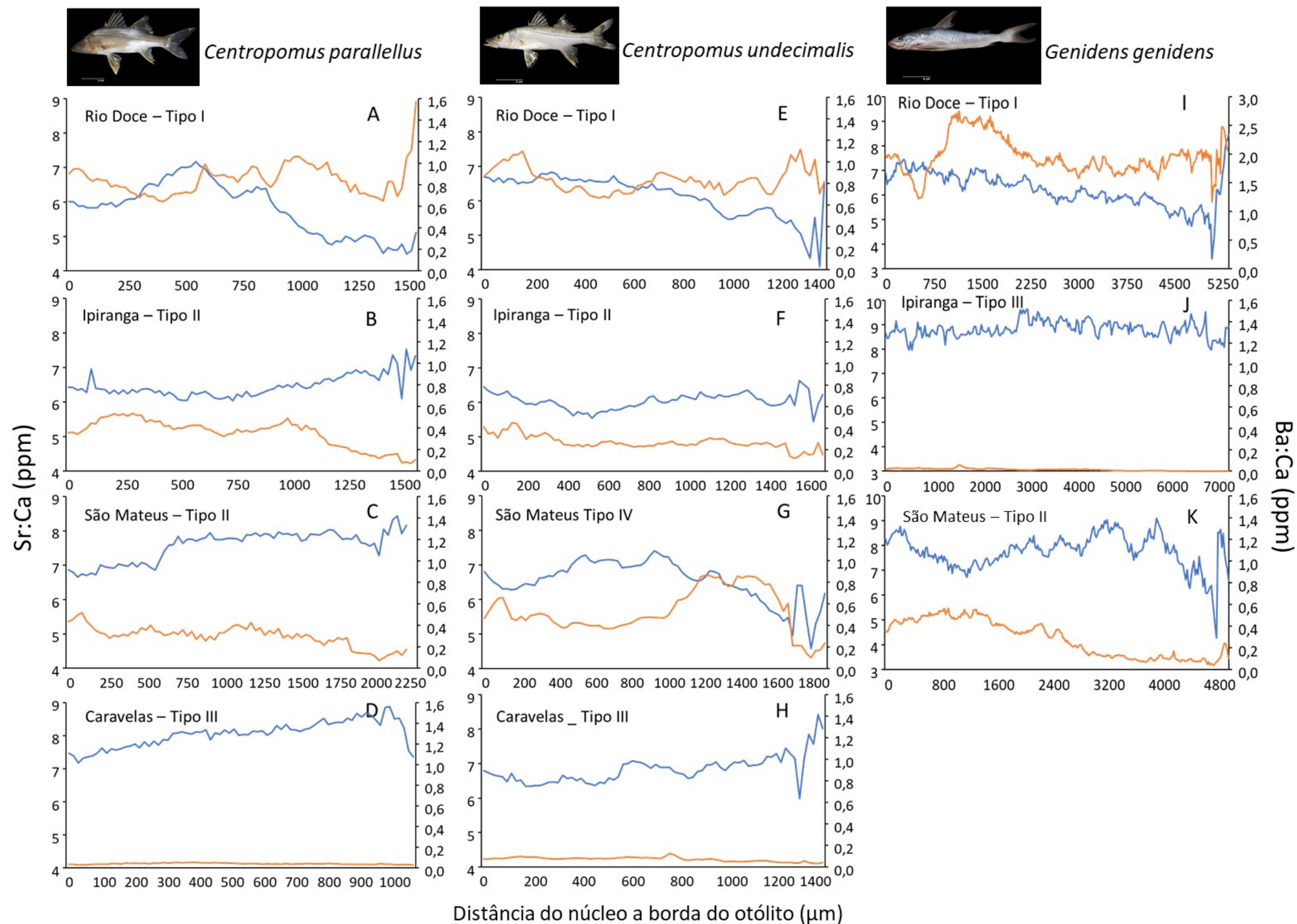
## *Paralonchurus brasiliensis*



Para o DNA mitocondrial, os 109 indivíduos da espécie *Paralonchurus brasiliensis* (Maria-luísia) foram avaliados com os marcadores D-loop, genes tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções do 12s rRNA e tRNA-Thr (585 pb). Os resultados de  $F_{ST}$  par-a-par e AMOVA ( $F_{ST} = -0,014$ ;  $P = 0,827$ ) indicam ausência de diferenciação entre as unidades amostrais avaliadas, portanto, pertencentes a uma mesma população. Os resultados de AMOVA também apontam que a maior quantidade de variação se encontra dentro das populações (101,4%) o que indica presença de fluxo gênico entre os três rios avaliados. Na rede de haplótipos, foram detectados 52 haplótipos, sendo o H2 o mais frequente, além da existência de outros quatro compartilhados entre os três rios (H17, H21, H22 e H23). Foram detectados altos valores de diversidade genética para a única população identificada ( $h = 0,955$ ) e para os rios avaliados, sendo o rio Doce com maior diversidade haplotípica ( $h = 0,971$ ).

### 3.7 MICROQUÍMICA DE OTÓLITOS

Figura 30: Microquímica de otólitos. Fase I: Perfis médios das razões Sr:Ca (x1000 ppm) e Ba:Ca (x10000 ppm) ao longo da vida do *Centropomus parallelus*, *Centropomus undecimalis* e *Genidens genidens* coletados nos rios Doce, Ipiranga, São Mateus e Caravelas. Linha azul = Sr:Ca e linha alaranjada = Ba:Ca.





Através das análises das razões Sr:Ca e Ba:Ca, observamos que as três espécies, média por local de coleta, estudadas apresentaram quatro padrões distintos de uso de habitat, ao longo dos diferentes ambientes coletados. As três espécies coletadas (*C. parallelus*, *C. undecimalis* e *G. genidens*) no rio Doce foram classificadas dentro do Tipo I (peixes de água doce/estuarino oportunistas) apresentaram elevados valores da razão Ba:Ca e baixos valores da razão Sr:Ca, realizando ainda algumas incursões para região estuarina, identificados através do aumento das razão Sr:Ca em detrimento de uma diminuição da razão Ba:Ca (Figura 30 A, E e I). Exemplares de *C. parallelus* coletados nos rios Ipiranga e São Mateus, *C. undecimalis*, coletados no rio Ipiranga, e *G. genidens* coletados no rio São Mateus, foram classificados como Tipo II (peixes exclusivamente estuarinos), caracterizada pelos perfis das razões de Sr:Ca sempre acima dos perfis das razões de Ba:Ca, no entanto, essa amplitude de variação é moderada, ou seja, elevada razão de Sr:Ca e moderada razão de Ba:Ca, mantendo esse padrão constante ao longo da vida (Figura 30 B, C, F e K). Tanto as duas espécies de robalos coletadas no rio Caravelas, como o de bagre-guri coletado no rio Ipiranga, foram classificados como Tipo III (peixes estuarinos/marinhos), uma vez que esses espécimes apresentaram os perfis das razões de Sr:Ca sempre acima dos perfis das razões de Ba:Ca, no entanto, com uma grande amplitude de variação (diferentemente do Tipo II), ou seja, elevada razão de Sr:Ca e baixa razão de Ba:Ca (Figura 30 D, H e J). Por fim, os exemplares do robalo *C. undecimalis* coletados no rio São Mateus foram classificados como Tipo IV (peixes estuarinos/água doce), onde apresentaram no início da vida (núcleo) perfis das razões de Sr:Ca acima dos perfis das razões de Ba:Ca, migrando ao longo da sua história de vida para ambiente de água doce (Figura 30 G).

Esses comportamentos eram esperados com base em registros frequentes de indivíduos em áreas de diferentes salinidades (DAROS *et al.*, 2016; AVIGLIANO *et al.*, 2017; GARRONE-NETO *et al.*, 2018). Interpretando os dados sob as hipóteses de relação entre as razões Sr:Ca e Ba:Ca e a salinidade da água, a variação das razões elementares nos exemplares coletados devem representar o uso dos ambientes de água doce, estuarino e marinho ao longo da história da vida de *C. parallelus*, *C. undecimalis* e *G. genidens* nos quatro estuários estudados. (FOWLER *et al.*, 2016; AVIGLIANO *et al.*, 2017, FRANCO *et al.*, 2018), apresentando assim, a partir das razões Sr:Ca e Ba:Ca, uma plasticidade ambiental em termos de residência e movimento entre um gradiente de salinidade das três espécies escolhidas. As altas concentrações de Ba:Ca, elemento este associado ao escoamento terrestre (HAMER *et al.*, 2006; ELSDON *et al.*, 2008), nas três espécies coletadas no rio Doce é reflexo da grande quantidade de sedimento depositado ao longo do rio, ocasionado pela ruptura da barragem a montante.

Tabela 11: Microquímica de otólitos. Fase I: Análise Canônica de Coordenadas Principais por local para assinatura química do *Genidens genides* (A), *Centropomus parallelus* (B) e *C. Undecimalis* (C).

	Classificação				A
Grupo Original	IP	RD	SM	Total	%correct
IP	38	4	8	50	76
RD	1	40	9	50	80
SM	19	2	25	46	54,39

Total correct: 103/146 (70,548%)

Mis-classification error: 29,452%

	Classificação					B
Grupo Original	CR	SM	RD	IP	Total	%correct
CR	45	1	3	1	50	90
SM	27	10	8	5	50	20
RD	5	5	32	8	50	64
IP	20	8	5	11	44	25

Total correct: 98/194 (50,515%)

Mis-classification error: 49,485%

	Classificação					C
Grupo Original	CR	IP	RD	SM	Total	%correct
CR	1	13	27	5	46	2,174
IP	1	13	21	3	38	34,211
RD	3	4	32	10	49	65,306
SM	0	13	30	4	47	8,511

Total correct: 50/180 (27,778%)

Mis-classification error: 72,222%

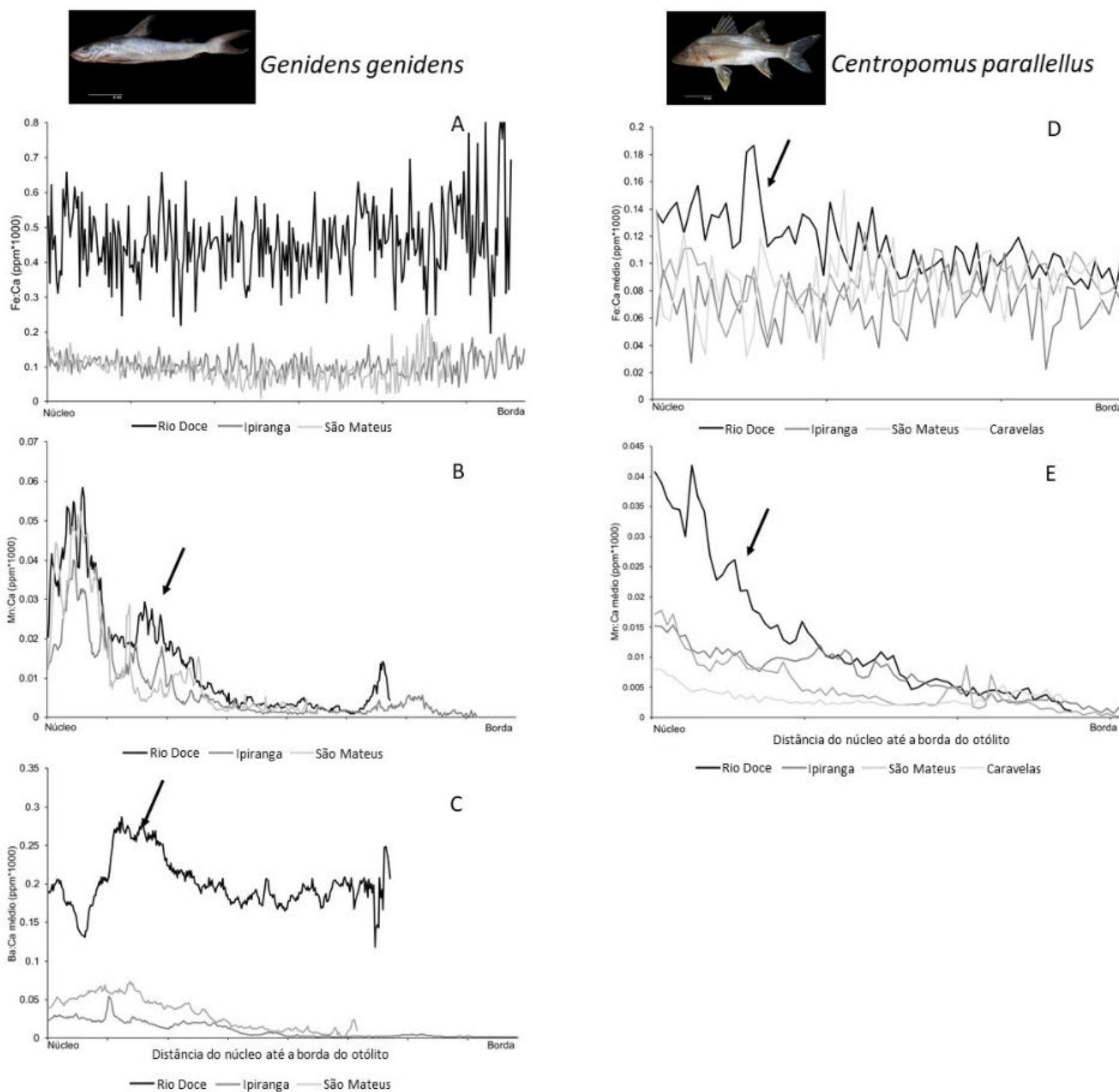
Foram inicialmente analisados nove elementos químicos nos otólitos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), sendo que apenas seis (Ba, Fe, Mg, Mn, Pb e Sr) foram possíveis de serem determinados, pois apresentaram concentrações acima do limite de detecção. Para todas as razões elemento:Ca (x1000 ppm), a PERMANOVA apresentou diferença significativa na assinatura multi-elementar dos otólitos entre os locais amostrados (Pseudo-F = 11,825; P=0,001). Quando realizadas as comparações de pares, entre os locais, apenas os rios Ipiranga e São Mateus não apresentaram diferenças significativas nas assinaturas químicas multi-elementar (Pair-wise Test t=1,162; P=0,225, Tabela 11 A).

Para o robalo-flexa (*Centropomus undecimalis*), foram analisados, inicialmente, 10 elementos químicos, dos quais foram possíveis determinar nove (Ba, Cd, Fe, Hg, Li, Mg, Mn, Pb e Sr), por apresentarem concentrações acima do limite de detecção. Para todas as razões elemento:Ca (x1000 ppm), diferentemente do encontrado para a espécie congênica, a PERMANOVA mostrou que as assinaturas químicas multi-elementares dos otólitos do robalo-flexa, entre os locais, não apresentaram diferenças significativas (Pseudo-F = 1,625; P=0,170) apresentando assim semelhanças em suas composições químicas entre os locais (Tabela 11 B).

Por fim, para o bagre-guri (*Genidens genidens*) foi possível determinar todos os 10 elementos químicos inicialmente analisados (Ba, Cd, Fe, Hg, Li, Mg, Mn, Pb, Rb e Sr). Para isso, a análise PERMANOVA apresentou diferenças significativas nas assinaturas químicas multi-elementar dos otólitos, entre os locais (Pseudo-F = 8,129; P=0,001). As comparações de pares, entre os locais, mostraram que apenas os rios Ipiranga e São Mateus não apresentaram diferenças significativas nas assinaturas químicas multi-elementar (Pair-wise Test t=1,226; P=0,225), assim como encontrado para o robalo-peva (Tabela 11C)

Através da Análise Canônica de Coordenadas Principais, foi possível avaliar a conectividade das espécies entre os locais de coleta. O bagre-guri (*G. genidens*) foi a espécie que apresentou a menor conectividade entre os ambientes, com uma porcentagem de reclassificação total de 70,55% (Tabela 11 A). O robalo-peva (*C. parallelus*) apresentou uma porcentagem de reclassificação total de aproximadamente 50%, conectividade mediana, porém considerando apenas os locais, rio Caravelas e rio Doce apresentaram uma baixa com porcentagem de reclassificação de 90% e 64% respectivamente (Tabela 11 B). Por fim, o robalo-flecha (*C. undecimalis*) obteve uma baixa porcentagem de reclassificação total, aproximadamente 28%, mostrando que a espécie possui uma alta conectividade entre os rios estudados. Considerando apenas o rio Doce, 65% dos exemplares foram re-classificados como provenientes do mesmo local, ou seja, com uma baixa conectividade (Tabela 11 C).

Figura 31: Microquímica de otólitos. Fase I: Perfis da concentração média das razões Fe:Ca (A), Mn:Ca (B) e Ba:Ca (C) nos otólitos do *Genidens genidens* coletados nos Rios Doce, Ipiranga e São Mateus. Perfis da concentração média das razões Fe:Ca (D) e Mn:Ca (E) nos otólitos do *Centropomus parallelus* coletados nos Rios Doce, Ipiranga, São Mateus e Caravelas. As setas indicam a presença da lama de rejeito da Barragem de Fundão na foz do rio Doce.



Através das análises de dados obtidos no ano 1, foi possível observar através dos perfis cronológicos dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), as concentrações de alguns elementos químicos indicativos da presença do MLD.

Através das análises cronológicas das matrizes dos otólitos do bagre-guri (*G. genidens*), entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Fe:Ca, Mn:Ca e Ba:Ca mostraram ser bons indicadores desses elementos nos otólitos, uma vez que apresentou aumento de suas concentrações na área diretamente afetada (rio Doce). O ferro (Fe), um dos elementos mais presentes ao MLD, apresentou maior concentração média, nos otólitos provenientes do rio Doce, aproximadamente cinco vezes maior que os otólitos analisados nos rios Ipiranga e São Mateus (Figura 31 A). Outro elemento presente no MLD, é o manganês (Mn), o qual apareceu de forma consistente, através de dois picos de elevadas concentrações, sendo que o primeiro pico ocorreu próximo ao núcleo, sendo esse referente a transferência materna na fase de óvulo, o que é comumente encontrado em diversas espécies de peixes (STURROCK *et al.*, 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, se faz referente ao evento de rompimento da barragem em 2015. Além de refletir a concentração presente no ambiente, o aumento do manganês pode estar relacionado hipóxia, ou seja, a falta de oxigênio no ambiente aquático (LIMBURG *et al.*, 2015), gerado pelo abrupto acúmulo de sedimento na desembocadura do rio Doce (Figura 31 B). Por fim, o bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON *et al.*, 2008; SOETH *et al.*, 2020), uma vez que é um elemento químico proveniente da lixiviação do leito dos rios. Nos bagres analisados na região do rio Doce apresentou um aumento acentuado de bário nos perfis dos otólitos analisados, sendo superior a quatro vezes a concentrações encontradas nos rios Ipiranga e São Mateus (Figura 31 C), indicando assim, provavelmente, a presença da chegada da lama na foz do rio Doce. Além dos três elementos citados acima, também foram analisados o cádmio (Cd) e chumbo (Pb), porém ambos os elementos não apresentaram a relação causa e efeito do MLD, área diretamente afetada.

Para os otólitos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), cronologicamente analisados entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Fe:Ca e Mn:Ca, assim como para o bagre-guri, mostraram-se bons indicadores, uma vez que os indivíduos analisados, provenientes do rio Doce, apresentaram aumento em suas concentrações na área diretamente afetada pelo rompimento da barragem. O ferro encontrado nos otólitos analisados do rio Doce, apresentaram concentrações médias superiores aos analisados nas regiões do rio Ipiranga, São Mateus e Caravelas (Figura 31 D). Quanto as análises de manganês, foi possível, novamente, determinar os dois picos de elevadas concentrações do elemento, sendo o primeiro de origem fisiológica, intrínseca a diversas espécies (STURROCK *et al.*, 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, referente ao MLD (Figura 31 E).

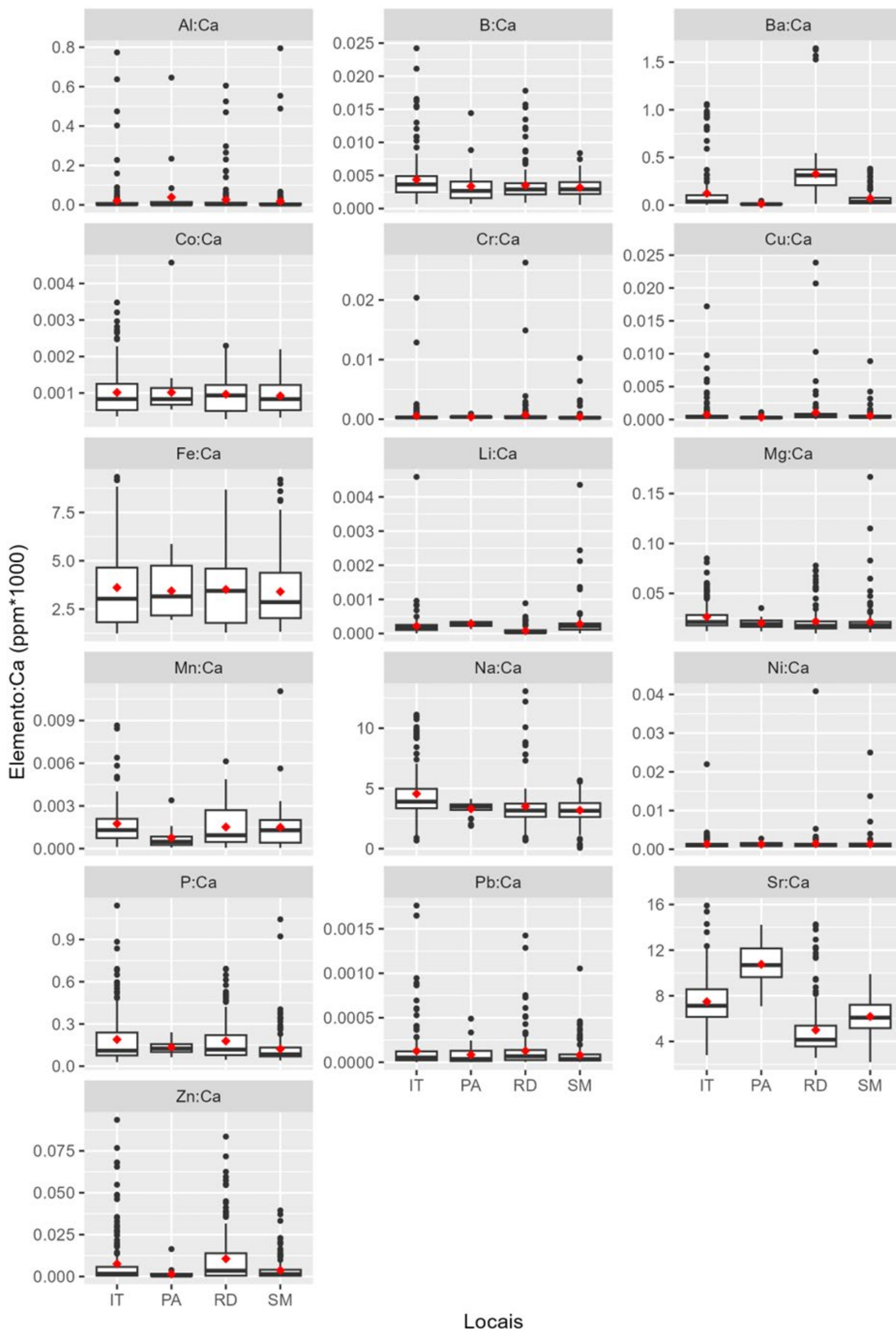
Tabela 12: Microquímica de otólitos. Fase II: Média  $\pm$  desvio padrão e Kruskal Wallis das razões Elemento:Ca (mmol/mol) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Genidens genidens* (bagre-guri) coletados nos estuários dos rios Itapemirim, rio Doce e São Mateus, entre outubro de 2022 e janeiro de 2024. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

Elemento:Ca	Média $\pm$ desvio padrão				$X^2$	df	p.valor
	Itapemirim	Piraque-Açu	rio Doce	São Mateus			
Li:Ca	0.001 $\pm$ 0.0008 <sup>a</sup>	0.002 $\pm$ 0.0013 <sup>b</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0005 <sup>c</sup>	0.001 $\pm$ 0.0018 <sup>a</sup>	187.90	3	<b>0.00</b>
B:Ca	0.012 $\pm$ 0.0054 <sup>a</sup>	0.001 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.009 $\pm$ 0.0044 <sup>bc</sup>	0.011 $\pm$ 0.005 <sup>ac</sup>	25.52	3	<b>0.00</b>
Na:Ca	6.763 $\pm$ 2.1343 <sup>a</sup>	6.214 $\pm$ 1.1148 <sup>a</sup>	5.2260 $\pm$ 1.4931 <sup>b</sup>	5.575 $\pm$ 1.8881 <sup>b</sup>	59.54	3	<b>0.00</b>
Mg:Ca	0.034 $\pm$ 0.0103 <sup>a</sup>	0.034 $\pm$ 0.0235 <sup>ac</sup>	0.028 $\pm$ 0.006 <sup>b</sup>	0.032 $\pm$ 0.0183 <sup>c</sup>	53.90	3	<b>0.00</b>
Al:Ca	0.006 $\pm$ 0.009	0.0311 $\pm$ 0.1309	0.028 $\pm$ 0.1151	0.043 $\pm$ 0.2239	4.65	3	0.20
P:Ca	0.154 $\pm$ 0.0887 <sup>a</sup>	0.173 $\pm$ 0.0597 <sup>b</sup>	0.162 $\pm$ 0.0869 <sup>ab</sup>	0.131 $\pm$ 0.0691 <sup>c</sup>	35.02	3	<b>0.00</b>
Cr:Ca	0.0003 $\pm$ 0.0012 <sup>ac</sup>	0.001 $\pm$ 0.0031 <sup>b</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0022 <sup>a</sup>	0.0002 $\pm$ 0.0006 <sup>c</sup>	51.66	3	<b>0.00</b>
Mn:Ca	0.001 $\pm$ 0.0012	0.0008 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.001	0.0001 $\pm$ 0.0011	5.47	3	0.14
Fe:Ca	2.296 $\pm$ 1.2089 <sup>a</sup>	2.585 $\pm$ 0.9551 <sup>b</sup>	2.263 $\pm$ 1.2073 <sup>a</sup>	2.465 $\pm$ 1.3251 <sup>ab</sup>	9.43	3	<b>0.02</b>
Co:Ca	0.0005 $\pm$ 0.0002 <sup>a</sup>	0.0006 $\pm$ 0.0002 <sup>b</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0002 <sup>a</sup>	0.0006 $\pm$ 0.0003 <sup>ab</sup>	10.64	3	<b>0.01</b>
Ni:Ca	0.0007 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>	0.0008 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	0.0007 $\pm$ 0.0002 <sup>a</sup>	0.0007 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>	18.23	3	<b>0.00</b>
Cu:Ca	0.000 3 $\pm$ 0.0005 <sup>a</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0013 <sup>ac</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0005 <sup>b</sup>	0.0002 $\pm$ 0.0001 <sup>bc</sup>	36.12	3	<b>0.00</b>
Zn:Ca	0.002 $\pm$ 0.005 <sup>ac</sup>	0.0009 $\pm$ 0.0021 <sup>a</sup>	0.003 $\pm$ 0.0072 <sup>b</sup>	0.001 $\pm$ 0.002 <sup>bc</sup>	18.32	3	<b>0.00</b>
Sr:Ca	3.291 $\pm$ 0.9336 <sup>a</sup>	4.953 $\pm$ 0.6592 <sup>b</sup>	2.0623 $\pm$ 0.644 <sup>c</sup>	2.921 $\pm$ 0.7562 <sup>d</sup>	284.31	3	<b>0.00</b>
Ba:Ca	0.021 $\pm$ 0.0234 <sup>a</sup>	0.005 $\pm$ 0.0061 <sup>b</sup>	0.083 $\pm$ 0.0374 <sup>c</sup>	0.02 $\pm$ 0.0241 <sup>a</sup>	301.85	3	<b>0.00</b>
Pb:Ca	0.00001 $\pm$ 0.00001	0.000001 $\pm$ 0.0001	0.00001 $\pm$ 0.00001	0.000001 $\pm$ 0.0001	4.99	3	0.17



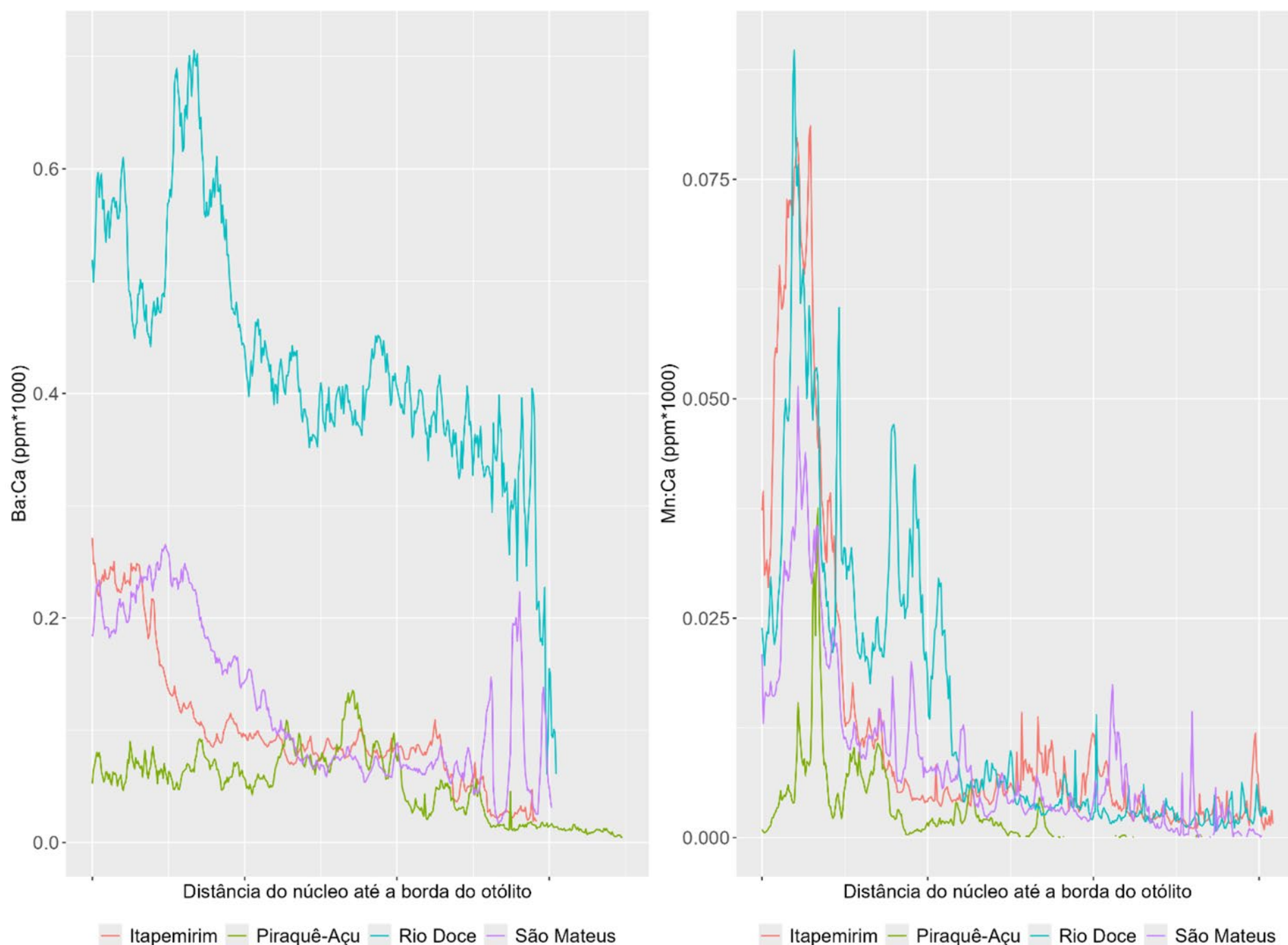
Os resultados dos testes não-paramétricos de Kruskal Wallis das razões elemento:Ca (mmol/mol) da borda dos otólitos (últimas camadas formadas, representando o local onde os exemplares foram coletados) do bagre-guri, *Genidens genidens*, apresentaram valores estatisticamente semelhantes para as médias das razões Al:Ca, Mn:Ca e Pb:Ca. As demais razões elemento:Ca apresentaram médias estatisticamente significativas entre os estuários. Observa-se uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem, onde o estuário do rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, apresentou a maior média apenas na razão Ba:Ca, elemento este, relacionado com o aporte do MLD da barragem no rio Doce. Já as médias das razões de Mg:Ca, Na:Ca foram maiores no Rio Itapemirim e a média da razão Sr:Ca no Piraquê-Açu (Tabela 12).

Figura 32: Microquímica de otólitos. Fase II: Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (mmol/mol) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*. Ponto vermelho representa a média. IT = Rio Itapemirim, PA = Piraquê-Açu, RD = rio Doce e SM = Rio São Mateus.



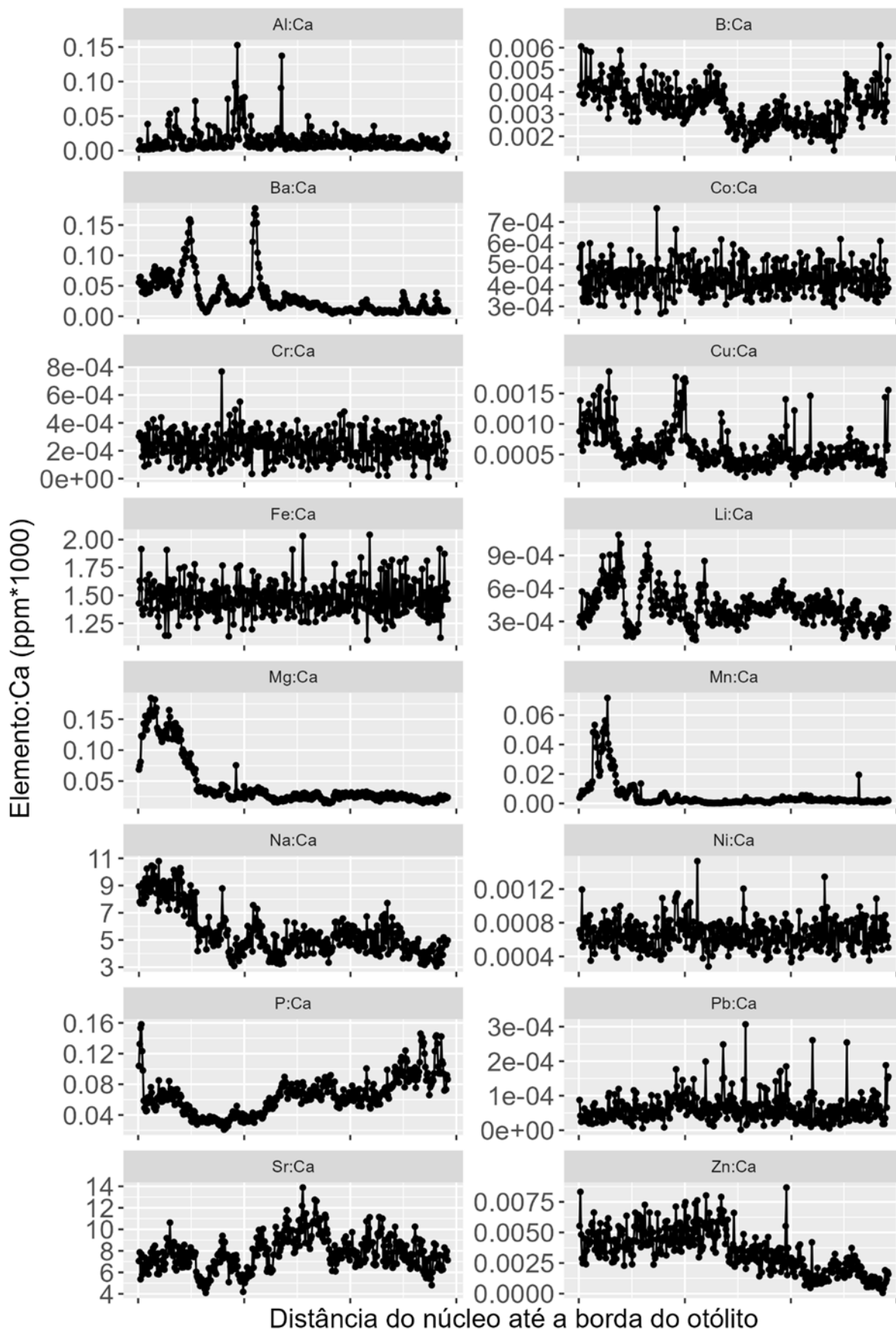
As relações dos elementos presentes nas bordas dos otólitos, local onde ocorre a deposição na matriz dos otólitos mais recentes dos elementos presentes na água, seguem as mesmas premissas apresentadas na Figura 32.

Figura 33: Microquímica de otólito. Fase II: Perfis cronológicos das razões médias Elementos:Ca (mmol/mol) nos otólitos de *Genidens genidens* adultos coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus.



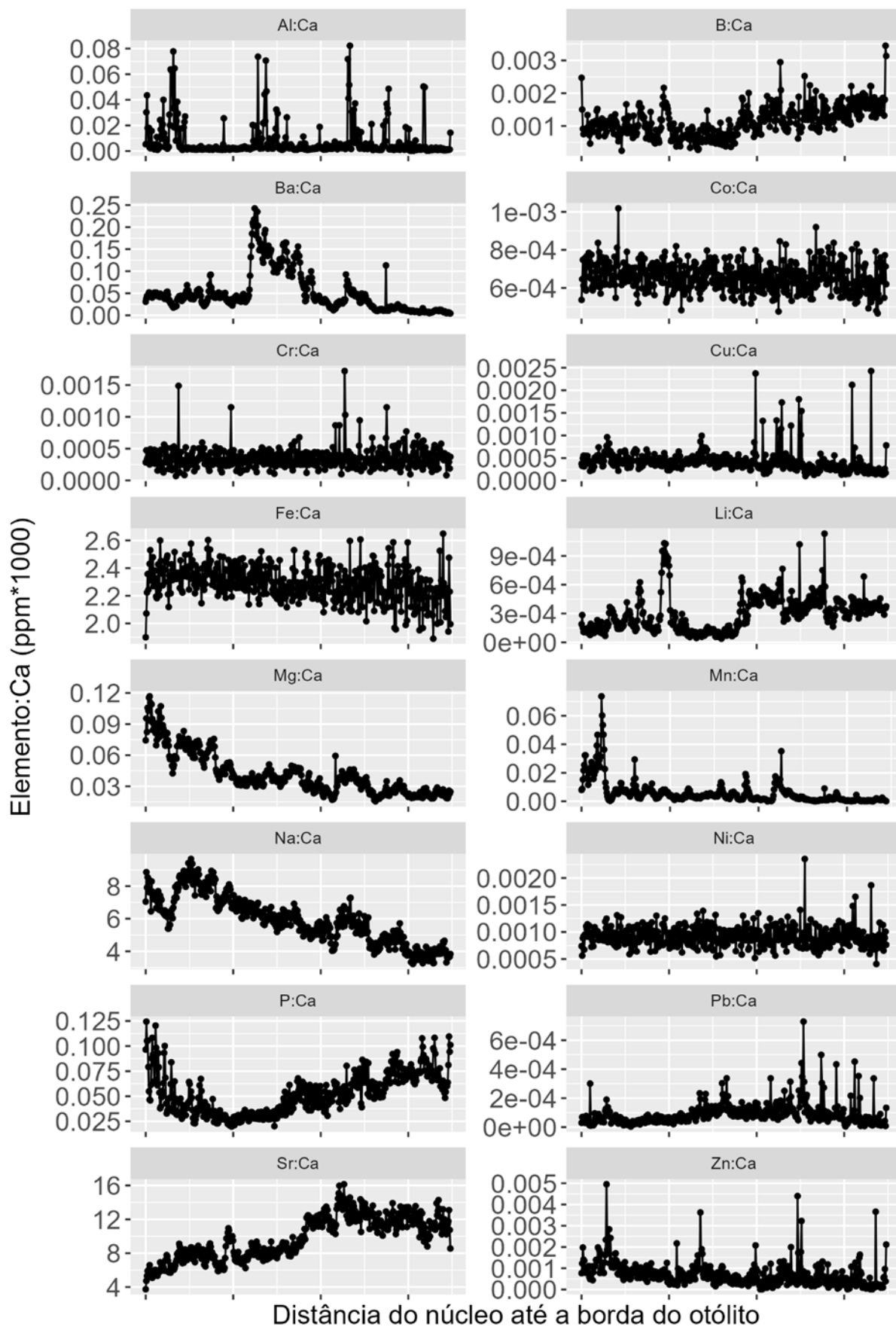
Através das análises de dados obtidos entre outubro de 2022 e janeiro de 2024, foi possível observar através dos perfis cronológicos médios dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), as concentrações de alguns elementos químicos indicativos da presença do MLD. Através das análises cronológicas das matrizes dos otólitos do bagre-guri (*G. genidens*), entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Mn:Ca e Ba:Ca mostraram ser bons indicadores, uma vez que apresentou aumento de suas concentrações na área diretamente afetada (rio Doce). O manganês (Mn), elemento presente no MLD, apareceu de forma consistente, através de dois picos de elevadas concentrações, sendo que o primeiro pico ocorreu próximo ao núcleo, sendo esse referente a transferência materna na fase de óvulo, o que é comumente encontrado em diversas espécies de peixes (STURROCK *et al.*, 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, se faz referente ao evento de rompimento da barragem em 2015. Além de refletir a concentração presente no ambiente, o aumento do manganês pode estar relacionado a hipóxia, ou seja, a falta de oxigênio no ambiente aquático (LIMBURG *et al.*, 2015), gerado pelo abrupto acúmulo de sedimento na desembocadura do rio Doce. Por fim, o bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON *et al.*, 2005; SOETH *et al.*, 2020), uma vez que é um elemento químico proveniente da lixiviação do leito dos rios. Nos bagres analisados na região do rio Doce apresentou um aumento acentuado de bário nos perfis dos otólitos analisados, sendo superior as médias das razões encontradas nos demais estuários. Os padrões dos perfis cronológicos apresentados pelas médias das razões Mn:Ca e Ba:Ca, foram os mesmos apresentados pelas amostragens do ano 1 para o bagre-guri, *Genidens genidens*.

Figura 34: Microquímica de otólitos. Fase II: Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (mmol/mol) no otólito de *Genidens genidens* A: Itapemirim, B: Piraque-Açu, C: rio Doce e D: São Mateus. A)

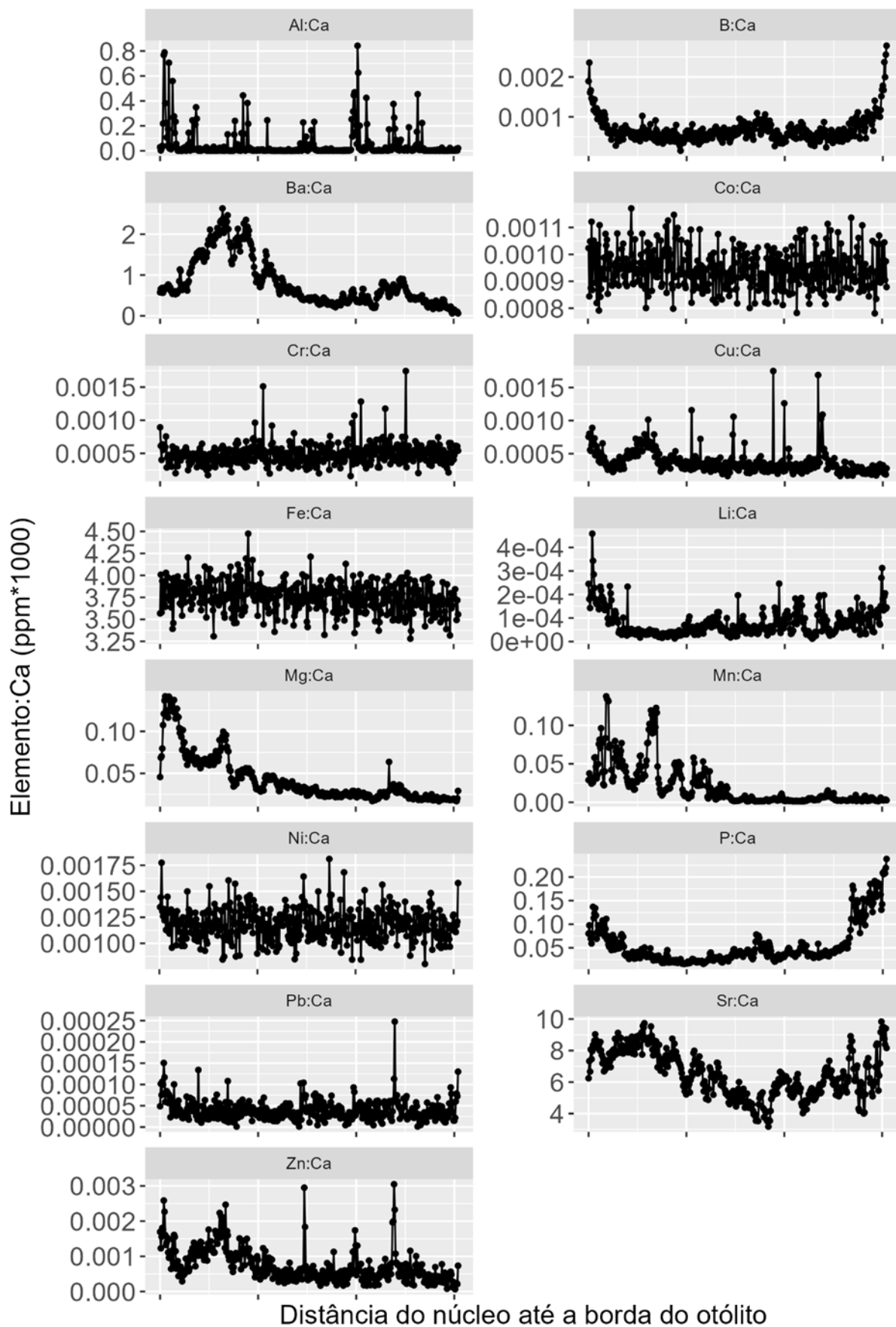




B)

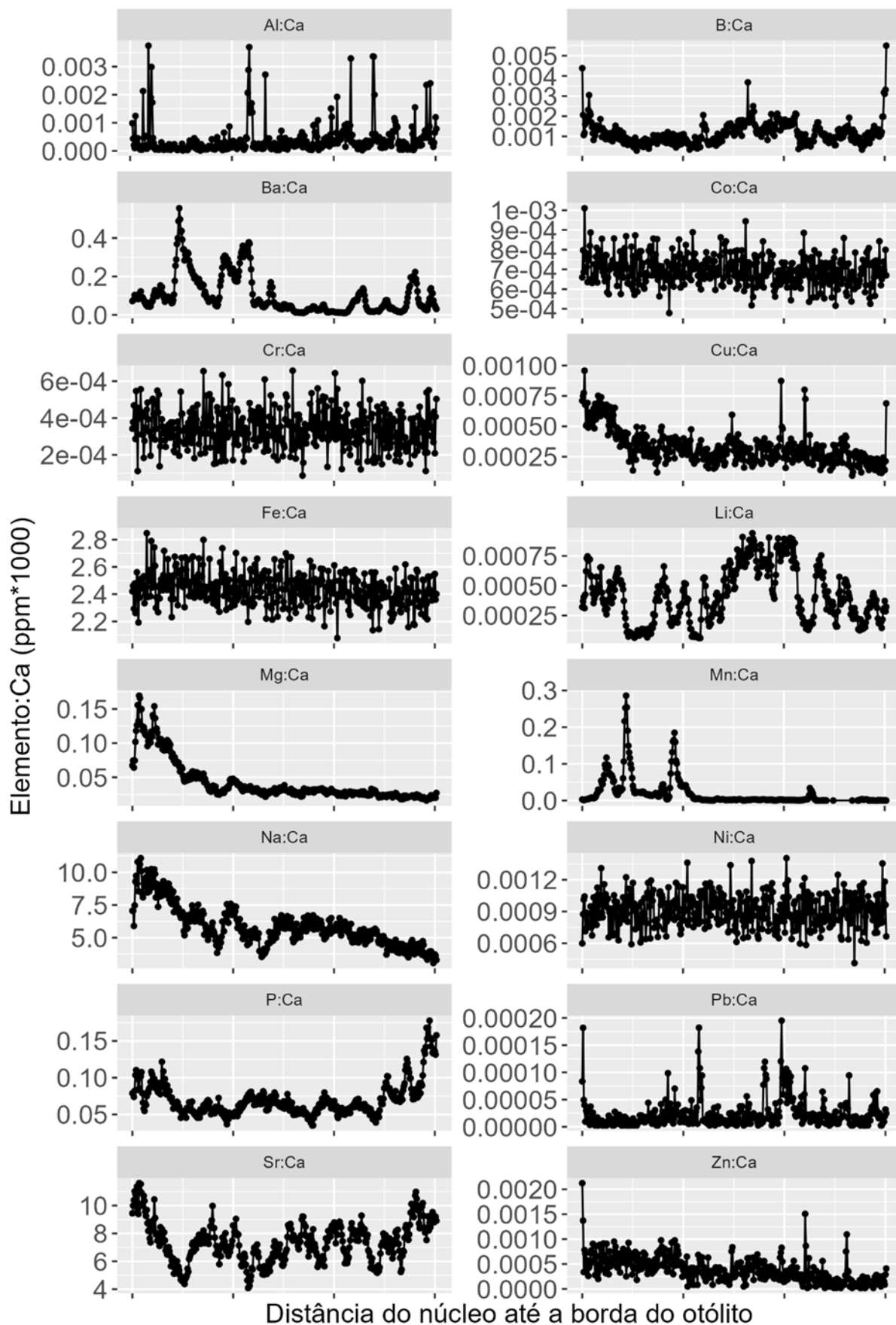


C)





D)



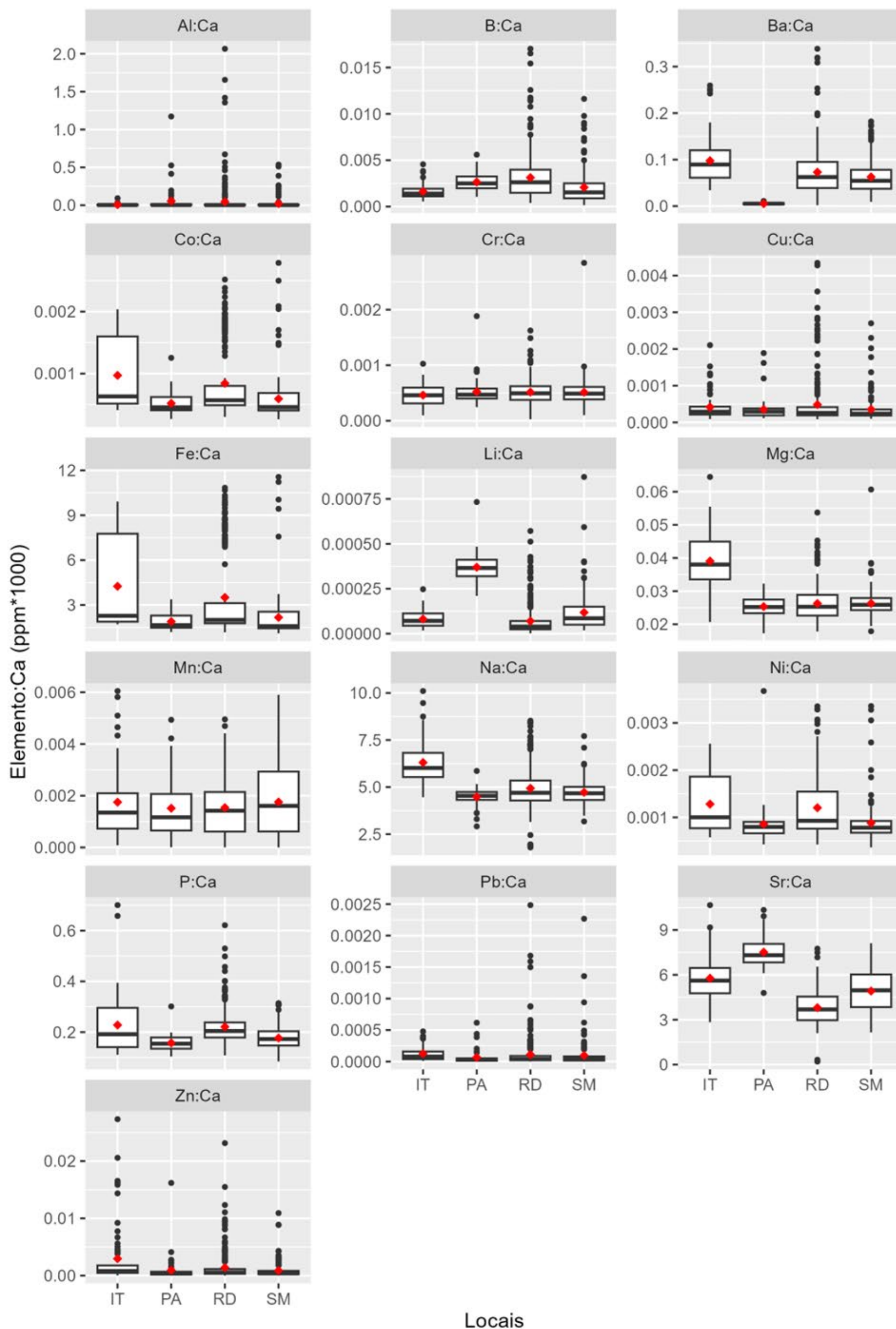
Considerando os maiores indivíduos coletados por local, e os elementos químicos indicativos da presença do MLD, razões Al:Ca, Ba:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Mn:Ca e Pb:Ca. O perfil da razão Al:Ca apresentou as maiores concentrações nos anos iniciais dos exemplares coletados nos estuários do rio Doce e São Mateus, com as maiores concentrações no estuário de São Mateus. Os perfis da razão Ba:Ca apresentaram flutuações ao longo da vida dos quatro exemplares. As flutuações, estão relacionadas com os ciclos hidrológicos, tendo em vista que a razão Ba:Ca é comumente utilizada como *proxy* de lixiviação fluvial (ELSDON *et al.*, 2008; SOETH *et al.*, 2020). Os perfis de Cr:Ca, também apresentaram flutuações cronológicas, com os maiores valores no rio Doce. Os perfis cronológicos das razões Fe:Ca apresentaram picos significativos ao longo do tempo, com as maiores concentrações no estuário do São Mateus. Com relação a razão Mn:Ca, onde as maiores concentrações próximo ao núcleo estão associadas à transferência materna na fase de óvulo (STURROCK *et al.*, 2015), os demais picos podem estar associados com outros processos, pois também é um elemento indicativo da baixa concentração de O<sub>2</sub> dissolvido na água (Limburg *et al.*, 2015) (Figura 34). Variações das razões elemento:Ca, além de estarem relacionadas com a concentração do elemento no ambiente, podem ser influenciados por variáveis abióticas (ex. temperatura, concentração de O<sub>2</sub>), fisiológicas (eg. crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (e.g., migração, alimentação) (HÜSSY *et al.*, 2020).

Tabela 13: Microquímica de otólitos. Média  $\pm$  desvio padrão e Kruskal Wallis das razões Elemento:Ca (mmol/mol) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* (robalo-peva) coletados nos estuários do rio Itapemirim, Piraquê-Açú, rio Doce e São Mateus, entre agosto de 2023 e janeiro de 2024. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes. Dados faltantes apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção.

Elemento:Ca	Média $\pm$ desvio padrão				$X^2$	df	p.valor
	Itapemirim	Piraquê-Açu	Rio Doce	São Mateus			
Li:Ca	0.0004 $\pm$ 0.0002 <sup>a</sup>	0.002 $\pm$ 0.0004 <sup>b</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0004 <sup>c</sup>	0.0006 $\pm$ 0.0005 <sup>a</sup>	203.59	3	<b>7.03E-44</b>
B:Ca	0.005 $\pm$ 0.002 <sup>a</sup>	0.008 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>	0.01 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.007 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup>	65.54	3	<b>3.84E-14</b>
Na:Ca	11.16 $\pm$ 2.06 <sup>a</sup>	7.91 $\pm$ 0.79 <sup>b</sup>	8.61 $\pm$ 1.88 <sup>b</sup>	8.28 $\pm$ 1.10 <sup>b</sup>	119.3	3	<b>1.09E-25</b>
Mg:Ca	0.06 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.04 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup>	0.04 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup>	0.042 $\pm$ 0.004 <sup>b</sup>	133.01	3	<b>1.21E-28</b>
Al:Ca	0.005 $\pm$ 0.007	0.01 $\pm$ 0.04	0.01 $\pm$ 0.06	0.02 $\pm$ 0.10	6.01	3	0.11
P:Ca	0.27 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.19 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.27 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.22 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	104.23	3	<b>1.91E-22</b>
Cr:Ca	0.0003 $\pm$ 0.0001	0.0003 $\pm$ 0.0001	0.0003 $\pm$ 0.0001	0.0003 $\pm$ 0.0001	7.75	3	0.05
Mn:Ca	0.001 $\pm$ 0.001	0.001 $\pm$ 0.0008	0.001 $\pm$ 0.0008	0.001 $\pm$ 0.0009	2.01	3	0.57
Fe:Ca	3.02 $\pm$ 2.15 <sup>a</sup>	1.35 $\pm$ 0.43 <sup>b</sup>	2.52 $\pm$ 2.03 <sup>c</sup>	1.57 $\pm$ 1.138 <sup>b</sup>	71.03	3	<b>2.56E-15</b>
Co:Ca	0.0006 $\pm$ 0.0004 <sup>a</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0001 <sup>b</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>	0.0004 $\pm$ 0.0002 <sup>b</sup>	56.05	3	<b>4.09E-12</b>
Ni:Ca	0.0008 $\pm$ 0.0004 <sup>a</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0002 <sup>b</sup>	0.0008 $\pm$ 0.0004 <sup>a</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0002 <sup>b</sup>	43.8	3	<b>1.65E-09</b>
Cu:Ca	0.0001 $\pm$ 8E-05	0.0001 $\pm$ 0.0001	0.0002 $\pm$ 0.0003	0.0001 $\pm$ 0.0001	7.3	3	0.06
Zn:Ca	0.0006 $\pm$ 0.0009 <sup>a</sup>	0.0002 $\pm$ 0.0002 <sup>b</sup>	0.0005 $\pm$ 0.0008 <sup>c</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	39.56	3	<b>1.31E-08</b>
Sr:Ca	2.64 $\pm$ 0.72 <sup>a</sup>	3.45 $\pm$ 0.51 <sup>b</sup>	1.76 $\pm$ 0.54 <sup>c</sup>	2.25 $\pm$ 0.62 <sup>d</sup>	219.04	3	<b>3.23E-47</b>
Ba:Ca	0.03 $\pm$ 0.016 <sup>a</sup>	0.001 $\pm$ 0.0004 <sup>b</sup>	0.02 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	0.01 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	176.36	3	<b>5.37E-38</b>
Pb:Ca	1.9E-05 $\pm$ 2E-05 <sup>a</sup>	5E-06 $\pm$ 5E-06 <sup>b</sup>	1E-05 $\pm$ 1E-05 <sup>b</sup>	8E-06 $\pm$ 1E-05 <sup>b</sup>	43.2	3	<b>2.22E-09</b>

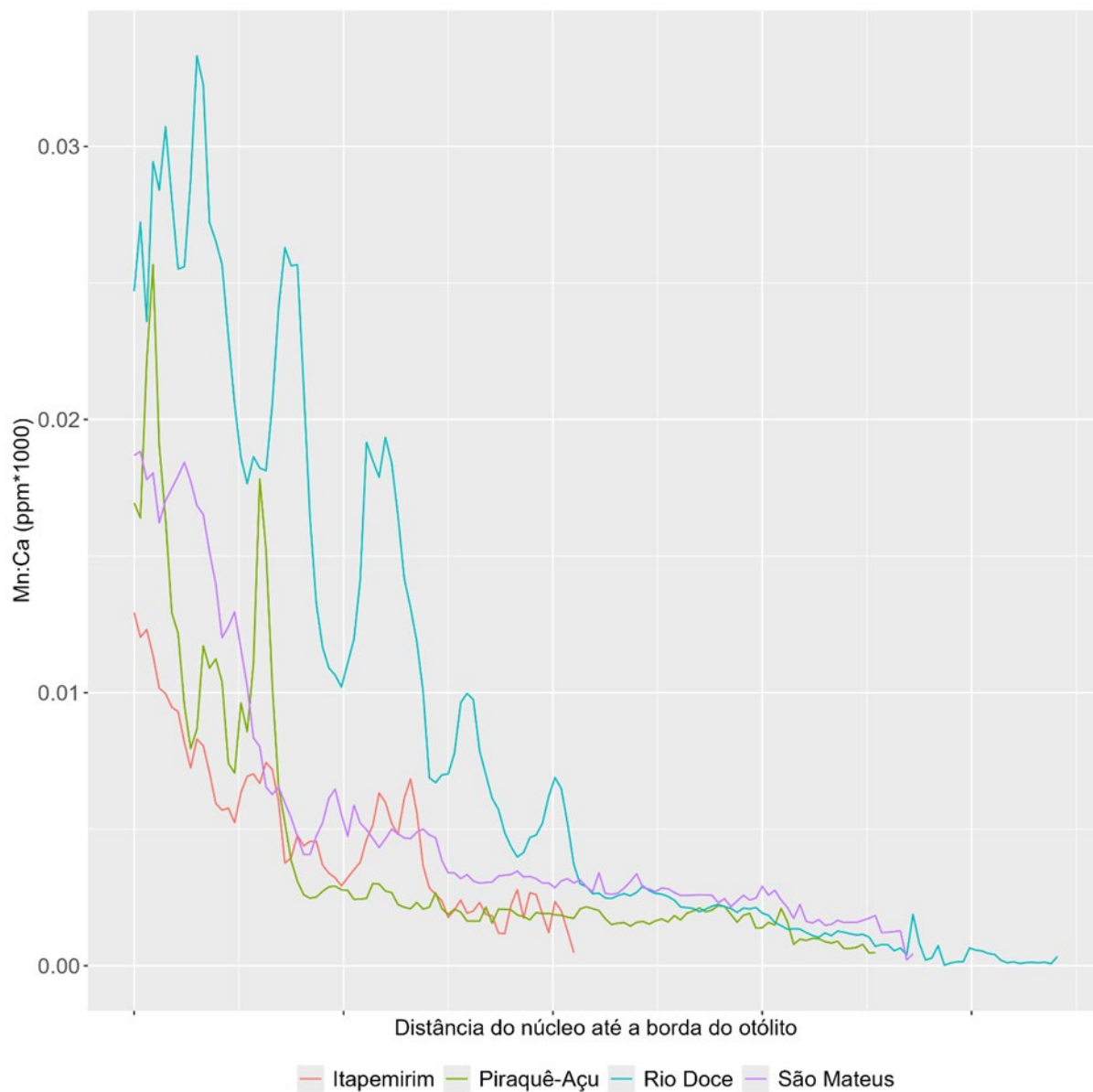
Através das razões Elemento:Ca (mmol/mol) da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Itapemirim, Piraquê-Açú, rio Doce e São Mateus), onde as razões médias de Al:Ca, Cr:Ca, Mn:Ca e Cu:Ca não apresentaram diferenças estatísticas entre os locais. O estuário do rio Doce, área diretamente afetada MLD, apresentou as maiores médias da razão Fe:Ca e Ba:Ca em relação aos estuários do Piraquê-Açu e São Mateus (Figura 13).

Figura 35: Microquímica de otólitos. Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm\*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do *Centropomus parallelus* (robalo peva). Ponto vermelho representa a média. IT = rio Itapemirim, RD = rio Doce e SM = rio São Mateus.



As relações dos elementos presentes nas bordas dos otólitos, local onde ocorre a deposição na matriz dos otólitos mais recente dos elementos presentes na água, seguem as mesmas premissas apresentadas na (Figura 35).

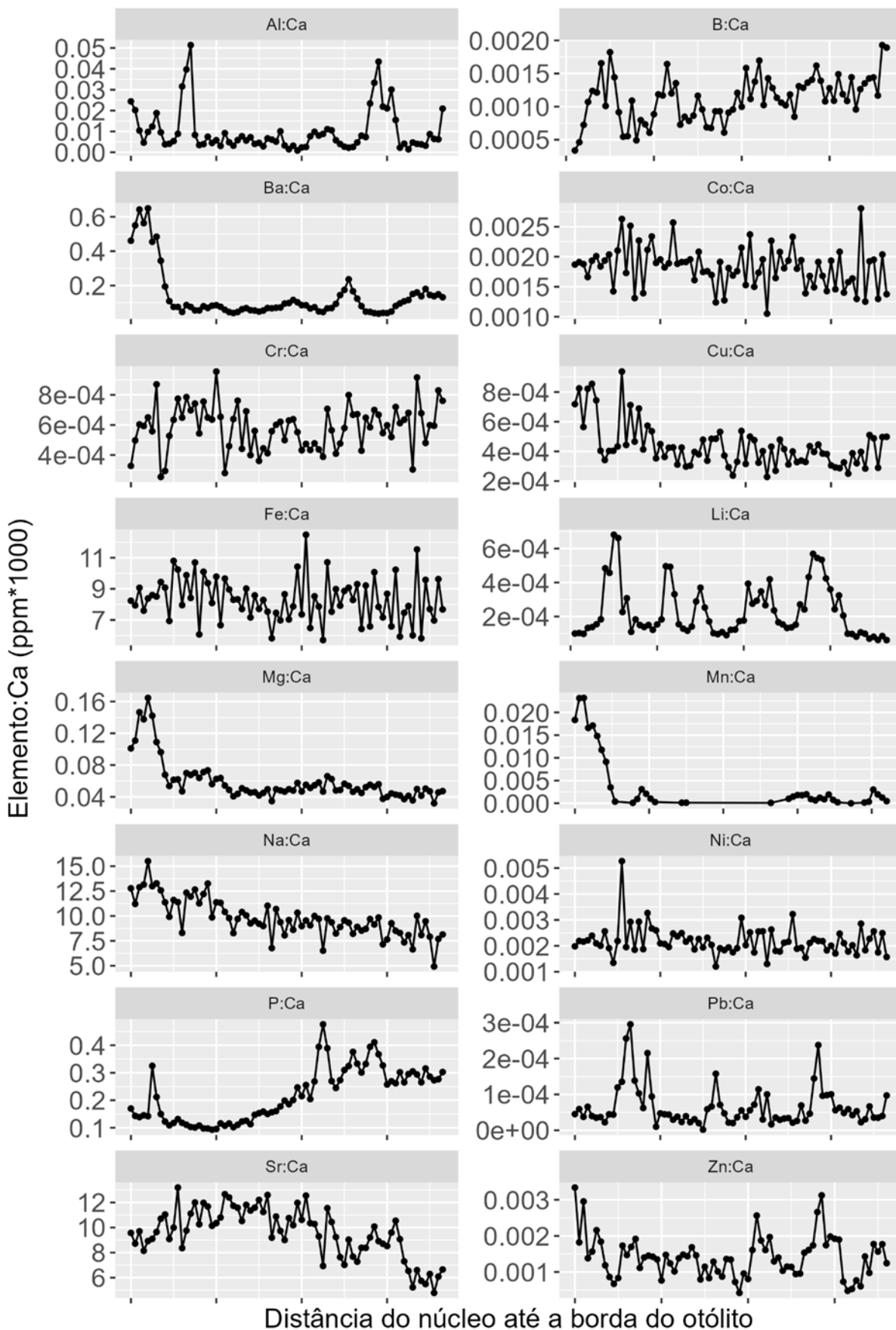
Figura 36: Microquímica de otólitos. Fase II: Perfil cronológico da razão média Mn:Ca (ppm \*10000) nos otólitos de *Centropomus parallelus* adultos coletados nos estuários dos Itapemirim, Piraquê-Açu, Rios Doce e São Mateus.



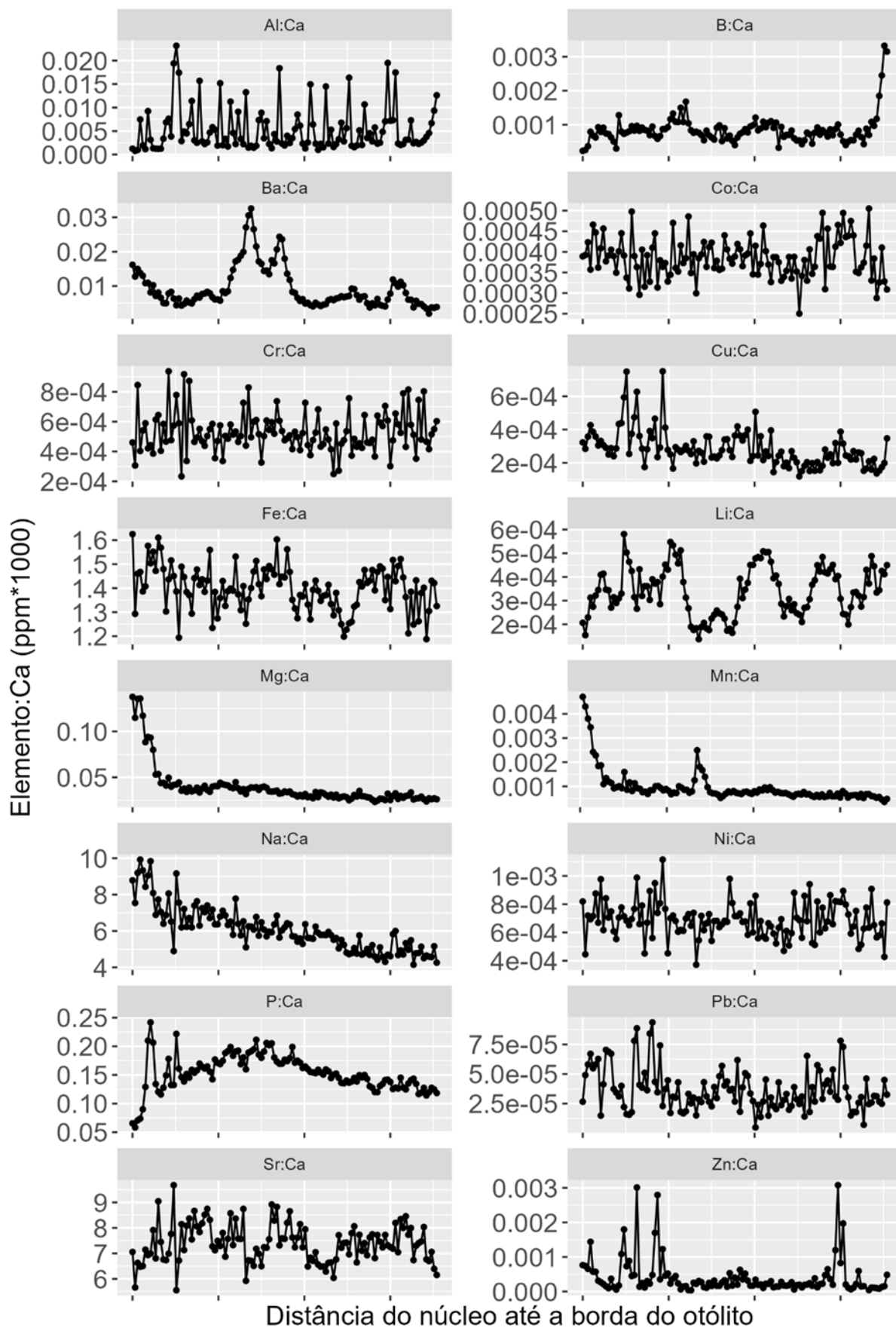
As análises microquímicas dos otólitos de robalo-peva obtidos entre agosto de 2023 e janeiro de 2024, mostraram através do perfil cronológico dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), a concentração de manganês (Mn), presente no MLD. Através das análises cronológicas, entre o núcleo e a borda, foi possível observar que a razão Mn:Ca apresentou aumento de suas concentrações na área diretamente afetada (rio Doce). O manganês (Mn), elemento presente no MLD, apareceu de forma consistente, através de dois picos de elevadas concentrações, sendo que o primeiro pico ocorreu próximo ao núcleo, sendo esse referente a transferência materna na fase de óvulo, o que é comumente encontrado em diversas espécies de peixes (STURROCK et al., 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, se faz referente ao evento de rompimento da barragem em 2015. Além de refletir a concentração presente no ambiente, o aumento do manganês pode estar relacionado a hipóxia, ou seja, a falta de oxigênio no ambiente aquático (LIMBURG et al., 2015), gerado pelo abrupto acúmulo de sedimento na desembocadura do rio Doce.



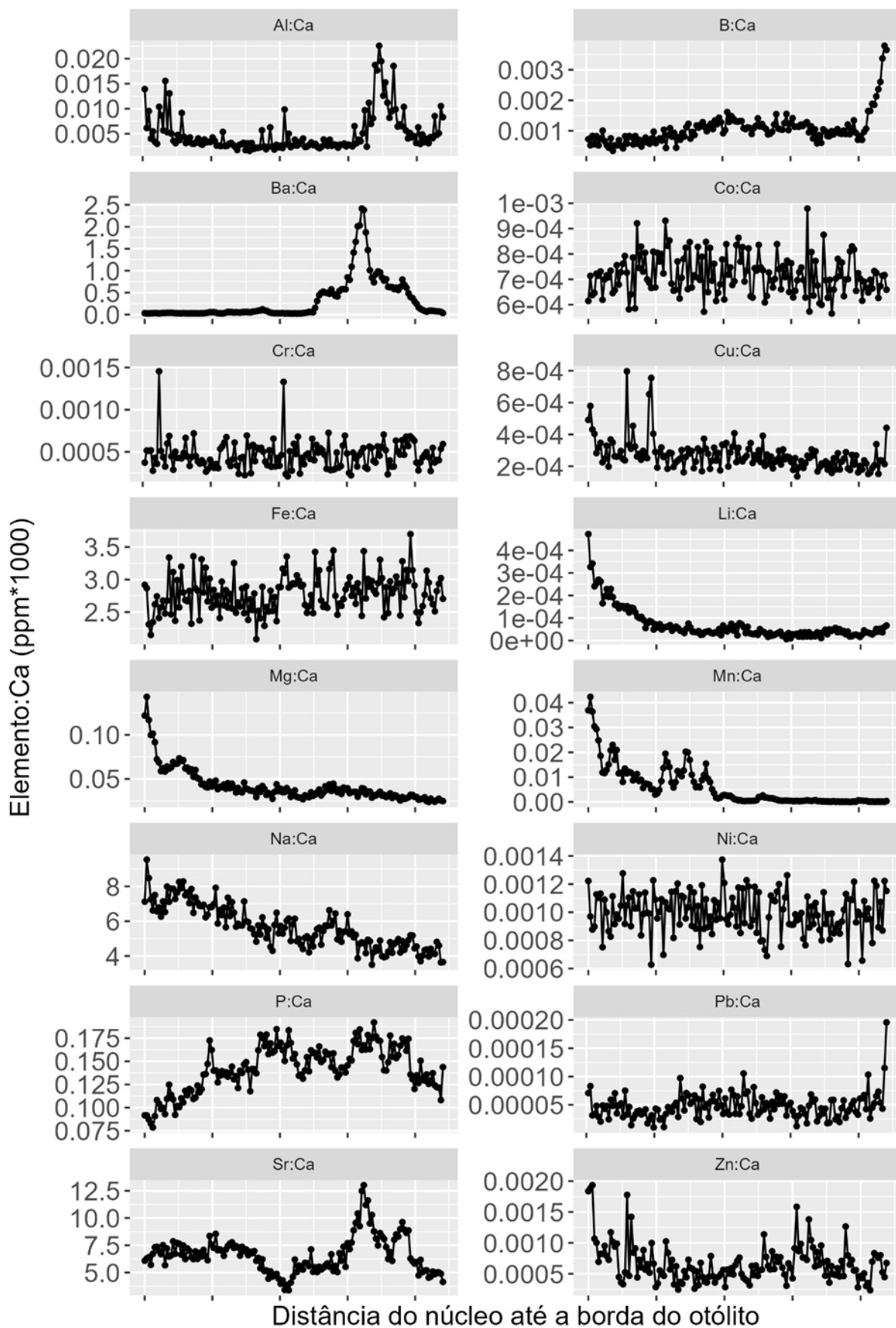
Figura 37: Microquímica de otólitos. Fase II: Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm\*1000) no otólito de *Centropomus parallelus*. A: Itapemirim (CT = 394 mm), B: Piraquê-Açu, C: rio Doce e D: São Mateus.A)



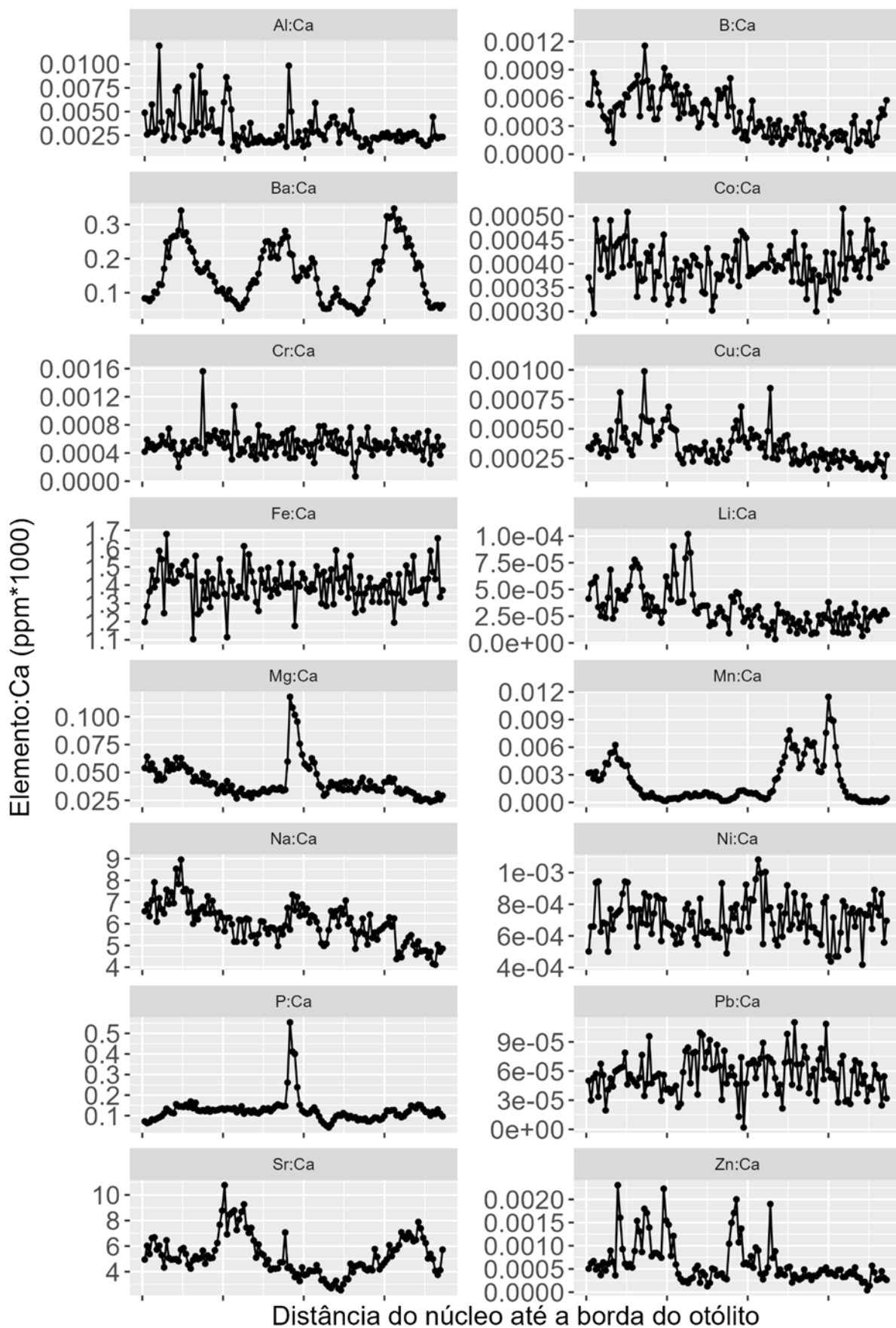
B)



C)



D)





Considerando os maiores indivíduos coletados por local, e os elementos químicos indicativos da presença do MLD, razões Al:Ca, Ba:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Mn:Ca e Pb:Ca, A razão Al:Ca, nos exemplares de robalo-peva, apresentou valores abaixo do limite de detecção em todos os estuários. Os perfis da razão Ba:Ca apresentaram flutuações nos primeiros anos de vida dos exemplares coletados nos estuários Itapemirim, Piraquê-Açu e São Mateus, característica da espécie (DAROS et al., 2016), principalmente no Piraquê-Açu, onde as razões atingiram picos com as maiores concentrações entre os estuários. As flutuações estão relacionadas com os ciclos hidrológicos, tendo em vista que a razão Ba:Ca é comumente utilizada como proxy de lixiviação fluvial (ELSDON et al., 2008; SOETH et al., 2020). Os perfis de Cr:Ca, apresentaram flutuações constantes, com tendências cíclicas, entre o núcleo e a borda dos otólitos, com as maiores concentrações no rio Doce e Itapemirim. Os perfis cronológicos das razões Fe:Ca não foram conclusivos. Com relação a razão Mn:Ca, onde as maiores concentrações próximo ao núcleo estão associadas à transferência materna na fase de óvulo (STURROCK et al., 2015), os demais picos, principalmente no rio Doce, onde apresentou as maiores concentrações, podem estar associados ao rompimento, em interação com outros processos, pois também é um elemento indicativo da baixa concentração de O<sub>2</sub> dissolvido na água (LIMBURG et al., 2015). Variações das razões elemento:Ca, além de estarem relacionadas com a concentração do elemento no ambiente, podem ser influenciados por variáveis abióticas (ex. temperatura, concentração de O<sub>2</sub>), fisiológicas (eg. crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (eg. migração, alimentação) (HÜSSY et al., 2020).

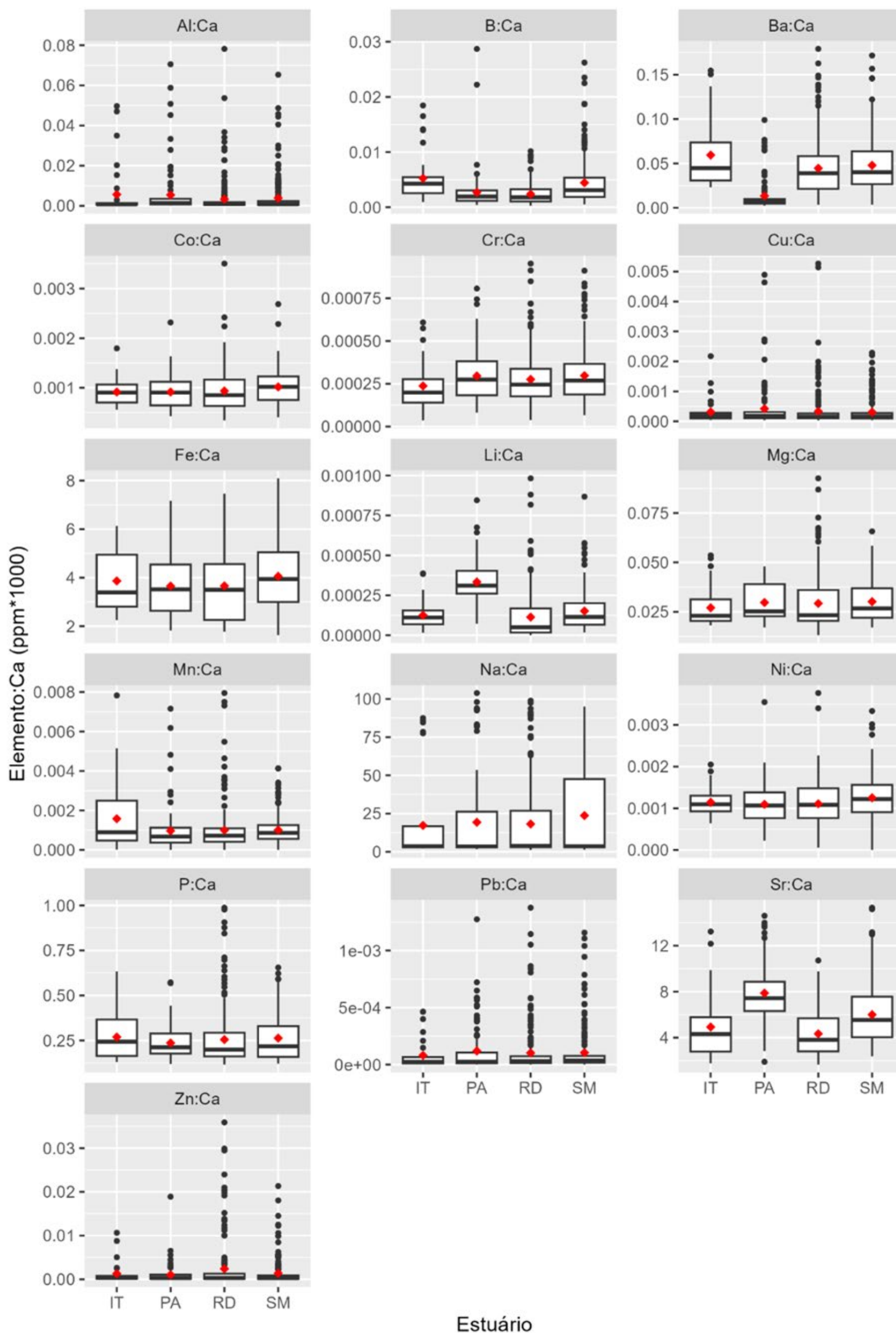
Tabela 14: Microquímica de otólitos. Fase II: Média  $\pm$  desvio padrão e Kruskal Wallis das razões elemento:Ca (ppm \*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Eugerres brasilianus* (carapeba) coletados nos estuários do rio Itapemirim, Piraque-Açu, rio Doce e São Mateus, entre outubro de 2022 e janeiro de 2024. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos ( $p < 0,05$ ), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média $\pm$ SD				$X^2$	df	p valor
	Itapemirim	Piraque-Açu	Rio Doce	São Mateus			
Al:Ca	0.005 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.005 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.003 $\pm$ 0.008 <sup>b</sup>	0.003 $\pm$ 0.008 <sup>b</sup>	9.44	3	<b>0.024</b>
B:Ca	0.005 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	0.002 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup>	0.002 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	0.004 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup>	72.49	3	<b>0.000</b>
Ba:Ca	0.05 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.01 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.04 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.04 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	150.07	3	<b>0.000</b>
Co:Ca	0.0009 $\pm$ 0.0002 <sup>ab</sup>	0.0009 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	0.0009 $\pm$ 0.0003 <sup>b</sup>	0.001 $\pm$ 0.0003 <sup>a</sup>	12.31	3	<b>0.006</b>
Cr:Ca	0.0002 $\pm$ 0.0001	0.0002 $\pm$ 0.0001	0.0002 $\pm$ 0.0001	0.0002 $\pm$ 0.0001	7.75	3	0.051
Cu:Ca	0.0003 $\pm$ 0.0004	0.0004 $\pm$ 0.0007	0.0003 $\pm$ 0.0006	0.0003 $\pm$ 0.0004	1.80	3	0.616
Fe:Ca	3.86 $\pm$ 1.16 <sup>ab</sup>	3.65 $\pm$ 1.31 <sup>ab</sup>	3.66 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>	4.05 $\pm$ 1.37 <sup>a</sup>	12.32	3	<b>0.006</b>
Li:Ca	0.0001 $\pm$ 0.00008 <sup>bc</sup>	0.0003 $\pm$ 0.0001 <sup>a</sup>	0.0001 $\pm$ 0.0001 <sup>c</sup>	0.0001 $\pm$ 0.0001 <sup>b</sup>	174.71	3	<b>0.000</b>
Mg:Ca	0.02 $\pm$ 0.009 <sup>b</sup>	0.02 $\pm$ 0.008 <sup>a</sup>	0.02 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0.03 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	13.16	3	<b>0.004</b>
Mn:Ca	0.001 $\pm$ 0.001 <sup>a</sup>	0.0009 $\pm$ 0.001 <sup>b</sup>	0.0009 $\pm$ 0.001 <sup>ab</sup>	0.001 $\pm$ 0.0007 <sup>a</sup>	10.34	3	<b>0.016</b>
Na:Ca	17.24 $\pm$ 27.24	19.31 $\pm$ 27.43	18.19 $\pm$ 25.91	23.71 $\pm$ 28.59	0.74	3	0.865
Ni:Ca	0.001 $\pm$ 0.0003 <sup>ab</sup>	0.001 $\pm$ 0.0004 <sup>b</sup>	0.001 $\pm$ 0.0005 <sup>b</sup>	0.001 $\pm$ 0.0005 <sup>a</sup>	11.16	3	<b>0.011</b>
P:Ca	0.26 $\pm$ 0.12	0.23 $\pm$ 0.08	0.25 $\pm$ 0.15	0.26 $\pm$ 0.12	2.78	3	0.427
Pb:Ca	0.00008 $\pm$ 0.0001	0.0001 $\pm$ 0.0002	0.0001 $\pm$ 0.0002	0.0001 $\pm$ 0.0001	2.38	3	0.497
Sr:Ca	4.92 $\pm$ 2.77 <sup>c</sup>	7.87 $\pm$ 2.54 <sup>a</sup>	4.33 $\pm$ 1.91 <sup>c</sup>	5.99 $\pm$ 2.54 <sup>b</sup>	137.40	3	<b>0.000</b>
Zn:Ca	0.001 $\pm$ 0.002	0.001 $\pm$ 0.002	0.002 $\pm$ 0.005	0.001 $\pm$ 0.003	1.36	3	0.714



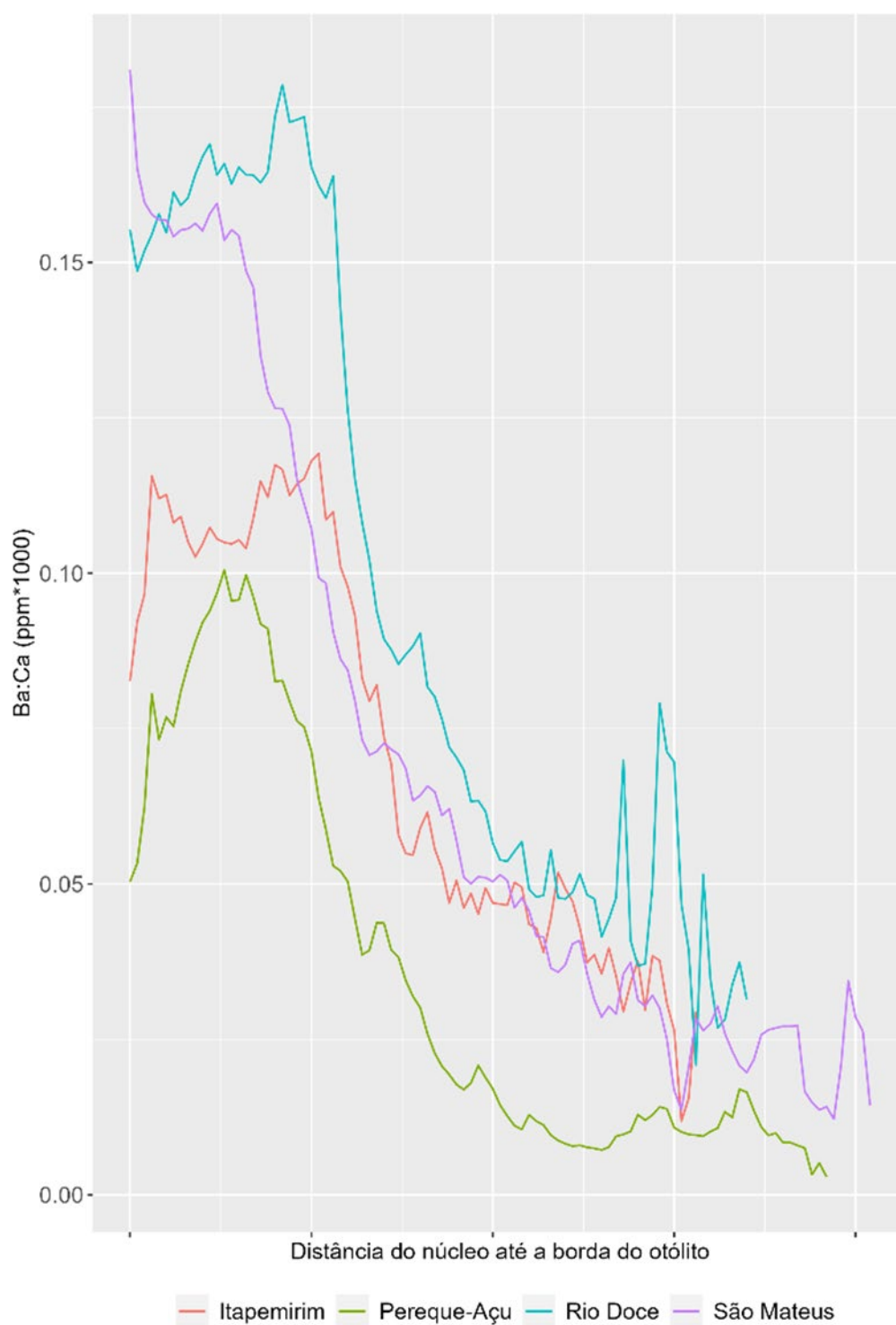
Através das razões elemento:Ca da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) da carapeba, *Eugerres brasiliensis*, representa o local de onde os exemplares foram coletados. Foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Itapemirim, Piraqueçu, rio Doce e São Mateus), onde as razões médias de Al:Ca, B:Ca, Ba:Ca, Co:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca e Sr:Ca apresentaram diferenças estatísticas entre os locais. O estuário do rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, através do teste *a posteriori* apresentou as médias semelhantes estatisticamente que Itapemirim e São Mateus, nas razões Ba:Ca, e Mn:Ca elemento estes, relacionados com o aporte do MLD da barragem no rio Doce. Já as médias das razões de B:Ca, Co:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Mg:Ca, Na:Ca Ni:Ca e Sr:Ca foram as menores no rioDoce (Tabela 14).

Figura 38: Microquímica de otólitos. Fase II: Box-plot da distribuição (mediana e quartis) das razões Elemento:Ca (ppm\*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da carapeva, *Eugerres brasiliensis* coletados nos rios Itapemirim, Piraque-Açu, Rio Doce e São Mateus.



As relações dos elementos presentes nas bordas dos otólitos, local onde ocorre a deposição na matriz dos otólitos mais recente dos elementos presentes na água, seguem as mesmas premissas apresentadas na Figura 38.

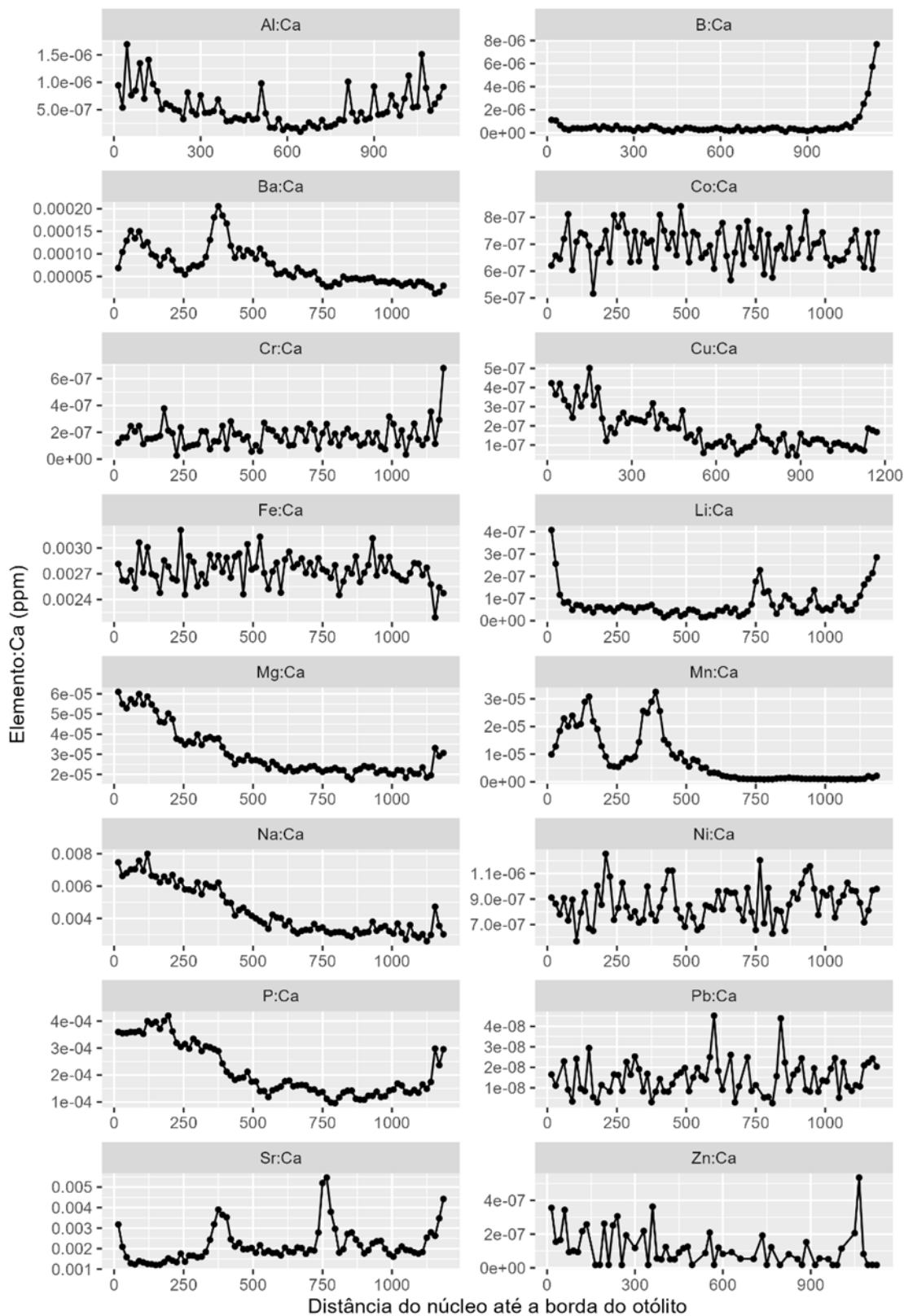
Figura 39: Microquímica de otólitos. Fase II: Perfil cronológico da razão média elementos:Ca nos otólitos de *Eugerres brasiliensis* coletados nos estuários dos Rios Doce, Piraque-Açu, Itapemirim e São Mateus



Através das análises de dados obtidos entre outubro de 2022 e janeiro de 2024, foi possível observar através dos perfis cronológicos dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), as concentrações de alguns elementos químicos indicativos da presença do MLD. Através das análises cronológicas das matrizes dos otólitos da carapeva *Eugerres brasiliensis*, entre o núcleo e a borda, foi possível observar que a razão Ba:Ca mostra ser bom indicador, uma vez que apresentou aumento de suas concentrações na área diretamente afetada (rio Doce) (Figura 39). O bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON *et al.*, 2005; SOETH *et al.*, 2020), uma vez que é um elemento químico proveniente da lixiviação do leito dos rios. Nos bagres analisados na região do rio Doce apresentou um aumento acentuado de bário nos perfis dos otólitos analisados, sendo superior as médias das razões encontradas nos demais estuários.

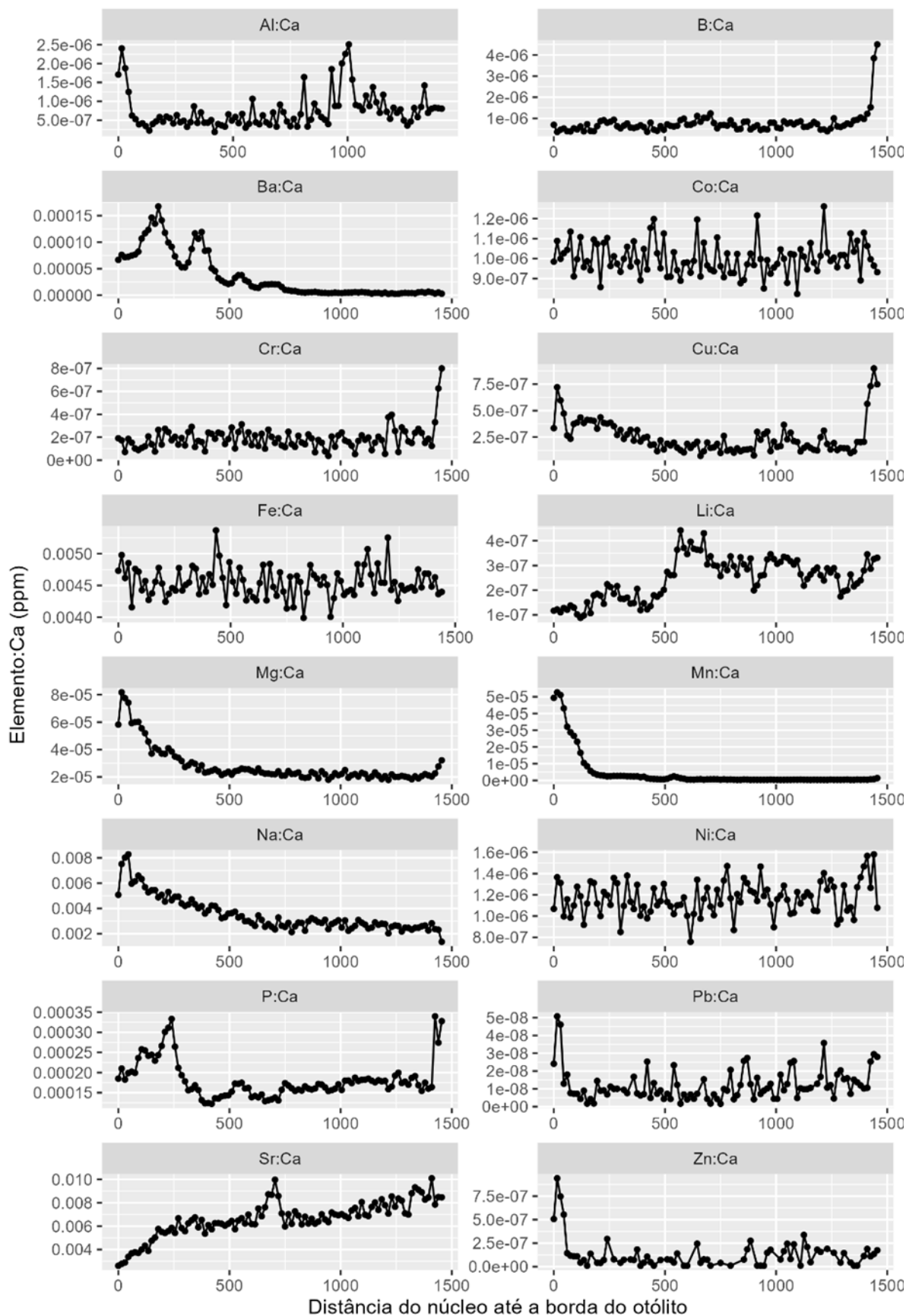
Figura 40: Microquímica de otólitos. Fase II: Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm\*1000) no otólito de *Eugerres brasiliensis*. A: Itapemirim (CT = 394 mm), B: Piraque-Açu, C: Rio Doce e D: São Mateus.

A)



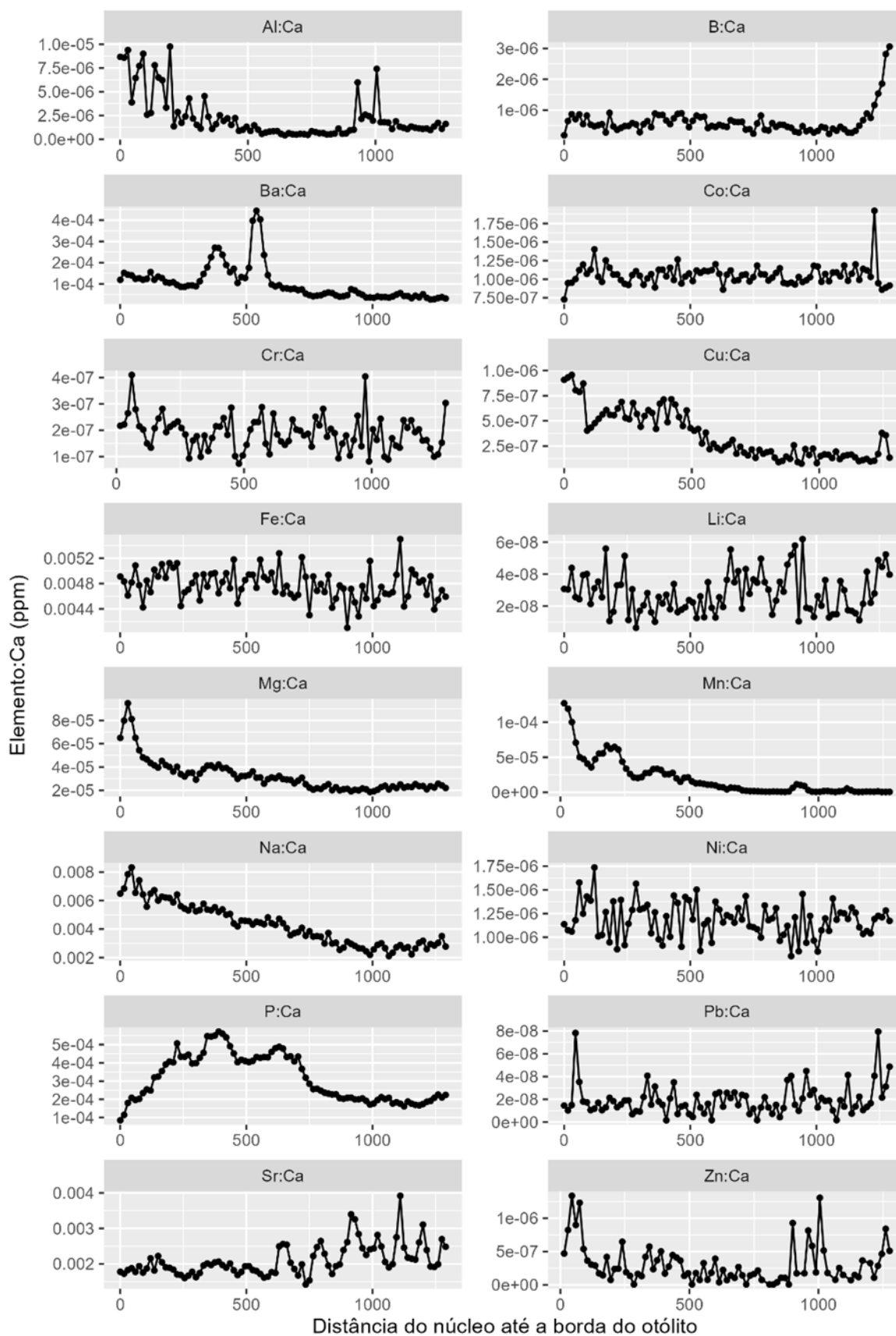


B)

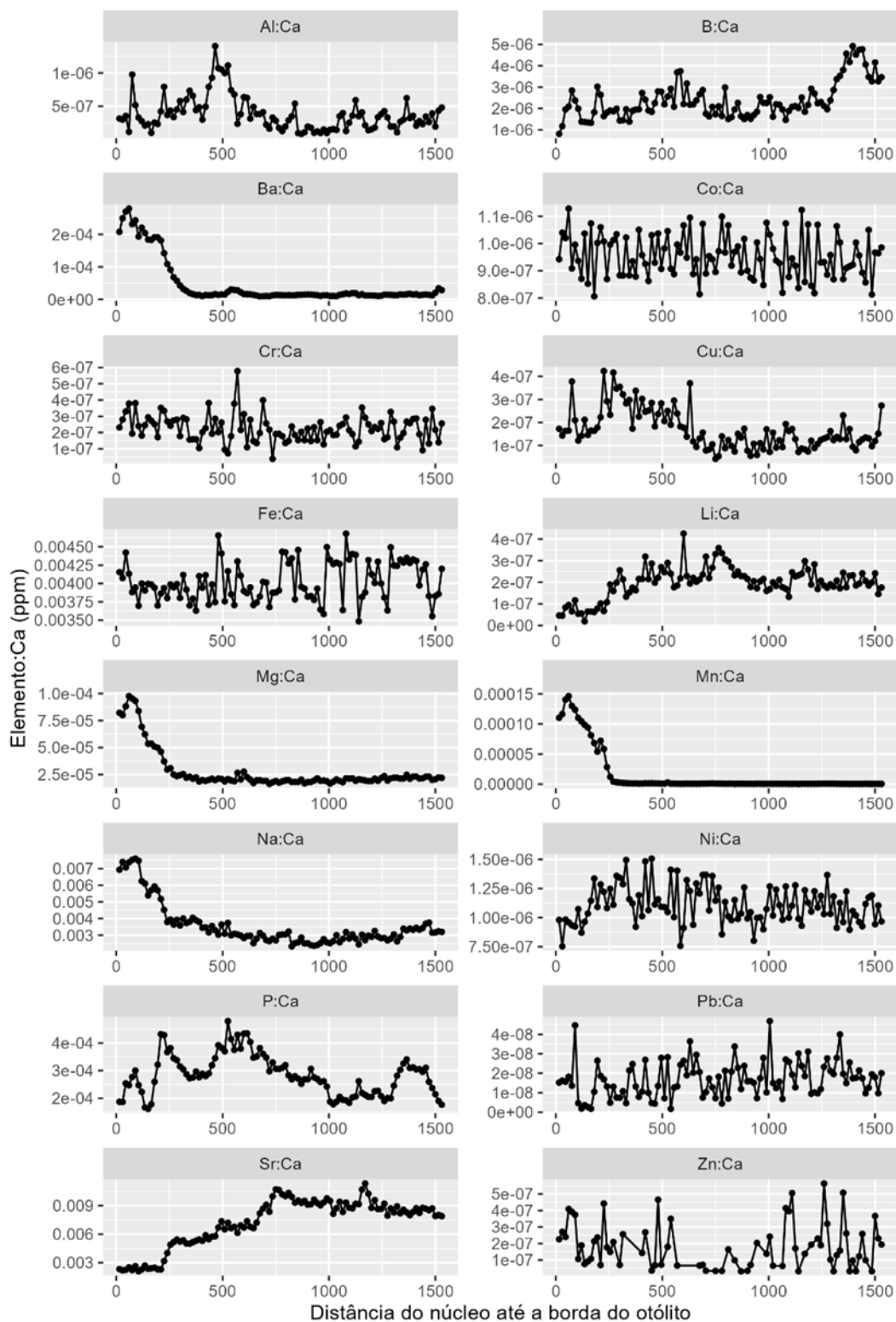




C)



D)

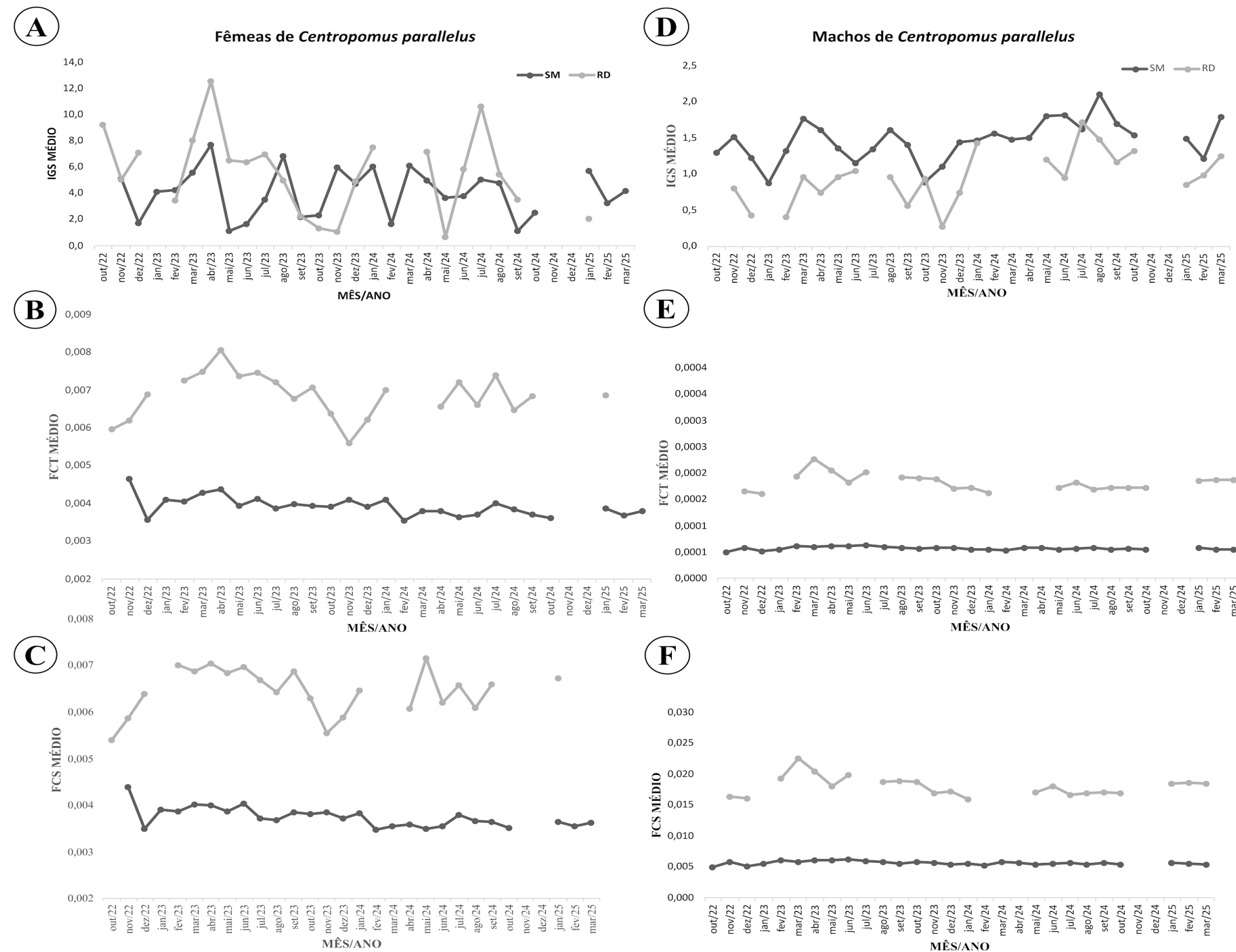


Considerando os maiores indivíduos coletados por local, e os elementos químicos indicativos da presença do MLD, razões Al:Ca, Ba:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Mn:Ca e Pb:Ca, o perfil da razão Al:Ca do exemplar coletado no rio Doce, apresentou as maiores concentrações nos anos iniciais, chegando a picos 4 vezes maior que nos demais estuários. Os perfis da razão Ba:Ca apresentaram flutuações nos primeiros anos de vida dos quatro exemplares, principalmente no rio Doce, atingindo picos com as maiores concentrações entre os estuários. As flutuações estão relacionadas com os ciclos hidrológicos, tendo em vista que a razão Ba:Ca é comumente utilizada como *proxy* de lixiviação fluvial (ELSDON *et al.*, 2008; SOETH *et al.*, 2020). Os perfis de Cr:Ca, apresentaram uma tendência de aumento da concentração próximo a borda (época da coleta), menos no estuário do rio São Mateus, porém as concentrações ficaram próximas nos quatro estuários. Os perfis cronológicos das razões Fe:Ca não apresentaram picos significativos ao longo do tempo, porém as maiores concentrações ocorreram nos estuários do rio Doce e Itapimirim. Com relação a razão Mn:Ca, onde as maiores concentrações próximo ao núcleo estão associadas à transferência materna na fase de óvulo (STURROCK *et al.*, 2015), os demais picos, principalmente no rio Doce, podem estar associados ao rompimento, em interação com outros processos, pois também é um elemento indicativo da baixa concentração de O<sub>2</sub> dissolvido na água (LIMBURG *et al.*, 2015) (Figura 40). Variações das razões elemento:Ca, além de estarem relacionadas com a concentração do elemento no ambiente, podem ser influenciados por variáveis abióticas (ex. temperatura, concentração de O<sub>2</sub>), fisiológicas (eg. crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (eg. migração, alimentação) (HÜSSY *et al.*, 2020).

### 3.8 BIOLOGIA REPRODUTIVA

#### 3.8.1 Peixes estuarinos/marinhos

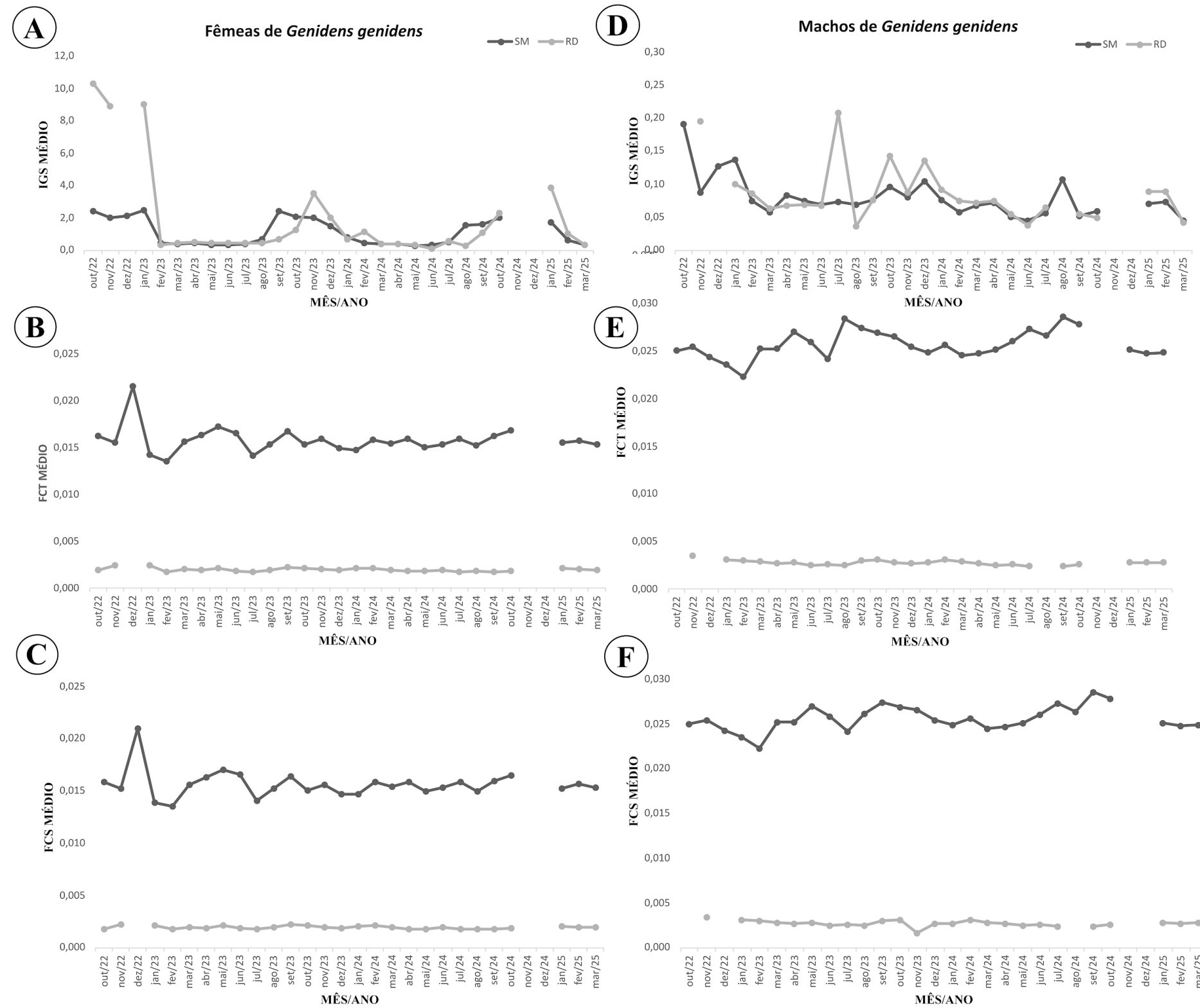
Figura 41: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonodossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) de *Centropomus parallelus* (coletados mensalmente no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23; out/23-mar/24 e out/24-mar/25) e seco (abr-set/23 e abr/set/24) dos anos 5, 6 e 7 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do tempo (linhas com os marcadores). As lacunas indicam ausência de captura mensal dos espécimes. Já as lacunas observadas nos meses de novembro e dezembro de 2024 são decorrentes dos tramites de finalização de aditivo, como descrito no sumário executivo.



O IGS constitui um importante indicador do estado funcional das gônadas, e a sua variação temporal permite estimar o período reprodutivo das espécies (VAZZOLER, 1996). Para os peixes da espécie *C. parallelus*, o IGS demonstra que a espécie é reprodutivamente ativa durante todo o ano, embora apresente quatro períodos com maior direcionamento reprodutivo (picos reprodutivos), tanto para fêmeas como para machos, durante os períodos secos e chuvosos. As maiores médias de IGS apresentadas pelas fêmeas e machos de *C. parallelus* foram nos meses de janeiro, março/abril, julho/agosto e novembro/dezembro, em ambas as regiões amostradas (rio Doce e São Mateus). Esta tendência reprodutiva observada em *C. parallelus* já foi descrita em estudos realizados com a família Centropomidae, onde foram observados longos períodos reprodutivos e picos de desovas variados (CHÁVES, 1963; TAYLOR *et al.*, 1998). Em outros estudos para *C. parallelus*, como o de Rodrigues (2005), realizado na foz do rio Doce, em Linhares, Espírito Santo, foi identificado picos reprodutivos nos meses de maio e junho. Chávez e Nogueira (2019) observaram picos de IGS em outubro e março para machos e em novembro, dezembro e janeiro para fêmeas, enquanto Assis *et al.* (2019) registraram picos de IGS entre junho e agosto. As fêmeas e os machos de *C. parallelus*, de ambas as regiões amostradas, apresentaram picos reprodutivos em períodos semelhantes. No entanto, as fêmeas coletadas no RD, setor impactado, apresentaram médias de IGS maiores quando comparadas a SM. Já para os machos, as maiores médias foram observadas nos indivíduos coletados em SM, setor indiretamente impactado. Em relação aos indicadores que estimam o bem-estar momentâneo dos peixes durante o ciclo de maturação sexual do indivíduo (VAZZOLER, 1996), fator de condição total (FCT) e fator de condição somático (FCS), eles indicam uma tendência de maior direcionamento energético para as fêmeas (Figura 41B e C) e para os machos (Figura 41E e F) coletadas no RD quando comparados a peixes coletados em SM. Para as fêmeas coletadas no RD foi observado maior aporte reprodutivo para os espécimes, o que é esperado, considerando que o FCT e FCS foram maiores nesses indivíduos. Para os machos de *C. parallelus* não foi observado essa relação. À priori, o FCT sugere que peixes coletados em melhores condições ambientais apresentam taxas de crescimento mais elevadas, além de maior potencial reprodutivo quando comparados com indivíduos coletados em ambientes em condições inferiores (POPE & KRUSE, 2001). Assim, os resultados obtidos nesse estudo destoam do padrão esperado, considerando que o RD é o setor diretamente impactado pelo MLD. No entanto, o fator de condição pode ter influência de fatores abióticos, densidade populacional, disponibilidade de alimento, além da interação entre estes fatores (ARAÚJO e GURGEL, 2002), que podem ter contribuído para os resultados obtidos neste estudo.



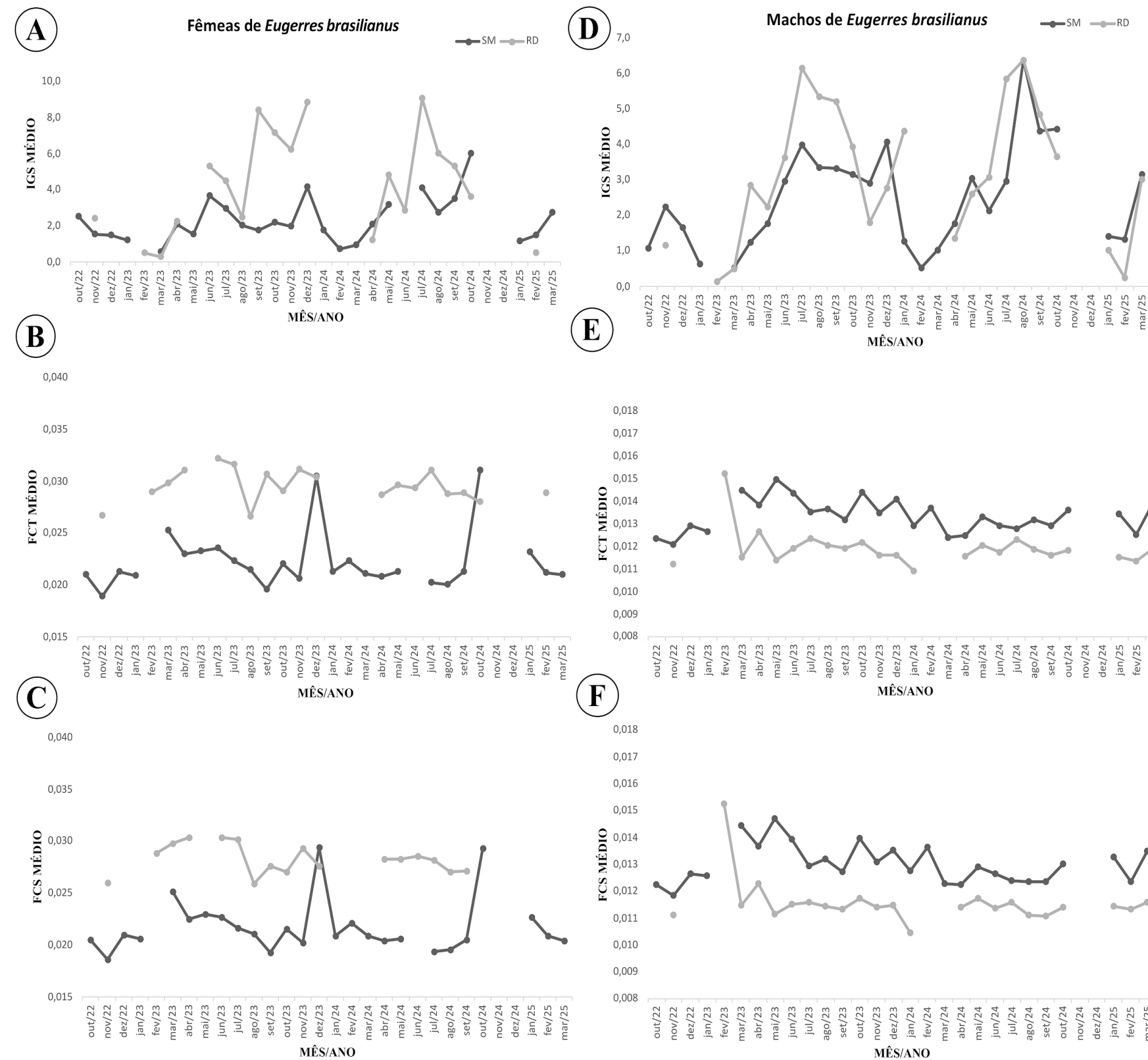
Figura 42: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonodossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) de *Genidens genidens* (coletados mensalmente no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23, out/23-mar/24 e out/24-mar/25) e seco (abr-set/23 e e abr/set/24) dos anos 5, 6 e 7 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do tempo (linhas com os marcadores). As lacunas apresentam ausência de captura mensal dos espécimes. Já as lacunas observadas nos meses de novembro e dezembro de 2024 são decorrentes dos tramites de finalização de aditivo, como descrito no sumário executivo.





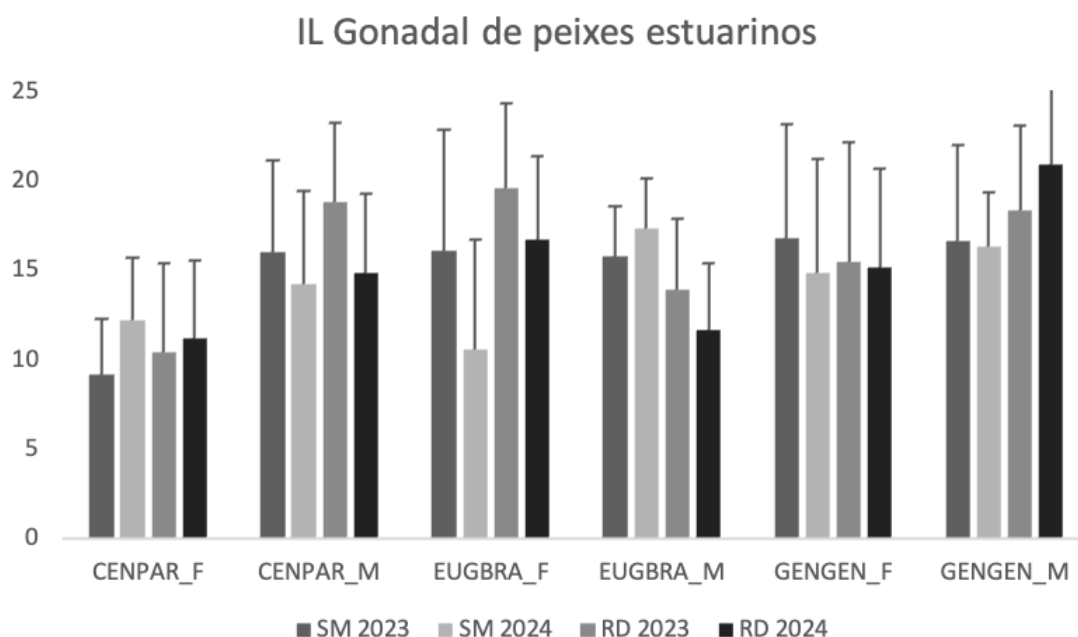
Para as fêmeas de *G. genidens* o IGS médio apresentou os maiores valores entre os meses de setembro a janeiro (final do período seco e início da chuvosa), em ambas as regiões amostradas. Em 2023, os picos reprodutivos foram atingidos em janeiro e setembro em SM e janeiro e novembro para o RD. Já em 2024, o pico reprodutivo foi alcançado em novembro (RD) e setembro (SM) (Figura 42A). Para os machos, as maiores médias foram observadas nos meses de janeiro, abril, julho, agosto, outubro, novembro e dezembro. Em 2023, as maiores médias de IGS para os machos foram em julho, outubro/dezembro (RD) e janeiro, outubro/dezembro (SM). Em 2024, o pico reprodutivo foi observado em agosto para o SM. Para o RD não foi possível identificar o pico reprodutivo devido às lacunas na amostragem em meses determinantes. Em 2025, não foi possível identificar os picos reprodutivos, para ambos os sexos, considerando que as coletas constantes neste relatório foram finalizadas em março deste ano. Para as fêmeas de *G. genidens*, o período de reprodução segue o padrão geral observado por diversos autores, coincidindo com o aumento da temperatura, com início no final da primavera e se estendendo até verão, com um único evento de desova anual (MAZZONI *et al.*, 2000; HOSTIM-SILVA *et al.*, 2009; SILVA-JÚNIOR *et al.*, 2013). Os valores de IGS para os machos foram inferiores aos obtidos pelas fêmeas, uma vez que a alocação de energia para o espermatozoide é inferior à dos ovócitos (WOOTTON, 1990). Além disso, os valores de IGS dos machos de *G. genidens* não são considerados bons indicadores do período reprodutivo (HOSTIM-SILVA *et al.*, 2009), sendo mais seguro o embasamento nos valores das fêmeas. Com relação aos indicadores de bem-estar, FCT e FCS, de modo geral, pode-se destacar que os indivíduos de *G. genidens* coletados em SM, setor indiretamente impactado, apresentaram maiores valores para o fator de condição, quando comparados aos indivíduos de RD, setor diretamente impactado. Além disso, o FCT e FCS em indivíduos coletados em RD não apresentaram variação ao longo do ciclo reprodutivo. Já em SM, os indicadores de bem-estar apresentaram variações, ainda que pequenas, nos indivíduos coletados em diferentes meses. Estas variações coincidem com a época que antecede alguns picos reprodutivos de machos e fêmeas (Figura 42B, C, E e F). Para as fêmeas, as maiores médias foram registradas em dezembro de 2022 e abril-julho de 2023 (Figura 55B e C). Já para os machos, as maiores médias foram em maio, agosto e setembro de 2023 e julho de 2024 (Figura 42D e E). O aumento do fator de condição em períodos que antecedem o pico reprodutivo pode ser explicado pelo fato deste indicador estar associado à alimentação, uma vez que, com uma maior frequência alimentar, o fator de condição aumenta, já que o indivíduo utilizará a energia obtida dos alimentos para investir em reprodução (MORESCO & BEMVENUTI, 2006)

Figura 43: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonodossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) de *Eugerres brasiliensis* (coletados mensalmente no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23, out/23-mar/24 e e out/24-mar/25) e seco (abr-set/23 e e abr/set/24) dos anos 5, 6 e 7 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do tempo (linhas com os marcadores). As lacunas apresentam ausência de captura mensal dos espécimes. Já as lacunas observadas nos meses de novembro e dezembro de 2024 são decorrentes dos tramites de finalização de aditivo, como descrito no sumário executivo.



Para as fêmeas de *E. brasiliensis*, as maiores médias de IGS foram observadas nos meses de julho a dezembro, com dois picos reprodutivos, em ambos os setores. Em 2023, os picos reprodutivos foram alcançados em junho e setembro para o RD e junho e dezembro para SM. Em 2024, o pico reprodutivo foi observado em julho para RD e julho e outubro para SM (Figura 43A). Para os machos, as maiores médias de IGS foram nos meses de junho a dezembro. Em 2023, os picos reprodutivos foram observados em julho e dezembro para o RD e em julho para SM. Em 2024, foram observados picos reprodutivos em janeiro e agosto em SM e maio e agosto em RD (Figura 43D). Em 2025, não foi possível identificar os picos reprodutivos, para ambos os sexos, considerando que as coletas constantes neste relatório foram finalizadas em março deste ano. O período de reprodução de *E. brasiliensis* segue a tendência observada para *E. brasiliensis* (SOARES *et al.*, 2016) e *Diapterus rhombeus*, (BEZERRA *et al.*, 2001) também conhecida popularmente como carapeba, o qual sugerem que o segundo semestre contemple o melhor período reprodutivo para espécie. Em relação aos indicadores de bem-estar, FCT e FCS, estes indicaram uma tendência de maior direcionamento energético para as fêmeas coletadas no RD, e para os machos coletados em SM. Para as fêmeas, foi observado um maior aporte reprodutivo para indivíduos coletados em RD, o mesmo não foi observado para os machos coletados em SM. Além disso, é possível observar um aumento no FCT e FCS em dezembro/2023 e outubro/2024 para fêmeas coletadas no SM, que coincide com o pico reprodutivo para localidade (Figura 43B, C, E e F).

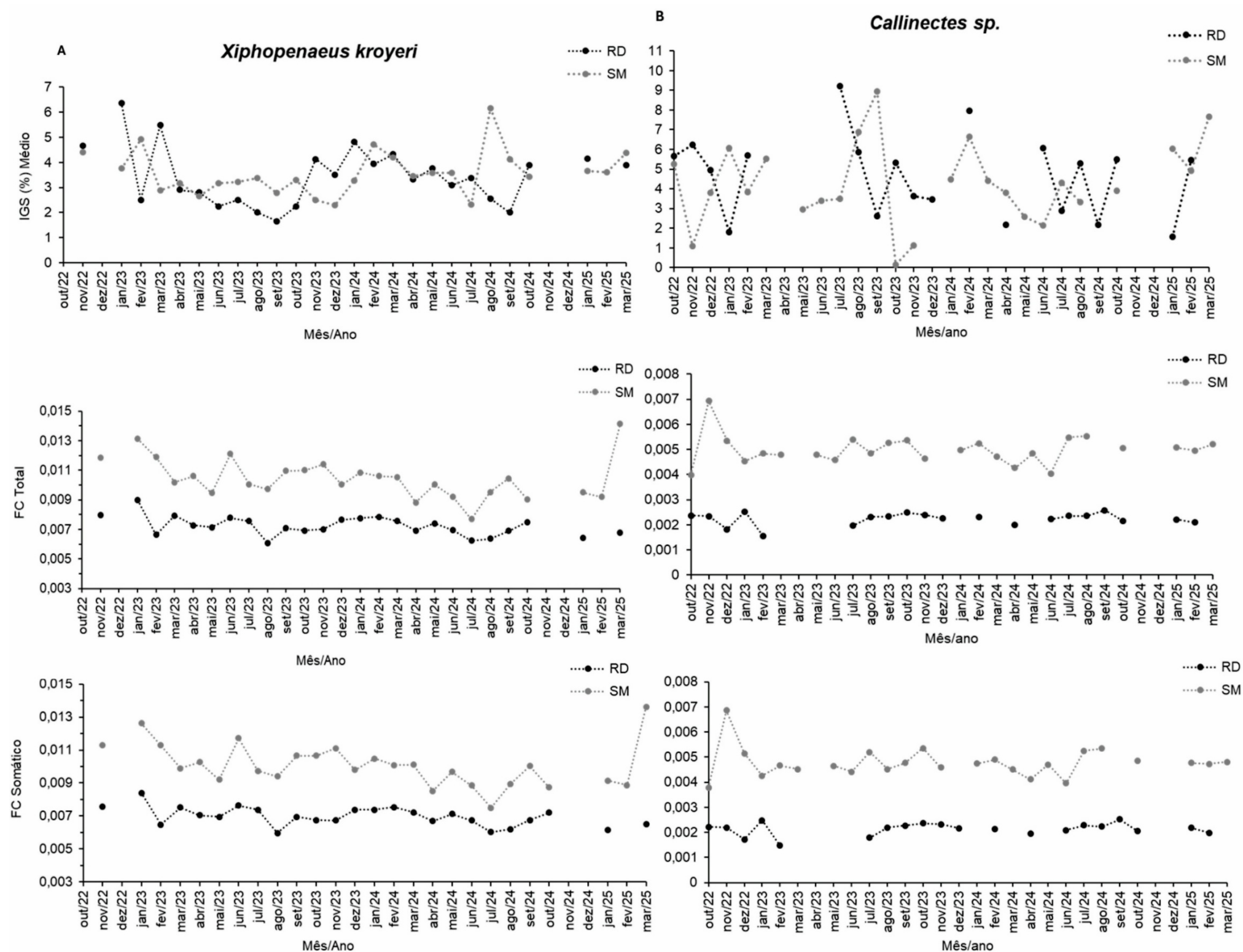
Figura 44: Biologia reprodutiva. Índice de lesão gonadal (IL) (1) das espécies de peixes estuarinos/marinheiros *Centropomus parallelus* (Robalo); *Eugerres brasiliensis* (Carapeba) e *Genidens genidens* (Bagre) e, histopatologia do órgão reprodutivo de fêmeas (2) e machos (3) coletados no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) no ano 5 de monitoramento. O gráfico mostra o valor médio e o desvio padrão do índice avaliado nas gônadas dos peixes fêmeas e machos, sendo: CENPAR\_F (*Centropomus parallelus* fêmea); CENPAR\_M (*Centropomus parallelus* macho); EUGBRA\_F (*Eugerres brasiliensis* fêmea); EUGBRA\_M (*Eugerres brasiliensis* macho); GENGEN\_F (*Genidens genidens* fêmea) e GENGEN\_M (*Genidens genidens* macho).



As espécies de peixes *C. parallelus* (macho), *E. brasiliensis* (fêmea) e *G. genidens* (macho) coletadas no rio Doce apresentaram valores médios maiores de IL gonadal. A análise histopatológica do tecido gonadal de fêmeas e machos mostrou que as alterações encontradas consistem em respostas regressivas que podem indicar má ou até mesmo perda de funcionalidade do órgão (BERNET *et al.*, 1999). Assim, as lesões presentes no ovário com maiores frequências em fêmeas, foram: alterações nucleares, descolamento de membrana, hiperplasia das células foliculares, atresia, vacuolização (vacúolos claros e vazios no epitélio germinativo) dos ninhos oogoniais e infiltrado de macrófagos no espaço intersticial do ovário. Nos machos, as lesões presentes nos cistos/túbulos seminíferos com maiores frequências foram: atrofia, alteração nuclear e vacuolização citoplasmática das células germinativas, alteração estrutural e necrose dos túbulos seminíferos, congestão do vaso sanguíneo e hiperplasia do tecido intersticial do cisto.

### 3.8.2 Crustáceos estuarinos/marinhos

Figura 45: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonodossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) das espécies de crustáceos marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) e estuarinos (sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) coletados mensalmente na região interna e externa do estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23, out/23-mar/24 e out/24-mar/25) e seco (abr-set/23 e abr/set/24) dos anos 5, 6 e 7 de monitoramento. Variação mensal dos valores médios dos indicadores avaliados em fêmeas de *Xiphopenaeus kroyeri* (A) e sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus* (B) ao longo do tempo. As lacunas observadas nos meses de outubro e dezembro para o camarão sete-barbas são oriundas da impossibilidade de realização da amostragem por questões logísticas e adequação das coletas para as análises de reprodução no mês de outubro e em decorrência das chuvas torrenciais que acometeram a região em dezembro de 2022. As lacunas observadas nos meses de novembro e dezembro de 2024 são decorrentes dos tramites de finalização de aditivo, como descrito no sumário executivo.

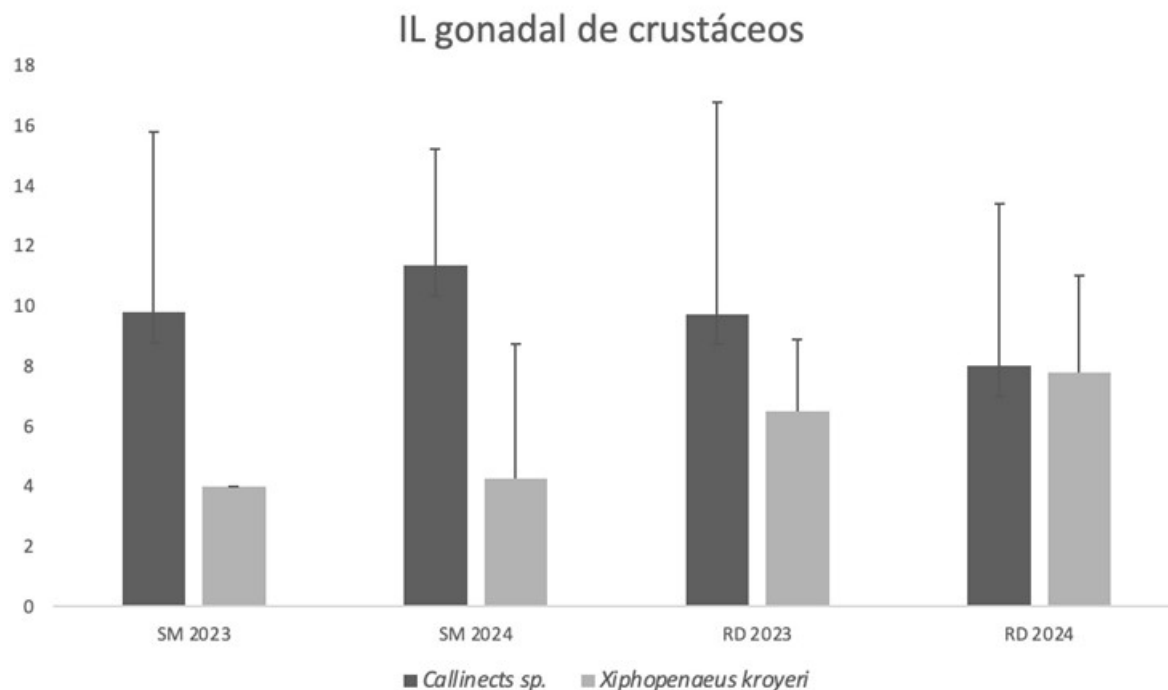




Os resultados dos indicadores apontam para o padrão de atividade reprodutiva contínua com picos no período chuvoso, tanto para o camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* quanto para os siris das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*, em ambas as regiões amostradas. Esta tendência acompanha o padrão reprodutivo típico de espécies de crustáceos tropicais, no qual a atividade reprodutiva é mais intensa nos períodos mais quentes, com as temperaturas das águas constantes e maior produtividade primária e disponibilidade de alimento (WENNER *et al.*, 1974). Para o ano sete, o pico reprodutivo foi observado no final do período chuvoso, que pode estar relacionado às variações na pluviosidade, com episódios mais intensos registrados no final do período, em ambos os setores amostrados. As variações pontuais observadas no indicador IGS para os siris do gênero *Callinectes* podem estar relacionadas a alterações intrínsecas das espécies avaliadas e especificidades de suas estratégias reprodutivas e dos ambientes estuarino e marinho. Em relação aos indicadores de bem-estar, FCT e FCS que estimam o bem-estar momentâneo dos espécimes durante o ciclo de maturação gonadal, indicam uma tendência de maior direcionamento energético para o desenvolvimento gonadal entre a fêmeas do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* no setor impactado (RD). Esta tendência também foi observada em relação aos períodos, com maiores indicadores de FCT no período chuvoso do setor rio Doce e São Mateus. Em relação aos siris, são consequências do comportamento migratório das espécies que oscila de acordo com a variação de salinidade e escassez de chuvas na região no período seco, além de mudanças e adequações nos petrechos e logística de amostragem.



Figura 46: Biologia reprodutiva. Índice de lesão gonadal (IL) das espécies de crustáceos marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) (1) e estuarinos (sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) (2) coletados mensalmente na região interna e externa do estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23 e out/23-mar/24) e seco (abr-set/23 e abr/set/24) do ano 5 e 6 de monitoramento. Os gráficos mostram os valores médios e desvio padrão do índice avaliados nas gônadas das fêmeas do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* e sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*.



O camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) apresentou valor médio maior do IL gonadal na região externa diretamente impactada (RD), enquanto os sirís (*Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) não apresentaram diferença entre as regiões analisadas. As análises histopatológicas do tecido gonadal das fêmeas dos crustáceos (*Xiphopenaeus kroyeri* e os sirís *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) apresentaram uma frequência maior de lesões regressivas do tipo: vacuolização dos ninhos oogonais e deslocamento de membrana.

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

Peixes estuarinos/marinhos: Alguns padrões têm sido observados desde o início do monitoramento da composição e estrutura da ictiofauna estuarina/marinha, como: 1) Menor riqueza de espécies por amostra no rio Doce; 2) Ausência de diferenças significativas na densidade, biomassa e riqueza de espécies entre a área diretamente impactada (rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açú); 3) Diferenças mais conspícuas nos indicadores entre as áreas interna e externa de cada estuário, do que entre os estuários; 4) Ampla dominância de *Genidens genidens* na área interna do rio Doce em abundância e densidade, mas, sobretudo, em biomassa, ainda que as percentagens tenham diminuído levemente em relação ao último período seco avaliado (de S6 para C7). Em RDI, menos espécies estruturam a ictiofauna, quando se compara a dominância com SMI e PAI; 5) Influência de diferentes variáveis ambientais na distribuição espaço-temporal da densidade dos peixes.

Em relação à última avaliação (de S6 para C7, FEST, 2025), não foram observadas diferenças significativas na densidade e na biomassa em RDI, no entanto, a riqueza aumentou levemente nesta área, o que também foi observado em PAI. As diferenças mais conspícuas entre as áreas interna e externa de cada estuário do que entre os estuários foram também observadas no período avaliado. Tais diferenças foram influenciadas pela sazonalidade das variáveis ambientais, principalmente pelo conjunto salinidade, turbidez e profundidade, modelo que explicou melhor as variações tanto no período chuvoso quanto no seco, conforme já observado anteriormente (FEST, 2025). Na área interna do rio Doce (RDI), chama a atenção o declínio observado nas médias de densidade e riqueza até a período chuvoso S4, fato menos conspícuo nas áreas internas dos estuários indiretamente impactados. Em RDI, foi necessário um pulso maior de chuvas (observado em C5) do que em SMI e PAI para que ocorressem picos de indicadores. Em SMI e PAI, estes picos ocorreram mesmo em outros períodos chuvosos. Quanto a dominância de *G. genidens*, que se manteve desde o início do monitoramento, cabe ressaltar que esta é uma espécie resiliente, geralmente dominante em estuários impactados. As diferenças observadas entre o rio Doce e os estuários indiretamente impactados são complexas, mas o monitoramento dos indicadores indicou a perturbação, sobretudo na área interna do rio Doce.

Crustáceos estuarinos/marinhos: A fauna de crustáceos macrobentônicos na área do monitoramento é caracterizada por uma comunidade basal formada por aproximadamente 14 espécies, dentre as quais se destacam o camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus* spp.), o camarão rosa (*Farfantepenaeus* spp.), o siri azul (*Callinectes danae*) e o siri (*Callinectes ornatus*) por serem importantes recursos pesqueiros na região. No rio Doce, cinco espécies de crustáceos contribuíram com 70% da diferença na comunidade que ocorre nas áreas interna e externa, indicando dominância de um menor número de espécies em relação aos resultados observados para São Mateus e Piraquê-Açu. Por outro lado, os camarões barriga branca (*Nematopalaemon schmitti*) e espinho (*Exhippolysmata oplophoroides*) e o caranguejo-baú (*Hepatus pudibundus*) são espécies cuja representatividade é exclusiva na área externa do rio Doce em relação aos outros locais monitorados. É importante ainda ressaltar que

espécies mais raras continuam sendo capturadas com a realização de novas campanhas de coletas. Considerando os dados coletados até janeiro de 2025, observa-se que a estrutura da comunidade de crustáceos macrobentônicos na área monitorada é particularmente influenciada pelas variações de salinidade e profundidade, independente do período do ano. Os índices de densidade, biomassa e riqueza de espécies não apresentaram diferenças significativas entre a área diretamente impactada (rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açu), indicando homogeneidade na composição da comunidade. A variabilidade destes índices indica que a variação na distribuição e abundância da carcinofauna estuarina e marinha é principalmente determinada pelas peculiaridades ambientais das internas e externas de cada estuário e dependente do período (chuvoso ou seco) do ano. A área interna (estuário) do rio Doce continua representando a área com menores valores médios para os três índices, o que demonstra um pequeno número de espécies e poucos indivíduos por espécie. A área externa do rio Doce apresentou valores médios mais elevados para os três índices e estrutura da comunidade mais semelhante àquela da área externa do Piraquê-Açu, o que pode ser explicado pela proximidade geográfica, estando ambas localizadas ao sul do banco de Abrolhos, e por temperaturas mais baixas em virtude das correntes marítimas com águas mais frias vindas do sul.

Recrutamento: Ao longo do período de monitoramento (2018-2025), foram observadas flutuações significativas na composição, abundância, biomassa e diversidade das espécies de pós-larvas de peixes, refletindo o impacto sazonal nos padrões reprodutivos e de recrutamento larval, com momentos de intensificação do impacto durante o inverno, os quais estão correlacionados a eventos de ressuspensão e frentes meteoceanográficas. Durante esses momentos há maior dissimilaridade entre as assembleias de peixes das localidades amostradas, especialmente entre o impacto e os demais controles, o que reflete a maior seletividade que o MLD impõe as larvas de peixes que chegam as imediações do rio Doce (BARRILI et al., 2024). Essa seletividade se quantifica através do tamanho médio e da biomassa de pós-larvas, que foram estatisticamente menores na zona de impacto em relação à média dos controles (I vs C), indicando que a dinâmica de ressuspensão do MLD exerce efeitos negativos sobre esses indicadores. A biomassa desempenha um papel crucial no monitoramento ambiental, pois reflete tanto a variação no número de indivíduos quanto o seu tamanho, fornecendo *insights* sobre a estrutura do ambiente. Em ambientes perturbados, é possível que espécies numericamente abundantes contribuam pouco para a biomassa total. Além disso, a turbidez, que se mostrou mais elevada na zona de impacto em certos períodos, desempenha um papel importante como indicador de poluição, influenciada pelo aporte fluvial e variação da maré. As larvas se alimentam primariamente de organismos planctônicos, onde a taxa de eficiência de captura do alimento pode ver-se afetada pela presença recorrente de MLD em suspensão na zona de Impacto (RT36 – RDM/FEST 2020). A persistente presença de espécimes com MLD aderida à superfície corpórea, provenientes da foz do rio Doce, sugere um contínuo efeito da MLD sobre o recrutamento de espécies marinhas. O sedimento em suspensão pode afetar não somente a acuidade visual das larvas mas também sua capacidade fisiológica, reduzindo a eficiência de trocas gasosas pelas lamelas branquiais devido ao efeito do sedimento nas mesmas (RT36 – RDM/FEST 2020). Por outro lado, verificou-se um aumento nos índices de diversidade na zona de impacto ao longo dos últimos anos sugerindo uma recuperação

gradual dessa área para o recrutamento larval. No entanto, a alta influência temporal (sazonal e anual) nas respostas dos indicadores ao longo do monitoramento, mostra a importância do mesmo para a identificação das flutuações naturais daquelas induzidas pelo MLD.

Ecologia Trófica: Os resultados obtidos ao longo do monitoramento reforçam o valor dos indicadores relacionados à ecologia trófica, para entender os impactos do MLD no ecossistema estuarino do rio Doce. Neste sentido, deve-se ressaltar que as análises suportam a hipótese que a dieta do bagre-guri (*Genidens genidens*) é marcadamente diferente e menos diversa no local impactado, em comparação às áreas não afetadas pelo MLD. A atividade alimentar desta espécie também foi menor no rio Doce do que nos estuários controles. No que concerne aos indicadores tróficos isotópicos, as mudanças temporais foram particularmente claras para o carapicu, *Eucinostomus argenteus*, no qual ocorreu uma redução substancial do nicho isotópico, amplitude de  $\delta^{15}\text{N}$  e amplitude de  $\delta^{13}\text{C}$  ao longo do monitoramento. A diminuição desses indicadores sugere uma perda de recursos alimentares consumidos pelo carapicu no estuário, o que é consistente com os resultados publicados na literatura para a fauna de invertebrados associada ao sedimento.

Além disso, o amoré-flecheiro (*Ctenogobius* spp.), carapicu, bagre-guri (*G. genidens*) e o peixe-cachimbo (*Microphis lineatus*), apresentaram uma redução significativa na razão carbono:nitrogênio no decorrer do tempo, a qual pode estar associada a um efeito crônico do rompimento da Barragem de Fundão na estocagem de energia (lipídeos) pelos peixes. Tal resultado aponta para uma redução na disponibilidade de presas com alto valor energético no estuário do rio Doce ao longo do estudo, o que pode comprometer a reprodução, o crescimento e a manutenção das populações de peixes.

#### Genética populacional:

*Peixes estuarinos e crustáceos marinhos:* O indicador “Índices de diversidade e estruturação genética de peixes estuarinos e crustáceos” foi incluído a partir do Ano 4 em 2022. De modo geral, para as espécies de peixes (*Genidens genidens*, bagre-guri; *Centropomus parallelus*, robalo-peva; *Cynoscion jamaicensis*, pescada-branca) e crustáceos avaliadas (*Farfantepenaeus subtilis*, camarão-rosa; *Xiphopenaeus kroyeri*, camarão-sete-barbas) foram identificados índices moderados a altos de diversidade genética e presença de fluxo gênico entre as unidades amostrais (diferentes rios). No entanto, no presente relatório foi identificado decréscimo do índice de diversidade haplotípica para o bagre-guri (*Genidens genidens*), mesmo com o aumento de quase duas vezes no número amostral. Esse índice já era o menor dentre as espécies avaliadas e apresentadas em relatórios anteriores. Assim, ressaltamos a necessidade de especial atenção no monitoramento dessa espécie. A redução da diversidade genética aumenta a vulnerabilidade da população, diminuindo sua capacidade de permanência e/ou restabelecimento no ambiente após alterações ambientais de origem natural ou antrópica (como o rompimento da barragem de Fundão).

Microquímica de otólitos: Além das informações obtidas através das análises habituais em monitoramentos ambientais utilizando a ictiofauna, os otólitos, presentes no ouvido interno dos peixes ósseos, mostrou-se um excelente bioindicador de ações antrópicas, principalmente cronológico, que no caso, demonstrando o aumento da concentração de alguns elementos químicos presentes no MLD da Barragem de Fundão, ao longo da história de vida de adultos, nascidos antes de 2015, das espécies

*Genidens genidens* (bagre-guri) e *Centropomus parallelus* (robalo-peva)(exemplares coletados em 2019). Isso é possível, pois os otólitos crescem continuamente de forma concêntrica e são inertes, mineralizando além do cálcio, carbono e oxigênio, ou elementos presentes na água. Além da indicação da presença dos elementos químicos presentes na MLD de rejeito, nossos resultados utilizando os dados dos dois períodos de amostragens (2019 e 2022/2024), mostraram as flutuações nas concentrações dos elementos químicos presentes nos otólitos (apresentados como razão elemento:Ca), ao longo do tempo, relacionadas não só com a concentração do elemento no ambiente, mas com outros processos, influenciados por variáveis abióticas (ex. temperatura, concentração de O<sub>2</sub>), fisiológicas (eg. crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (eg. migração, alimentação) e os ciclos hidrológicos, que influenciam na disponibilidade dos elementos químicos na água

Biologia Reprodutiva: A Biologia reprodutiva de peixes estuarinos (*Centropomus parallelus*, *Eugerres brasiliensis* e *Genidens genidens*) e crustáceos estuarinos (siris das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) e marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) coletados no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) foi implementada no monitoramento a partir do ano 5 e as análises compreendem o período de outubro de 2022 a março de 2025. Assim, o período de 30 meses não contempla todo o ciclo de vida e as flutuações intrínsecas das espécies que estão em contato direto com o ambiente impactado e sob efeito crônico do MLD. Além disso, as espécies de peixes avaliadas não apresentaram exemplares nos dois setores (estuário do rio Doce e rio São Mateus) em todos os meses amostrados. As lacunas são decorrentes das chuvas torrenciais que acometeram a região amostrada no período chuvoso no final de 2022 e início de 2023, que impossibilitaram as capturas, tanto pela impossibilidade de acesso às regiões de coleta, e por oscilações naturais na abundância dos peixes em decorrência da intensidade das chuvas. As lacunas observadas em outros meses, principalmente, para a espécie *Eugerres brasiliensis* em RD são decorrentes da dificuldade dos pescadores em capturar os exemplares, pela oscilação na abundância dos peixes no estuário em determinados períodos do ano ocasionadas por características intrínsecas da espécie. As amostragens de novembro e dezembro de 2024, previstas no cronograma oficial, não foram realizadas devido a trâmites junto a Fundação Renova decorrentes da finalização de aditivo ao ACT e não renovação do mesmo a tempo de efetuar tais campanhas. Assim, para avaliar as consequências dos índices de IGS, FCT, FCS e IL observados para o setor rio Doce e São Mateus, tanto para peixes quanto para o camarão sete-barbas, que possuem importância comercial, é necessário que o período de análises seja mais longo, aliado ao monitoramento das populações estuarinas e marinhas, para elucidação dos efeitos nos estoques populacionais das espécies avaliadas e a relação destes resultados com o impacto do MLD.

## 5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

Genética populacional: Nesse relatório (RSE 2025) foram mantidos os resultados populacionais do DNA Nuclear (SNPs) do RA 2024. Para as análises do DNA Nuclear (SNPs) é necessária a construção de uma biblioteca genômica que demanda mais tempo na seleção de amostras com qualidade

suficiente, e, maior número de etapas para atingir um número adequado de indivíduos e realizar as análises populacionais como um todo. Sendo assim, é possível atualizar os resultados populacionais dos SNPs anualmente e que, portanto, serão incluídos no próximo relatório anual.

## 6 REFERÊNCIAS

AGUILAR, R.; QUESADA, M.; ASHWORTH, L.; HERRERIAS-DIEGO, Y.; LOBO, J. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: Susceptible signals in plant traits and methodological approaches. **Molecular Ecology**, v. 17, n. 24, p. 5177–5188, 2008.

ANDERSON, D. R. **Model Based Inference in the Life Sciences: a Primer on Evidence**. [http://dx.doi.org/ 10.1007/978-0-387-74075-1](http://dx.doi.org/10.1007/978-0-387-74075-1). New York, 2008.

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

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

ARAÚJO, de A. S.; GURGEL, H. C. B. Aspectos da biologia de *Prochilodus cearensis* (Steindachner, 1911) (Characiformes, Prochilodontidae) no açude Itans/Caicó, Rio Grande do Norte, Brasil. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, n. 4, p.85-96, 2002.

ATTRILL, M. J.; DEPLEDGE, M. H. Community and population indicators of ecosystem health: targeting links between levels of biological organization. **Aquatic Toxicology**, v. 38 (1-3), p. 183-197, 1997. DOI: [http:// dx.doi.org/10.1016/S0166-445X \(96\)00839-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0166-445X(96)00839-9)

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

BARLETTA, M.; CYSNEIROS, F. J. A.; LIMA, A. R. A. Effects of dredging operations on the demersal fish fauna of a South-American tropical-subtropical transition estuary. **Journal of Fish Biology**, v.89, p. 890-920, 2016.

BARRETO, T. M. R. R.; FREIRE, K. M. F.; REIS-JÚNIOR, J. J. C.; ROSA, L. C.; CARVALHO-FILHO, A.; ROTUNDO, M. M. Fish species caught by shrimp trawlers off the coast of Sergipe, in north-eastern Brazil, and their length-weight relations. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 48(3), p. 277-283, 2018.

BARRILLI, G.H. C.; TATSUMI, S.; DE BIASI, J. B.; CRUZ, A. R. S.; DE OLIVEIRA, T. C. T.; HOSTIM-SILVA, M.; HACKRADT, C. W. FÉLIX-HACRADT, F. C. Simplified fish larval supply in coastal areas after a dam burst in Brazil. **Marine Pollution Bulletin**, v. 205, 116615, 2024.

BERNARDINO, A. F.; REIS, A.; PEREIRA FILHO, A. C. D.; GOMES, L. E. O.; BISSOLI, L.B.; BARROS JR, F. C. R. **Benthic estuarine assemblages of the Eastern Marine Brazilian Ecoregion (EME)**. In:



LANA, P. C.; BERNARDINO, A. F. (Ed.) Brazilian Estuaries, Brazilian Marine Biodiversity. Springer International Publishing AG, Springer Nature, New York, p. 95–116, 2018.

BERNET, D.; SCHIMID, H.; MEIER, W.; BURKHARDT-HOLM, P.; WAHLI, T. Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. **Journal of Fish Diseases**, p. 25-34, 1999.

BEZERRA, R.S.; VIEIRA, V.L.A.; SANTOS, A.J.G. SANTOS. Ciclo reprodutivo da carapeba prateada *Diapterus rhombeus* (Cuvier, 1829) no litoral de Pernambuco. **Tropical Oceanography**, v.1, p. 67-78, 2001.

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

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

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

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

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

BROWN-PETERSON, N.J.; WYANSKI. D.M.; SABORIDO-REY. F.; MACEWICZ, B.J.; LOWERRE-BARBIERI, S.K.A standardized terminology for describing reproductive development in fishes. **Marine and Coastal Fisheries** v. 3, p. 52–70, 2011.

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

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

CATCHEN, Julian M. *et al.* Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. **G3: Genes|genomes|genetics**, v. 1, n. 3, p. 171-182, 2011.

CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.; ROBAINA, G. B.; RODRIGUEZ, B. Fichas FAO de identificación de especies para

los fines de la pesca. **Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América.** Rome -Italy: FAO, 1992.

CHAO, A.; CHIU, C. H.; VILLÉGER, S.; SUN, I. F.; THORN, S.; LIN, Y. C.; CHIANG, J.-M.; SHERWIN, W. B. An attribute-diversity approach to functional diversity, functional beta diversity, and related (dis)similarity measures. **Ecological Monographs**, v. 89, e01343, 2019.

CHAPA, C. **Early life history and resurgence of Snook (family Centropomidae) in Texas.** 2012. Tese de Doutorado. Texas A & M University.

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

CHÁVES, H. Contribucion al conocimiento de la biología de los robalos, chucumite y constantino (*Centropomus* spp.) del estado de Veracruz. Contribución de la Estación de Biología Marina del Instituto Tecnológico de Veracruz. **México: Ciencia**, v.22, n.3, p. 141-161, 1963.

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

CONTENTE, R. F.; STEFANONI, M. F.; GADIG, O. B. F. Size-related shifts in dietary composition of *Centropomus parallelus* (Perciformes: Centropomidae) in an estuarine ecosystem of the southeastern coast of Brazil. **Journal of Applied Ichthyology**, v. 25, p. 335-342, 2009.

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

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

DE BARROS, M.; OLIVEIRA-FILHO, R.; ASCHENBRENNER, A.; HOSTIM-SILVA, M.; CHIQUIERI, J.; SCHWAMBORN, R. Evaluation of traditional and bootstrapped methods for assessing data-poor fisheries: a case study on tropical seabob shrimp (*Xiphopenaeus kroyeri*) with an improved length-based mortality estimation method. **PeerJ**, v. 12, p. e18397, 2024

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

EDGAR, R. C. MUSCLE: a multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **BMC bioinformatics**, v. 5, p. 1-19, 2004.

ELSDON, T.S.; GILLANDERS, B.M. Alternative life-history patterns of estuarine fish: barium in otoliths elucidates freshwater residency. **Canadian Journal of Fisheries Aquatic Science**, v. 62, p. 1143–1152, 2005.

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

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

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

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

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

FEST - Fundação Espírito-santense de Tecnologia. **Relatório Anual do PMBA/Fest-UFES- Síntese Integrativa entre Ambientes. RT-43. Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia**, 2023B. 193p.

FEST, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. **Relatório Anual do PMBA/Fest-UFES– RT-46, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática**. 2024. 306 p.

FEST, Fundação Espírito-santense de Tecnologia. **Relatório Anual do PMBA/Fest-UFES– RT-49, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática**. 2025. 341 p.

FIPERJ. Boletim Estatístico da Pesca no Estado do Rio de Janeiro Anos 2011 e 2012.

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

FRAGA, C. N.; FORMIGONI, M. de H.; CHAVES, F. G. (Org.). **Fauna e flora ameaçadas de extinção no estado do Espírito Santo**, Instituto Nacional da Mata Atlântica, Santa Tereza, 432 p., 2019.

FRANKHAM, R.; BALLOU, J. D.; BRISCON, D. A. Genetic management of captive populations. Chapter 19. In R. Frankham, J. D. Ballou, D. A. Briscoe (Eds.), **Introduction to conservation genetics** (pp. 430–452). Cambridge University Press. 2010.

GIANETI, M. D.; YOKOTA, L.; LESSA, R. P. T.; DIAS, J. F. Diet of longnose stingray *Hypanus guttatus* (Myliobatiformes: Dasyatidae) in tropical coastal waters of Brasil. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 99 (8), p. 1869 – 1877. 2019.

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

GOTELLI, N. J.; R. R. COLWELL. **Estimating species richness**. In A.E. Magurran and B.J. McGill (ed) Biological diversity: frontiers in measurement and assessment. Oxford University Press, New York, 2011.

HAEFNER, JR., P.A. Distribution, reproduction and moulting of rock crab *Cancer irroratus* Say, 1917, in the Mid-Atlantic Bight. **Journal of Natural History**, London, **10**: 377-397, 1976.

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

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

HOSTIM-SILVA, M.; VERANI, J.R.; BRANCO, J.O.; LEITE, J.R. Reprodução do bagre *Genidens genidens* (Siluriformes, Ariidae) na Foz do Rio Itajaí-Açú, SC. In: J.O. BRANCO; M.J. LUNARDON-BRANCO; V.R. BELLOTTO (eds.), Estuário do Rio Itajaí-Açú, Santa Catarina: caracterização ambiental e alterações antrópicas. **Itajaí, UNIVALI**, p. 227-248, 2009

HUGHES, J. M.; HILLYER, M. J. Mitochondrial DNA and allozymes reveal high dispersal abilities and historical movement across drainage boundaries in two species of freshwater fishes from inland rivers in Queensland, Australia. **Journal of Fish Biology**, v. 68, n. 1, p. 270-291, 2006.

IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). **Estatística da Pesca. 2007. Grandes regiões e unidades da federação**. 2007.

IUCN 2024. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2024-2. <<https://www.iucnredlist.org>>

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

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

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

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

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

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

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

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

KUO, C-H.; JANZEN, F. J. BOTTLESIM: a bottleneck simulation program for long-lived species with overlapping generations. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, p. 669–673, 2003.

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

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

LECAILLON, G. The "Care" system as a method of producing farmed marine animals for the aquarium market: an alternative solution to collection in the wild. **SPC Live Reef Fish Information Bulletin**, v. 12, p. 17-20, 2004.

LIMBURG, K.E.; WALTHER, B.D.; LU, Z.; JACKMAN, G.; MOHAN, J.; WALTHER, Y.; NISSLING, A.; WEBER, P.K.; SCHMITT, A.K. In search of the dead zone: use of otoliths for tracking fish exposure to hypoxia. **Journal of Marine Systems**, v. 141, p. 167–178, 2015.

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

MAGURRAN, A. HENDERSON, P. A. Explaining the excess of rare species in natural species abundance distributions. **Nature**, v. 442, 714-716, 2003.

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

MARIN, V.; ARRANZ, I.; GRENOILLET, G.; CUCHEROUSET, J. Fish size spectrum as a complementary biomonitoring approach of freshwater ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 146, p. 109833, 2023.

MAZZONI, R.; PETITO, J.; MIRANDA, J.C. Reproductive biology of *Genidens genidens*, a catfish from the Maricá lagoon, RJ. **Ciência e Cultura**, v. 2, n. 52, p. 121-126, 2000.

McARDLE, B. H.; ANDERSON, M. J. Fitting multivariate models to community data: a comment on Distance-Based Redundancy Analysis. **Ecology**, v. 82(1), p. 290-297, 2001.

MELO, G.A.S. Manual de Identificação dos Brachyura (caranguejos e siris) do Litoral Brasileiro. **Plêiade/FAPESP**, São Paulo, Brasil. 604pp, 1996.

MENDIBURU, F. **agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research**, v 1.3.7, 2023

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

MORESCO, A.; BEMVENUTI, M. A. Biologia reprodutiva do peixe-rei *Odontesthes argentinensis* (Valenciennes) (Atherinopsidae) da região marinha costeira do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 4, p. 1168-1174, 2006.

MUSIELLO-FERNANDES, J.; OLIVEIRA, P.C.; ARAÚJO, S.C.; ABREU, J.S.; DI BENEDITTO, A.P.M.; BRAGA, A.A.; HOSTIM-SILVA, M.; ZAPPES, C.A. Artisanal fishing on the coast of Espírito Santo state, southeastern Brazil: an approach to socio environmental oceanography. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 46, p. 1–11, 2020.

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

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

OLIVEIRA, C. D. L.; OLIVEIRA, C. Y. B.; CAMILO, J. P. G.; BATISTA, V da S. Demographic analysis reveals a population decline of the Longnose stingray *Hypanus guttatus* in Northeastern Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 41, 101554.

OLIVEIRA, C. D. L.; OLIVEIRA, C. Y. B.; CAMILO, J. P. G.; BATISTA, V. da S. Demographic analysis reveals a population decline of the Longnose stingray *Hypanus guttatus* in Northeastern Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 41, 101554. 2021.

OLIVEIRA-FILHO, R. R.; MUSIELLO-FERNANDES, J.; PICHLER, H.; VILAR, C. C.; JOYEUX, J. C.; MANTELATTO, F. L.; CATTANI, A. P.; CHIQUEIRI, J.; HOSTIM-SILVA, M. Marine and estuarine crustacean diversity and assemblage structure in eastern Brazil three years after the Fundão mining dam failure. **Regional Studies in Marine Science**, v. 65, 103068, 2023.

PALUMBI S. R. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: **Molecular Systematics** (eds DM Hillis, C Moritz & BK Mable), pp. 205–247. Sinauer Associates, Sunderland, MA.



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

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

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

PINNA, M.; ZANGARO, F.; SACCOMANNO, B.; SCALONE, C.; BOZZEDA, F.; FANINI, L.; SPECCHIA, V. Na overview of ecological indicators of fish to evaluate the anthropogenic pressures in aquatic ecosystems: from traditional to innovative DNA-based approaches. **Water**, v. 15, n. 5, 949, p. 1-21, 2023.

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

PREVIERO, M.; MINTE-VERA, C. V.; FREITAS, M. O.; MOURA, R. L. D.; DEI TOS, C. Age and growth of the dog snapper *Lutjanus jocu* (Bloch & Schneider, 1801) in Abrolhos Bank, Northeastern Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 9, p. 393-401, 2011.

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

RAMOTH, K.; DARR, A.; PAPENMEIER, S.; ZETTLER, M.L.; GOGINA, M. Substrate heterogeneity as a trigger for species diversity in marine benthic assemblages. **Biology**, v. 12, n. 825, p. 1–16, 2023.

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

RENÁN, X.; BRULÉ, T.; GALINDO-CORTES, G.; COLÁS-MARRUFO, T. Age-based life history of three groupers in the southern Gulf of Mexico. **Journal of Fish Biology**, v. 101, n. 4, p. 857-873, 2022.

RICHARD, E.C.; ESTRADA, G. C. D.; BETCHOLD, J.; DUARTE JR, A. H.; MAIOLI, B. G.; FREITAS, A. H. A.; WARNER, K. E.; FIGUEIREDO, H. M. Water and sediment quality in the coastal zone around the mouth of Doce River after the Fundão tailings dam failure. Integrated Enviromental Assessment and Management, v. 16, p. 643-654, 2020.

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

RODRIGUES, R. *et al.* Low levels of genetic diversity depicted from mitochondrial DNA sequences in a heavily exploited marine fish (*Cynoscion acoupa*, Sciaenidae) from the Northern coast of Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 31, p. 487-492, 2008.

ROMERO, R. D. M.; MORAES, L. E.; SANTOS, M. N.; ROCHA, G. R. A.; CETRA, M. Biology of *Isopisthus parvipinnis*: an abundant sciaenid species captured bycatch during sea-bob shrimp fishery in Brazil. **Neotropical Ichthyology**, v. 6, n. 1, p. 67-74, 2008.

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

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

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

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

SANTOS, L.; CRAVEIRO, C.; SOARES, A.; EDUARDO, L. N.; PASSARONE, R.; SILVA, E. F.; LUCENA-FRÉDOU, F. Reproductive biology of the shorthead drum *Larimus breviceps* (Acanthuriformes: Sciaenidae) in northeastern Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 48, p. 102052, 2021.

SCHUBART, C. D.; HUBER, M. G. J. Genetic comparisons of German populations of the stone crayfish, *Austropotamobius torrentium* (Crustacea: Astacidae). **Bulletin Français de la Pêche et de la Pisciculture**, n. 380-381, p. 1019-1028, 2006.

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

SILVA, L. V. S. Biologia reprodutiva e ecologia trófica do peixe *Larimus breviceps* (Perciformes: Sciaenidae) capturado no litoral da Paraíba. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Engenharia de Pesca) - Departamento de Pesca e Aquicultura, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2021.

SILVA, V. E. L. da; TEIXEIRA, E. C.; FABRÉ, N. N.; BATISTA, V. da S. Reproductive biology of the longnose stingray *Hypanus guttatus* (Bloch & Schneider, 1801) from the northeastern coast of Brazil. **Cahiers de Biologie Marine**, v. 59, p. 467 – 472. 2018.

- SILVA-JUNIOR, D. R.; CARVALHO, D. M. T.; VIANNA, M. The catfish *Genidens genidens* (CUVIER, 1829) as a potential sentinel species in Brazilian estuarine waters. **Journal of Applied Ichthyology**, p. 1-7, 2013.
- SOARES, E.C.; PAIVA, A.G.; SANTOS, E.L.; PEREIRA, S.M.; ALMEIDA, E.O.; SILVA, T.J. Potencial de Carapeba (*Eugerres brasiliensis*) para produção aquícola. **Latin American Journal Aquatic Research**, v. 44, n.4, p. 718–725, 2016.
- SOARES, S. S. G.; HOSTIM-SILVA, M. **Boletim estatístico da pesca do Espírito Santo-Ano 2011**. 2011.
- SOETH, M.; SPACH, H.S.; DAROS, F.A.; CASTRO, J.P.; CORREIA, A.T. Use of otolith elemental signatures to unravel lifetime movement patterns of Atlantic spadefish, *Chaetodipterus faber*, in the Southwest Atlantic Ocean. **Journal of Sea Research**, v. 158, p. 101873, 2020.
- STURROCK, A.M.; HUNTER, E.; MILTON, J.A.; JOHNSON, R.C.; WARING, C.P.; TRUEMAN, C.N. Quantifying physiological influences on otolith microchemistry. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 6, p. 806–816, 2015.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725–2729, 2013.
- TAYLOR, R. G.; GRIER, H. J.; WHITTINGTON, J. A. Spawning rhythms of common snook in Florida. **Journal of Fish Biology** n. 53 p. 502-520, 1998.
- UNDERWOOD, A. J. Beyond BACI: experimental designs for detecting human environmental impacts on temporal variations in natural populations. **Marine and Freshwater Research**, v. 42, n. 5, p. 569–587, 1991.
- UNDERWOOD, A. J. Beyond BACI: the detection of environmental impacts on populations in the real, but variable, world. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 161, n. 2, p. 145–178, 1992.
- UNDERWOOD, A. J. The mechanics of spatially replicated sampling programs to detect environmental impacts in a variable world. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, n. 1, p. 99–116, 1993.
- UNDERWOOD, A. J. On Beyond BACI. **Ecological Society of America**, v. 4, n. 1, p. 3–15, 1994.
- VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W. F.; WILLS, D. P.; SHIPLEY, P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes**. v. 4, n. 3, p. 535–538, 2004.
- VASCONCELLOS, R. M.; GOMES-GONÇALVES, R. S.; SANTOS, J. N. S.; ARAUJO, F. G. Do closely related species share of feeding niche along growth? Diets of three sympatric species of the mojarra (Actinopterygii: Gerreidae) in a tropical bay in southeastern Brazil. **Environmental Biology of Fishes**, v. 101, n. 6, p. 949–962, 2018.

VAZZOLER, A.E.A.M. **Biologia da reprodução de peixes teleósteos: Teoria e prática**. Ed. Universidade Estadual de Maringá. EDUEM ; São Paulo: SBI, 1996.

VIANA, A. P.; LUCENA FRÉDOU, F. Ichthyofauna as bioindicator of environmental quality in na industrial district in the amazon estuary, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 74 (2), p. 315-324, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.16012>.

VILAR, C. C.; ANDRADES, R.; SZABLAK, F. T.; GUABIROBA, H. C.; PICHLER, H. A.; BASTOS, K. V.; de LIMA, L. R. S.; BASTOS, P. G. P.; MARTINS, R. F.; RODRIGUES, V. L. A.; HOSTIM-SILVA, M.; JOYEUX, J.-C. Variability in nearshore fish biodiversity indicators after a mining disaster in eastern Brazil. **Marine Environmental Research**, 105565, 2022.

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

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

WENNER, A. M.; FUSARO, C.; OATEN, A. Size at onset of sexual maturity and growth rate in crustacean populations. **Canadian Journal of Zoology** 52:1095-1107, 1974.

WHITFIELD, A. K.; ELLIOTT, M. Fishes as indicators of environmental and ecological changes within estuaries: a review of progress and some suggestions for the future. **Journal of Fish Biology**, v. 61, Supplement A, p. 229-250, 2002.

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

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

WOOTTON, R. J. Ecology of teleost fishes. **Chapman e Hall**, New York, p. 404, 1990.

ZHANG, Jiajie *et al.* PEAR: a fast and accurate Illumina Paired-End reAd mergeR. **Bioinformatics**, v. 30, n. 5, p. 614-620, 2014.