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- 55/OUT 26

RA2025 PMBA/FEST-UFES

Vitória,

Outubro 2026

EQUIPE TÉCNICA

Prof. Dr. Maurício Hostim Silva (coordenador)

Profa. Dra. Ana Paula Cazerta Farro

Prof. Dr. Carlos Werner Hackradt

Profa. Dra. Fabiana Cézar Félix Hackradt

Prof. Dr. Felippe Alexandre Lisboa de Miranda Daros

Prof. Dr. Jean-Christophe Joyeux

Profa. Dra. Juliana Castro Monteiro Pirovani

Ana Luíza Santos Araújo

Anna Beatriz Borges Martins

André Luiz Rodrigues de Lima

Brenda Medeiros

Ciro Colodetti Vilar de Araujo

Dahiani Nunes Bossi

Déborah Magalhães de Melo

Drienne Messa Faria

Eduardo Kenyu Okido Matsumoto

Fernanda Lopes Teixeira

Gabriela Ortolane Medeiros

Germano Henrique Costa Barrilli

Gisele Monfardini 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

Nathália Ribeiro Rodrigues

Pedro Moreno Villatoro Requena

Rayanne Maffili Sant'Anna Condini

Rhayane Santos Terra

Rayelle Pancieri Lima

Rebeka Ferreira Martins

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

1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL 6

2 METODOLOGIA 6

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 26

2.4 ALTERAÇÕES NA MALHA/FREQUÊNCIA AMOSTRAL E ESCOPO REALIZADOS EM OUTUBRO DE 2024: SUAS CONSEQUÊNCIAS NAS ANÁLISES DA SÉRIE HISTÓRICA DE INDICADORES 27

3 RESULTADOS DOS INDICADORES 28

3.1 COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES 29

3.1.1 Ictiofauna estuarina/marinha 29

3.1.2 Carcinofauna estuarina/marinha 41

3.2 COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES ESTUARINOS 53

3.3 PADRÕES TEMPORAIS DA DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA 78

3.4 PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS 80

3.5 PADRÕES ESPACIAIS DA ECOLOGIA TRÓFICA E CONDIÇÃO CORPORAL 82

3.6 ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA 92

3.6.1 Crustáceos marinhos 92

3.6.2 Peixes estuarinos 98

3.7 MICROQUÍMICA DE OTÓLITOS 112

3.8 BIOLOGIA REPRODUTIVA 224

3.8.1 Peixes estuarinos/marinhos 224

3.8.2 Crustáceos estuarinos/marinhos 234

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO 240

5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS 244

6 REFERÊNCIAS 244

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) passaram 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 inconsolidado, foram realizadas amostragens mensais (Ano 1, entre outubro/2018 e setembro/2019) e trimestrais (entre

novembro/2019 e janeiro/2026) 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-Açu (~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

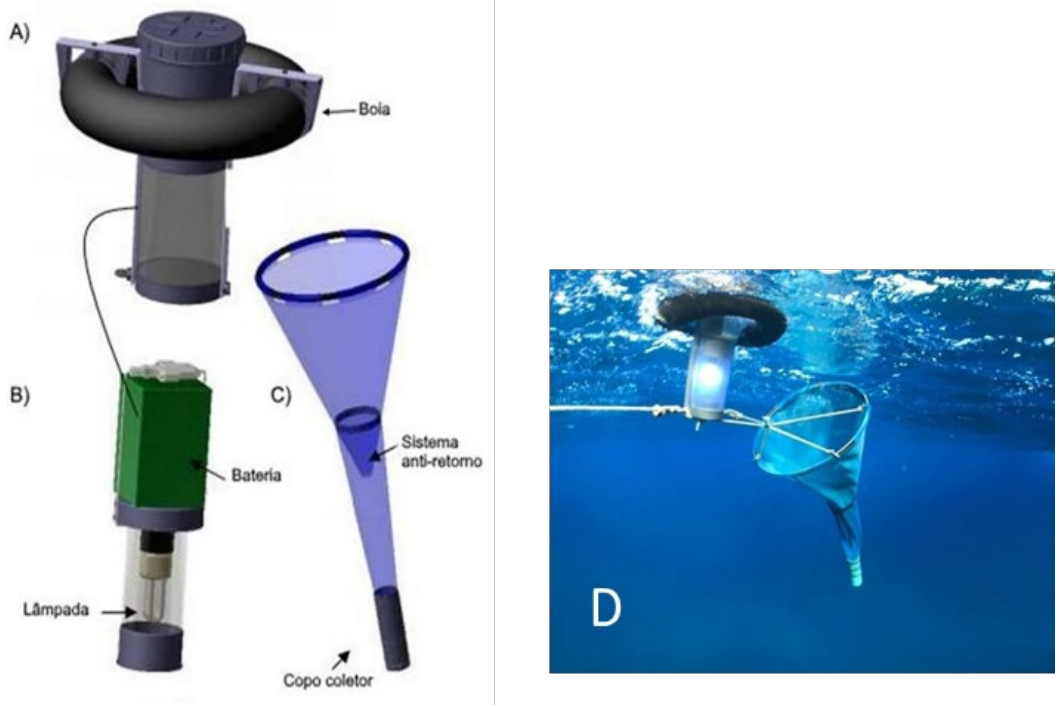
os peixes foram fixados em solução formalina 10% e posteriormente preservados em álcool 70% para evitar viés do método de preservação nas comparações isotópicas.

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). Coletas anuais 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 e janeiro de 2024. 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). Em 2025 e 2026 a coleta de ambas as espécies passou a ser trimestral (janeiro, abril, julho, outubro e/ou novembro de 2025 e janeiro 2026) no rio Doce e no São Mateus; o estuário do Itapemirim não foi amostrado, conforme as diretrizes da Deliberação CIF n° 803. 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-Açu (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) e Surfguru (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 Oceancolor da NASA (https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/l3/order/) foram processados no software SeaDAS (Seadas-7.5.3).

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



2.1.4 Genética populacional

Peixes estuarinos: Foram avaliados peixes estuarinos provenientes de coletas realizadas em três unidades amostrais: rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu, entre outubro de 2018 e março de 2026 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.

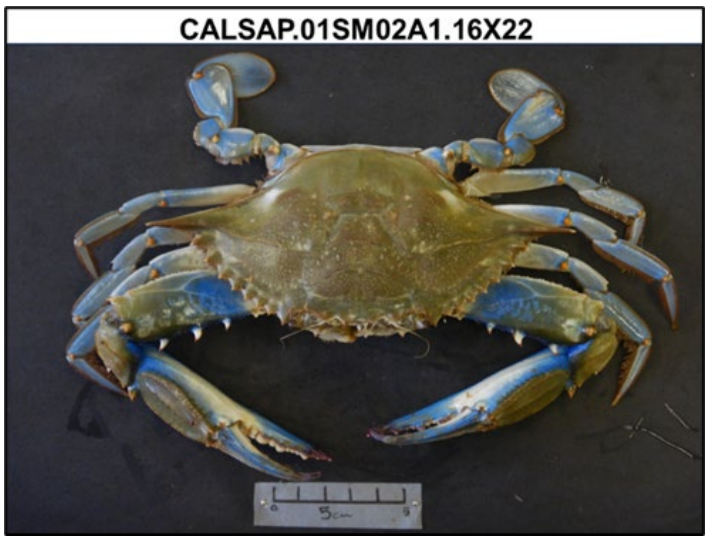
Figura 3: Exemplo de etiqueta contendo todas as informações dos peixes marinhos amostrados. Indivíduo da espécie *Diapterus rhombeus* coletado no rio São Mateus em 16 de novembro de 2018.



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-Açu, entre setembro de 2021 e março de 2026 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*10,25m*0,5, onde: A = área varrida em metros; D = distância percorrida pela rede; 10,25 é o comprimento da corda da parte inferior da rede; 0,5 é o fator equivalente a área varrida no arrasto, conforme SPARRE & VENEMA (1995). Assim, a densidade foi expressa em número de indivíduos/100m^2, enquanto a biomassa foi expressa em g/100m^2.

Foram calculadas médias por área (interna, pontos 0 - apenas para o Piraquê-Açu, 1 e 2, exceto Piraquê-Açu; externa – pontos 3, 4, 5 e 6) para cada estuário (rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açu) 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), Seco 7 – S7 (abril/2025 e julho/2025); Ano 8 = Chuvoso 8 – C8 (outubro/2025 e janeiro/2026).

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-Açu); “Estuário” (aleatório, rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açu, 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, S7, C8). 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^2) 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 (^{0}D, ^{1}D e ^{2}D). 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 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 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).

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 (^{q}D) (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 (^{0}D) as abundâncias foram desconsideradas, o que favorece a representatividade de espécies raras; quando q é igual a 1(^{1}D) 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 (^{2}D) 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 (HÈRAULT, 2015) no ambiente R (versão 4.0.1; R Development Core Team, 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}C e ^{15}N foram conduzidas usando um analisador elementar (FLASH 2000, Thermo Scientific) acoplado em um espectrômetro de massa de razão isotópica (Delta V Plus, Thermo Scientific, Bremen – Germany). Os resultados obtidos foram expressos em notação δ (‰) a partir dos valores de referência em acordo a equação $\delta X = [(R_{amostra}/R_{referência})-1] \times 10^3$, onde X é ^{13}C ou ^{15}N, e R é a razão correspondente a $^{13}C/^{12}C$ ou $^{15}N/^{14}N$.

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 $\delta^{13}C$, amplitude de $\delta^{15}N$ e nicho isotópico (*Standard Ellipse Area corrected for small sample size*, SEAc). A amplitude de $\delta^{13}C$ indica a distância entre os dois indivíduos com assinaturas de $\delta^{13}C$ 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 $\delta^{15}N$ indica a distância entre os dois indivíduos com assinaturas de $\delta^{15}N$ 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 δ-espaço bidimensional pelas assinaturas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ e é análogo ao nicho trófico Eltoniano, visto que as assinaturas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ 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 $\delta^{13}C$ 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 $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ 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”. Em virtude da nova malha amostral conforme a Deliberação CIF n° 803, a variação das assinaturas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ do bagre-guri e do robalo-peva foram analisadas trimestralmente somente para os estuários do rio Doce e São Mateus. A ausência de dados em determinados trimestres para as espécies estudadas indica que, embora tenham sido realizadas coletas em campo, não foram coletados indivíduos.

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^2) 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):

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 interquartílica) 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 morfologicamente 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 e padronizadas para 20 ng/µL.

Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de peixes estuarinos, foram avaliados indivíduos coletados entre outubro de 2018 e março de 2026, sendo 492 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*), 393 indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*), 158 indivíduos de pescada-goete (*Cynoscion jamaicensis*) e 238 indivíduos de maria-luísa (*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 por meio de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) utilizando os primers detalhados na Tabela 1. Depois de amplificados, os fragmentos de DNA foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com GelRed, visualizados e foto-documentados sob luz ultravioleta. Os produtos das reações de PCR foram purificados utilizando a enzima ExoSap-IT e enviados 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-goete) e *Paralonchurus brasiliensis* (maria-luísa).

Primer	Sequência	Referência	Espécie/ Gene
H8331	5'AAAGCRTYRGCCTTTTAAGC3'	HUGHES & HILLYER (2006)	*G. genidens* / ATPase 6 e 8
L9236	5'GTTAGTGGTCAKGGGCTTGGRTC3'		
L15990 snk	5'TACCGTCAACTCCCAAAGCTA3'	CHAPA (2012)	*C. parallelus* / D-loop
CRSNOOK4H	5'CTGCCCTCTGGAAATAATGCTRGGC3'		
L1	5'CCTAACTCCCAAAGCTAGGTATTC3'	RODRIGUES *et al*. (2008)	*C. jamaicensis* / D-loop
H2	5'CCGGCAGCTCTTAGCTTTAACTA3'		
12SARH	5'ATAGTGGGCTATCTAATCCCAGGT3'	MCMILLAN & PALUMBI *et al*. (1995)	*P. brasiliensis* / D-loop, genes tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções do genes 12s rRNA e tRNA-Thr
LTHR	5'AGCTCAGCGCCAGAGCGCCGGTCTTGTAAA3'	LEE *et al*. (1995)	

Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de crustáceos marinhos foram avaliados indivíduos coletados entre setembro de 2021 e março de 2026, sendo 201 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e 183 de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis)*. Sequências parciais dos genes mitocondriais: Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) e 16S rRNA foram amplificadas por meio de PCR utilizando-se os primers detalhados na Tabela 2. Depois de amplificados, os fragmentos de DNA foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com GelRed, visualizados e foto-documentados sob luz ultravioleta. Os produtos das reações de PCR foram

purificados utilizando-se a enzima ExoSap-IT e enviados 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
Fish F1	5'TCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC3'	WARD *et al*. (2005)	*X. kroyeri* / COI
Fish R2	5'ACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA3'		
COH6	5'TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA3'	SCHUBART & HUBER (2006)	*F. subtilis* / COI
COL6b	5'TADACTTCDGGRTGDCCAAARAAYCA3'	MANTELATO *et al*. (2016)	
16S-AR	5'ACG CCT GTT TAT CAA AAA CAT3'	PALUMBI *et al*. (1996)	*X. kroyeri* e *F. subtilis* / 16S rRNA
16S-BR	5'CCG GTC TGA ACT CAG ATC ACG T3'		
LCO1490	5'GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG3'	FOLMER *et al*. (1994)	*F. subtilis* / COI
HC02198	5'TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA3'		

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).

Nas análises do DNA nuclear dos peixes estuarinos foram utilizados indivíduos coletados entre outubro de 2018 e março de 2026. Já para os crustáceos marinhos foram avaliados indivíduos coletados entre setembro de 2021 e março de 2026. Nessas análises foram identificados e avaliados SNPs (*Single Nucleotide Polimorphisms*) para 51 amostras de robalo-peva (*C. parallelus*), 49 de bagre-guri (*G. genidens*), 14 de pescada-goete (*C. jamaicensis*), dez 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) e/ou PureLink Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen), conforme as instruções do fabricante. Para a otimização da extração salina e auxílio na melhor digestão de proteínas foi acrescentado 1 µl de B-Mercaptoethanol. As soluções de DNA extraído foram quantificadas em espectrofotômetro, e as que apresentam concentração acima de 20 ng/µl foram encaminhados 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 *reads* emparelhadas foi utilizado o programa Pear (versão 0.9.6) (ZHANG *et al*., 2014) e as *reads* foram processadas por meio de um *script* Perl, personalizado para remover

adaptadores e *reads* com qualidade *Phred Quality Score* <30. A montagem do catálogo de marcadores e o rastreio dos SNPs foram realizados utilizando-se a abordagem *De novo* e posteriormente *Refmap*, ambos com o uso do programa STACKS (CATCHEN *et al*., 2011).

Para os testes de estruturação genética foram realizados dois tipos de análises, uma análise espacial levando-se em consideração os rios (Doce, São Mateus e Piraquê-Açu), nos quais os indivíduos foram amostrados; e uma análise sazonal levando-se em consideração o período (chuvoso ou seco) na qual os indivíduos foram amostrados.

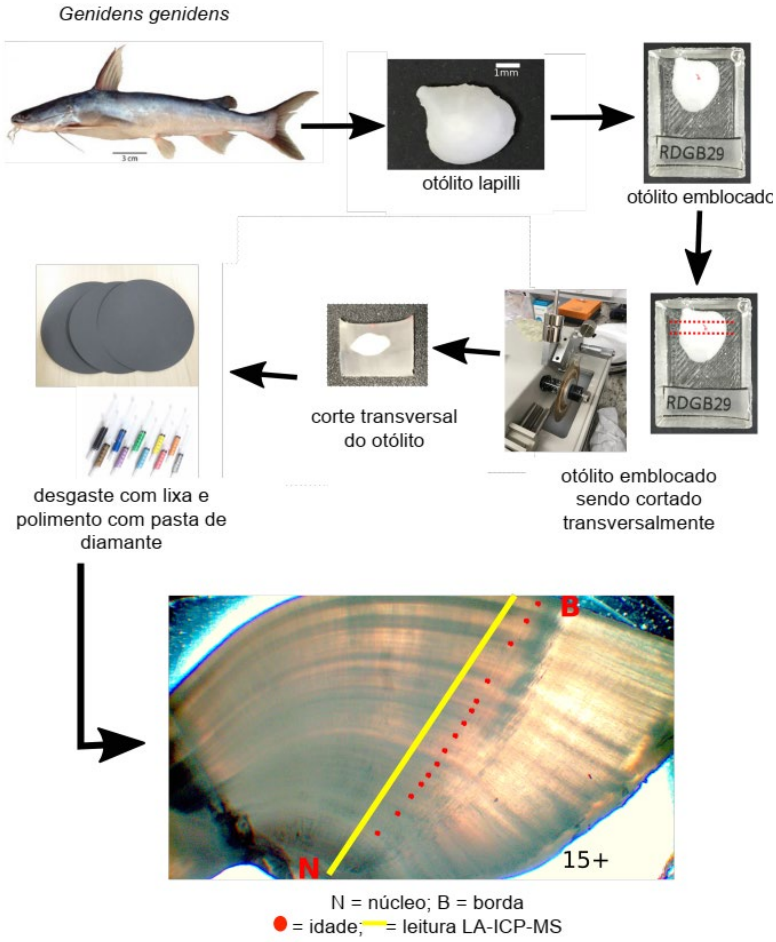
Para o DNA mitocondrial, os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica, F_{ST} par-a-par (com correção de Bonferroni) e a Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre diferentes localidades (rios) e períodos (seco e chuvoso), baseada no F_{ST} com 10.000 permutações, foram calculados no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER *et al*., 2010). As redes de haplótipos foram construídas a partir do algoritmo Median-Joining utilizando-se os programas PopArt (LEIGH *et al*., 2015) e Network (BANDELT *et al*., 1999).

Para o DNA nuclear, os índices de fixação (F_{ST}) e a Análise de Variância Molecular (AMOVA), foram calculados utilizando o parâmetro *Compute Distance Matrix* com o método *Pairwise difference* no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER *et al*., 2010). A heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He) foram calculadas no mesmo programa. As taxas de migração entre os rios foram calculadas com a função *divMigrate* no pacote *diveRsity* apresentados em Rstudio (KEENAN *et al*., 2013). A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada com o pacote adegenet versão 2.1.1 (JOMBART, 2008) no RStudio.

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 µm), desbastados com lixas de carboneto de silício até o plano do núcleo, e finalmente polidos com pastas de diamantes e montadas em lâmina de vidro convencional com uma gota de resina epóxi (Figura 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}Li,^{11}B, ^{23}Na, ^{25}Mg, ^{27}Al, ^{31}P, ^{39}K, ^{45}Sc, ^{48}Ti, ^{51}V, ^{52}Cr, ^{55}Mn, ^{56}Fe, ^{59}Co, ^{65}Cu, ^{66}Zn, ^{75}As, ^{79}Br, ^{82}Se, ^{85}Br, ^{86}Sr, ^{98}Mo, ^{114}Cd, ^{133}Cs, ^{138}Ba, ^{139}La, ^{140}Ce, ^{203}Hg, ^{208}Pb e ^{238}U) conjuntamente com o cálcio (^{43}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 paralellus* (100 exemplares), *C. undecimais* (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 paralellus* (118 exemplares), *Eugerres brasilianus* (110 exemplares) e *Genidens genidens* (135 exemplares), entre 2022 e janeiro de 2024, nos estuários do Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus. Para a avaliação da variação sazonal, as amostras da Fase II também foram organizadas por campanha de coleta, considerando os períodos chuvoso e seco de 2025 e a campanha no período chuvoso de 2026. As análises sazonais foram realizadas principalmente para os estuários dos rios Doce e São Mateus, permitindo comparar possíveis variações temporais nas razões Elemento:Ca da borda dos otólitos. As comparações seguiram os mesmos procedimentos estatísticos descritos para as análises espaciais, utilizando Kruskal-Wallis e teste de Dunn quando aplicável.

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 (α) foi de 0,05. Os dados são apresentados como valores médios ± 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. brasilianus* 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 gonadossomático (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 gonadossomático 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 gonadossomático), 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 µm) 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.

Modelos Lineares Generalizados (GLM), usando distribuição Gamma, foram utilizados para comparar o IGS, FCT e FCS entre os setores (rio Doce e rio São Mateus), entre períodos (seco: abril–setembro e chuvoso: outubro–março) e anos de monitoramento Ano 5 (outubro/2022–setembro/2023), Ano 6 (outubro/2023–setembro/2024), Ano 7 (outubro/2024–setembro/2025) e Ano 8 (outubro/2025–março/2026). O Índice de Lesão Gonadal (ILG) foi comparado apenas entre setores e anos de monitoramento. As análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2026), considerando o nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

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 Nucelotide 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-goete (*Cynoscion jamaicensis*). No RA2024, foram adicionados resultados da espécie *Paralonchurus brasiliensis* (maria-luisa). 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.
- Telemetria estuarina, que era realizada nos rios São Mateus e Doce.

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* × *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

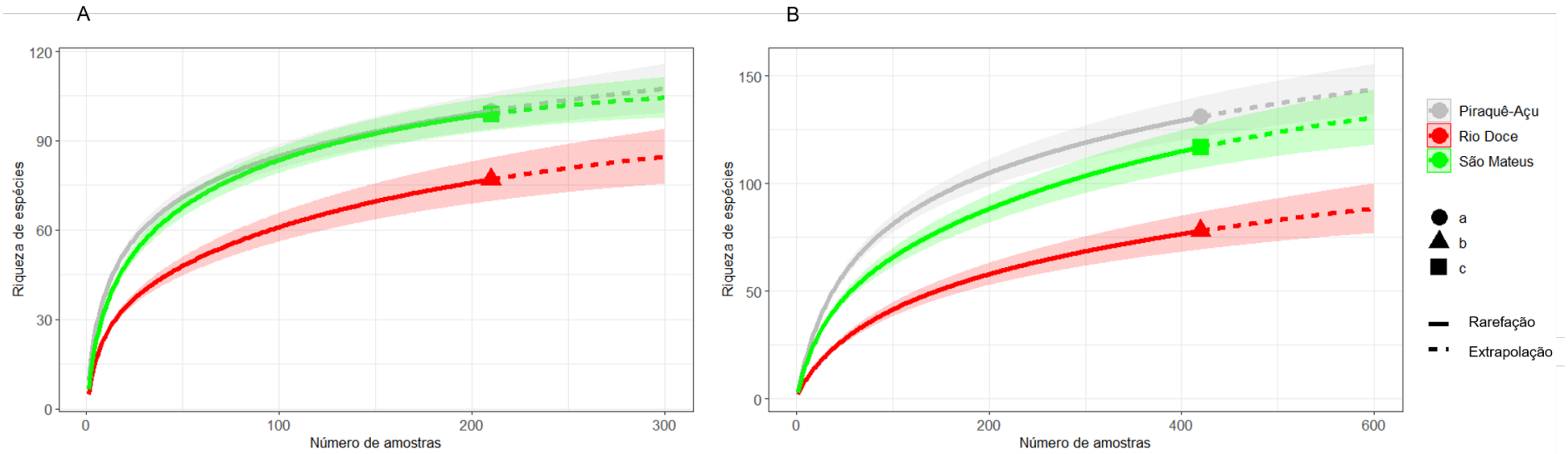
Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest-UFES e obtidos ao longo de todo monitoramento na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito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

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 – 210 arrastos por área) e externas (B – 420 arrastos por área) dos rios Piraquê-Açu, Doce e São Mateus entre outubro/2018 e janeiro/2026. 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), tanto as áreas internas (Figura 6A) quanto as externas (Figura 6B) 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. 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/2026, foram coletados 145.541 peixes estuarinos/marinhos, sendo 34.106 no rio Doce. Nos estuários indiretamente impactados, foram coletados 43.389 no rio São Mateus e 68.046 no rio Piraquê-Açu. O rio Doce apresentou menor riqueza (137 espécies identificadas) que os estuários indiretamente impactados (São Mateus, 170 espécies; Piraquê-Açu, 176), porém, a família Sciaenidae apresentou a maior riqueza nos três estuários (rio Doce - RD, 19 espécies; São Mateus - SM, 22; Piraquê-Açu - PA, 22), tanto nas áreas internas (RDI, 11; SMI, 13; PAI, 11) quanto nas externas (RDE, 15; SME, 18; e PAE, 22). O número de espécies diminuiu em relação ao relatório anterior, pois houve reenquadramento taxonômico de algumas espécies, porém, para a avaliação das comunidades, não houve mudanças. 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 15,5% do total), quanto em biomassa (47,4%), sobretudo em RDI (40,0% da abundância; 66,3% da biomassa). Por outro lado, *G. genidens* também dominou em biomassa em SMI, porém representou apenas 17,6%, com menor dominância que em RDI. Nas áreas externas, o cangoá *Stellifer brasiliensis* dominou a abundância no rio Doce (RDE, 20,9%), enquanto a sardinha mole (*Chirocentrodon bleekerianus*) foi dominante em SME (32,6%) e PAE (27,9%). A dominância em biomassa exercida pela raia-lixa *Hypanus guttatus* em RDE (15,8%) no período anterior (FEST, 2025) não se repetiu no período atual, sendo substituída por *S. brasiliensis* (15,9%). Porém, *H. guttatus* é a segunda espécie com maior biomassa em RDE (14,4%) e em SME (14,0%) continua sendo dominante. Esta espécie, categorizada como NT (Quase ameaçado; IUCN, 2026) é pouco estudada. No entanto, é frequente nas pescarias de pequena escala no nordeste brasileiro (SILVA *et al*., 2018; GIANETI *et al*., 2019), onde o declínio nas capturas foi 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 à sobrexplotação 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 131 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.

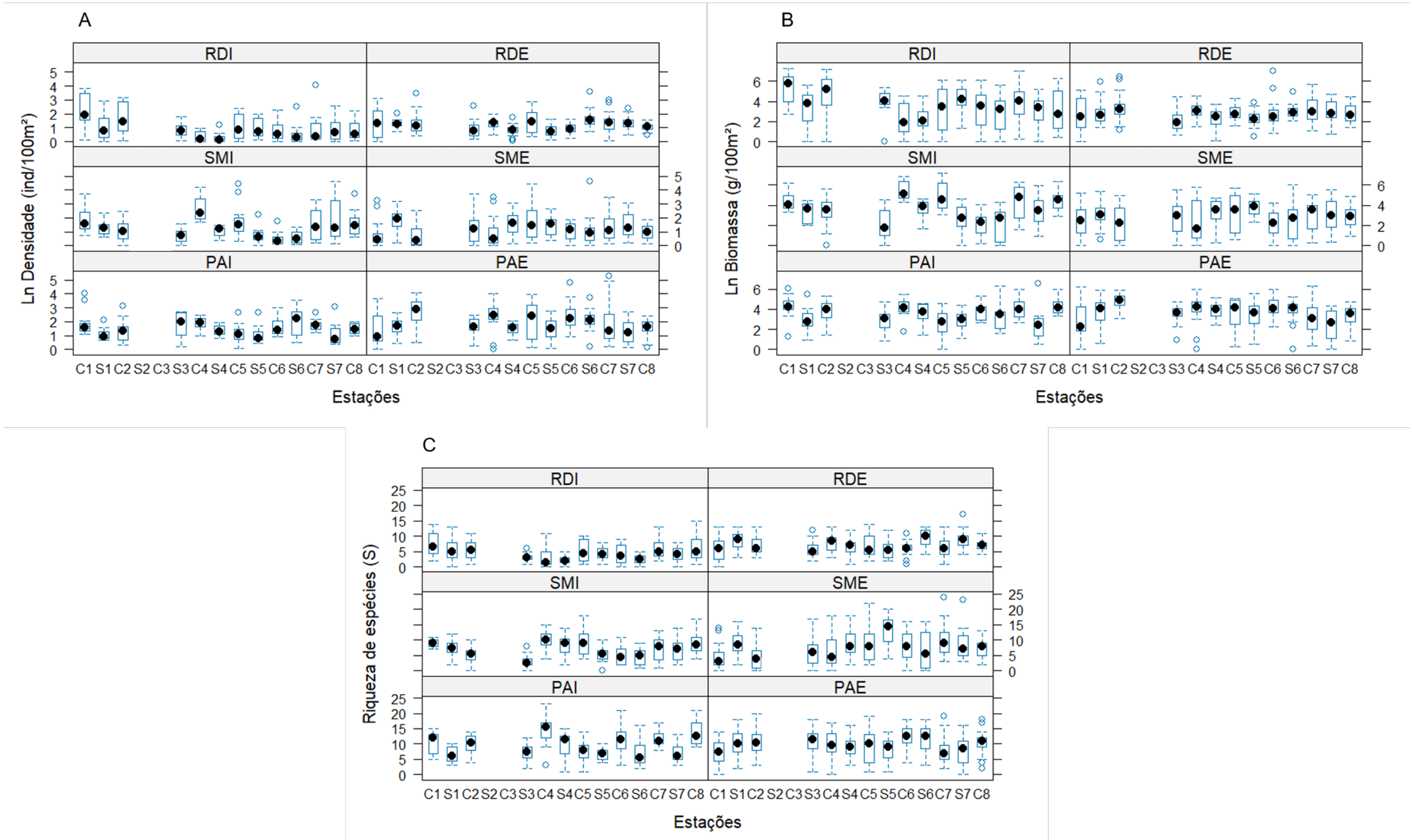
Tabela 3: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m^2) e biomassa (g/100m^2) transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açu), 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), C7 (outubro/2024 e janeiro/2025)), S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026). 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	43,186	1,177	0,4817	15,352	0,63686	0,5678	2012,7	1,9168	0,3976
Período	12	37,675	0,6727	0,7649	93,128	0,74426	0,6939	461,61	0,40315	0,6939
Estuário (Local)	1	36,693	5,4557	0,1086	24,107	0,64034	0,482	1050	4,4076	0,132
Local x Período	12	34,249	0,61153	0,8093	99,166	0,79251	0,6583	460,05	0,40179	0,6583
Área (Estuário (Local))	3	20,177	11,02	**0,0001**	112,94	21,662	**0,0001**	714,68	17,365	**0,0001**
Estuário (Local) x Período	12	56,006	1,5693	0,148	125,13	1,4015	0,2081	1145	1,4432	0,2081
Área (Estuário (Local)) x Período	36	107,06	4,8729	**0,0001**	267,85	4,2811	**0,0001**	2380,2	4,8194	**0,0001**
Resíduo	1326	809,27			2304,5			18191		
Total	1403	1164,3			3048,1			26579		

Como já observado anteriormente (FEST, 2025), os resultados da interação entre os fatores Local x Período (Tabela 3), indicaram não haver diferenças ($p<0,05$) nos indicadores densidade, biomassa e riqueza entre os estuários, durante os períodos analisados. Isso demonstra que o rio Doce e estuários indiretamente impactados apresentaram distribuições espaço-temporais similares entre si destes indicadores ao longo dos oito anos de monitoramento. Por outro lado, os testes *a posteriori* indicaram que houve diferenças significativas no fator Área, demonstrando maior diferença entre as áreas internas e externas de cada estuário nos indicadores densidade (rios Doce e Piraquê-Açu) e biomassa (rios Doce e São Mateus), 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). As áreas externas apresentaram maiores valores de densidade (RDE e PAE) e riqueza (RDE), enquanto a biomassa foi maior em RDI e SMI.

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 isso não indica que a ictiofauna do rio Doce está em boas condições. Como os peixes apresentam mobilidade e podem mudar de habitat de acordo com as flutuações ambientais, é provável que algumas espécies mudem de local ou deixem de existir e que a estrutura da comunidade de peixes estuarinos, esteja sendo afetada pelo Material Ligado ao Desastre (MLD). Tais mudanças populacionais dos peixes refletem em mudanças na composição 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), o que vem sendo observado em RDI desde o início do monitoramento. Nesta área foi observada a ampla dominância em abundância (40,0% do total) e biomassa (66,3%) 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). Além disso, sendo uma espécie bentófaga e demersal, está em contato constante com o substrato e, desta forma, reflete as condições do ambiente circundante.

Figura 7: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m^2), (B) biomassa (g/100m^2) 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-Açu); Período: chuvoso (C) e seco (S) dos 8 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), C7 (outubro/2024 e janeiro/2025), S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no *boxplot* indica o valor médio.



As tendências observadas no relatório anterior (FEST, 2025) foram mantidas no presente documento. Foram observadas diferenças significativas entre as áreas e na interação entre áreas e períodos, apesar da ausência de diferenças significativas ($p<0,05$) 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 à diminuição entre C1 e S4 na área interna do rio Doce (RDI, Figura 7). Nesta área, houve aumento na densidade em C5, enquanto biomassa aumentou em S5, ambas com valores semelhantes ($p>0,05$) até C8 (até janeiro/2026). Nas áreas internas dos locais indiretamente impactados (PAI e SMI) 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. Vale destacar que a riqueza variou significativamente entre as áreas apenas no rio Doce, onde RDI foi menor que RDE, o que está sendo observado desde o início do monitoramento. Após o declínio observado até S4, a riqueza de RDI apresentou oscilações, aumentando nos períodos chuvosos, com declínios subsequentes, e aumentando em C7, cujo valor se manteve até C8 ($p>0,05$). 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, que estão 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 os declínios nos valores de riqueza observados na área interna do rio Doce ao longo do tempo, chama a atenção e podem 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, sobretudo na área interna, propiciando o emprego futuro de indicadores integrativos (PINNA *et al*., 2023) e, posteriormente, de medidas de restauração.

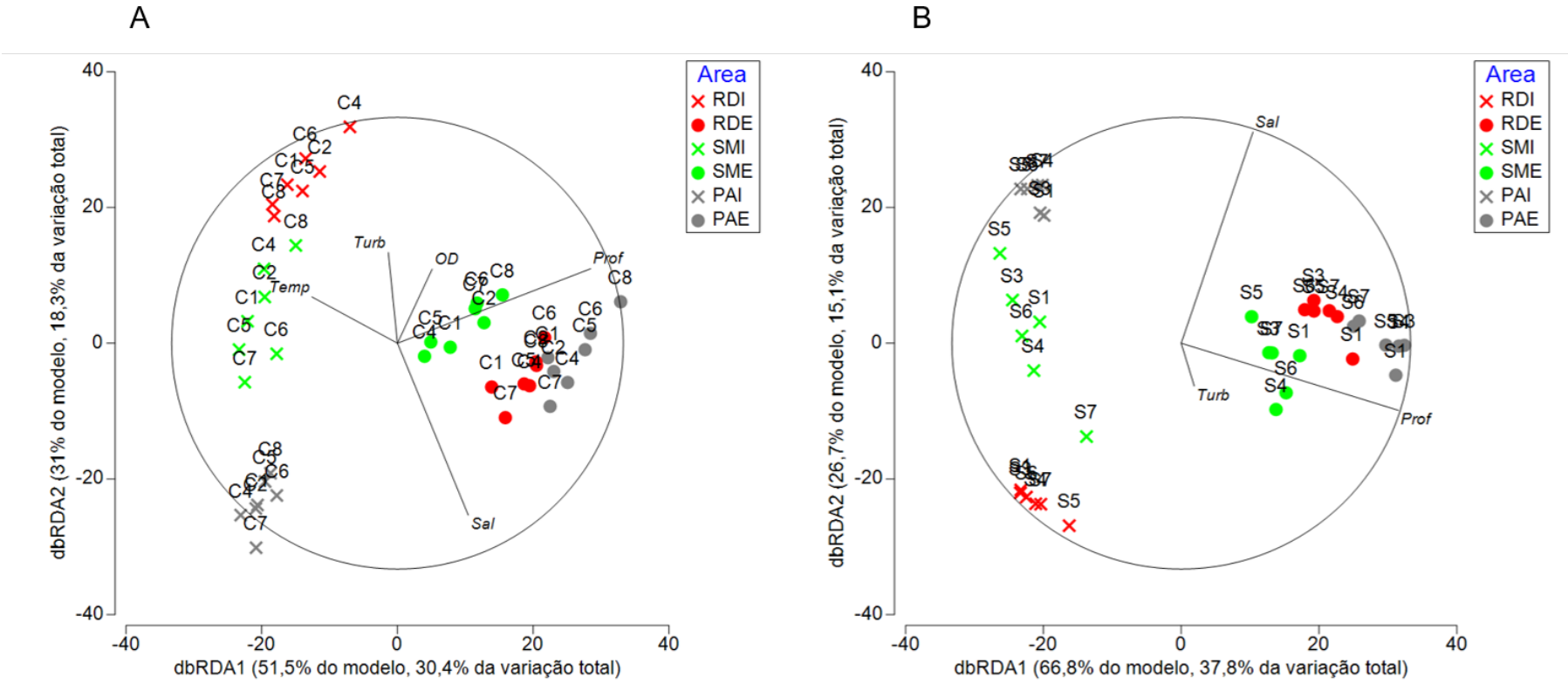
Tabela 4: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura de comunidade (composição e densidade transformada em raiz quarta) de peixes estuarinos, e as variáveis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

Período chuvoso			Período seco		
Variáveis selecionadas	**AICc**	**R^2**	**Variáveis selecionadas**	**AICc**	**R^2**
Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	274,37	0,59	Salinidade, turbidez, profundidade	236,51	0,57
Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	275,11	0,56	Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	236,89	0,59
Salinidade, turbidez, profundidade	275,62	0,52	Salinidade, profundidade	237,63	0,52
Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	275,73	0,55	Temperatura, salinidade, profundidade	238,43	0,54
Temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	275,95	0,60	Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	238,46	0,58
Temperatura, pH, salinidade, turbidez, profundidade	276,04	0,58	pH, salinidade, turbidez, profundidade	238,7	0,57
pH, salinidade, turbidez, profundidade	276,57	0,54	Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	238,98	0,60
Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	276,77	0,54	Temperatura, pH, salinidade, turbidez, profundidade	239,05	0,60
pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	277,03	0,56	Oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	239,37	0,53
Temperatura, salinidade, profundidade	277,14	0,51	pH, salinidade, profundidade	239,65	0,53

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) de peixes. Na inclusão de S7 e C8, o melhor modelo incluiu oxigênio dissolvido além temperatura, salinidade, turbidez e profundidade, que haviam sido observadas anteriormente. No período seco, as correlações foram significativas para as variáveis analisadas, exceto turbidez. Como no relatório anterior (FEST, 2025), o melhor modelo deste período incluiu salinidade, turbidez e profundidade. 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 desta variável na distribuição da ictiofauna vem sendo observada e necessita de atenção pois sabe-se que a turbidez está diretamente relacionada a presença do MLD. Esta variável, cuja significância vem sendo 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), pode causar mudanças na estruturação das comunidades ictiofaunísticas, uma vez que apresenta comportamento sinergético com oxigênio dissolvido e pH (Vilar *et al*., 2022). 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 para a estrutura das comunidades de peixes adultos. A 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. Por outro lado, 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 7). Apesar de apresentar valores de salinidade próximos a zero o ano todo, aparentemente, o rio Doce depende mais destes pulsos do que os estuários indiretamente impactados (Piraquê-Açu e São Mateus), pois estes últimos apresentaram picos de densidade, biomassa e riqueza 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 ocorrem mais em águas mais profundas (JAUREGUIZAR *et al.*, 2016). Ela influenciou a distribuição de robalos-peva (*Centropomus parallelus*), que foram 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 monitoramento, VILAR *et al.* (2022) observaram que as variáveis influenciadas diretamente pelo rompimento (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 em RDI, reforçam a necessidade de um monitoramento espaço-temporal amplo e de longo prazo, sobretudo nas áreas internas dos estuários, 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), C7 (outubro/2024 e janeiro/2025) , S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026), 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^2) e frequência de ocorrência.



Como já observado anteriormente, a ictiofauna das áreas externas esteve mais associada aos maiores valores de salinidade e profundidade, tanto no período seco quanto no chuvoso (Figura 8). A homogeneidade entre as áreas externas, foi confirmada e vem sendo observada desde o início do monitoramento (FEST, 2025). No período chuvoso (Figura 8A), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 82,5% do modelo e 48,7% da variação total, indicando que o conjunto de variáveis analisadas constituiu boa explicação dos padrões de distribuição da densidade dos peixes. A turbidez apresentou, novamente, influência na distribuição da densidade em RDI, também com menor salinidade. Nos estuários indiretamente impactados, a turbidez apresentou influência mediana na distribuição da ictiofauna. No período seco (Figura 8B), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 93,5% do modelo e 52,9% 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 os estuários indiretamente impactados, como já observado. 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 foi observado nos 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 desde as chuvas excessivas observadas nas áreas estudadas, entre outubro/2022 e janeiro/2023 (em C5) Fonte: CEMADEN 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, sobretudo nas áreas externas. 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 as 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, foram apontados como responsáveis pela diminuição da densidade de algumas espécies, indicando mudança na estrutura das comunidades ictiofaunísticas (BARLETTA *et al*., 2016). Desta forma, as chuvas, além de aumentarem o aporte de sedimento continental nos rios naturalmente, remobilizam o MLD (HATJE *et al*., 2017), aumentando a turbidez, que influencia a estrutura da comunidade de peixes estuarinos, como observado após a 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-Açu), utilizando-se a média de densidade (ind./100m^2). 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 (%)**
Dissimilaridade média - RDI x RDE = 98,28%	**RDI**	**RDE**		
Genidens genidens (bagre-guri/caçari)	24,92	0	12,72	12,72
Symphurus plagusia (língua-de-mulata/linguado)	0	13,72	7,3	20,01
Stellifer brasiliensis (cangoá)	1,26	14,01	7,17	27,19
Paralonchurus brasiliensis (Maria-Luíza)	0	8,95	4,76	31,94
Genidens barbus (bagre-branco)	8,12	0,11	4,16	36,11
Dissimilaridade média - SMI x SME = 96,81%	**SMI**	**SME**	**Contribuição individual (%)**	**Contribuição acumulada (%)**
Achirus lineatus (linguado)	12,66	0,04	6,87	6,87
Lycengraulis grossidens (manjubão)	10,5	0,29	5,74	12,61
Chloroscombrus chrysurus (palombeta)	5,73	5,79	5,24	17,86
Chirocentrodon bleekerianus (sardinha-mole)	0,39	9,41	5,08	22,94
Pellona harroweri (sardinha-branca)	0	5,46	2,88	25,81
Dissimilaridade média - PAI x PAE = 95,95%	**PAI**	**PAE**	**Contribuição individual (%)**	**Contribuição acumulada (%)**
Eucinostomus argenteus (escrivão/carapicú)	12,71	0,66	6,7	6,7
Anchoa januaria (manjuba)	11,64	0,04	6,1	12,79
Chirocentrodon bleekerianus (sardinha-mole)	0,83	8,68	4,56	17,36
Achirus lineatus (linguado)	8,38	0,37	4,34	21,69
Stellifer brasiliensis (cangoá)	0,04	7,48	3,89	25,59

As análises de Similaridade de Percentagens (SIMPER) (Tabela 5) da densidade (ind./100m^2), 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 (22 espécies), São Mateus (32) e Piraquê-Açu (30), com poucas mudanças em relação ao relatório anterior (FEST, 2025). 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 e Piraquê-Açu (ambas com 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 barbus*, 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. barbus* 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.

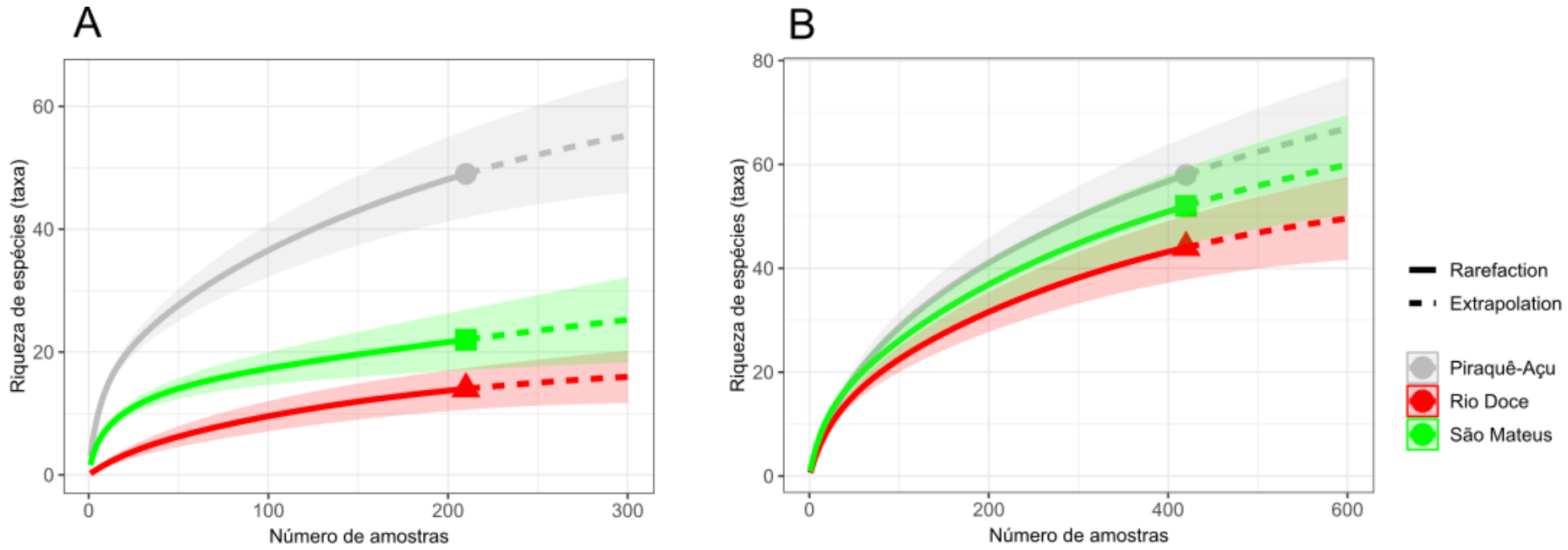
As áreas internas dos estuários indiretamente impactados apresentaram espécies que mais contribuíram para a dissimilaridade entre as áreas (SMI, *Achirus lineatus*; PAI, *Eucinostomus argenteus*), diferentes daquelas observadas na área interna do rio Doce. Além disso, na área externa, *S. brasiliensis* contribuiu mais no rio Doce e *Chirocentrodon bleekerianus* dominou nos estuários indiretamente impactados, o que vem sendo observado ao longo do monitoramento (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. barbus*, 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. barbus* é classificada como “Em Perigo” (EN) na avaliação do diagnóstico das espécies ameaçadas de extinção para o estado do Espírito Santo (FRAGA *et al*., 2019). Além disso, *G. barbus*, espécie de relevância econômica (ÁVILA DA SILVA *et al*., 2026), também é elencada como EN na Lista Nacional Oficial de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção (MMA, 2026),

Estuários são conhecidos por apresentar dominância de poucas espécies, porém, na área interna do rio Doce foi observada a dominância de *G. genidens*, espécie com hábitos alimentares oportunistas (CHAVES & VENDEL, 1996), fato que pode indicar degradação ambiental.

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 – 210 amostras por área) e externas (B – 420 amostras por área) dos rios Piraquê-Açu (a), Doce (b) e São Mateus (c) entre outubro/2018 e janeiro/2026. As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança de 95%.



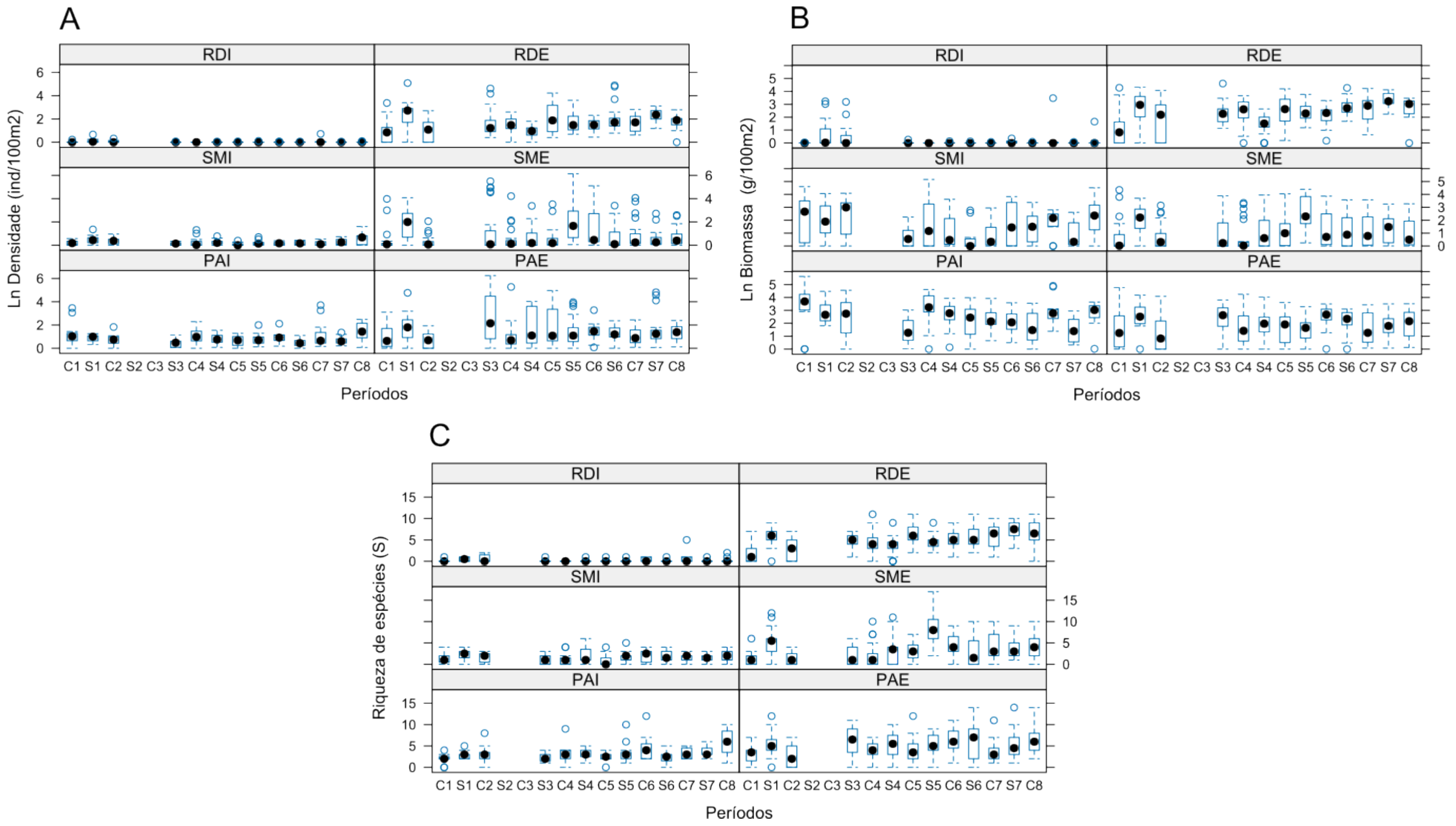
Os resultados das curvas de rarefação calculadas para as seis áreas monitoradas (Figura 9; duas áreas em cada estuário) não atingiram a assíntota, indicando que outras espécies de crustáceos podem ser coletadas com aumento do esforço amostral. A exceção é a área interna do rio Doce, para qual a curva 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. Até o último período chuvoso analisado (C7 = outubro/2024 e janeiro/2026), a menor riqueza de espécies (14 espécies) 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 com 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 Material Ligado ao Desastre (MDL) 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 científicas (OLIVEIRA-FILHO *et al*., 2023; 2025) e observado para a ictiofauna (CONDINI *et al.*, 2022), este resultado não pode ser atribuído exclusivamente ao 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 237.133 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 de amostragens foram coletados 46.941 indivíduos no rio Doce, pertencentes a 62 táxons (47 espécies identificadas), sendo 14 táxons na área interna e 56 táxons na área externa. No rio São Mateus foram coletados 58.013 indivíduos, pertencentes a 73 táxons (55 espécies identificadas), sendo 22 táxons na área interna e 69 táxons área externa. No rio Piraquê-Açu foram coletados 132.179 indivíduos, pertencentes a 81 táxons (58 espécies identificadas), sendo 51 táxons na área interna e 64 táxons na área externa. A família Portunidae (9 espécies – 13 morfotipos) foi a mais representativa em número de espécies identificadas, seguida de Penaeidae (7 espécies – 11 morfotipos), Parthenopidae (8 espécies – 10 morfotipos) e Alpheidae (8 espécies – 10 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^2) e biomassa (g/100m^2) 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-Açu), 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), C7(outubro/2024 e janeiro/2025), S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026). 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). Asterísco (*) = *p* obtido pelo método de Monte Carlo.

		Densidade (ind./100m^2)			**Biomassa (g/100m^2)**			**Riqueza (S)**		
Fatores	**GL**	**SS**	**Pseudo-F**	**P(perm)**	**SS**	**Pseudo-F**	**P(perm)**	**SS**	**Pseudo-F**	**P(perm)**
Local: I vs ID	1	0,76	0,01	0,9323*	80,26	0,63	0,5677*	128,05	0,27	0,6963*
Período	12	42,04	2,45	0,0647	52,03	1,97	0,1244	530,16	2,83	**0,0469**
Estuário (Local)	1	70,10	0,59	0,7197	127,43	0,72	0,6077	468,00	0,48	0,5233*
Local x Período	12	16,41	0,96	0,5236	39,65	1,50	0,2548	180,35	0,96	0,5208
Área (Estuário (Local))	3	366,22	43,09	**0,0001**	547,02	33,01	**0,0001**	2951,20	199,15	**0,0001**
Estuário (Local) x Período	12	17,17	0,51	0,895	26,41	0,40	0,9546	187,58	0,81	0,6346
Área (Estuário (Local)) x Período	36	101,98	3,36	**0,0001**	198,83	4,73	**0,0001**	695,13	3,91	**0,0001**
Resíduos	1326	1116,60			1549,20			6549,90		
Total	1403	1814,50			2593,70			12387,00		

As análises realizadas para densidade, biomassa e riqueza de espécies revelaram que a variação espaço-temporal da comunidade de crustáceo não difere significativamente entre a área impactada (rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açu), conforme demonstrado pela ausência de efeito significativo do fator Local e da interação Local x Período para os três índices ecológicos avaliados (Tabela 6). No entanto, o fator Área aninhada em Estuário apresentou efeito altamente significativo para os índices (p = 0,0001), evidenciando que o gradiente interno-externo (estuário-costa) relativo à cada local amostrado constitui um fator estruturante da comunidade de crustáceos. A interação Área x Período também foi significativa para os índices (p = 0,0001), indicando que a resposta temporal da comunidade de crustáceos varia conforme a posição espacial (zona interna vs zona externa). Particularmente para a riqueza de espécies, o fator Período isoladamente também apresentou efeito significativo (p = 0,042), sugerindo uma influência sazonal direta sobre a diversidade taxonômica. Estes padrões estão representados graficamente na Figura 10. Essa estruturação espacial predominante da carcinofauna sobre a variação regional é consistente ao longo de toda a série temporal do monitoramento PMBA/Fest-UFES (FEST, 2024). Embora não haja diferenças significativas entre os locais monitorados, é importante considerar que impactos antrópicos locais, heterogeneidade de habitat e flutuações sazonais de variáveis ambientais e processos ecológicos continuam exercendo papel fundamental na composição e distribuição da carcinofauna estuarina e marinha costeira (RAMOTH *et al*., 2023). Portanto, é possível que outros padrões faunísticos sejam detectados ao longo do tempo, particularmente quando as análises consideram a resolução espacial fina do gradiente estuarino-costeiro de cada local (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2025).

Figura 10: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m^2), (B) biomassa (g/100m^2) 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-Açu); 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), C7 (outubro/2024 e janeiro/2025), S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ln = logarítimo natural. Ponto preto no boxplot indica o valor médio.



Os resultados das PERMANOVAS indicaram efeito significativo do fator Área aninhada em Estuário e da interação Área×Período sobre a densidade de crustáceos (Figura 10A; Tabela 6) evidenciando que a estrutura espacial e sua variação sazonal estruturam a carcinofauna na área monitorada. As áreas internas apresentaram consistentemente as menores densidades, com destaque para o rio Doce (RDI), onde os valores permaneceram próximos de zero, enquanto as áreas externas registraram as maiores abundâncias, frequentemente superiores a 4,0 ind./100m^2. Nas áreas externas, os picos de densidade média ocorreram no período seco, com variações locais nos períodos de maior abundância (S3–S7). Estes resultados reforçam que o gradiente interno-externo é o principal driver da distribuição da carcinofauna, com a sazonalidade atuando de forma secundária e dependente do contexto espacial.

Os resultados obtidos para a biomassa (g/100m^2) de crustáceos (Figura 10B) demonstram um padrão semelhante ao observado para a densidade, sem diferença significativa na variação da área impactada e áreas indiretamente impactadas. As áreas internas apresentaram as menores biomassa de forma consistente, com destaque para o rio Doce (RDI), onde os valores permaneceram próximos de zero, enquanto as áreas externas registraram os maiores valores, frequentemente superiores a 4,0 g/100m^2, com picos (em valores médios) no período seco (RDE-S7: 6,10 g/100m^2; SME-S5: 5,25 g/100m^2). A maior variabilidade observada em São Mateus e Piraquê-Açu, especialmente durante períodos chuvosos, contrasta com a maior estabilidade temporal no rio Doce a partir de S3, reforçando que a dinâmica da biomassa responde de forma heterogênea aos fatores locais e sazonais.

As análises de riqueza de espécies (S) de crustáceos (Figura 10C) corroboram os resultados de densidade e biomassa, com valores consistentemente menores nas áreas internas, especialmente no rio Doce (RDI), onde as médias permaneceram inferiores a 1 espécie por amostra. Nas áreas externas, a riqueza estabilizou-se entre 4 e 6 espécies, com picos (em valores médios) em SME-S5 (8,33) e RDE-S7 (7,38). A PERMANOVA indicou efeito significativo do fator Período (p = 0,042) e da interação Área×Período (p = 0,0001), evidenciando que a resposta da diversidade à sazonalidade também depende do contexto espacial. Estes resultados reforçam que o gradiente estuarino-costeiro constitui o principal fator estruturante da riqueza de carcinofauna nos três estuários estudados.

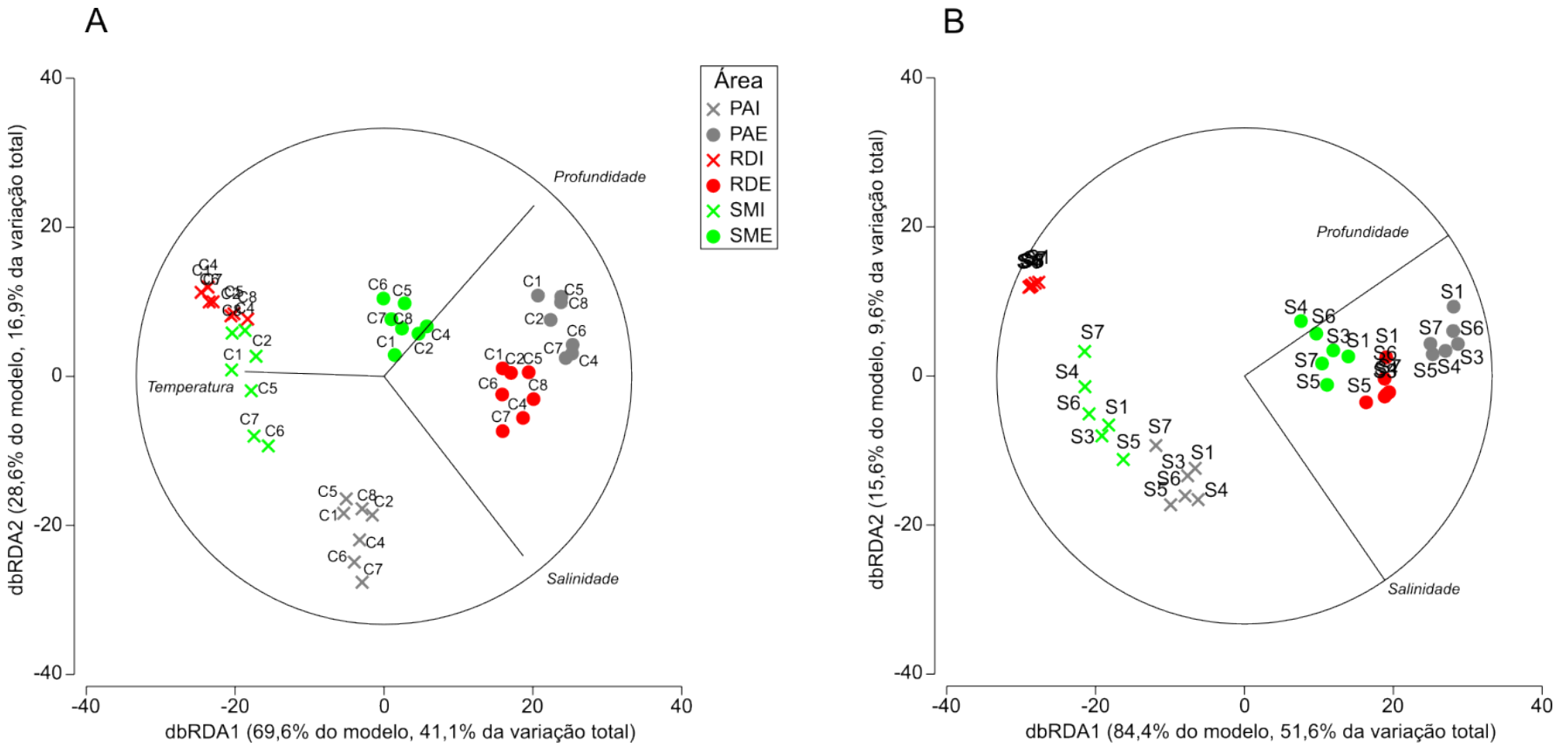
A presença de outliers nos boxplots reflete ocorrências pontuais de valores extremos, sugerindo que eventos atípicos (i.e., flutuações ambientais abruptas, pulsos de recrutamento ou condições locais favoráveis) podem ter gerado picos isolados de densidade, biomassa e riqueza de espécies em determinadas amostras, sem necessariamente representar o padrão geral da comunidade.

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).

Período Chuvoso			Período Seco		
Variáveis selecionadas	**AICc**	**R^2**	**Variáveis selecionadas**	**AICc**	**R^2 2**
Profundidade	261,26	0,37	Profundidade	222,54	0,49
Profundidade, Salinidade	251,18	0,53	Profundidade, Salinidade	217,15	0,59
Temperatura, Salinidade, Profundidade	251,07	0,56	Temperatura, Salinidade, Profundidade	217,67	0,61
Temperatura, Salinidade, Turbidez, Profundidade	252,61	0,57	Temperatura, pH, Salinidade, Profundidade	218,33	0,63
Temperatura, Oxigênio Dissolvido, Salinidade, Turbidez, Profundidade	254,72	0,58	Temperatura, pH, Salinidade, Turbidez, Profundidade	219,18	0,65

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 para os padrões observados nas comunidades, explicando aproximadamente 56% da variação no período chuvoso (modelo com duas variáveis; R^2 = 0,56) e 60% no período seco (R^2 = 0,60). Porém, o modelo ótimo do período chuvoso incluiu também a temperatura (R^2 = 0,59 com três variáveis). Estes resultados demonstram 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, reforçando o papel estruturante do gradiente físico-químico estuarino. As análises marginais também apontam o efeito da temperatura e turbidez no período chuvoso (p < 0,01 para ambas), com aumento do coeficiente de determinação (R^2) quando incluídas no modelo; variáveis cuja influência sobre os padrões de abundância e distribuição da fauna de crustáceos é reconhecidamente importante no rio Doce durante o período de maiores precipitações (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2025), porém com contribuição relativa substancialmente menor quando comparadas à salinidade e à profundidade. No período seco, a temperatura perdeu significância marginal (p = 0,27), sugerindo que a estruturação da comunidade nesse período é dominada quase exclusivamente pelo gradiente salino e batimétrico. 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), C7 (outubro/2024 e janeiro/2025), S7 (abril/2025 e julho/2025) e C8 (outubro/2025 e janeiro/2026), 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^2) e frequência de ocorrência.



As análises de redundância baseadas em distância (dbRDA) indicaram que salinidade e profundidade média foram as principais variáveis estruturadoras da carcinofauna em ambos os períodos: no chuvoso, o modelo ótimo (três variáveis: salinidade, profundidade e temperatura) explicou 58% da variação total dos dados (Figura 11A); no seco, um modelo mais parcimonioso (apenas salinidade e profundidade) alcançou R^2 = 0,59 (Figura 11B), com os eixos da dbRDA representando 100% de ajuste ao modelo e 61,2% da variação total dos dados. Em ambos os casos, os eixos da dbRDA capturaram 100% da variação ajustada ao modelo, reforçando que ~40% da variação residual provavelmente reflete processos ecológicos ou fatores ambientais não mensurados. As áreas externas, mais profundas e com maior salinidade, apresentaram composição faunística mais homogênea e estável entre períodos (OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2023), enquanto as áreas internas exibiram padrões diferenciados conforme o contexto hidrológico local: o rio Doce (RDI) manteve consistentemente baixa salinidade e valores reduzidos de densidade, biomassa e riqueza; São Mateus (SMI) mostrou influência intermediária da drenagem fluvial e da cunha salina; e Piraquê-Açu (PAI) revelou maior afinidade marinha mesmo em sua zona estuarina. Adicionalmente, o agrupamento das áreas externas na dbRDA refletiu a distribuição latitudinal dos estuários (SM-norte, RD-central, PA-sul), sugerindo maior similaridade faunística entre locais geograficamente próximos. Considerando a salinidade como fator determinante na estruturação da macrofauna bentônica em sistemas estuarinos e costeiros (BERNARDINO *et al.*, 2018; OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2025), as diferenças observadas em RDI não podem ser atribuídas exclusivamente ao impacto do MLD, uma vez que a baixa salinidade natural desta área já impõe restrições ecológicas esperadas para a carcinofauna. Estes resultados reforçam a importância do monitoramento contínuo para discriminar efeitos antrópicos de variações naturais e subsidiar estratégias de manejo e mitigação baseadas em evidências.

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 (%)
Dissimilaridade média RDI x RDE = 99,25	**RDI**	**RDE**		
Xiphopenaeus kroyeri (camarão sete-barbas)	0	1,08	28,03	28,03
Sicyonia dorsalis (camarão pedra)	0	0,69	17,21	45,25
Callinectes ornatus (siri)	0,03	0,39	10,03	55,27
Nematopalaemon schmitti (barriga branca)	0	0,35	7,83	63,1
Exhippolysmata oplophoroides (camarão espinho)	0	0,3	6,62	69,72
Hepatus pudibundus (caranguejo-baú)	0	0,21	4,52	74,23
Dissimilaridade média SMI x SME = 99,25	**SMI**	**SME**		
Callinectes ornatus (siri)	0,18	0,33	13,82	13,82
Callinectes danae (siri azul)	0,27	0,02	10,76	24,58
Xiphopenaeus kroyeri (camarão sete-barbas)	0	0,45	9,24	33,82
Sicyonia dorsalis (camarão pedra)	0	0,27	7,14	40,96
Farfantepenaeus paulensis (camarão rosa)	0,13	0,05	7,12	48,08
Rimapenaeus constrictus (camarão ferrinho)	0,02	0,21	5,43	53,51
Farfantepenaeus subtilis (camarão rosa)	0,11	0,06	5,05	58,56
Leander paulensis	0	0,2	4,66	63,22
Peisos petrunkevitchi (mossoroca)	0	0,29	4,47	67,69
Callinectes sapidus (siri azul)	0,09	0	3,68	71,37
Dissimilaridade média PAI x PAE = 99,25	**PAI**	**PAE**		
Callinectes danae (siri azul)	0,67	0,07	13,79	13,79
Xiphopenaeus kroyeri (camarão sete-barbas)	0,14	0,63	11,49	25,28
Sicyonia dorsalis (camarão pedra)	0,1	0,56	9,85	35,14
Callinectes ornatus (siri)	0,2	0,36	7,61	42,75
Farfantepenaeus paulensis (camarão rosa)	0,26	0,09	6,28	49,03
Farfantepenaeus subtilis (camarão rosa)	0,2	0,15	5,44	54,47
Peisos petrunkevitchi (mossoroca)	0,02	0,38	5,21	59,68
Rimapenaeus constrictus (camarão ferrinho)	0,09	0,2	4,05	63,73
Achelous spinicarpus (siri-praga)	0	0,17	3,34	67,07
Leander paulensis	0,16	0,08	3,25	70,32

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). Dentre estas, *Xiphopenaeus kroyeri*, *Sicyonia dorsalis* e *Callinectes ornatus* apresentam ampla distribuição na costa brasileira e dominam consistentemente em toda área amostrada, enquanto *Nematopalaemon schmitti* e *Exhippolysmata oplophoroides* destacam-se exclusivamente na área externa do rio Doce (RDE), indicando padrão de ocorrência mais restrito. No rio Doce, as cinco espécies mais contributivas explicaram 70,75% da dissimilaridade média entre as áreas interna (RDI) e externa (RDE; dissimilaridade média = 99,23). O camarão sete-barbas (*X. kroyeri*) foi o principal driver dessa diferenciação (~28% de contribuição), com abundância média de 1,08 ind./100m^2 em RDE versus ausência em RDI, reforçando o reconhecimento desta área externa como um importante pólo pesqueiro da espécie (MUSIELLO-FERNANDES *et al*., 2020). Em São Mateus (dissimilaridade média = 93,59), as três espécies mais contributivas (*C. ornatus*, *F. subtilis* e *C. danae*) explicaram 38,15% da diferença entre áreas interna (SMI) e externa (SME). Observou-se um padrão espacial claro: *C. ornatus* e *X. kroyeri* foram mais abundantes na área externa (zona costeira), enquanto *C. danae* e *F. subtilis* predominaram na área interna (zona estuarina), sugerindo segregação ecológica associada ao gradiente estuarino. No Piraquê-Açu (dissimilaridade média = 87,04), *C. danae* e *X. kroyeri* foram as principais espécies responsáveis pela diferenciação entre áreas interna (PAI) e externa (PAE), com contribuição acumulada de 26,79%. Novamente, foi observado padrão oposto de abundância: *C. danae* foi mais frequente na área interna (0,67 ind./100m^2) e *X. kroyeri* na externa (0,63 ind./100m^2), evidenciando a influência do gradiente salino na distribuição espacial destas espécies. Por fim, destaca-se que *Farfantepenaeus subtilis* (camarão-rosa) apresentou ocorrência expressiva em São Mateus e Piraquê-Açu, estuários para os quais dados genéticos indicam a existência de uma única população conectada ao longo da costa (FEST, 2024). Considerando o elevado interesse comercial desta espécie na pesca brasileira (COSTA *et al.*, 2007), sua dinâmica espaço-temporal merece atenção especial em estratégias de manejo e conservação regional.

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-Açu, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) durante as campanhas (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/2023, dezembro/2023, julho/2024, janeiro/2025, julho/2025 e janeiro/2026).

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Acanthuridae	*Acanthurus bahianus*					2															2		2
	Acanthurus sp.														1				1				1
Albulidae	*Albula* sp.	1																			1		1
	Albula vulpes				8				1	2							3		6	6	2		14
Alosidae	*Brevoortia* sp.			4											1						5		5
Apogonidae	*Astrapogon puncticulatus*				11	1		1	1	1			2	3	1	13	2	3	26	5	4	4	39
	Astrapogon stellatus				1		1												1		1		2
	Phaeoptyx pigmentaria					1											1		1	1			2
Ariidae	*Genidens genidens*						1												1				1
Ariommatidae	*Ariomma* sp.								1											1			1
Atherinidae	*Atherinomorus stipes*		3			8													1		3	7	11
	Membras dissimilis								4													4	4
Atherinopsidae	*Atherinella brasiliensis*						28		5	10	327		7	135	2				21	1	165	327	514
	Atherinella sp.	2		20								2							2			22	24
	Atherinopsidae spp.				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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Balistidae	*Canthidermis maculata*										1								1				1
Batrachoididae	*Porichthys porosissimus*													1					1				1
Blenniidae	*Blenniidae* spp.	3				3				2			1				3	9	5	6	7	3	21
	Entomacrodus vomerinus									1											1		1
	Hypleurochilus pseudoaequipinnis					2																2	2
	Hypleurochilus sp.				2							6					4	2	10	3	1		14
	Hypsoblennius invemar					1	4	1				19		7				15	15	4	23	5	47
	Hypsoblennius sp.				1									1	3	27	6		7	5	24	2	38
	Parablennius marmoreus	4		4		3	1	3			1						43	8	7	49	5	6	67
	Scartella cristata	2			5						1		1				2		2	1	7	1	11
Bothidae	*Bothus lunatus*	1					3												4				4
	Bothus ocellatus	4				1	8											4	14		3		17
	Bothus sp.					1				2		2	2	1		2		1	10	1			11
Carangidae	*Carangidae* spp.						1			17	1								6	5	8		19
	Caranx bartholomaei		38	2	3	39				23	1	12	2	11	3	7	8	5	4	5	84	61	154
	Caranx crysos				87			1	1	3		85	16			46		2	34	109	88	10	241
	Caranx hippos		1		1	10		1											3	6	3	1	13

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Caranx latus	1	2			13					2	1							3	10	5	1	19
	Caranx ruber				1			1	1			4									6	1	7
	Caranx sp.													22	15			1	11	9	16	2	38
	Chloroscombrus chrysurus	274	13	8		49	803	42	632	178	39		5		31		12	43	62	980	939	148	2129
	Decapterus macarellus				2			1										24	1	26			27
	Decapterus punctatus					2													1	1			2
	Decapterus sp.									2				1				1	1	1	2		4
	Naucrates ductor								1										1				1
	Oligoplites saurus				1	9				1		1						2	13		1		14
	Oligoplites sp.									2										1	1		2
	Selene vômer					2								4					6				6
	Seriola sp.														3						3		3
	Trachinotus goodei								1					1					2				2
Centropomidae	*Centropomus undecimalis*	1																	1				1
Characidae	*Hyphessobrycon eques*									3									3				3
Congridae	*Ariosoma* sp.									1									1				1
	Conger sp.												1		1	13			15				15
	Congridae spp.									4	3								7				7

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Coryphaenidae	*Coryphaena equiselis*										1									1			1
Cynoglossidae	*Symphurus plagusia*	1	5		68				1										64	5	1	5	75
	Symphurus sp.					2											3		2	2	1		5
Dactylopteridae	*Dactylopterus volitans*		2							2							1		2	2	1		5
Diodontidae	*Chilomycterus* sp.																	1			1		1
	Chilomycterus spinosus															7				7			7
Dorosomatidae	*Dorosomatidae* spp.	3062		16	1286	4003	7	49	10	333	13	182		76			12	17	59	83	3914	5010	9066
	Harengula clupeola										10			2					2	1		9	12
	Harengula sp.		73																		67	6	73
	Opisthonema oglinum	3	328	8										1					2		334	4	340
	Opisthonema sp.			2											7				2		5	2	9
	Sardinella aurita			4							2	9								2	10	3	15
Eleotridae	*Eleotridae* spp.										1						1		2				2
	Eleotris pisonis				3						4						108	1	114	2			116
	Eleotris sp.																2		2				2
Elopidae	*Elops saurus*							7		5	1	6	5	11	25	2	11		56	14	2	1	73
	Elops sp.	3				4			4								1	8	12	5	3		20
Engraulidae	*Anchoa cf. cubana*										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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Anchoa filifera									29	19								1	17	3	27	48
	Anchoa lyoleps			8																4	2	2	8
	Anchoa marinii											3								1		2	3
	Anchoa sp.	1	129	89						5					1				24	19	163	19	225
	Anchoa tricolor										65								2	55		8	65
	Anchoviella cayennensis			12															6		1	5	12
	Anchoviella lepidentostole									2												2	2
	Anchoviella sp.	1	61	20															21	4	57		82
	Engraulidae spp.	363			1725	9927	8		132	203	1071	82	31	37	5	32	26	16	118	492	10620	2428	13658
	Engraulis eurystole		5																		5		5
	Lycengraulis grossidens	35											6	11	6	4			4	7	6	45	62
Ephippidae	*Chaetodipterus faber*				1		4			4									8	1			9
Exocoetidae	*Cheilopogon* sp.																	1	1				1
	Exocoetus sp.													3							3		3
	Parexocoetus brachypterus									1										1			1
Fistulariidae	*Fistularia petimba*						1													1			1
	Fistularia sp.															1				1			1
	Fistularia tabacaria					1	2	1		1		2							3	4			7

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Gerreidae	*Diapterus rhombeus*											3									3		3
	Eucinostomus sp.										1	20							4	3	8	6	21
	Gerreidae spp.	2309	223		352	277	80	57	263	432	59	26	367	53	4	68	71	170	863	849	2620	479	4811
	Ulaema lefroyi			174															91	53	21	9	174
Gobiidae	*Bathygobius* sp.						1	2											1		2		3
	Gobiidae spp.	2					1												3				3
	Gobionellus sp.						2											1	2		1		3
	Gobiosoma hemigymnum									1												1	1
	Gobius sp.								1										1				1
Gonostomatidae	*Gonostoma* sp.	2																	1	1			2
Haemulidae	*Haemulidae* spp.												1	1					2				2
	Haemulon sp.					1				2		1		21							21	4	25
	Orthopristis chrysoptera	1																	1				1
Hemiramphidae	*Hemiramphidae* spp.									1								2	3				3
	Hemiramphus brasiliensis			1		4				9				1					3	8	4		15
	Hemiramphus sp.									4								4	8				8
	Hyporhamphus sp.					1															1		1
	Hyporhamphus unifasciatus									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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Kyphosidae	*Kyphosus sectatrix*		1																1				1
Labridae	*Doratonotus megalepis*					1	1												2				2
	Halichoeres brasiliensis	1																		1			1
	Halichoeres poeyi			1	2							2							1	3		1	5
	Halichoeres sp.				1							7		4		2		3	13	2	2		17
	Labridae spp.								1	1				6				2	4	1	5		10
	Scaridae spp.						1												1				1
	Scarus sp.				2																2		2
Labrisomidae	*Gobioclinus kalisherae*			1	3													2	4		2		6
	Labrisomus nuchipinnis	3		1	3	2				6		7		5		27	2	1	19	10	24	4	57
	Labrisomus sp.														1			38	16	2	21		39
	Malacoctenus delalandii					3											1	3	1		3	3	7
	Malacoctenus sp.											2				2		1	2		3		5
	Malacoctenus zaluari	3			5	1	1	1										7	6	1	10	1	18
Lutjanidae	*Lutjanus alexandrei*									3	1								1	1		2	4
	Lutjanus analis					9			1			1		5				1	2		5	10	17
	Lutjanus chrysurus			1	1	11		1	1				3	7				1	8	5	2	11	26
	Lutjanus cyanopterus	2																				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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Lutjanus griseus							1											1				1
	Lutjanus jocu				1	8	1													5	1	4	10
	Lutjanus sp.	1	18		2			1				5	4		6	11	2	3	2	16	29	6	53
	Lutjanus synagris				1	2	1		2	1		5	1					2	5	2	1	7	15
Megalopidae	*Megalops atlanticus*											2										2	2
Microdesmidae	*Microdesmus bahianus*		1							2											3		3
Monacanthidae	*Aluterus heudelotii*									3									2		1		3
	Aluterus monoceros					1																1	1
	Aluterus schoepfi					1				1								1		2	1		3
	Aluterus scriptus					3												1	4				4
	Cantherhines macrocerus						2	2	3											5		2	7
	Cantherhines pullus						4	2	44										1	49			50
	Stephanolepis hispida	14		5	41	101	1	3	3	8	8			5	26	13	3	8	25	197	10	7	239
	Stephanolepis setifer																	1	1				1
Mugilidae	*Mugil brevirostris*								1												1		1
	Mugil curema						1					17							16			2	18
	Mugil sp.	29	3	13	14	64	6	2		21	7		6	12	1	6	4	6	103	41	41	9	194
Mullidae	*Mulloidichthys martinicus*					2						2		1			1	5	7	3	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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Mullus auratus					1															1		1
	Pseudupeneus maculatus	2				7				2							2	10	14	3	4	2	23
	Upeneus parvus															16			3	2	11		16
Muraenidae	*Gymnothorax moringa*					1			1										2				2
	Gymnothorax nigromarginatus						1		1										2				2
	Gymnothorax ocellatus					2													2				2
	Gymnothorax sp.	2			12	2	1						1	1	4		1	3	27				27
	Muraenidae spp									1							1	1	2	1			3
Ophichthidae	*Ahlia egmontis*					2						1	1	1					4	1			5
	Myrophis punctatus						3		1				3						6	1			7
	Ophichtidae spp.		1											3	2	8			11	3			14
Ostraciidae	*Acanthostracion polygonius*			1														1	1	1			2
	Acanthostracion quadricornis					1												3	1	3			4
	Acanthostracion sp.	1			28	34			5									9	61	15		1	77
	Ostraciidae spp.									2									2				2
Paralichthyidae	*Citharichthys* sp.									45		6	1	9		7	1		61	6	2		69
	Etropus crossotus					1	17											1	5	1	10	3	19
	Paralichthyidae spp.									6	1							9	14	2			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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Pempheridae	*Pempheris schomburgkii*				1														1				1
Pimelodidae	*Pimelodidae* spp.									1			1						1	1			2
Polynemidae	*Polydactylus oligodon*		3																			3	3
	Polydactylus virginicus	1	1	3	5	8				2	1	1		1	2	4		1	8	2	5	15	30
Pomacanthidae	*Holacanthus* sp.													1					1				1
	Pomacanthus paru		1																	1			1
	Pomacanthus sp.											1									1		1
Pomacentridae	*Abudefduf saxatilis*	1		8		16	2			11				4	2	18		25	31	3	47	6	87
	Chromis flavicauda			1																	1		1
	Chromis sp.													1					1				1
	Stegastes sp.											1				3		2	4	2			6
	Stegastes variabilis																	1	1				1
Pomatomidae	*Pomatomus saltatrix*									5									2		3		5
Pristigasteridae	*Chirocentrodon bleekerianus*									4	4								1	2		5	8
	Odontognathus mucronatus								6										6				6
	Pellona harroweri	1	17						37	1	10	9	19	26	10		2		62	19	42	9	132
Rachycentridae	*Rachycentron canadum*					2				1									3				3
Sciaenidae	*Corvula batabana*		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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Cynoscion sp.						8	3	10										18		3		21
	Isopisthus parvipinnis						1	2	2				28						33				33
	Larimus breviceps									4							1		5				5
	Larimus sp.						2														2		2
	Lonchurus elegans					1													1				1
	Macrodon ancylodon										224								224				224
	Menticirrhus americanus					2	1	1											2	1	1		4
	Menticirrhus sp.				1					1									2				2
	Micropogonias sp.							1											1				1
	Odontoscion dentex					1													1				1
	Paralonchurus brasiliensis					7													7				7
	Sciaenidae spp.						2	1	16	6	3		47	1			4		75	4	1		80
	Stellifer rastrifer												11						11				11
	Stellifer sp.	8				1	2	4	20				75				2		103	1	8		112
	Umbrina coroides								3										3				3
Scombridae	*Euthynnus alleteratus*									4												4	4
	Sarda sarda			4		19		2												2	18	5	25
	Scomberomorus brasiliensis	9	52			1	2			1											62	3	65

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Scomberomorus cavalla					7				4	3			1		3		1	2		9	8	19
	Scomberomorus regalis			1																	1		1
	Scomberomorus sp.								1		3								3			1	4
	Scombridae sp.						1			1	4							1	5		2		7
Scorpaenidae	*Scorpaena plumieri*					1				2	1								2	2			4
	Scorpaena sp.								1						2	4		12	19				19
Serranidae	*Diplectrum* sp.						1					1							2				2
	Epinephelus morio						1												1				1
	Mycteroperca sp.																1		1				1
Sparidae	*Archosargus probatocephalus*								1	1	2							1	2	1		2	5
	Archosargus sp.	1	1																	1	1		2
	Calamus sp.										3											3	3
	Diplodus argenteus										1											1	1
	Sparidae spp.									2									2				2
Stromatidae	*Peprilus paru*				1															1			1
	Peprilus sp.	4																		4			4
Syngnathidae	*Anarchopterus* sp.	2																	2				2
	Bryx dunckeri						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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
	Cosmocampus elucens								1			1		4					4	1	1		6
	Hippocampus erectus							1											1				1
	Hippocampus reidi			1	6						1								5	2		1	8
	Syngnathidae spp.									1											1		1
Synodontidae	*Saurida caribbaea*	2																				2	2
	Synodus foetens	10			2	9						1									15	7	22
	Synodus intermedius	1																				1	1
	Synodus sp.			1								3							1	1	2		4
Tetraodontidae	*Lagocephalus laevigatus*			1					1					2		7			9		1	1	11
	Sphoeroides camila			2															2				2
	Sphoeroides sp.					12			2	7				14		1		1	30	5	2		37
Trichiuridae	*Trichiurus lepturus*										1								1				1
Triglidae	*Prionotus punctatus*	21	8			11	2			33	1	2	153	14	4	3		9	244	14	1	2	261
	Prionotus roseus	9					1												10				10
	Triglidae spp.						2												2				2
Tripterygiidae	*Enneanects altivelis*					1													1				1
Uranoscopidae	*Astroscopus ygraecum*									1	2								2	1			3
Total		6204	991	417	3691	14726	1026	195	1224	1484	1906	543	801	532	169	357	348	518	3234	3339	19716	8843	35132

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	07/25	01/26	I	C1	C2	C3	Total
Riqueza		45	26	31	39	65	47	29	41	69	42	40	29	45	27	29	35	60	173	106	107	79	229

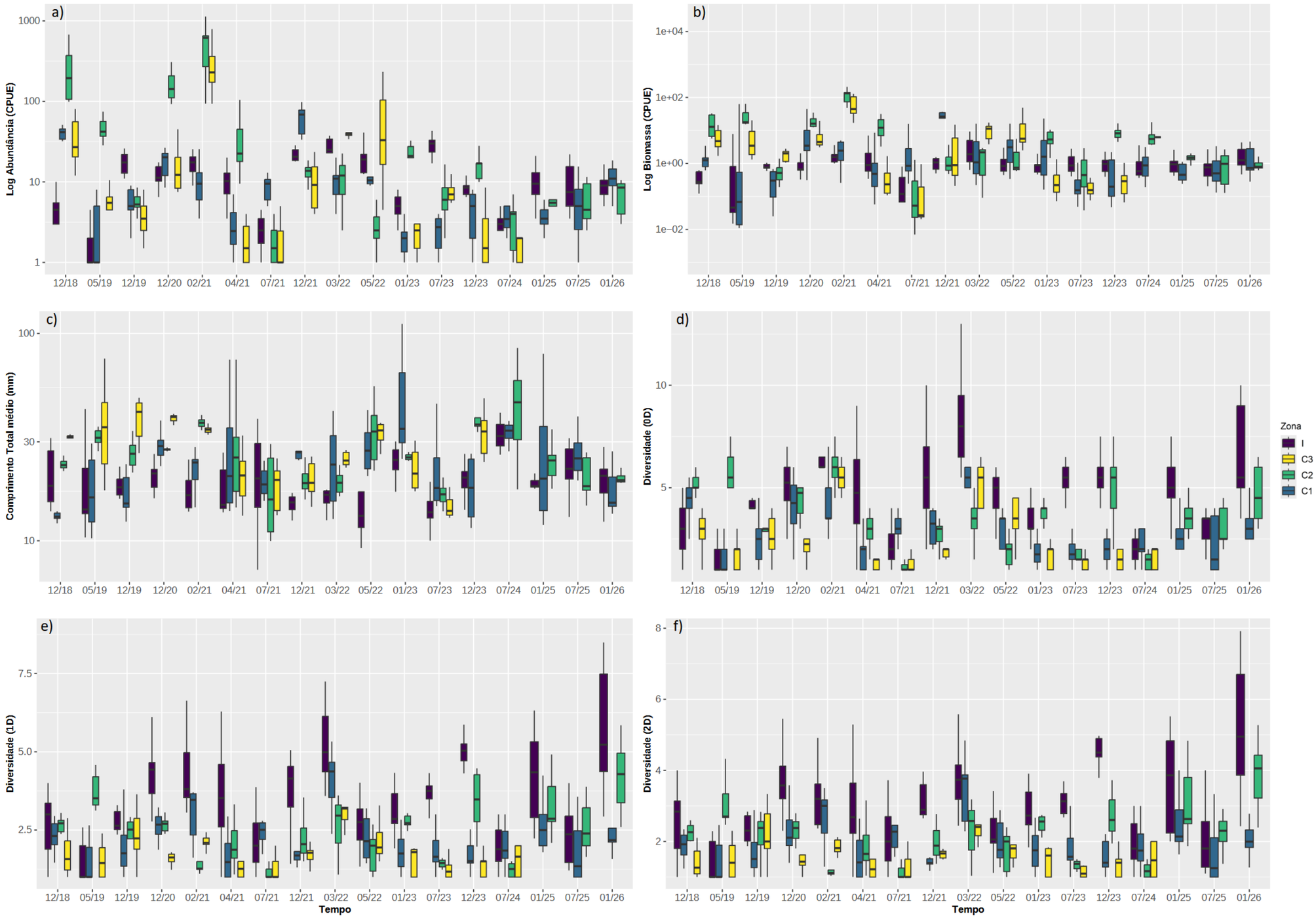
Durante os anos de monitoramento do recrutamento larval foram realizadas 17 campanhas, as quais somaram 35.132 indivíduos (classe Actinopterygii), distribuídas em 229 *taxa* pertencentes a 66 famílias, sendo as famílias Engraulidae, Clupeiformes/Dorosomatidae e Gerreidae (as mais abundantes), e as famílias 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 (19.716), enquanto a área Impacto (rio Doce) contém o menor número de indivíduos registrados (3.234). 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 (173) foi registrado na localidade Impacto, seguido da área controle 2 (107), área controle 1 (106) e área controle 3 (79). Apesar dos altos valores de turbidez atuando como um fator limitante para o desenvolvimento dos primeiros estágios de vida dos peixes marinhos, aproximadamente 75,54% 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 (FEST, 2025). No entanto, a área de 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. Essa restrição possivelmente está associada à elevada turbidez e à presença contínua de material ligado ao desastre (MLD), que pode limitar processos como forrageamento visual afetando a sobrevivência larval (BARRILI *et al.,* 2025).

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-Açu, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) e períodos 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/2023, dezembro/2023, julho/2024, janeiro/2025, julho/2025 e janeiro/2026), 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 (IvsC), 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 ^{0}D			Diversidade ^{1}D			Diversidade ^{2}D		
		SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p	SQ	PF	p
Zo	3	89373	2.3662	**0.001**	33737	1.3698	0.213	65438	3.1484	**0.004**	17570	6,1112	**0.002**	41876	7.0401	**0.003**	42313	10.324	**0.001**	34327	9.9361	**0.001**
IvsC	1	49356	3.5824	**0.001**	1528.7	2.1305	0.118	37776	7.4505	**0.003**	12324	21.716	**0.001**	27313	13.671	**0.001**	32613	25.036	**0.001**	26379	22.903	**0.001**
Te	16	5.1771+05	16.943	**0.001**	2.4659+05	20.820	**0.001**	1.90+05	6.6779	**0.001**	32771	9.2776	**0.001**	98910	20.560	**0.001**	48498	11.798	**0.001**	38152	8.6553	**0.001**
Te x Zo	45	5.7318+05	6.6667	**0.001**	3.7405+05	11.229	**0.001**	3.34+05	4.1787	**0.001**	42595	4.3851	**0.001**	90257	6.6705	**0.001**	62166	5.3772	**0.001**	52365	4.2239	**0.001**
Te x IvsC	16	2.2346+05	5.4439	**0.001**	1.16+08	5.8498	**0.001**	81888	2.2889	**0.001**	9152.9	1.996	**0.006**	32389	4.7370	**0.001**	21101	3.8578	**0.001**	18647	3.4145	**0.001**
Res	478	9.1285+05			3.5385+05			8.34+05			1.0376+05			1.4373+05			1.23+08			1.3169+05		
Total	542	2.11+09			1.0169+06			1.43+05			1.9768+05			3.8026+05			2.8399+05			2.6418+05		

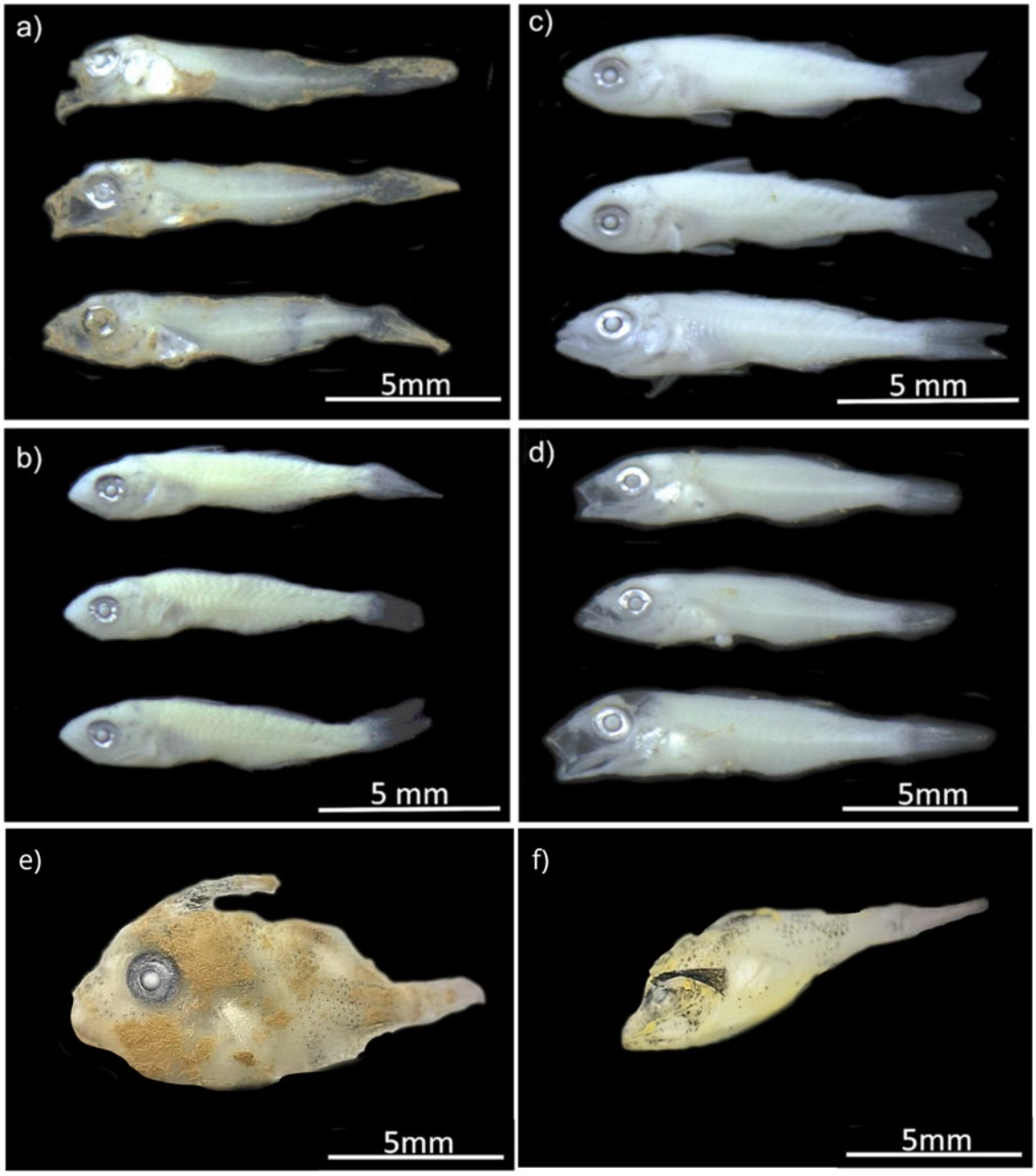
Por meio das análises de variância dos índices ecológicos é possível identificar uma resposta significativa do impacto [I vs C] do rompimento da Barragem de Fundão sobre a composição de espécies, biomassa e na diversidade de espécies, raras (^{0}D), comuns (^{1}D) e dominantes (^{2}D) na área marinha do rio Doce, exceto para a abundância. Adicionalmente, para todos os índices a 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), evidenciando que a magnitude e a direção do efeito do impacto variam ao longo do tempo, afastando a hipótese de uma trajetória linear de recuperação. 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-Açu, 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/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021,dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/23, dezembro/2023, julho/2024, janeiro/2025, julho/2025 e janeiro/2026). CPUE= Captura por unidade de esforço.



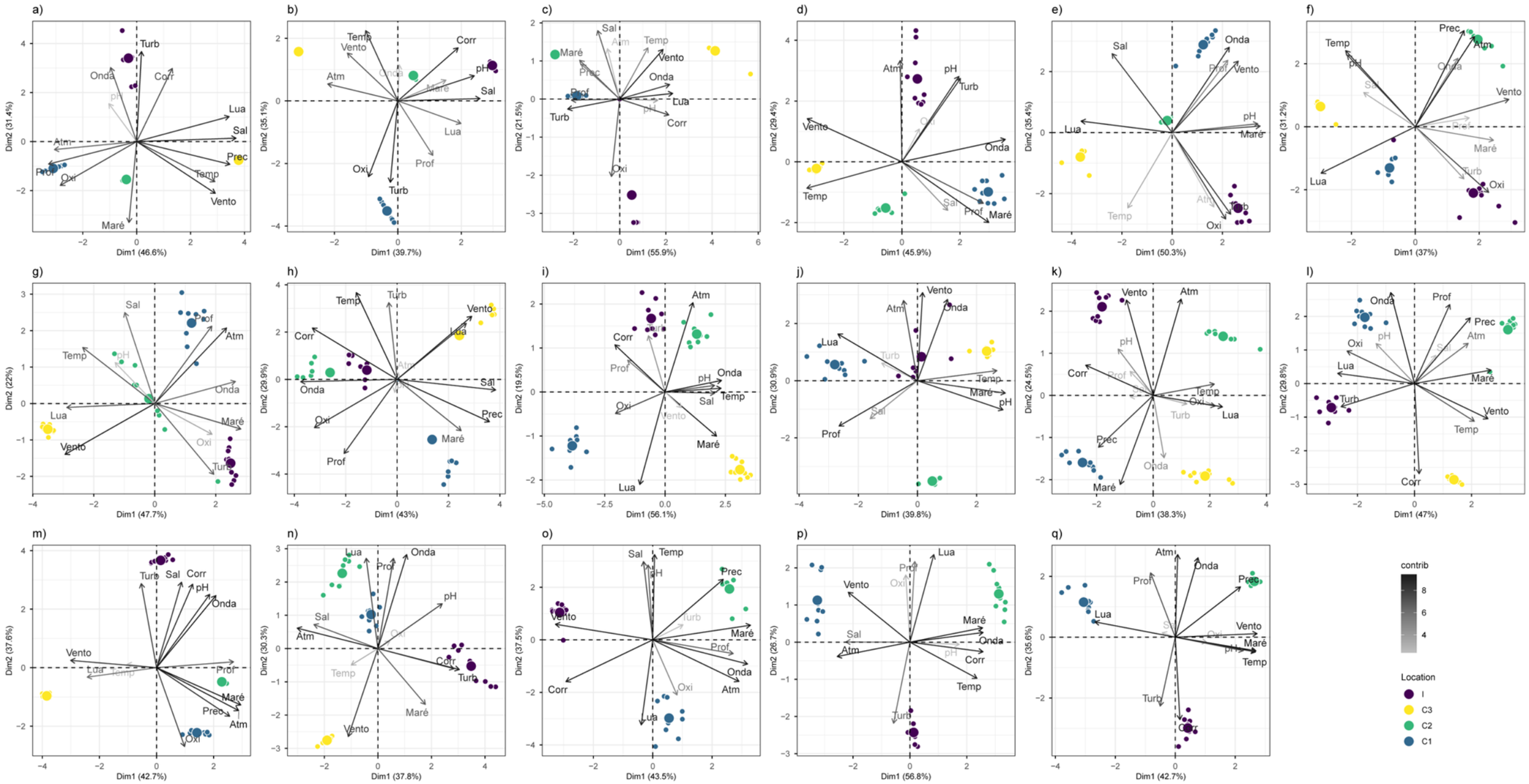
Com relação aos índices de diversidade verdadeira (^{0}D,^{1}D e ^{2}D), o padrão se manteve como o observado nos relatórios anteriores, onde a zona de impacto obteve os maiores valores quando comparado com as demais zonas (Figura 12A, D-F). Importante ressaltar que a partir de 2025, a localidade de Mucuri (Controle 3) foi excluída da malha amostral, conforme o plano de trabalho atual (Deliberação CIF nº 803). De modo geral, os maiores valores de abundância, biomassa e diversidade (^{0}D, ^{1}D e ^{2}D) foram registrados durante o período chuvoso (verão), refletindo o padrão sazonal associado ao recrutamento larval. A abundância total não apresentou diferenças significativas entre as zonas ao longo da série temporal. Entretanto, observa-se consistentemente que a zona impactada apresenta indivíduos de menor tamanho e menor biomassa média, padrão persistente ao longo de todo o monitoramento. Esse resultado indica uma assembleia dominada por indivíduos pequenos, característica típica de ambientes sob estresse. (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 (^{1}D e ^{2}D), respectivamente (Figura 12E, F), onde a zona de 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). Este fato demonstra a importância do contínuo monitoramento desses indicadores para o controle das flutuações temporais e sazonais naturais às populações marinhas. Nota-se ainda uma redução da variabilidade entre localidades, especialmente a partir de 2021 e mais acentuadamente após 2025, indicando um processo de homogeneização espaço-temporal das assembleias de pós-larvas (BARRILI *et al.,* 2024). Parte desse padrão pode estar associada tanto à dispersão regional do MLD quanto à exclusão do estuário de Mucuri, que anteriormente representava a condição menos impactada do gradiente amostral.

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). Pós-larvas de Monacanthidae (*Stephanolepis hispida*) (e) e Triglidae (*Prionotus punctatus*) (f) coletadas na Zona impacto na campanha realizada em janeiro de 2026.



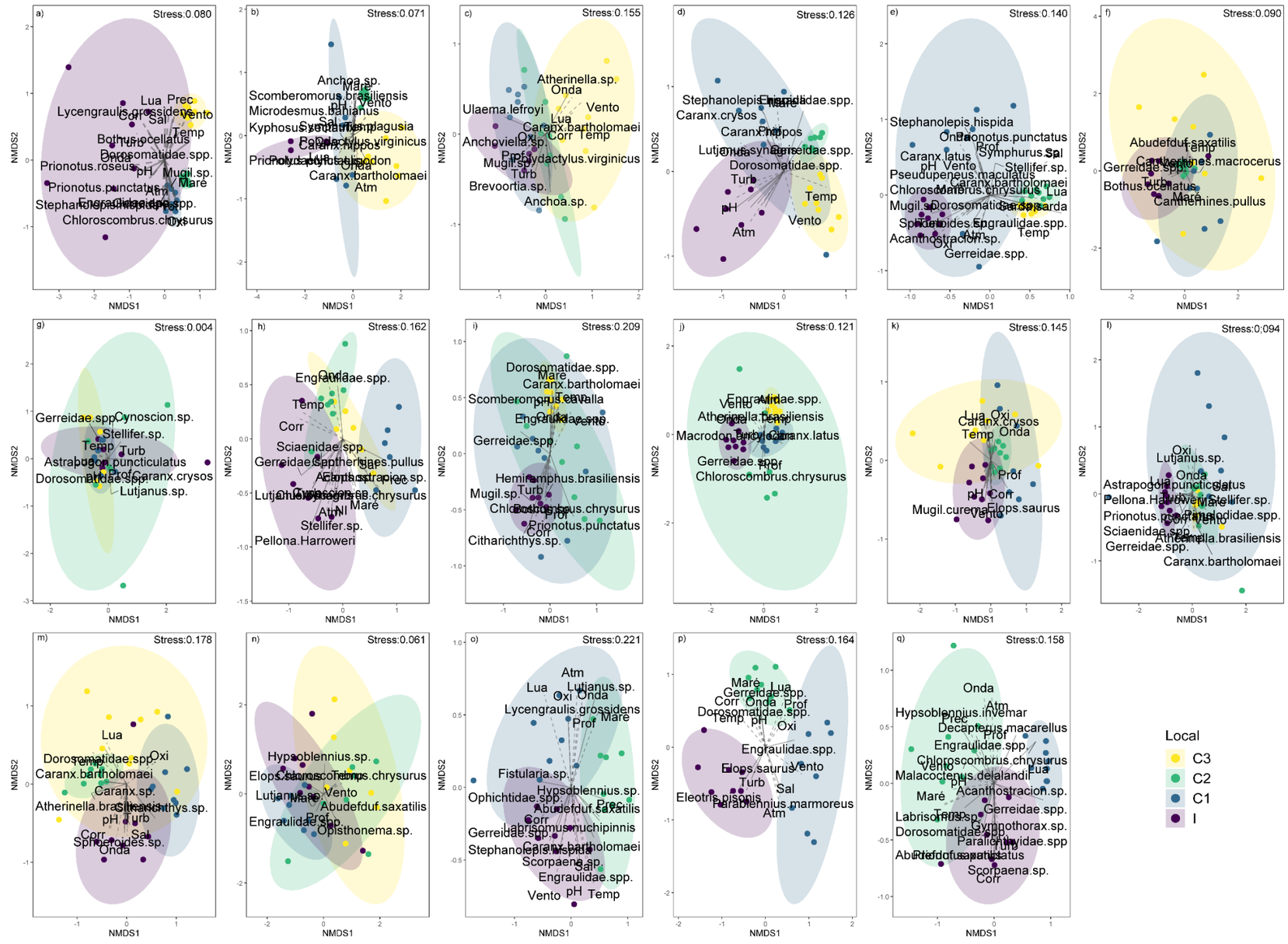
Ainda é recorrente a presença de MLD aderida na superfície corpórea de alguns exemplares, como pode ser observado em indivíduos das famílias Gerreidae, Monacanthidae e Triglidae (Figura 13), que, somado aos outros indicadores testados, evidenciam a exposição contínua dos estágios iniciais ao material particulado e contaminantes associados. e os possíveis 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; BONECKER *et al.,* 2019). Níveis elevados de metais na área marinha do rio Doce também induziram respostas negativas na comunidade zooplanctônica, com perda de diversidade e aumento na abundância de espécies oportunistas (FEST, 2024; FERNANDES *et al*., 2020). 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, 2025).

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-Açu), 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), janeiro/2025 (o), julho/2025 (p) e janeiro/2026 (q), 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 algumas exceções onde a turbidez deu lugar a outros parâmetros como o vento como a 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 na zona Impacto e, em alguns momentos, no 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 mantém 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.

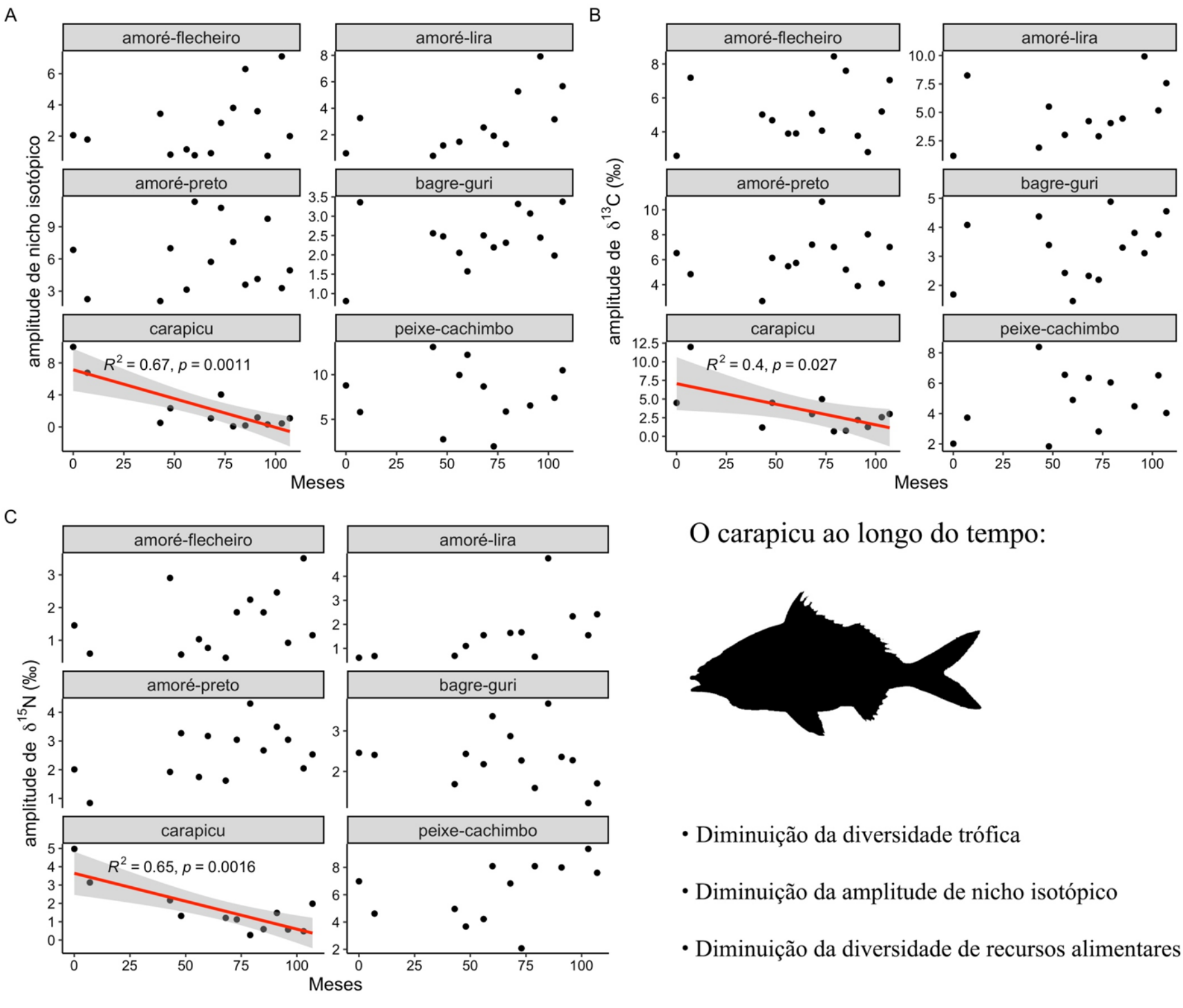
Figura 15: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Ordenação de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da composição e abundância de espécies de pós-larvas de peixes baseado na matriz de similaridade de Bray-Curtis, com as correlações (r2) significativas (envfit, p < 0,01) 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),janeiro/2025 (o), julho/2025 (p) e janeiro/2026 (q). 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 chysurus*, cluspp= Clupeidae spp., corbat = *Corvula batabana,* elepis = *Eleotris pisonis*, engspp = Engraulidae spp., etrocro = *Etropus crossotus*, gerspp= Gerreidae spp., hyppse = *Hypleurochilus pseudoaequipinnis*, hypssp = *Hyporhamphus* sp. lutjsp = *Lutjanus* sp., lutjoc = *Lutjanus jocu*, lutgri = *Lutjanus griseus*, macanc = *Macrodon ancylodon*, mugisp = *Mugil* sp., olisau = *Oligoplites saurus*, ortcry = *Orthopristis chrysoptera*, polvir = *Polydactilus 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 influência marcante da sazonalidade. No entanto, observa-se uma tendência progressiva de homogeneização da composição entre as zonas, particularmente nos anos mais recentes, indicando redução da heterogeneidade espacial (Figura 15). Valores mais elevados de abundância e riqueza de espécies registrados nos meses mais quentes, pode ser associado à intensa atividade reprodutiva da maioria das espécies amostradas, contribuindo para a maior similaridade entre as zonas amostrais. Por outro lado, durante os meses mais frios, há maior individualização das assembleias capturadas nas distintas zonas, indicando um aporte dissimilar da assembleia de pós-larvas aos estuários estudados. Embora condições ambientais favoráveis (menor turbidez e menor energia hidrodinâmica) permitam ocasionalmente a ocorrência de assembleias semelhantes entre áreas impactadas e controle, esses eventos são episódicos. De forma geral, o sistema permanece sob influência recorrente do MLD, promovendo seleção ambiental e simplificação estrutural da assembleia (BARRILI *et al.,* 2024). 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). Em síntese, os resultados indicam que o sistema não apresenta retorno às condições pré-impacto, mas sim uma reorganização para um novo estado ecológico caracterizado por maior similaridade entre as zonas, menor estrutura populacional (tamanho/biomassa) e persistência de estressores ambientais.

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 $\delta^{13}C$ e (C) amplitude de $\delta^{15}N$ 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*.



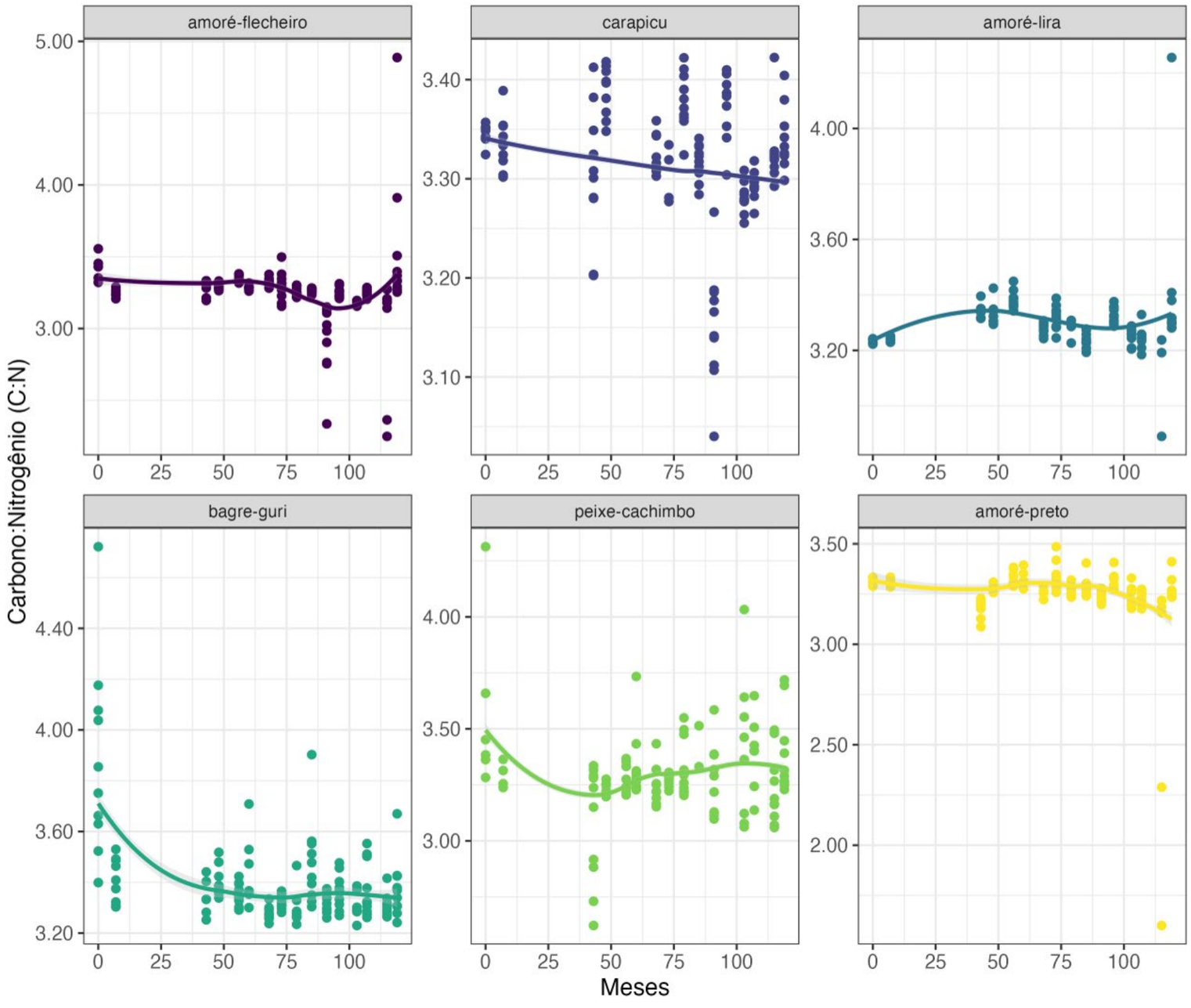
O carapicu ao longo do tempo:

- Diminuição da diversidade trófica
- Diminuição da amplitude de nicho isotópico
- Diminuição da diversidade de recursos alimentares

Entre as seis espécies estuarinas monitoradas, o carapicu (*Eucinostomus argenteus*) apresentou tendência significativa de diminuição do nicho isotópico e amplitude de $\delta^{15}N$ 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. Exceto o bagre-guri (veja Figura 18), as espécies não apresentaram captura suficiente para seus dados serem apresentados trimestralmente, segundo a Deliberação CIF n° 803.

3.4 PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS

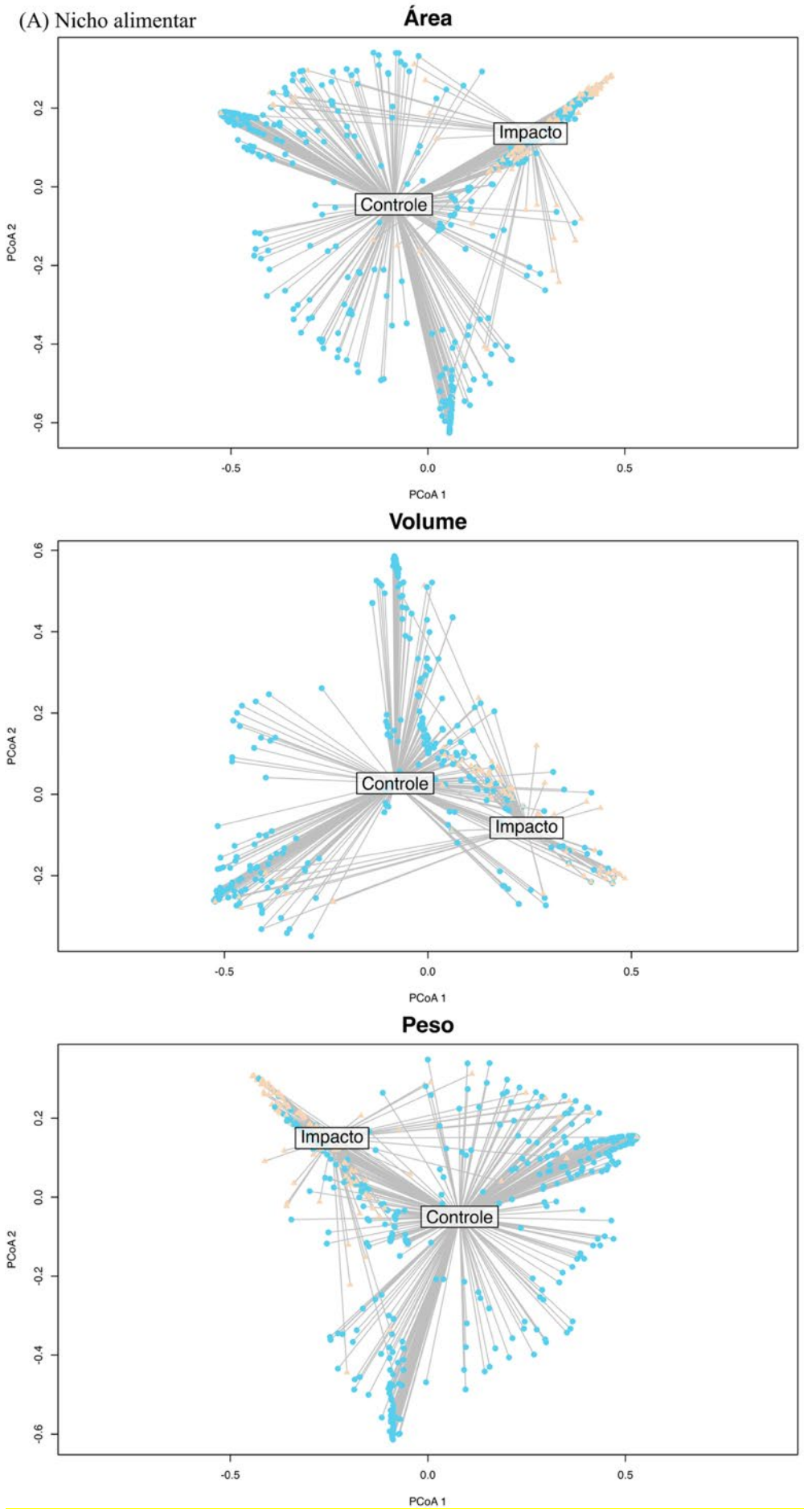
Figura 17: Padrões temporais da concentração de lipídeos. Modelos aditivos generalizados para os dados de razão carbono e nitrogênio de seis espécies de peixes estuarinos do rio Doce ao longo do período de monitoramento (meses). As áreas sombreadas das curvas indicam o intervalo de confiança de 95%. 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).

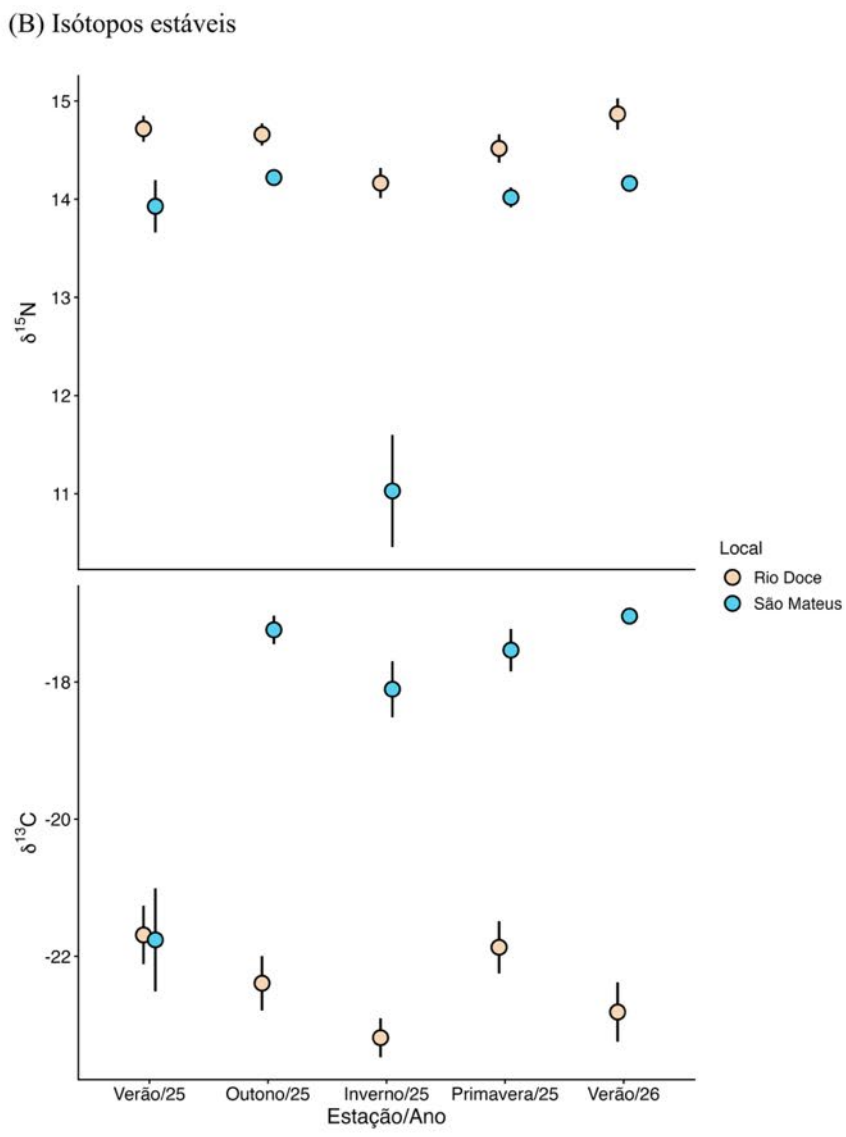


A razão C:N é um parâmetro bioquímico que serve como indicador da concentração de lipídeos em tecidos de peixes e outros animais. O modelo mais parcimonioso explicou 35,6 % da desviância (*deviance*, em inglês) com um R^2 ajustado de 0,32. Dessa forma, o modelo indicou uma diminuição das concentrações de lipídeos em função do tempo (i.e., amostragens) extremamente significativa ($p < 0,001$) para o amoré-flecheiro, bagre-guri, o peixe-cachimbo e amoré-preto. 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 para o amoré-flecheiro, amoré-preto 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 (*Genidens genidens*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2024. Em 2025 e 2026 não houve amostragens no rio Itapemirim, conforme o Plano de Trabalho referente à Deliberação nº 803, portanto as comparações abaixo sob o cenário impacto *vs*. controle foram feitas para o período 2022-2024. Número de estômagos analisados: 62 em 2022, 65 em 2023 e 80 em 2024 no rio Itapemirim; 12 em 2022, 62 em 2023, 55 em 2024no rio Doce; e 86 em 2022, 32 em 2023, 65 em 2024 no São Mateus. (B) Variação sazonal das assinaturas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ conforme Deliberação nº 803. (C) Breve sumário dos achados deste relatório para a espécie sentinela bagre-guri, baseado nos resultados da variação na composição da dieta e amplitude do nicho alimentar (1 e 2), isótopos estáveis (3) e índice de repleção (4).





(C) Panorama geral



O bagre-guri no estuário do rio Doce apresenta*:

•Dieta pobre em recursos[1]

• Menor amplitude do nicho alimentar[2]

• Menor amplitude do nicho isotópico[3]

• Menor atividade alimentar[4]

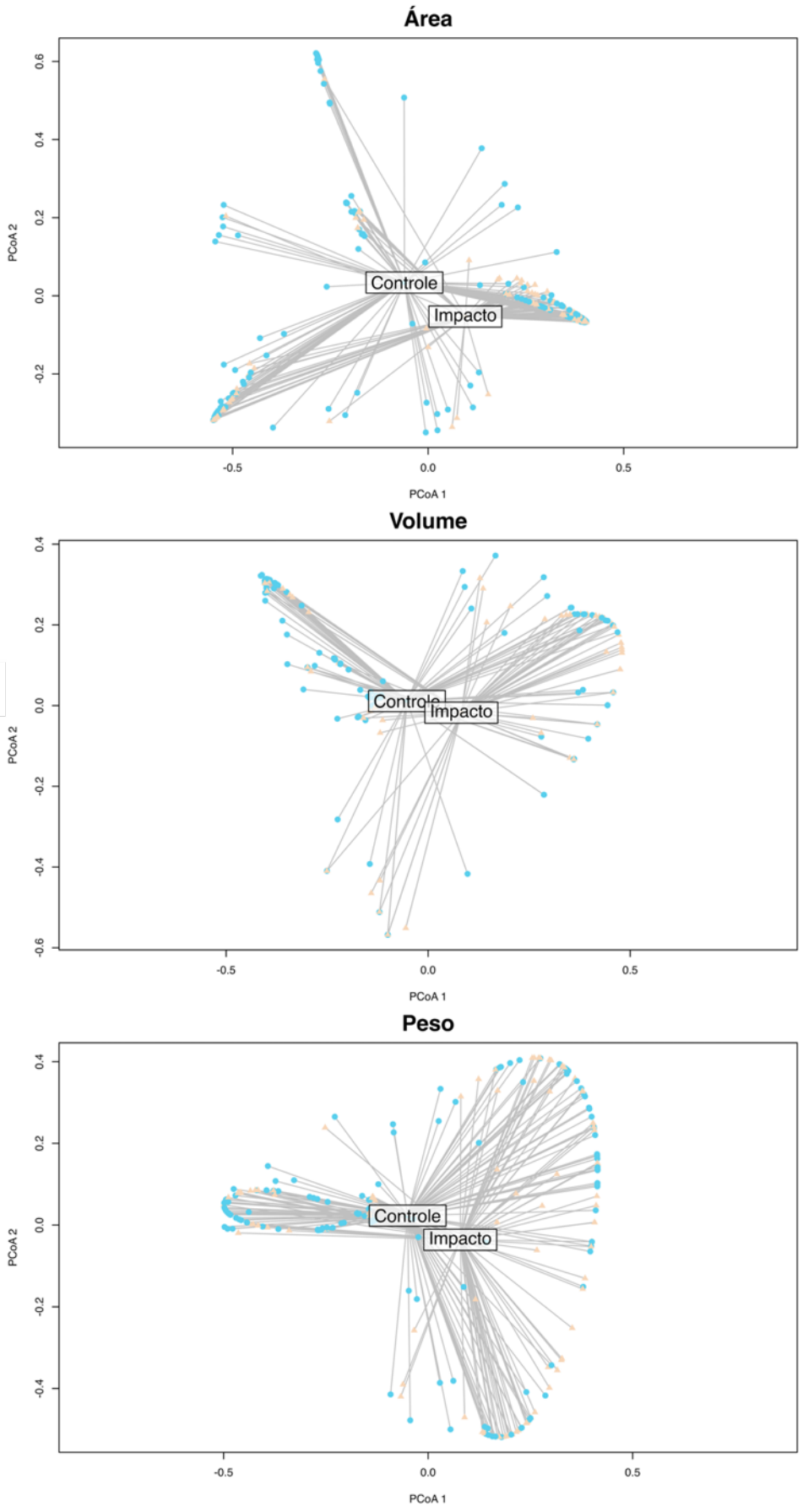
* comparação feita com os estuários do rios Itapemirim e São Mateus como controles

A composição da dieta do bagre-guri (*Genidens genidens*) variou significativamente entre o local impactado e os controles considerando o peso (PERMANOVA: F = 3,445; P(MC) = 0,030) e o volume (PERMANOVA: F = 3,201; P(MC) = 0,044), mas não a área (PERMANOVA: F = 3,083; P(MC) = 0,067) 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: área (PERDISP: F = 55,158; P = 0,0002), peso (PERDISP: F = 40,723; P = 0,0002) e volume (PERDISP: F = 122,500; P = 0,0002). Similarmente, a amplitude do nicho isotópico no rio Doce foi menor do que nos controles em todos os anos analisados (veja RA2024 PMBA/Fest UFES), exceto entre São Mateus e rio Doce em 2024. Os resultados apresentados para os anos de 2022, 2023 e 2024 (Figura 18) 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. Os resultados apresentados trimestralmente, segundo a Deliberação nº 803, mostram uma distinção isotópica entre os indivíduos do rio Doce e São Mateus, principalmente para os valores de $\delta^{13}C$. Exceto para o período de verão/2025, a população do São Mateus demonstra uma afinidade maior em explotar recursos de ambientes marinhos costeiros sob influência estuarina, enquanto a população do rio Doce caracteriza-se por explotação de recursos da foz do rio.

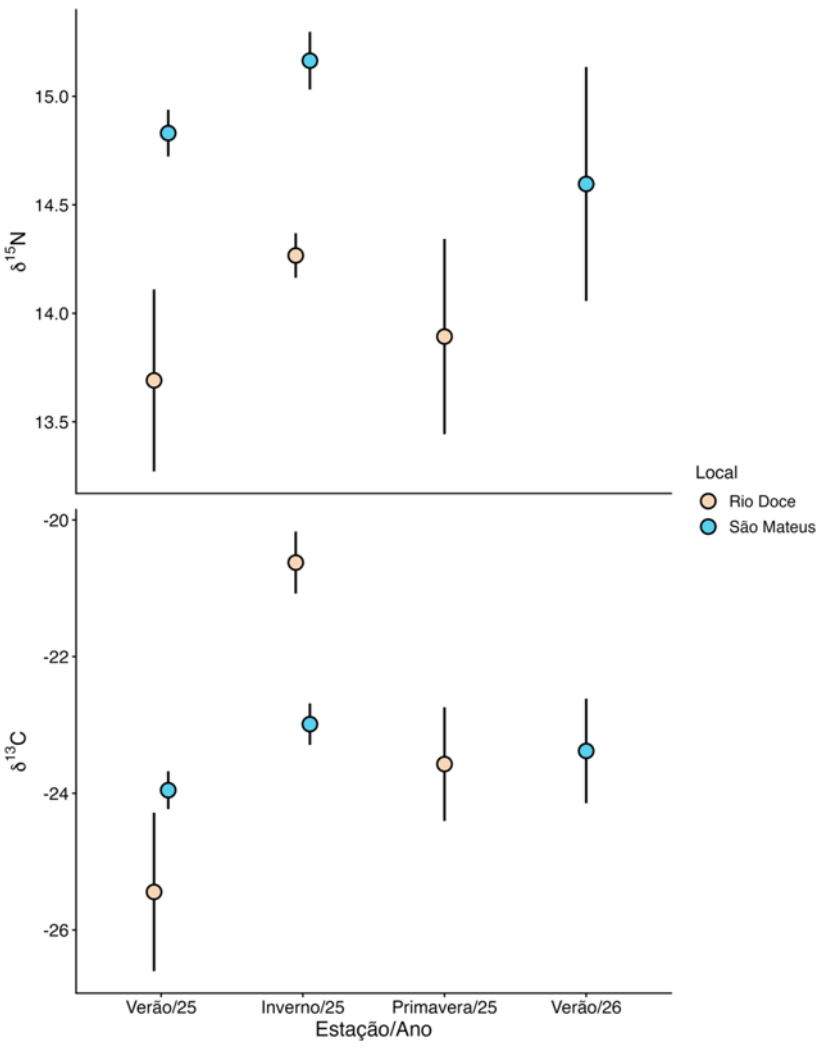
Em 2025, as amostragens no estuário do rio Itapemirim foram descontinuadas, conforme as diretrizes estabelecidas pelo Plano de Trabalho da nova fase do monitoramento da biodiversidade aquática nas regiões dulcícola, costeira e marinha do Espírito Santo, de abril de 2024 (período “Deliberação 803”). Por essa razão, não foi possível incluir os dados de dieta obtidos de 2025 adiante no modelo estatístico descrito acima, e eles foram analisados separadamente. Houve uma mudança significativa entre o rio Doce e o São Mateus com base na área (PERMANOVA: F = 49,165; P = 0,0002), no peso (PERMANOVA: F = 42,141; P = 0,0002) e no volume (PERMANOVA: F = 39,022; P = 0,0002) das presas. Esses resultados mostram uma diferença consistente ao longo do tempo na composição da dieta do bagre-guri entre o rio Doce e o controle e sugerem um possível efeito crônico na alimentação da ictiofauna.

Figura 19: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. A) Amplitude do nicho alimentar baseado na área ocupada, volume e peso das presas consumidas pelo robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2024. Em 2025 e 2026 não houve amostragens no rio Itapemirim, conforme o Plano de Trabalho referente à Deliberação nº 803, portanto as comparações abaixo sob o cenário impacto *vs*. controle foram feitas para o período 2022-2024. (B) Variação sazonal das assinaturas de $\delta^{13}C$ e $\delta^{15}N$ conforme Deliberação nº 803. (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), isótopos estáveis (3) e índice de repleção (4).

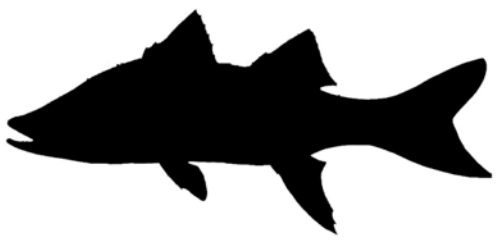
(A) Nicho alimentar



(B) Isótopos estáveis



(C) Panorama geral



O robalo-peva no estuário do rio Doce apresenta*:

•Dieta similar em recursos consumidos[1]

• Amplitude do nicho alimentar menor[2]

• Amplitude do nicho isotópico variável[3]

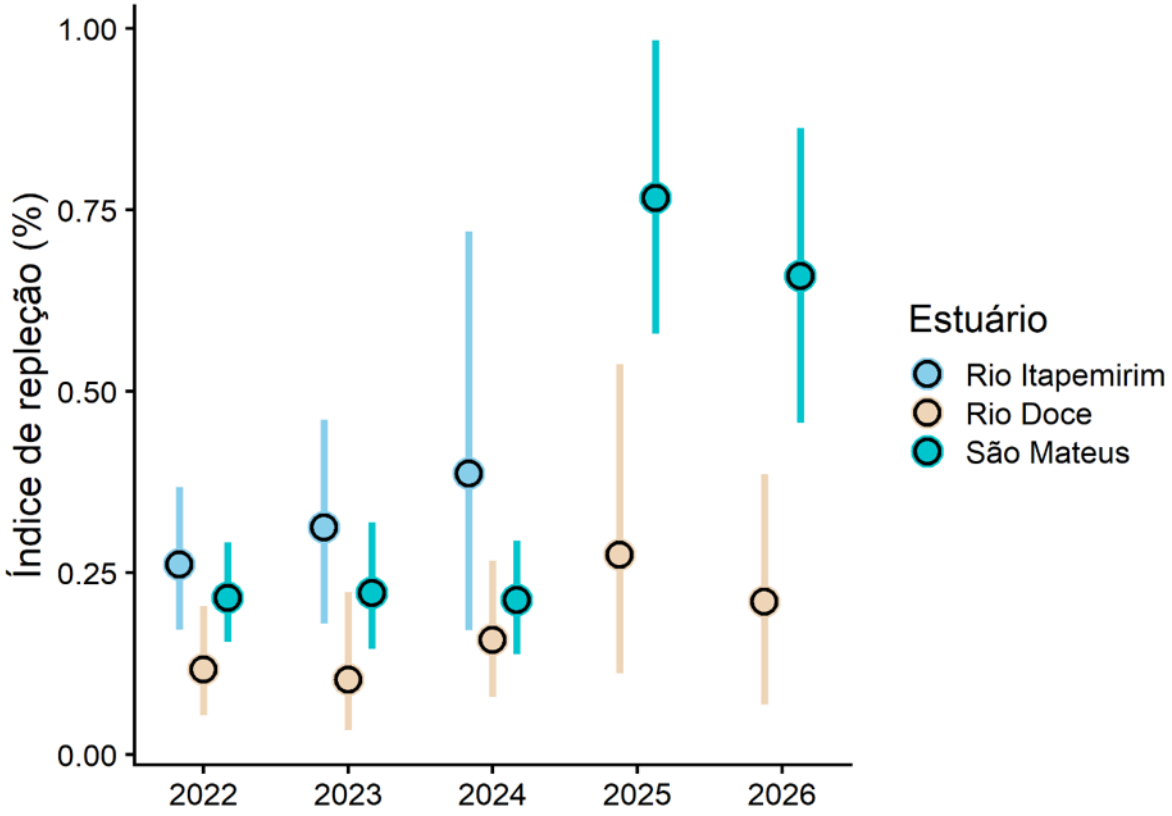
• Atividade alimentar similar[4]

* comparação feita com os estuários do 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 = 0,853; P(MC) = 0,608) quanto para o peso (PERMANOVA: F = 0,500; P(MC) = 0,881) e o volume (PERMANOVA: F = 0,572; P(MC) = 0,839) das presas. Por outro lado, a dieta foi significativamente diferente entre os controles, considerando os três parâmetros analisados (P < 0,05 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. Resultados similares foram encontrados em 2025 e 2026: a dieta do robalo-peva não variou significativamente entre o rio Doce e o São Mateus, com base na área (PERMANOVA: F = 1,523; P = 0,165), no peso (PERMANOVA: F = 1,432; P = 0,165) e no volume (PERMANOVA: F = 1,480; P = 0,171) 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.

Por outro lado, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) do robalo-peva foi menor no local impactado do que nos controles em 2023 e 2024, considerando a área (PERDISP: F = 18,642; P = 0,0008), o peso (PERDISP: F = 11,506; P = 0,002) ou o volume (PERDISP: F = 10,765; P = 0,003) das presas. Adicionalmente, a amplitude do nicho isotópico (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. Em 2025, porém, 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 deveu a alguns indivíduos da população do rio Doce que pertencem ao nosso universo amostral apresentarem assinaturas isotópicas de $\delta^{13}C$ inferiores a -27‰, o que provavelmente implica em movimentos realizados para porções a montante do estuário para alimentação (veja RA2024 PMBA/Fest UFES). Sobre os resultados apresentados trimestralmente, segundo a Deliberação nº 803, não é possível no momento inferir distinção ou similaridade isotópica entre as populações do rio Doce e São Mateus, pois somente em duas ocasiões houve coleta em ambos os estuários no mesmo período (verão/2025 e inverno/2025). Coletas futuras poderão ilustrar melhor a existência de um padrão, caso as amostragens consigam efetivamente capturar a espécie nas duas localidades nas próximas campanhas.

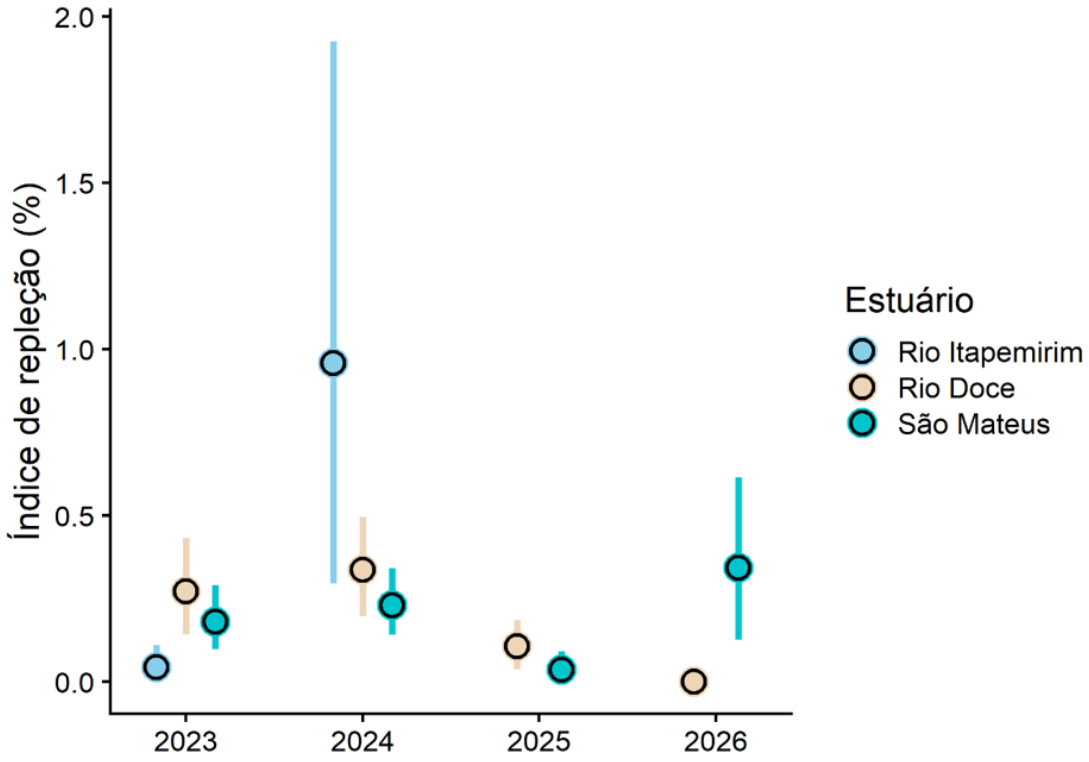
Figura 20: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (± Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do bagre-guri (*Genidens genidens*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) ao longo do monitoramento. Número de indivíduos analisados: 85 em 2022, 125 em 2023 e 121 em 2024 no rio Itapemirim; 58 em 2022, 95 em 2023, 73 em 2024, 108 em 2025 e 67 em 2026 no rio Doce; e 120 em 2022, 85 em 2023, 101 em 2024, 146 em 2025 e 27 em 2026 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.

Os resultados encontrados considerando apenas 2025 e 2026 são consistentes com aqueles observados nos anos anteriores (2022, 2023, 2024). O índice de repleção do bagre-guri no rio Doce foi significativamente menor do que no estuário do rio São Mateus (PERMANOVA: F = 45,050; P(MC) = 0,0002) em ambos os anos (PERMANOVA, interação Ano x Local: F = 2,446; P = 0,116). Novamente, não houve diferença entre os anos (PERMANOVA: F = 0,062; P = 0,802). Estes resultados demonstram que, apesar da tendência de aumento do índice ao longo do tempo no rio Doce, a quantidade de alimento ingerida por *G. genidens* na área impactada permanece menor do que no estuário controle.

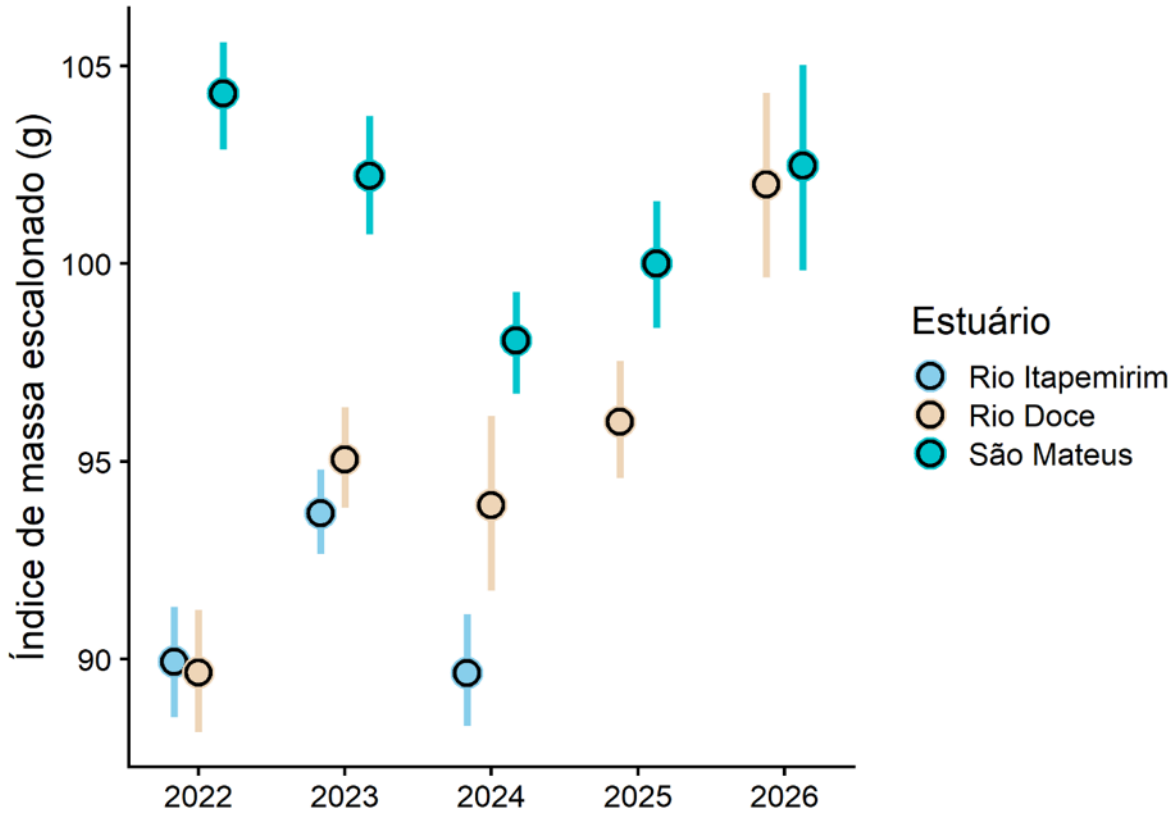
Figura 21: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (± Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) ao longo do monitoramento. Número de indivíduos analisados: 38 em 2023 e 13 em 2024 no rio Itapemirim; 108 em 2023, 112 em 2024, 80 em 2025 e 30 em 2026 no rio Doce; e 134 em 2023, 128 em 2024, 35 em 2025 e 30 em 2026 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(MC) = 0,660) em 2023 e 2024 (PERMANOVA, interação Ano x Local: F = 0,400; P(MC) = 0,753). Além disso, não houve diferença no índice de repleção entre os controles neste período (PERMANOVA: F = 2,871; P(MC) = 0,096). Estes resultados indicam que, apesar da perda de potenciais presas em consequência da chegada do MLD no rio Doce, o robalo-peva manteve um padrão de alimentação estatisticamente equivalente aos observados em estuários não impactados.

O padrão encontrado em 2025 e 2026 foi diferente daquele observado nos anos anteriores. O índice de repleção do robalo-peva no rio Doce foi, em média, menor do que no estuário controle (PERMANOVA: F = 4,046; P(MC) = 0,040), particularmente devido aos resultados obtidos em 2026. Observou-se também uma tendência de redução na atividade alimentar do robalo ao longo do tempo na área impactada, que pode estar relacionada a um decréscimo 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.

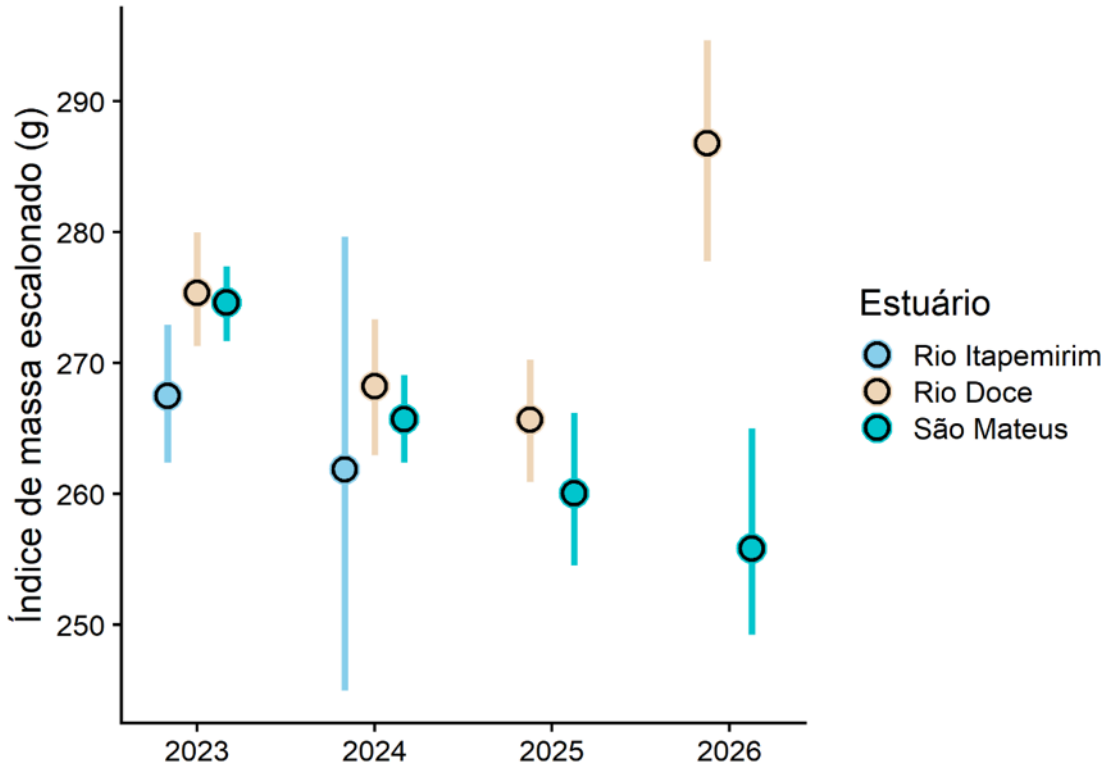
Figura 22: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (± Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do bagre-guri (*Genidens genidens*) no rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) ao longo do monitoramento. Número de indivíduos analisados: 80 em 2022, 194 em 2023 e 118 em 2024 no rio Itapemirim; 89 em 2022, 152 em 2023, 79 em 2024, 104 em 2025 e 58 em 2026 no rio Doce; e 102 em 2022, 123 em 2023, 129 em 2024, 121 em 2025 e 25 em 2026 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(MC)= 0,774), considerando indivíduos coletados em 2022, 2023 e 2024 - cerca de 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 contraste aos anos anteriores, a diferença no IMS do bagre-guri entre o rio Doce e o estuário de São Mateus foi marginalmente não significativa em 2025 e 2026 (PERMANOVA: F = 3,853; P = 0,052). Neste período, o ano teve um efeito significativo (PERMANOVA: F = 12,738; P = 0,0006) no IMS em ambos os estuários (PERMANOVA, interação Ano x Estuário: F = 1,913; P = 0,171). As diferenças espaciais encontradas podem ser parcialmente explicadas 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 (± 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) ao longo do monitoramento. Número de indivíduos analisados: 36 em 2023 e 13 em 2024 no rio Itapemirim; 128 em 2023, 86 em 2024, 77 em 2025 e 28 em 2026 no rio Doce; e 220 em 2023, 117 em 2024, 35 em 2025 e 29 em 2026 no São Mateus.



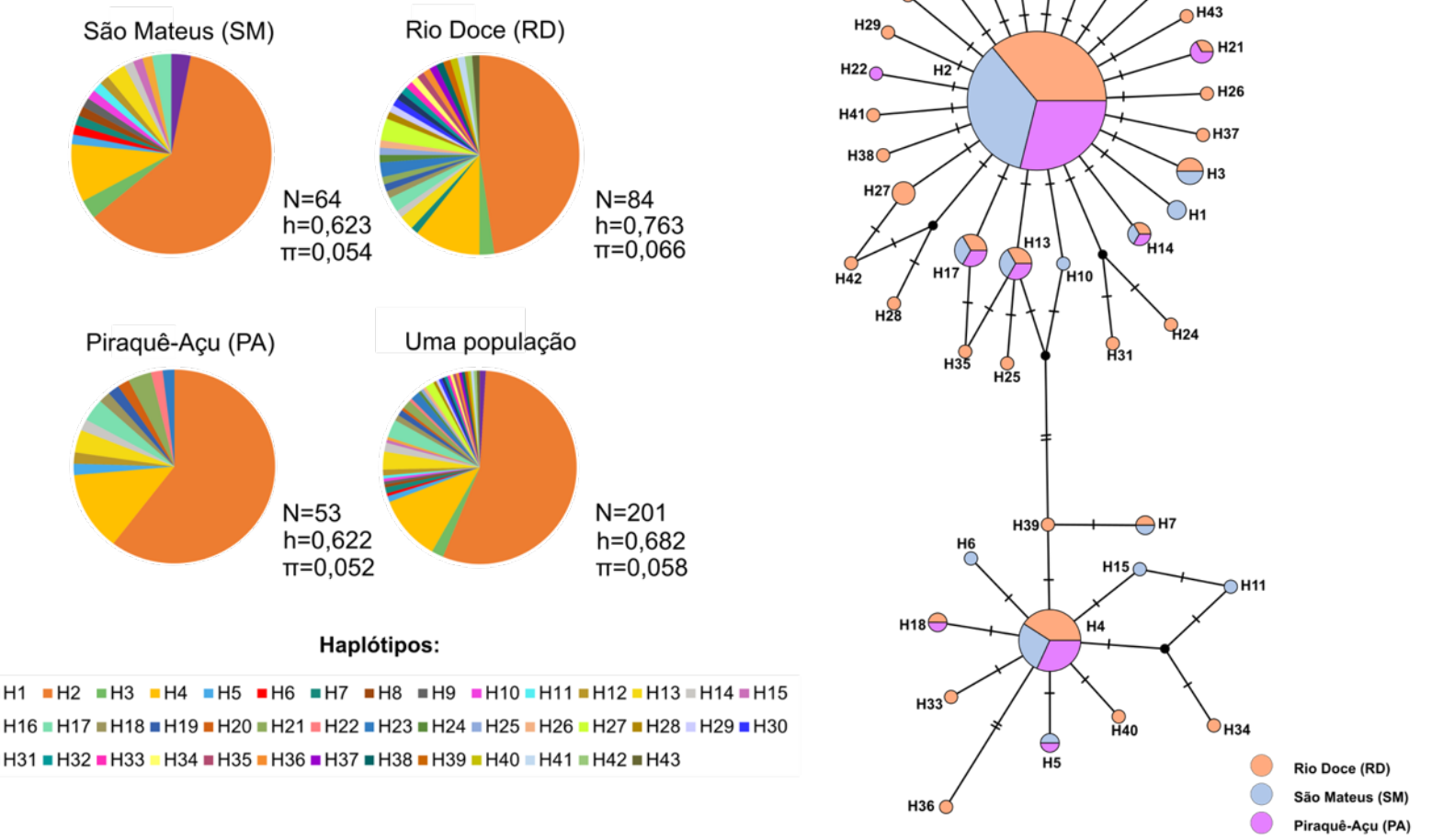
Os resultados das análises da condição corporal do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) são consistentes com aqueles encontrados para o bagre-guri. Não foram encontradas diferenças significativas na condição do robalo entre o rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA: F = 1,103; P(MC)= 0,503) em 2023 e 2024, 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). Estes 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 2026, houve um aumento no índice de massa escalonado do robalo-peva no rio Doce em comparação a 2025, enquanto no São Mateus há uma tendência de declínio desde 2023. A diferença entre estes dois estuários nos valores de condição corporal foi significativa neste período (PERMANOVA: F = 13,886; P = 0,0004), e também aumentou em relação a 2023 e 2024. Um padrão similar foi identificado para o bagre-guri, que também apresentou maior valor de condição corporal em 2026 do que em 2025.

3.6 ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA

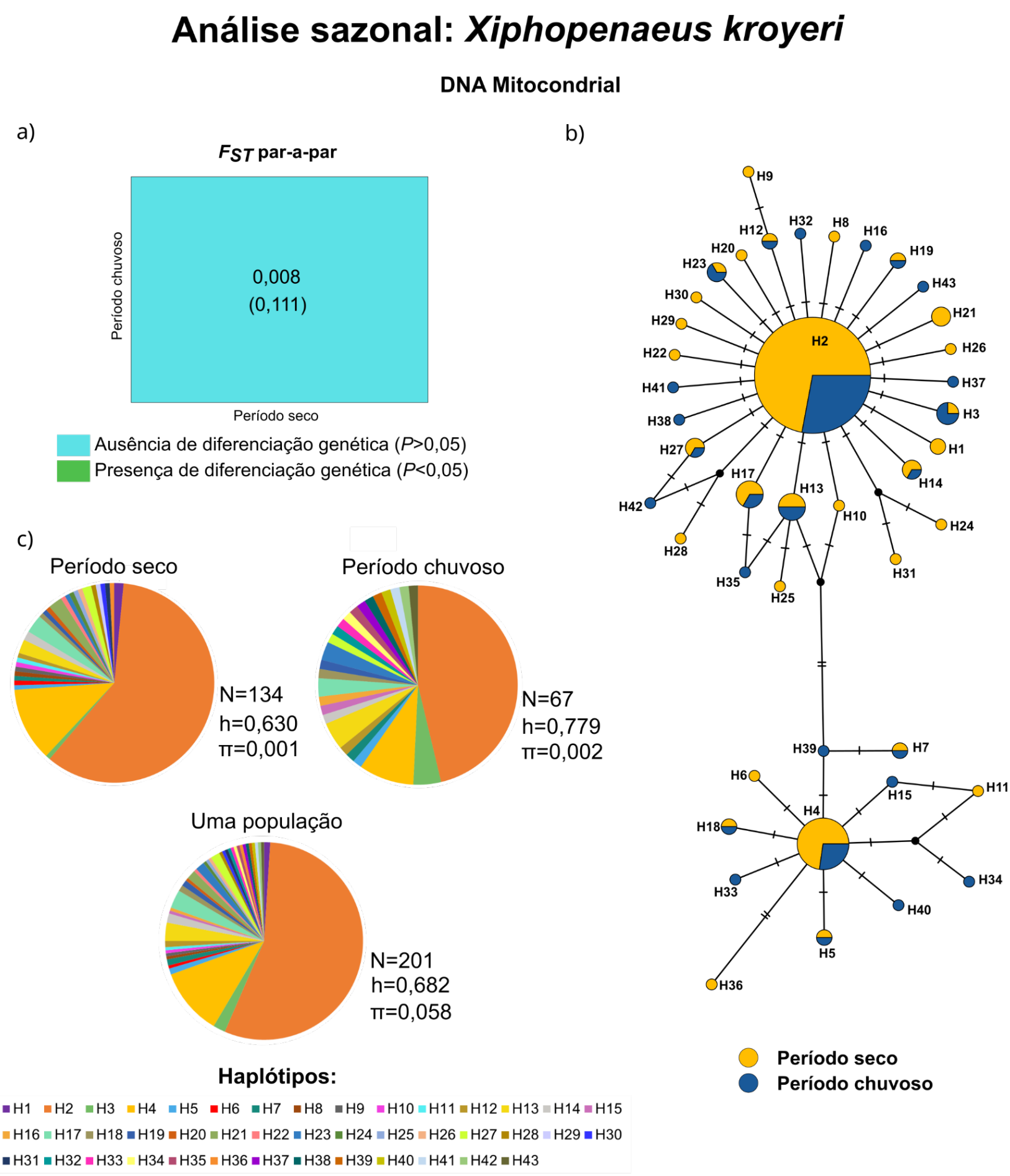
3.6.1 Crustáceos marinhos

Figura 24: Análise espacial: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial de 201 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu. 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 contribuição dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para a única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. d) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto, diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açu (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.



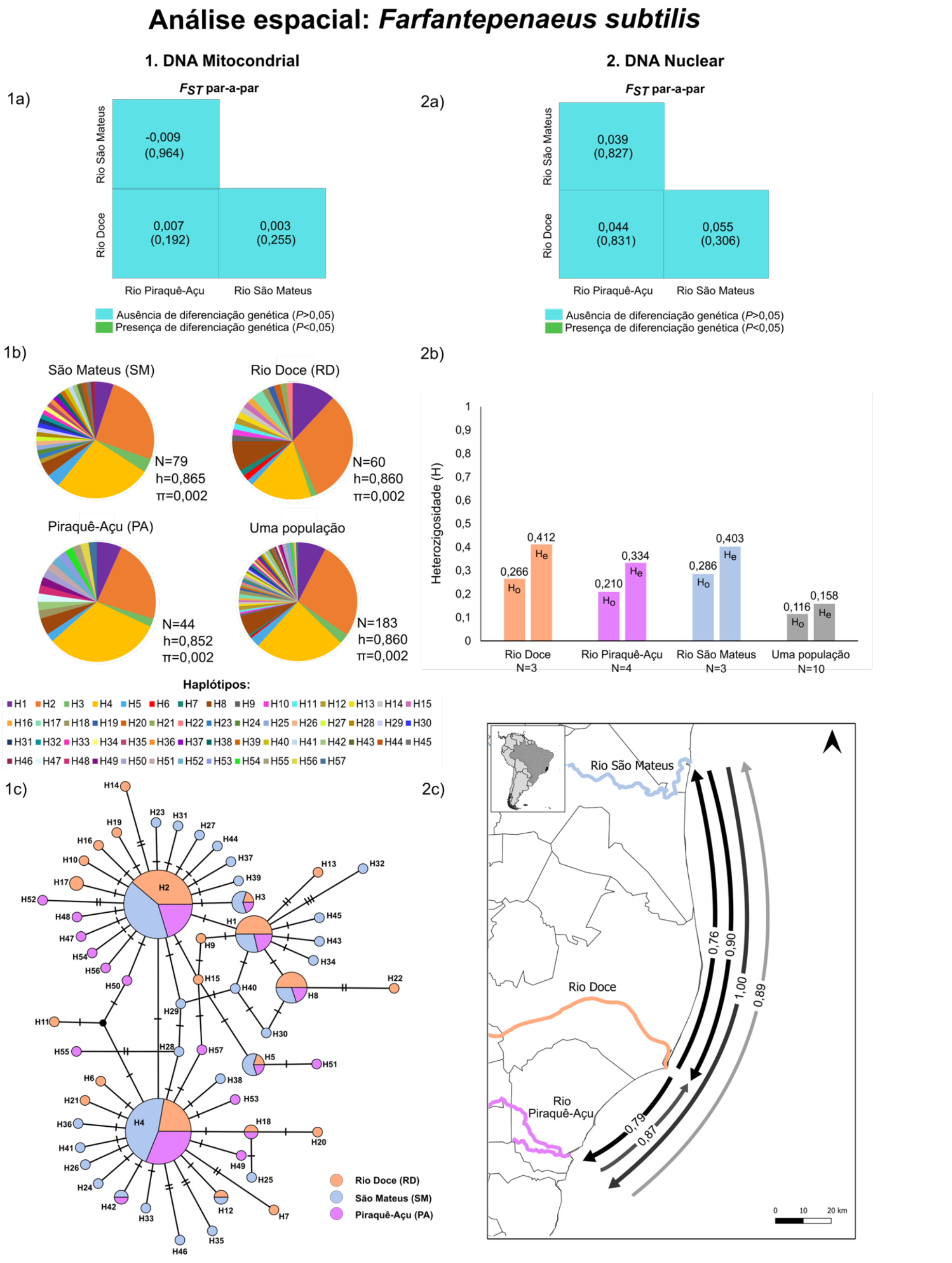
Foram avaliados 201 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) com os marcadores moleculares mitocondriais COI e 16S rRNA concatenados (1052 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os rios (Doce, São Mateus e Piraquê-Açu), indicando a presença de apenas uma população. A AMOVA também evidenciou que a maior variação se encontra dentro das populações (99,98%). Portanto, os resultados espaciais indicaram um alto fluxo gênico entre os rios avaliados. Os resultados demonstram valores de diversidade genética moderados para a população encontrada (h=0,682), mas em relação às unidades amostrais, o menor valor encontrado foi para o rio Piraquê-Açu (h=0,622). Na rede de haplótipos, é possível observar a presença de 43 haplótipos no total, sendo o haplótipo 2 (H2) o mais frequente em todos os rios avaliados. Foram observados haplótipos compartilhados entre os três rios (H2, H4, H13, H14 e H17), além da presença de haplótipos exclusivos para todos os rios.

Figura 25. Análise sazonal: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial de 201 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) provenientes dos períodos seco e chuvoso. a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par), valores de *P* estão entre parênteses. b) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto, diferentes cores correspondem os períodos (seco e chuvoso); 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. c) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica.



Foram avaliados 201 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) com os marcadores moleculares mitocondriais COI e 16S rRNA concatenados (1052 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso. A AMOVA demonstrou que a maior variação é encontrada dentro das populações (99,21%). Os valores de diversidade genética foram moderados para a única população encontrada (h=0,682), sendo o menor valor encontrado para o período seco (h=0,630). Na rede de haplótipos, é possível observar a presença de 43 haplótipos no total, sendo o haplótipo 2 (H2) o mais frequente. Foram observados haplótipos compartilhados entre os dois períodos avaliados (H3, H4, H5, H7, H12, H13, H14, H17, H18, H19, H23, H27), além da presença de haplótipos exclusivos para os dois períodos.

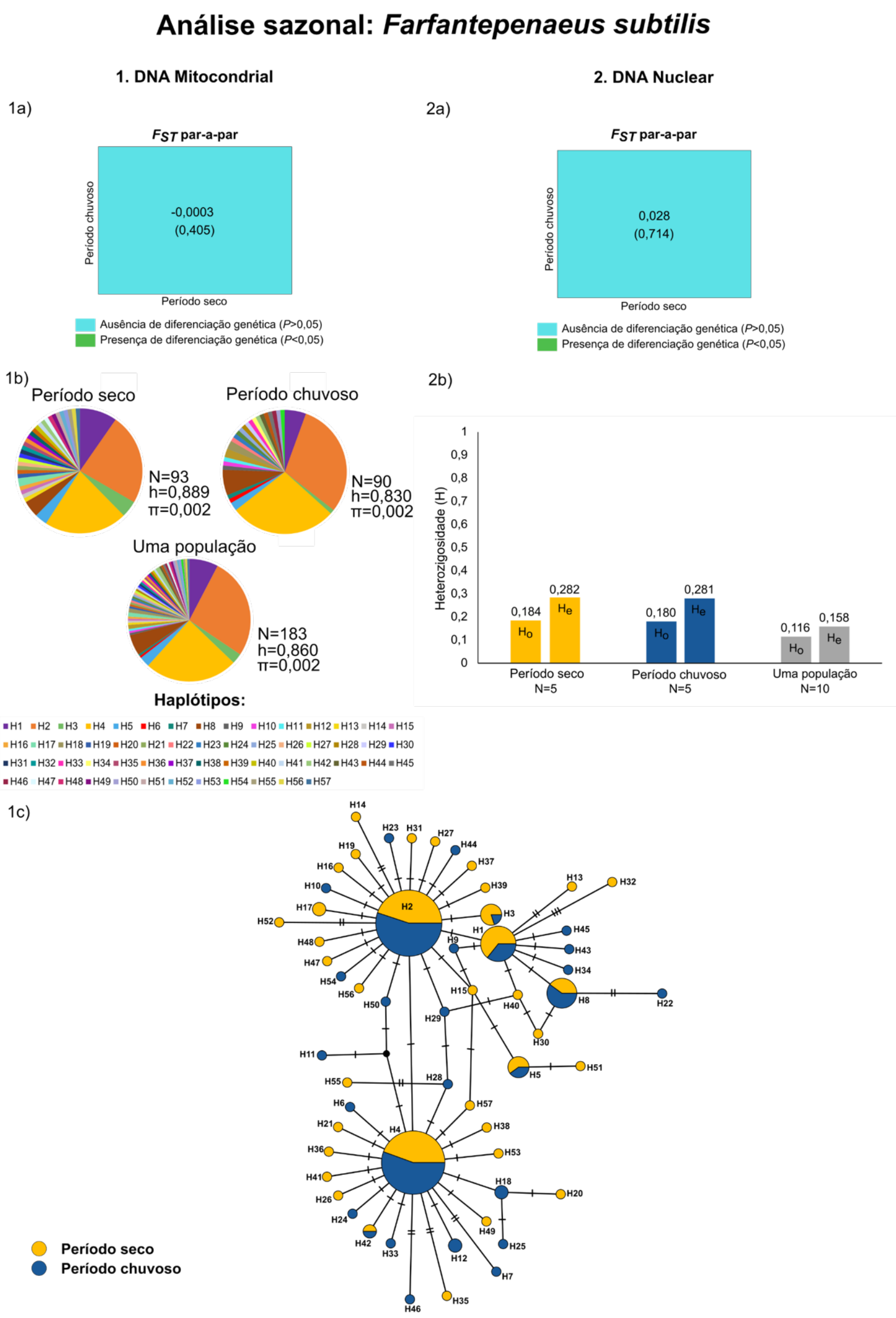
Figura 26: Análise espacial: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=183) e nuclear (N=10) de indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis)* provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu. 1a) Gráficos de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial, valores de *P* estão entre parênteses. 1b) 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; π: diversidade nucleotídica. 1c) 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.1b) Gráficos de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear, valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He). 2c) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu), 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).



Foram avaliados 183 indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) com os marcadores moleculares mitocondriais COI e 16S rRNA concatenados (948 pb). Não foi encontrada diferenciação entre os indivíduos dos rios avaliados (F_{ST}=-0,000; *P*=0,408), ou seja, presença de uma única população. A AMOVA também evidenciou que a maior variação se encontra dentro das populações (100%), o que indica um alto fluxo gênico. A diversidade haplotípica foi alta para a população identificada (h=0,860) e para todos os rios avaliados. A rede de haplótipos apresentou 57 haplótipos organizados em formato de estrela, ocorrendo a maior frequência dos haplótipos 2 e 4 (H2 e H4) nos três rios, com muitos haplótipos exclusivos.

Para o DNA nuclear dez amostras de camarão-rosa foram analisadas a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de *reads* filtrados variou de 83.960 a 3.787.579. Todas as *reads* foram padronizadas para 27 pb. Não foi encontrada diferenciação genética a partir do *Fst* par-a-par entre os indivíduos dos rios avaliados. Já a análise AMOVA global revelou indícios de diferenciação (*Fst*=0,072; *P*=0,000). Esses dados devem ser interpretados com cautela, visto que o aumento do número amostral é necessário, assim como, avaliar outros fatores que podem contribuir para essa diferenciação. Os resultados da AMOVA também demonstraram que a maior variação está dentro do grupo avaliado (92,8%), o que indica presença de uma única população com fluxo gênico. Os resultados encontrados a partir da função divMigrate também indicam forte fluxo gênico entre os rios, sendo o rio São Mateus com as maiores taxas de migração identificadas para o rio Piraquê-Açu (Taxa de migração = 1) e rio Doce (Taxa de migração = 0,90), o que significa que esse primeiro rio contribui com maior quantidade de migrantes para o rio Piraquê-Açu e rio Doce. Os resultados de fluxo gênico reforçam a importância do rio São Mateus na composição das populações de camarão-rosa no Espírito Santo. Foram detectados níveis baixos a moderados de diversidade para a única população identificada (Ho=0,116; He=0,158), sendo os menores para o rio Piraquê-Açu (Ho=0,210; He=0,334; n=4), mesmo com maior número amostral em comparação aos rios São Mateus (Ho=0,286; He=0,403; n=3) e Doce (Ho=0,266; He=0,412; n=3).

Figura 27: Análise sazonal: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=183) e nuclear (N=10) de indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) amostrados nos períodos seco e chuvoso. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial; valores de *P* estão entre parênteses. 1b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. 1c) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos períodos seco e chuvoso, 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He).

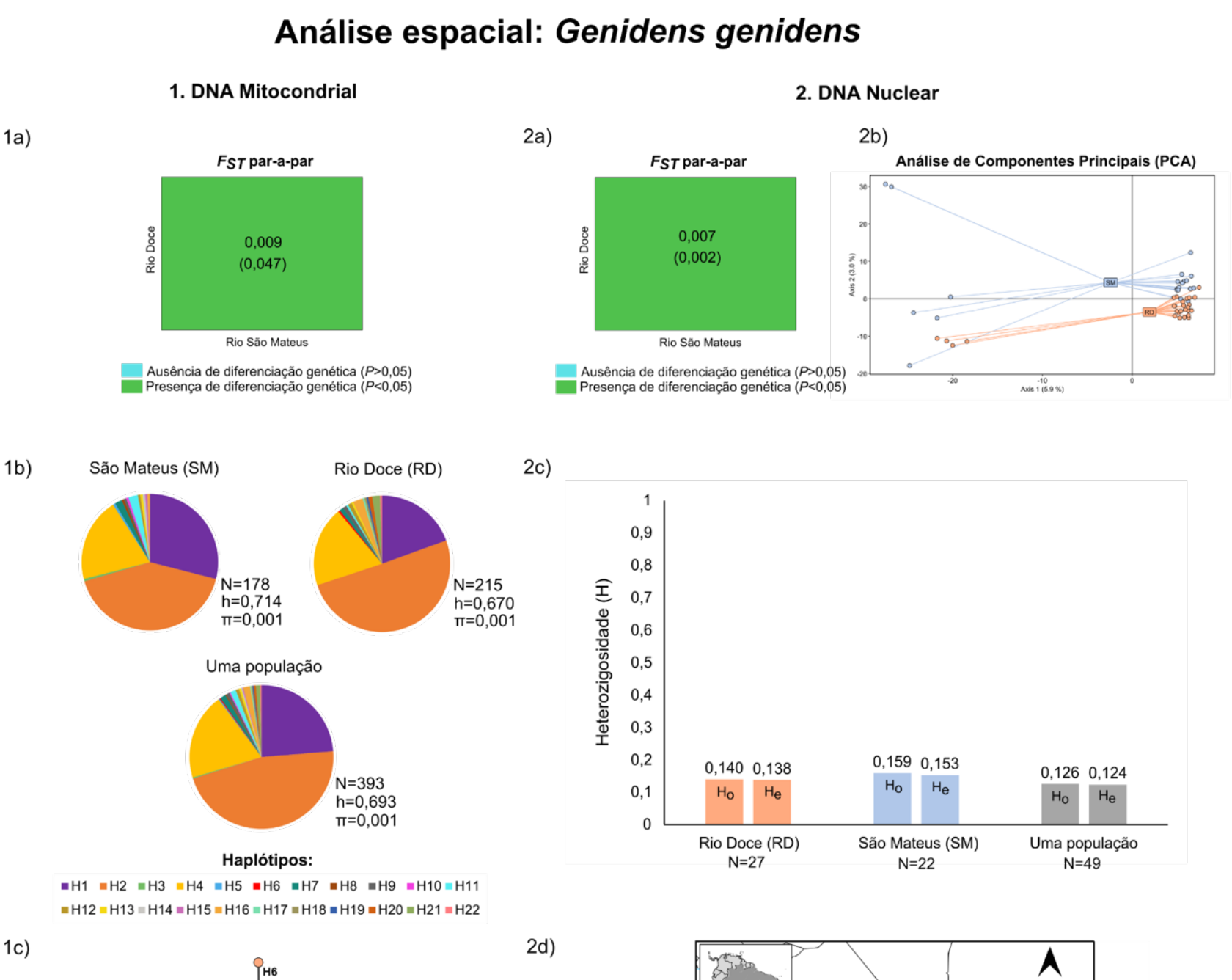


Foram avaliados 183 indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) com os marcadores moleculares mitocondriais COI e 16S rRNA concatenados (948 pb). Não foi encontrada diferenciação genética (F_{ST}=-0,003; *P*=0,394) entre os indivíduos dos períodos avaliados. A AMOVA também evidencia que a maior variação se encontra dentro da população (100,03%). A diversidade haplotípica para a população identificada foi alta (h=0,860), sendo que o período seco (h=0,889) apresentou os maiores valores. Foram encontrados 57 haplótipos, organizados em formato de estrela, com haplótipos exclusivos, sendo que os mais frequentes são compartilhados entre os períodos seco e chuvoso.

Dez amostras foram analisadas no total a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de *reads* filtrados variou de 83.960 a 3.787.579. Todas as *reads* foram padronizadas para 27 pb. Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso a partir do *Fst* par-a-par. Já a análise AMOVA global revelou indícios de possível diferenciação genética (*Fst*=0,041, *p*=0,000). Esses dados devem ser interpretados com cautela, visto que o aumento do número amostral é necessário, assim como, avaliar outros fatores que podem estar contribuindo para essa diferenciação. Os resultados da AMOVA também demonstraram que o maior valor de variação foi encontrado dentro da população (95,9%), o que indica presença de uma única população com fluxo gênico, contudo com indícios de uma possível diferenciação populacional evidenciada pelo *Fst*. O período chuvoso mostrou valores similares de heterozigosidade (Ho=0,180; He=0,281), quando comparado ao período seco (Ho=0,184; He=0,282).

3.6.2 Peixes estuarinos

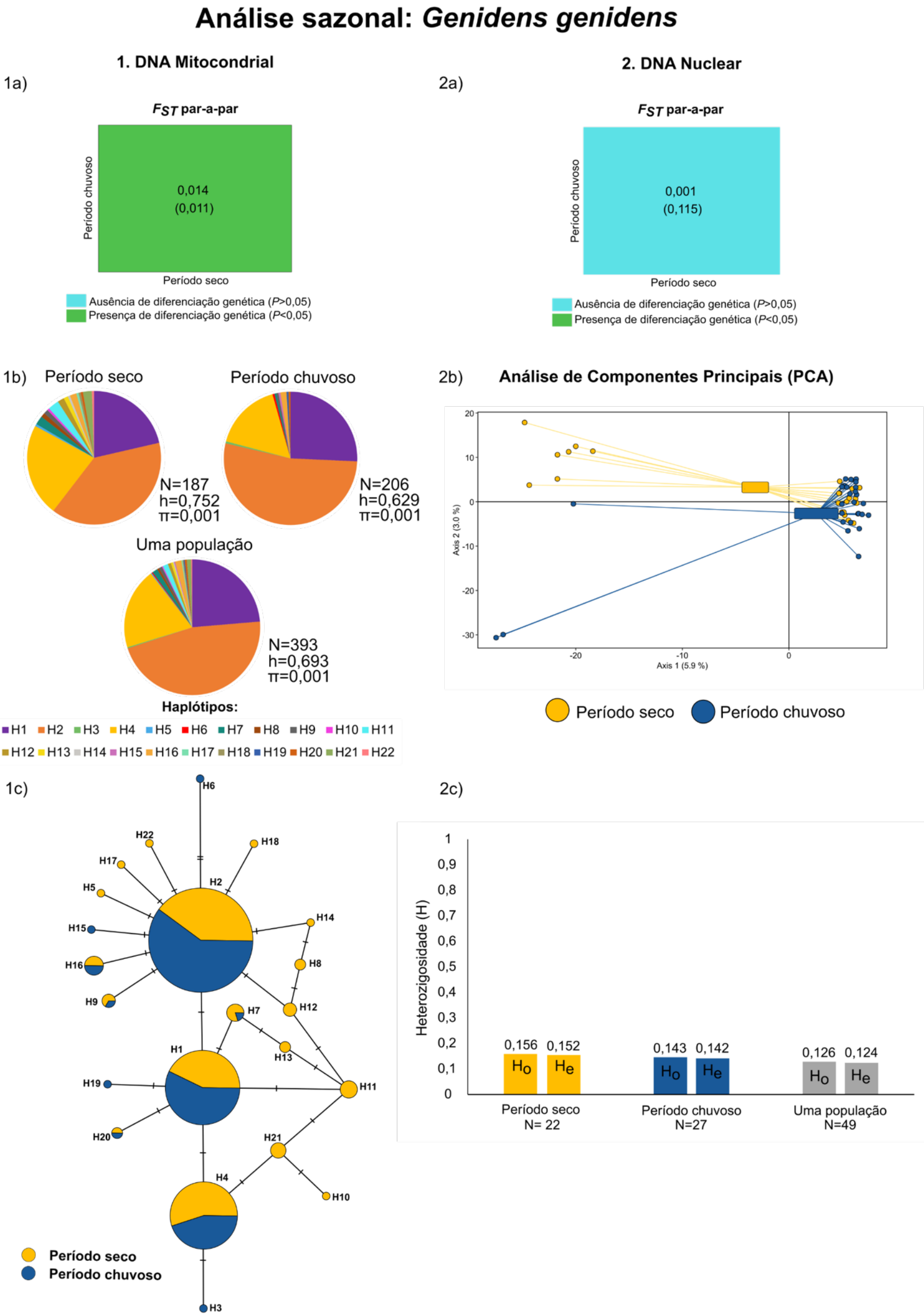
Figura 28: Análise espacial: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=393) e nuclear (N=49) de indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) do rio Doce e rio São Mateus. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial, valores de *P* estão entre parênteses. 1b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada rio avaliado e para a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. 1c) 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear, valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de PCA (Análise de Componentes Principais). 2c) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He). 2d) Fluxo gênico entre os rios (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).



Foram avaliados 393 indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) com o marcador molecular mitocondrial ATPase (823 pb). Foi encontrada baixa diferenciação genética, indicando que os bagres-guri dos rios São Mateus e Doce podem pertencer a duas populações diferentes (F_{ST}=0,009; *P*=0,047). Os resultados da AMOVA indicaram que a maior variação se encontra dentro das populações (99,12 %). Os resultados de diversidade genética demonstram valores moderados de diversidade haplotípica, com maior valor no rio São Mateus (h=0,714) quando comparado ao rio Doce (h=0,670). Foi possível identificar a presença de 22 haplótipos, com maior frequência para três (H1, H2 e H4) presentes em ambos os rios. Verificam-se alguns haplótipos exclusivos para os dois rios. Vale ressaltar que apesar do aumento do número amostral (incremento de 279 indivíduos) a diversidade haplotípica permaneceu moderada. Esses resultados 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. Dessa forma, essa espécie merece especial atenção quanto ao monitoramento dos seus índices de diversidade genética.

Para o DNA nuclear foram analisadas 49 amostras a partir da biblioteca de 2bRAD. Após as filtragens, o número total de *reads* mantidos variou de 145.820 a 8.256.047 por amostra e todas as *reads* foram padronizadas para 27 pb. Após a prospecção de SNPs, o conjunto de dados final resultou em 9.210 SNPs com porcentagem de *missing data* estimada em 13,09%. Foi detectada uma baixa diferenciação populacional entre os indivíduos dos rios São Mateus e Doce nas análises de F_{ST} par-a-par (F_{ST}=0,007; *P*=0,002) evidenciada também pela AMOVA global (*Fst*=0,006; *p*=0,000), indicando a presença de duas populações. A maior variação foi encontrada dentro das populações (99,4%). Considerando os SNPs avaliados, a população do rio Doce apresenta menor heterozigosidade observada e esperada (Ho=0,140; He=0,138) quando comparada ao rio São Mateus (Ho=0,159; He=0,153). Os resultados da função divMigrate indicam maior fluxo gênico do rio Doce para o rio São Mateus (1,00) do que do rio São Mateus para o Doce (0,82).

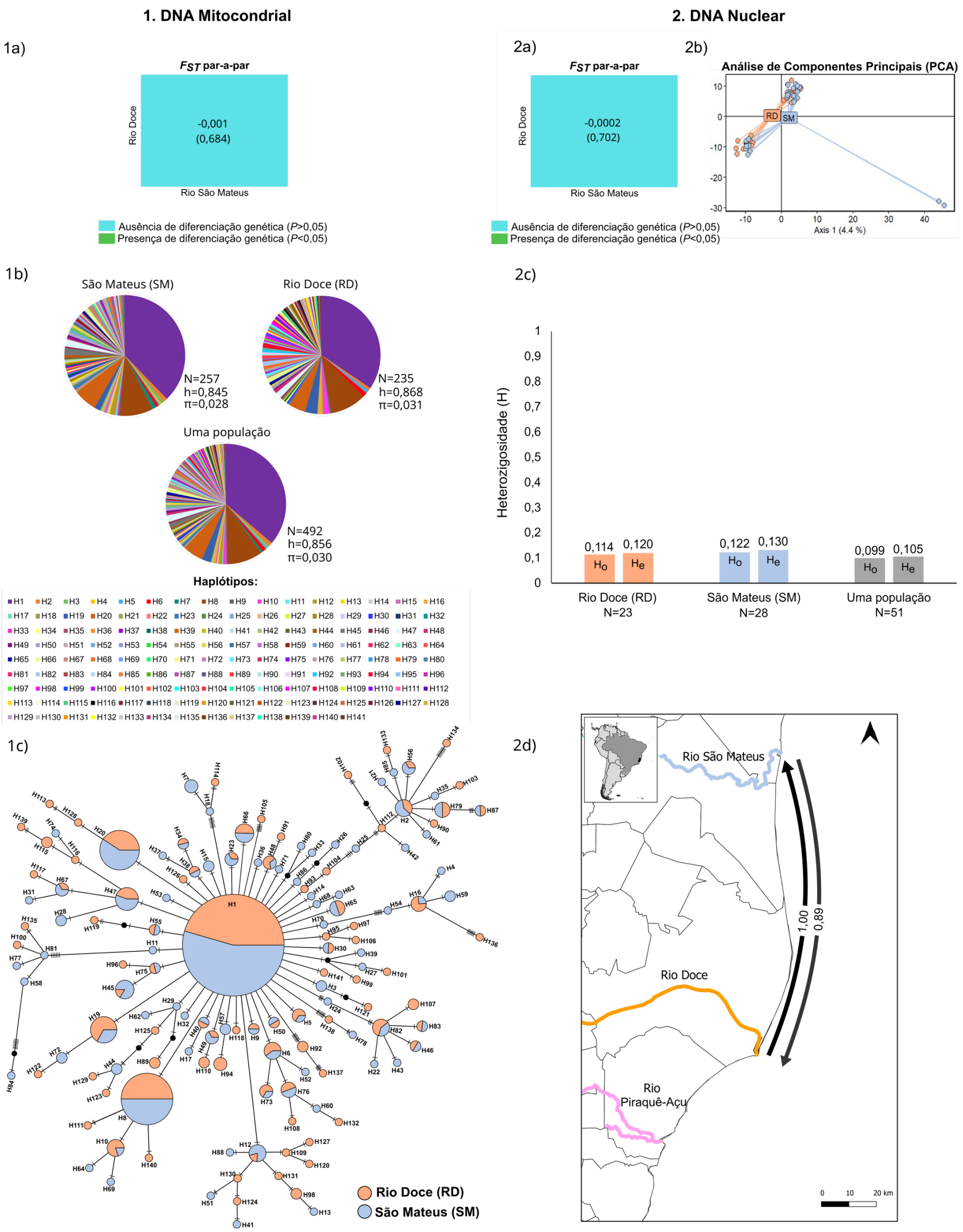
Figura 29: Análise sazonal: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=393) e nuclear (N=49) de indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) nos períodos seco e chuvoso. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (FST par-a-par) mitocondrial, valores de P estão entre parênteses. 1b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. 1c) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos períodos seco e chuvoso; 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de PCA (Análise de Componentes Principais). 2c) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He).



Foram avaliados 393 indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) com o marcador molecular mitocondrial ATPase (823 pb). Foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso (F_{ST}=0,014; *P*=0,011). A AMOVA evidenciou que a maior variação se encontra dentro das populações (98,57%). Os valores de diversidade haplotípica para cada período foram moderados, sendo que o período seco (h=0,752) apresentou valores maiores quando comparado ao chuvoso (h=0,629). Foram encontrados 22 haplótipos, sendo sete compartilhados entre os períodos (H1, H2, H4, H7, H9, H16, H20).

Para o DNA nuclear foram analisadas 49 amostras a partir da biblioteca de 2bRAD. Após as filtragens, o número total de *reads* mantido variou de 145.820 a 8.256.047 por amostra e todas as *reads* foram padronizadas para 27 pb. Após a prospecção de SNPs, o conjunto de dados final resultou em 9.210 SNPs com porcentagem de *missing data* estimada em 13,09%. Não foi encontrada diferenciação genética entre indivíduos amostrados nos períodos seco e chuvoso (*Fst*=0,001; *p*=0,115). Já para a AMOVA global valores significativos de *Fst* foram encontrados (*Fst*=0,002, *p*=0,000) e a maior variação foi encontrada dentro das populações (99,8%). O período chuvoso mostrou os menores valores de heterozigosidade (Ho=0,143; He=0,142) quando comparado ao período seco (Ho=0,156; He=0,152).

Figura 30: Análise espacial: Índices de diferenciação de diversidade genética mitocondrial (N=492) e nuclear (N=51) de indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) provenientes do rio Doce e rio São Mateus. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial; valores de *P* estão entre parênteses. 1b) 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 π: diversidade nucleotídica. 1c) 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de PCA (Análise de Componentes Principais). 2c) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He). 2d) Fluxo gênico entre os rios (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).

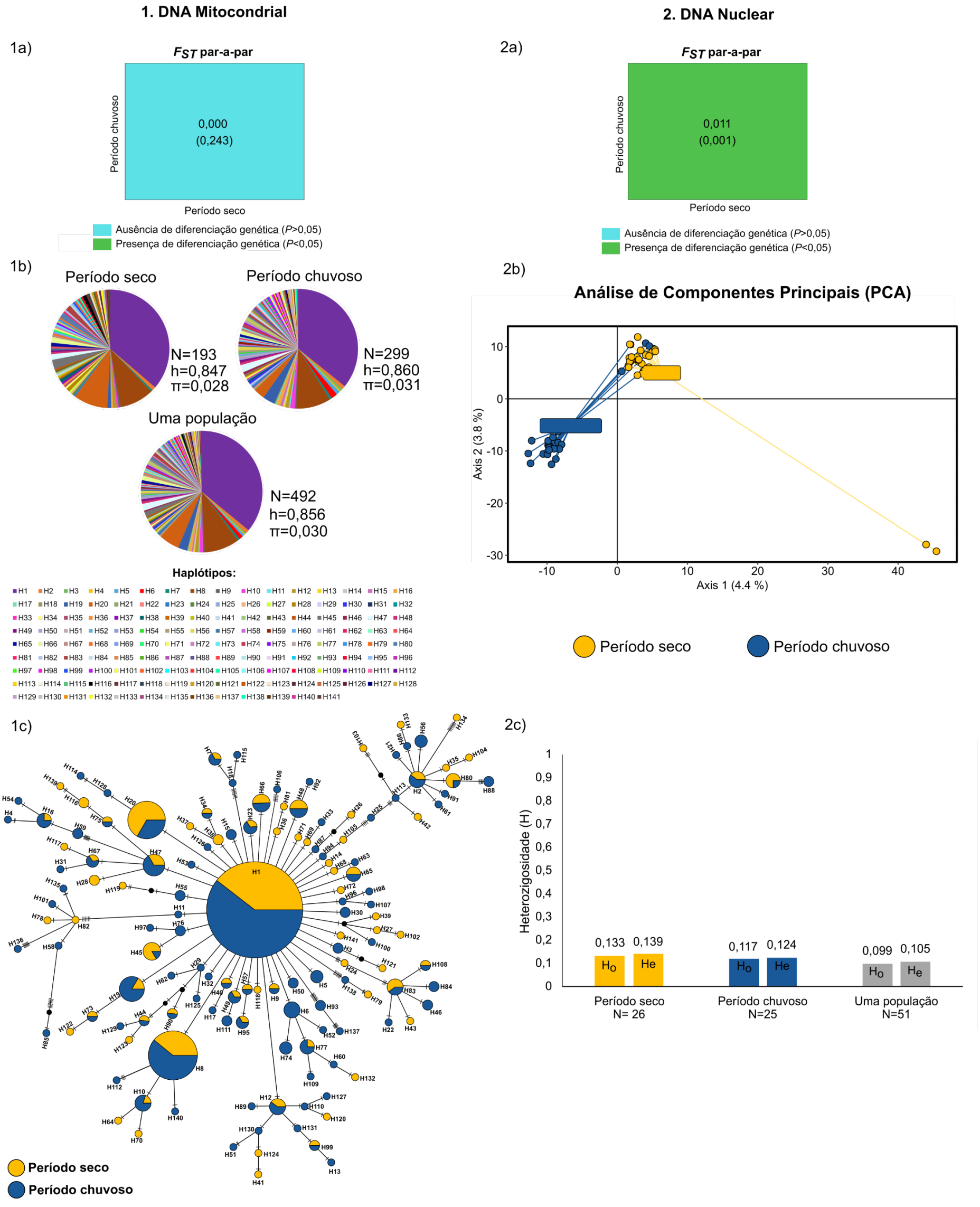


Foram avaliados 492 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) com o marcador mitocondrial D-loop (452 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos rios Doce e São Mateus (F_{ST}=-0,001; *P*=0,684) indicando a presença de uma população. A AMOVA revelou uma maior variação dentro das populações (100,1%), o que indica que os indivíduos desses dois rios compõem uma única população com alto fluxo gênico. Os resultados de diversidade haplotípica foram altos para a população identificada (h=0,856), sendo que o maior valor encontrado foi para o rio Doce (h=0,868).

Para o DNA nuclear, o número de *reads* filtrados para as 51 amostras analisadas da biblioteca 2bRAD variou de 525.321 a 8.057.749 por amostra e foram padronizados para 27 pb. Após a prospecção de SNPs resultaram 11.883 SNPs com porcentagem 12,18% de *missing data*. Não foi encontrada diferenciação genética (F_{ST}=0,001; *P*=0,288) entre os indivíduos dos rios Doce e São Mateus indicando a presença de uma população. A AMOVA global revelou que maior variação se encontra dentro das populações (99,8%) e valores significativos de *Fst* (F_{ST}=0,002, *P*=0,000).

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. Considerando os SNPs avaliados, a unidade amostral do rio Doce apresentou menor heterozigosidade observada e esperada (Ho= 0,114; He= 0,119) quando comparada a do rio São Mateus (Ho= 0,122; He= 0,130). Apesar do elevado número de SNPs avaliados, foram encontrados valores baixos de heterozigosidade observada e esperada quando considerada a população como um todo (Ho= 0,099; He=0,105).

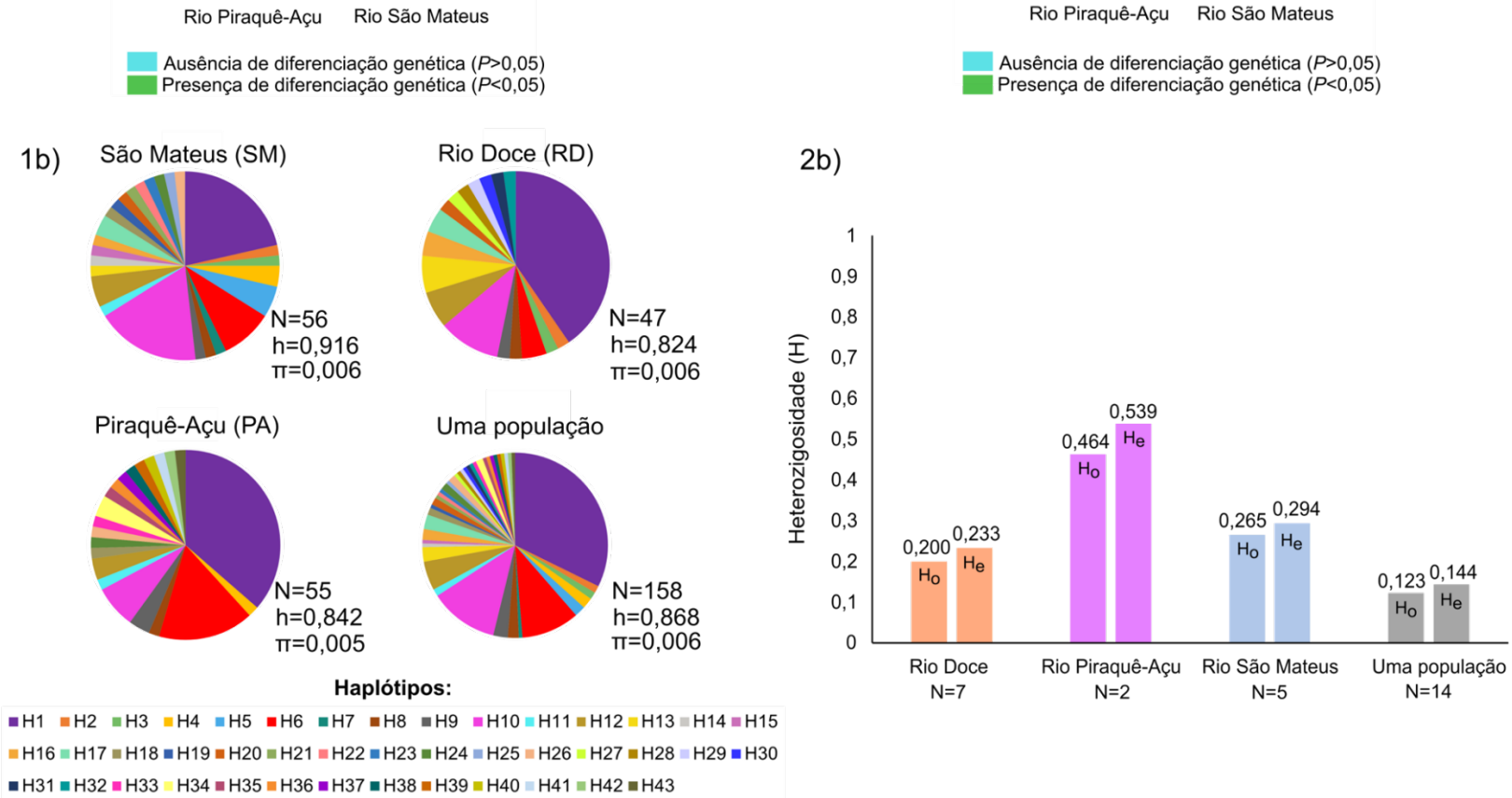
Figura 31: Análise sazonal: Índices de diferenciação de diversidade genética mitocondrial (N=492) e nuclear (N=51) de indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) provenientes dos períodos seco e chuvoso. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial; valores de *P* estão entre parênteses. 1b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. 1c) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto, diferentes cores correspondem os períodos seco e chuvoso; 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (FST par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de PCA (Análise de Componentes Principais). 2c) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He).



Foram avaliados 492 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) com o marcador mitocondrial D-loop (452 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso (F_{ST}=0,001; *P*=0,243) indicando a presença de uma população. A AMOVA evidenciou que a maior variação se encontra dentro das populações (98,57%). Os valores de diversidade haplotípica foram altos para os indivíduos de cada período, sendo que o período chuvoso (h=0,860) apresentou valores maiores quando comparado ao seco (h=0,847). Foram identificados 141 haplótipos no total, ocorrendo em maior frequência o haplótipo 1 (H1), compartilhado entre os períodos.

Na análise do DNA nuclear o número de *reads* filtrados para as 51 amostras analisadas da biblioteca 2bRAD variou de 525.321 a 8.057.749 por amostra e foram padronizados para 27 pb. Após a prospecção de SNPs resultaram 11.883 SNPs com porcentagem 12,18% de *missing data*. Foi identificada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso (F_{ST}=0,011; *p*=0,001) indicando a presença de duas populações. Além disso, quando verificados os resultados da AMOVA global foi encontrada maior variação dentro do que entre as populações (98,6%) e valores significativos de *Fst* (F_{ST}=0,014; *P*=0,000). Estes resultados mostram que possivelmente a diferenciação é sazonal, ainda que baixa, uma vez que os testes de F_{ST} par-a-par e AMOVA global corroboram. Os menores valores de heterozigosidade (Ho=0,117; He=0,124) foram evidenciados para o período chuvoso, quando comparado ao período seco (Ho=0,133; He=0,134).

Figura 32: Análise espacial: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=158) e nuclear (N=14) de indivíduos de pescada-goete (*Cynoscion jamaicensis*) do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial; valores de *P* estão entre parênteses. 1b) 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; π: diversidade nucleotídica. 1c) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açu (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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He). 2c) Fluxo gênico entre as unidades amostrais (rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu), 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).



Foram avaliados 158 indivíduos de pescada-goete (*Cynoscion jamaicensis*) com o marcador mitocondrial D-loop (576 pb). Não foi detectada diferenciação genética no teste de F_{ST} par-a-par entre os rios, sendo todos os indivíduos pertencentes a uma mesma população. Os resultados da AMOVA também evidenciaram que a maior variação se encontra dentro das populações (99,07%), o que indica alto fluxo gênico entre os rios. Foram detectados elevados valores de diversidade haplotípica na população identificada (h=0,868), sendo que para o rio São Mateus foi verificada a maior diversidade haplotípica (h=0,916).

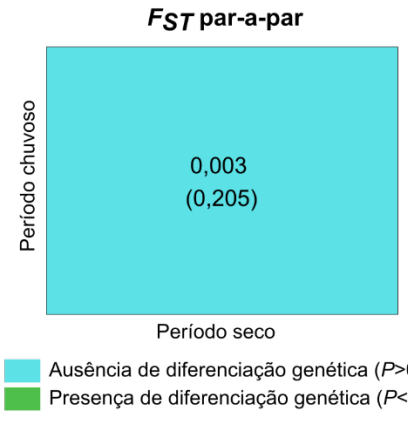
Para as análises com DNA nuclear, após as filtragens, o número de *reads* encontradas nas 14 amostras analisadas variaram de 309.202 a 6.220.893 por amostra, sendo todos as *reads* padronizadas para 27 pb. Foram verificados 4.932 SNPs, com porcentagem de *missing data* de 10,58%. Não foi encontrada diferenciação genética entre os rios. Já a AMOVA global revelou indícios de possível estruturação espacial (*Fst*=0,02; *P*=0,000). Os resultados da AMOVA também apresentaram maior variação dentro do que entre as populações (97,8%), o que indica fluxo gênico entre os rios. Foram detectados moderados níveis de heterozigosidade para a população identificada (Ho=0,123; He=0,144). Apesar de ocorrer fluxo gênico entres os indivíduos dos diferentes rios, é possível observar menores valores de heterozigosidade para os do rio Doce (Ho=0,200; He=0,233; n=7), mesmo com um maior número amostral em comparação com os das outras unidades amostrais. Os resultados da função divMigrate indicaram alto fluxo gênico (0,93) das pescadas-goete do rio Doce para o rio São Mateus e do rio São Mateus para o rio Doce (1,00). Esses resultados reforçam a importância do rio Doce e rio São Mateus na contribuição de migrantes dessa espécie para áreas adjacentes. Esses dados devem ser interpretados com cautela, visto que é preciso aumentar o número amostral.

Figura 33: Análise sazonal: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial (N=158) e nuclear (N=14) de indivíduos de pescada-goete (*Cynoscion jamaicensis*) dos períodos seco e chuvoso. 1a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) mitocondrial; valores de *P* estão entre parênteses. 1b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para única população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. 1c) Rede de haplótipos cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem os períodos seco e chuvoso; 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. 2a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par) nuclear; valores de *P* estão entre parênteses. 2b) Gráfico de heterozigosidade observada (Ho) e esperada (He).

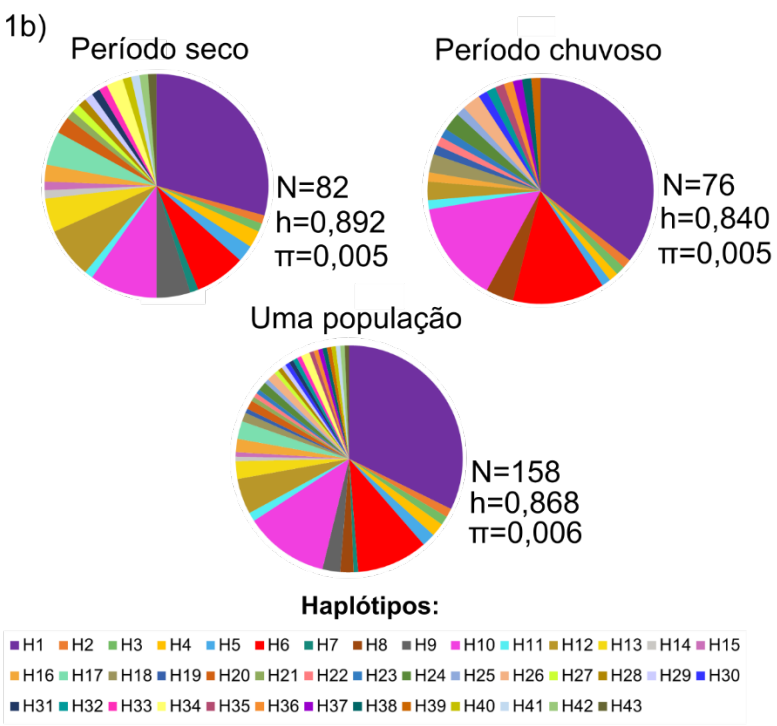
Análise sazonal: *Cynoscion jamaicensis*

1. DNA Mitocondrial

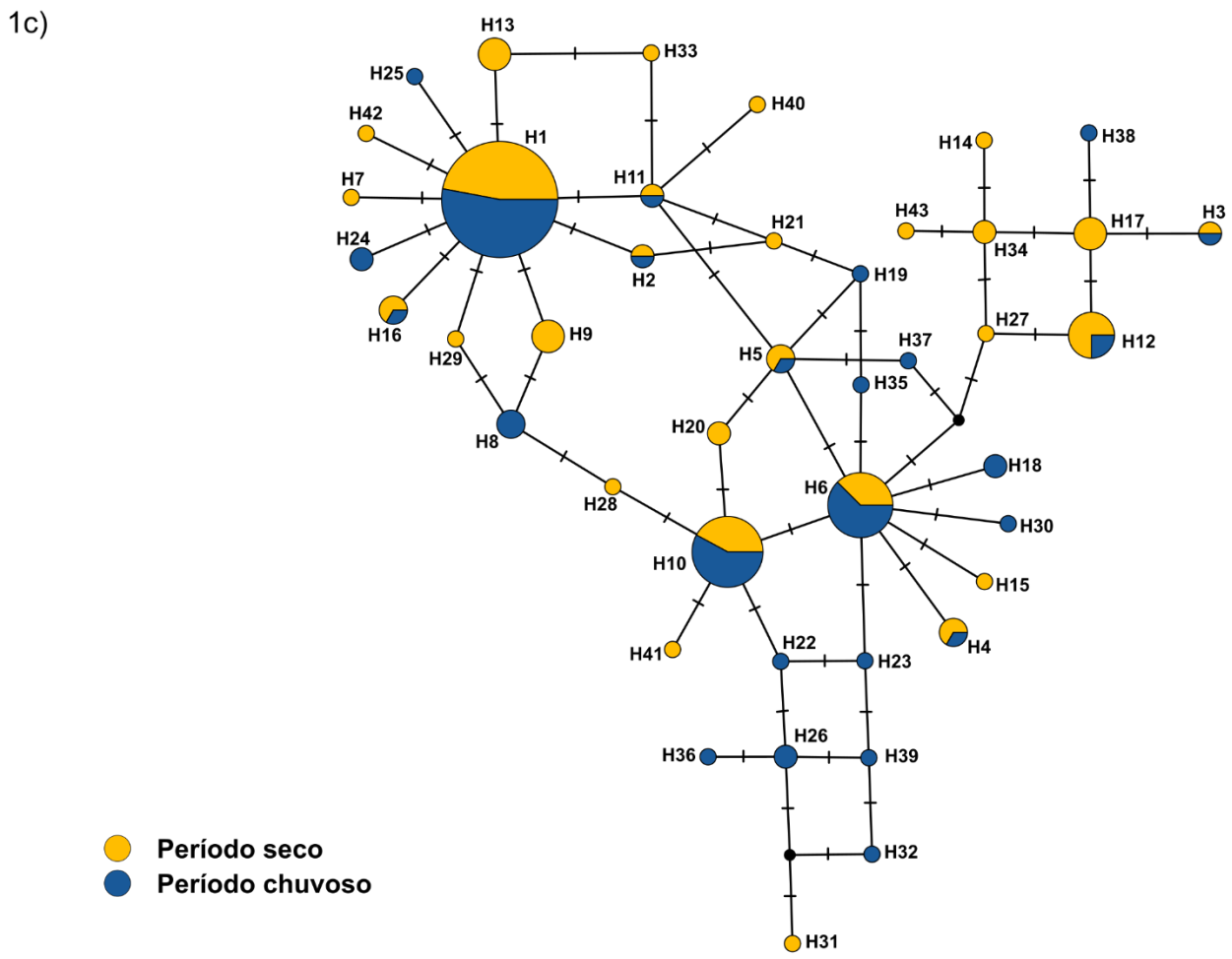
1a)



1b)

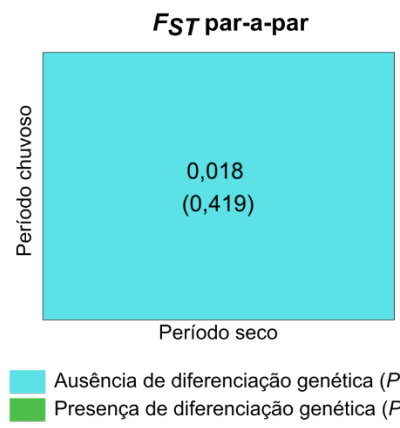


1c)

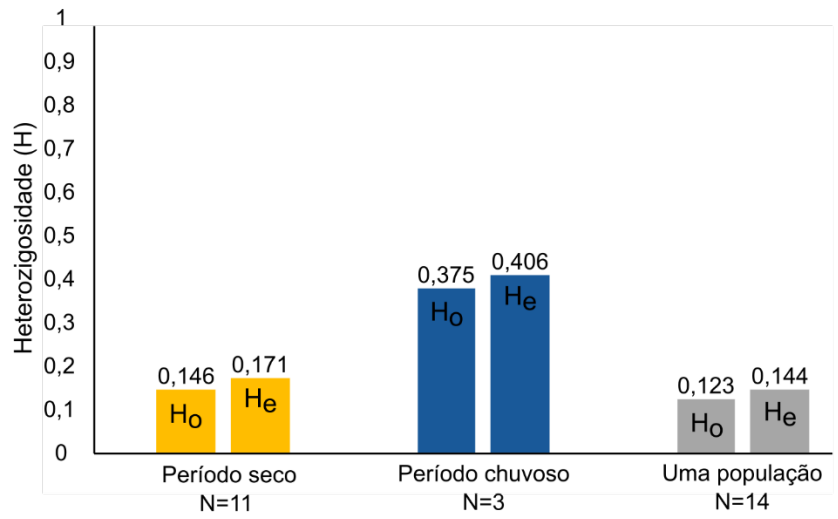


2. DNA Nuclear

2a)



2b)

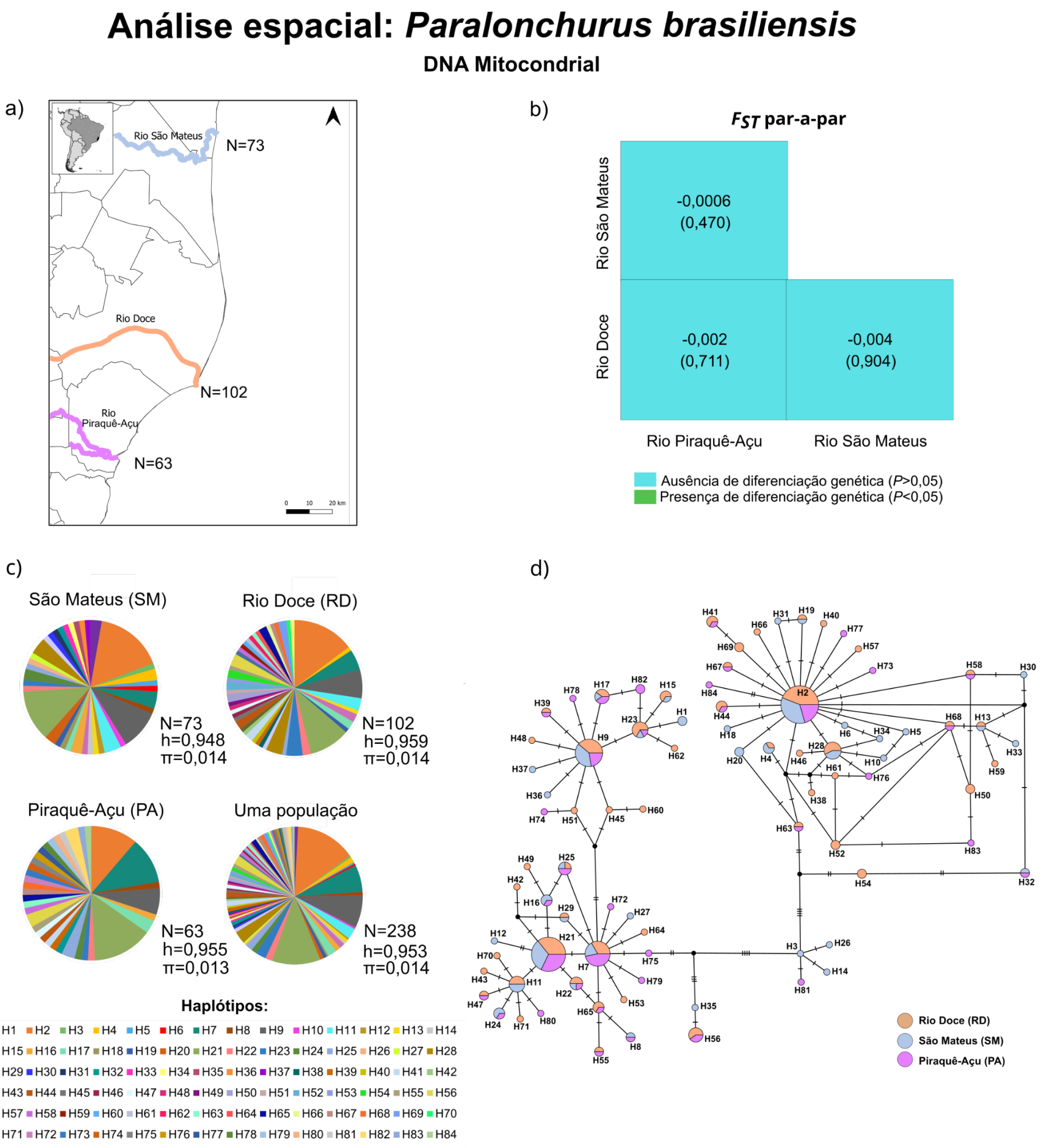


Foram avaliados 158 indivíduos de pescada-goete (*Cynoscion jamaicensis*) com o marcador mitocondrial D-loop (576 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso (F_{ST}=0,003; *P*=0,205). Além disso, AMOVA demonstrou que a maior variação se encontra dentro das populações (99,66%). O período chuvoso (h=0,860) apresentou os maiores valores de diversidade haplotípica quando comparada ao seco (h=0,847). Foram identificados 43 haplótipos, com maior frequência do H1, e 10 haplótipos compartilhados entre os períodos (H1, H2, H3, H4, H5, H6, H10, H11, H12, H16).

Para as análises com nDNA, após as filtragens, o número de *reads* encontradas nas 14 amostras analisadas variaram de 309.202 a 6.220.893 por amostra, sendo todos as *reads* padronizadas para 27 pb. Foram verificados 4.932 SNPs, com porcentagem de *missing data* de 10,58%. Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso. Já a análise AMOVA global revelou indícios de diferenciação (*Fst*=0,02; *P*=0,000). Os resultados da AMOVA também apresentaram maior variação dentro do que entre as populações (98%), o que indica fluxo gênico entre os períodos. Indivíduos do período seco apresentaram os menores valores de heterozigosidade (Ho=0,146; He=0,171; n=11) quando comparados aos do período chuvoso (Ho=0,375; He=0,406; n=3).

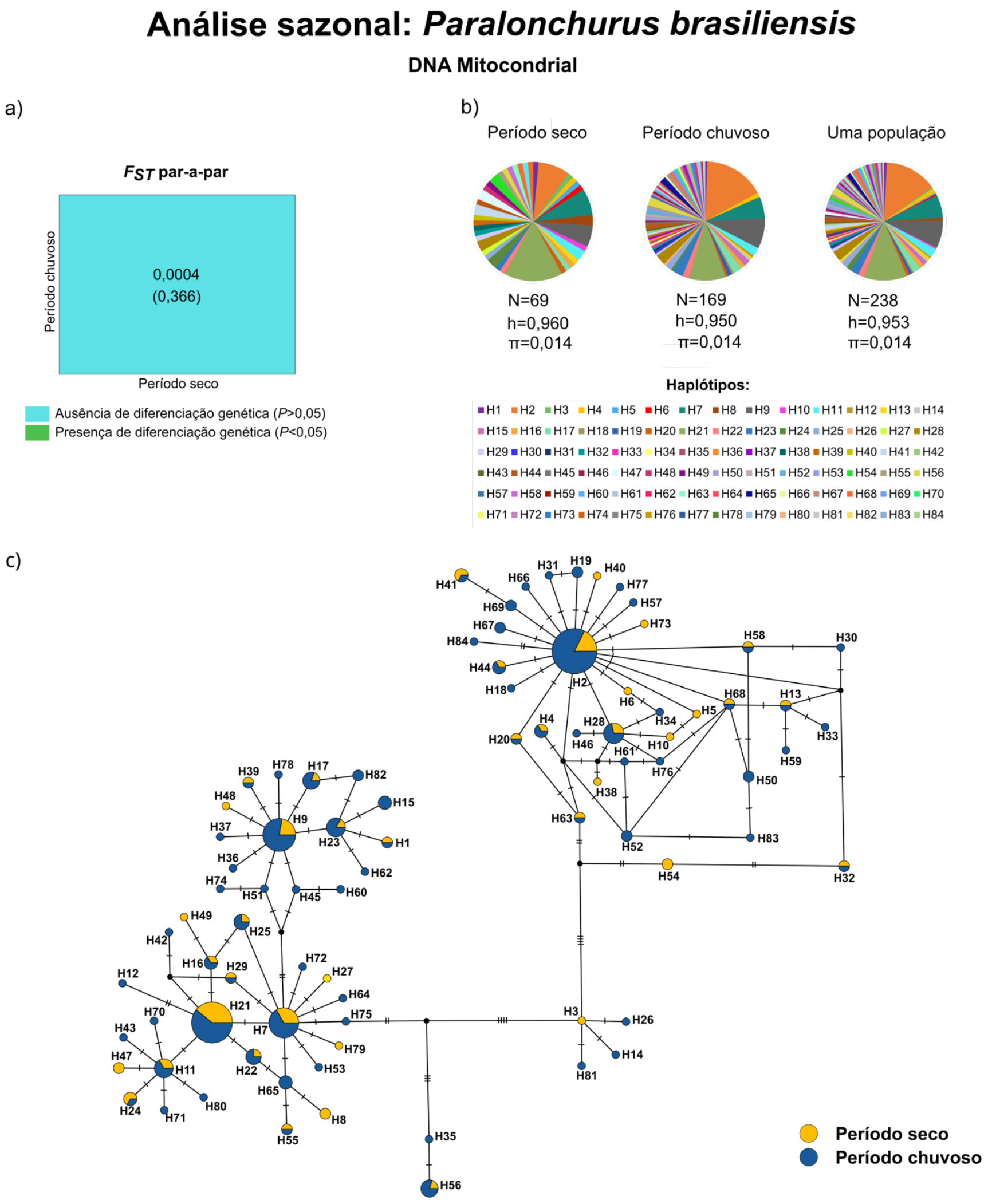
Portanto, possivelmente os indivíduos avaliados pertencem a uma mesma população, apesar dos indícios de um começo de diferenciação. Esses dados devem ser interpretados com cautela, visto que é preciso aumentar o número amostral e investigar outros fatores que podem contribuir para essa diferenciação genética.

Figura 34: Análise espacial: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial de 238 indivíduos de maria-luísa (*Paralonchurus brasiliensis*) provenientes do rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açu. 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 a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. d) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos rios São Mateus (SM), rio Doce (RD) e rio Piraquê-Açu (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.



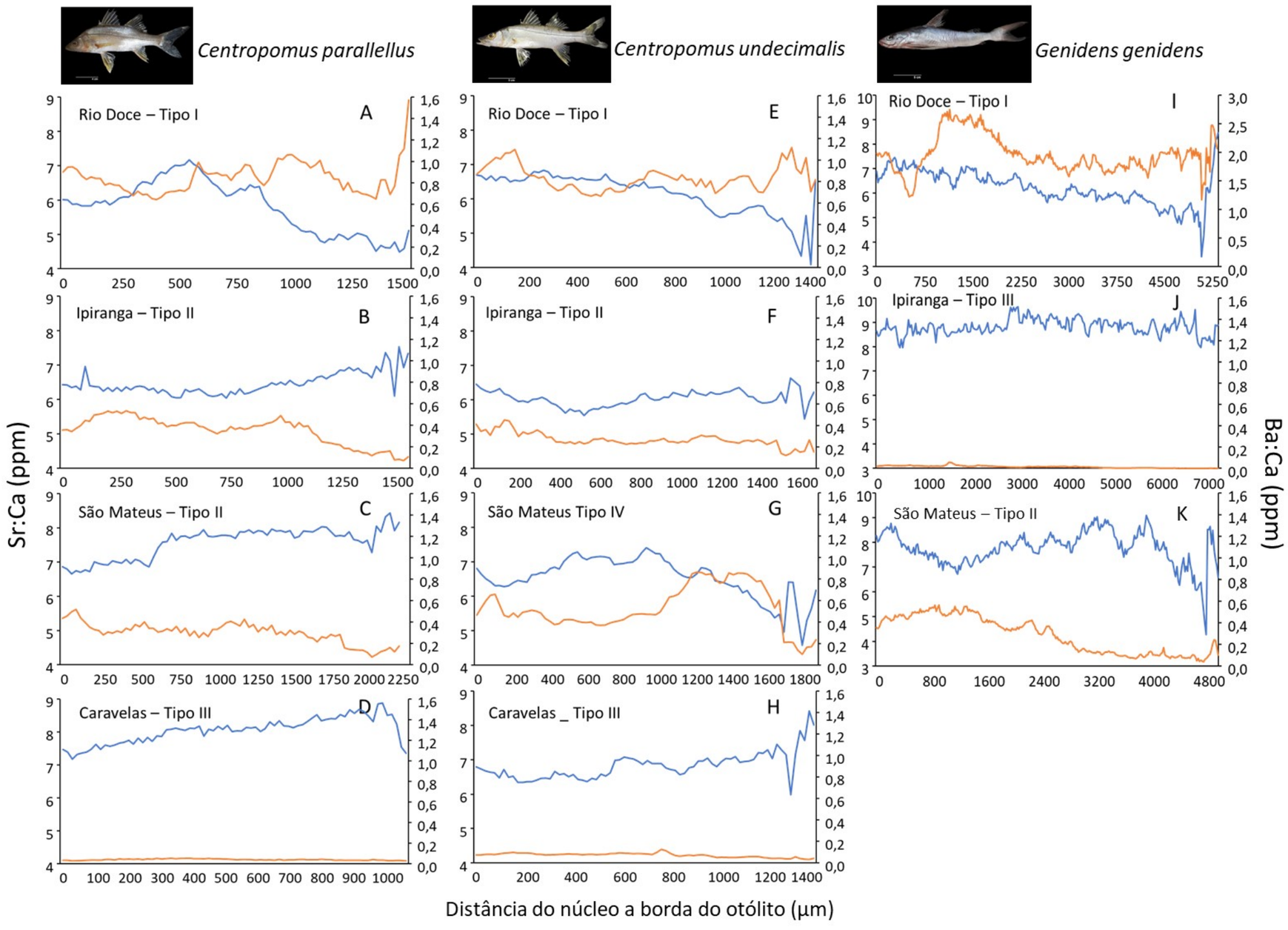
Foram avaliados 238 indivíduos da espécie *Paralonchurus brasiliensis* (maria-luísa) com os marcadores D-loop, genes tRNA-Pro, tRNA-Phe e porções do 12s rRNA e tRNA-Thr (585 pb). Não foi encontrada diferenciação genética entre os indivíduos dos rios avaliados e, portanto, uma população foi identificada. A AMOVA também apontou que a maior variação foi encontrada dentro das populações (100,24%), o que indica presença de fluxo gênico entre os indivíduos amostrados nos três rios. Foram detectados 84 haplótipos, sendo o H2 o mais frequente, além da existência de outros sete compartilhados entre os três rios (H7, H9, H17, H21, H22, H23 e H25). Foram detectados altos valores de diversidade genética para a população identificada (h=0,953) e para os rios avaliados, sendo o rio Doce com maior diversidade haplotípica (h=0,959).

Figura 35: Análise sazonal: Índices de diferenciação e diversidade genética mitocondrial de 238 indivíduos de maria-luísa (*Paralonchurus brasiliensis*) provenientes dos períodos seco e chuvoso. a) Gráfico de diferenciação populacional (F_{ST} par-a-par); valores de *P* estão entre parênteses. b) Gráficos de pizza demonstrando a proporção dos haplótipos do DNA mitocondrial para cada período avaliado e para a população identificada (cores distintas representam diferentes haplótipos); N: número amostral; h: diversidade haplotípica; π: diversidade nucleotídica. c) Rede de haplótipos: cada círculo representa um haplótipo distinto; diferentes cores correspondem aos períodos seco e chuvoso; 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.



Foram avaliados 238 indivíduos da espécie *Paralonchurus brasiliensis* (maria-luísa) com os marcadores D-loop, genes tRNA-Pro e tRNA-Phe, as porções do 12s rRNA e tRNA-Thr (585 pb). Não foi encontrada diferenciação entre os indivíduos dos períodos seco e chuvoso. Os resultados de AMOVA evidenciam um alto fluxo gênico, evidenciando que a maior proporção de variação ocorre dentro das populações (99,98%). Foram detectados elevados valores de diversidade haplotípica na população identificada (h= 0,953). O período seco (h= 0,960) apresentou os maiores valores de diversidade haplotípica. Foram detectados 84 haplótipos, sendo H2 o mais frequente, além de outros haplótipos compartilhados, mostrando a confirmação do alto fluxo gênico entre os períodos avaliados

Figura 36: 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 razões Sr:Ca em detrimento de uma diminuição da razão Ba:Ca (Figura 36A, 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 36B, 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 36D, 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 36G).

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 *el at*., 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%						

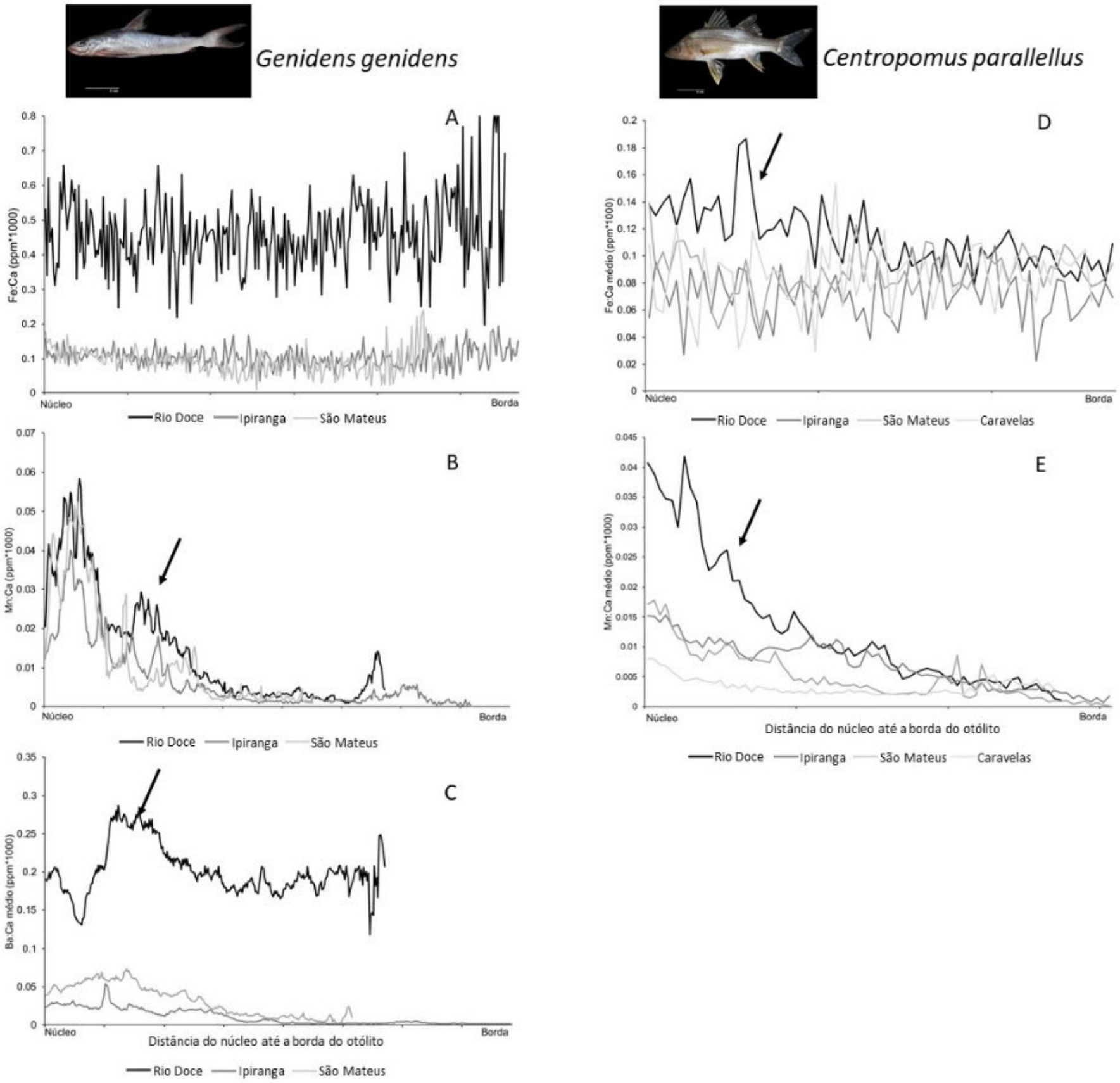
Foram inicialmente analisados nove elementos químicos nos otólitos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), sendo que apenas seis (Ba, Fe, Mg, Mn, Pb e Sr) puderam ser determinados, pois apresentaram concentrações acima do limite de detecção. Para todas as razões elemento:Ca (x1000 ppm), a PERMANOVA 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 multielementar (Pair-wise Test t=1,162; P=0,225, Tabela 11A).

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 congenérica, 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 11B).

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 11A). 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 11B). 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 11C).

Figura 37: 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 de Material Ligado ao Desastre 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 37A). 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 37B). Por fim, o bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON *el at*., 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 as concentrações encontradas nos rios Ipiranga e São Mateus (Figura 37C), 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 chumpo (Pb), porém ambos os elementos não apresentaram a relação causa e efeito do MLD, área diretamente afetada.

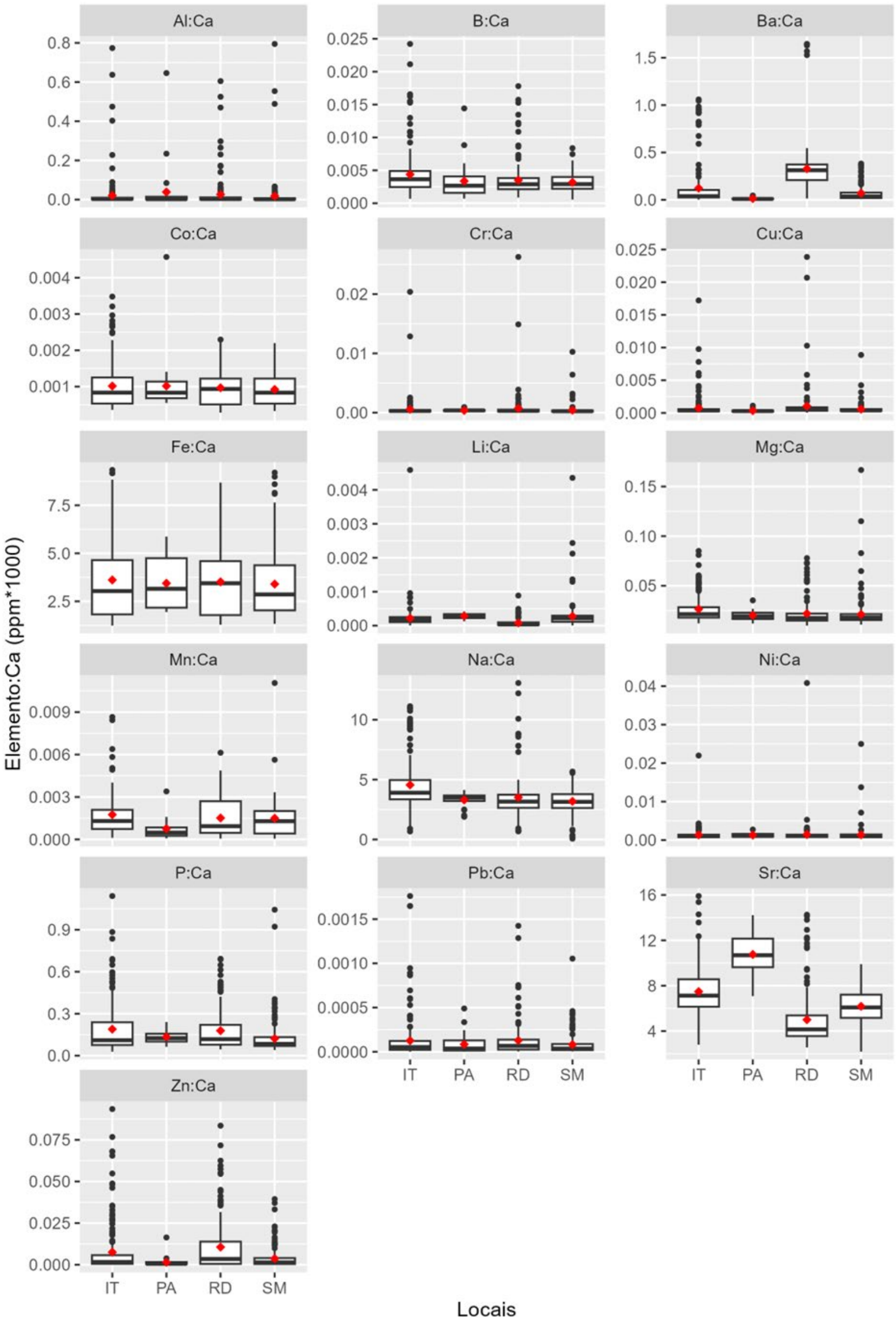
Para os otólitos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), cronologicamente analisados entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões Fe:Ca e Mn:Ca, assim como para o bagre-guri, mostraram-se bons indicadores, uma vez que os indivíduos analisados, provenientes do rio Doce, apresentaram 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 às analisadas nas regiões dos rios Ipiranga, São Mateus e Caravelas (Figura 37D). 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 37E).

Tabela 12: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) 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. Os valores em negrito são estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

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

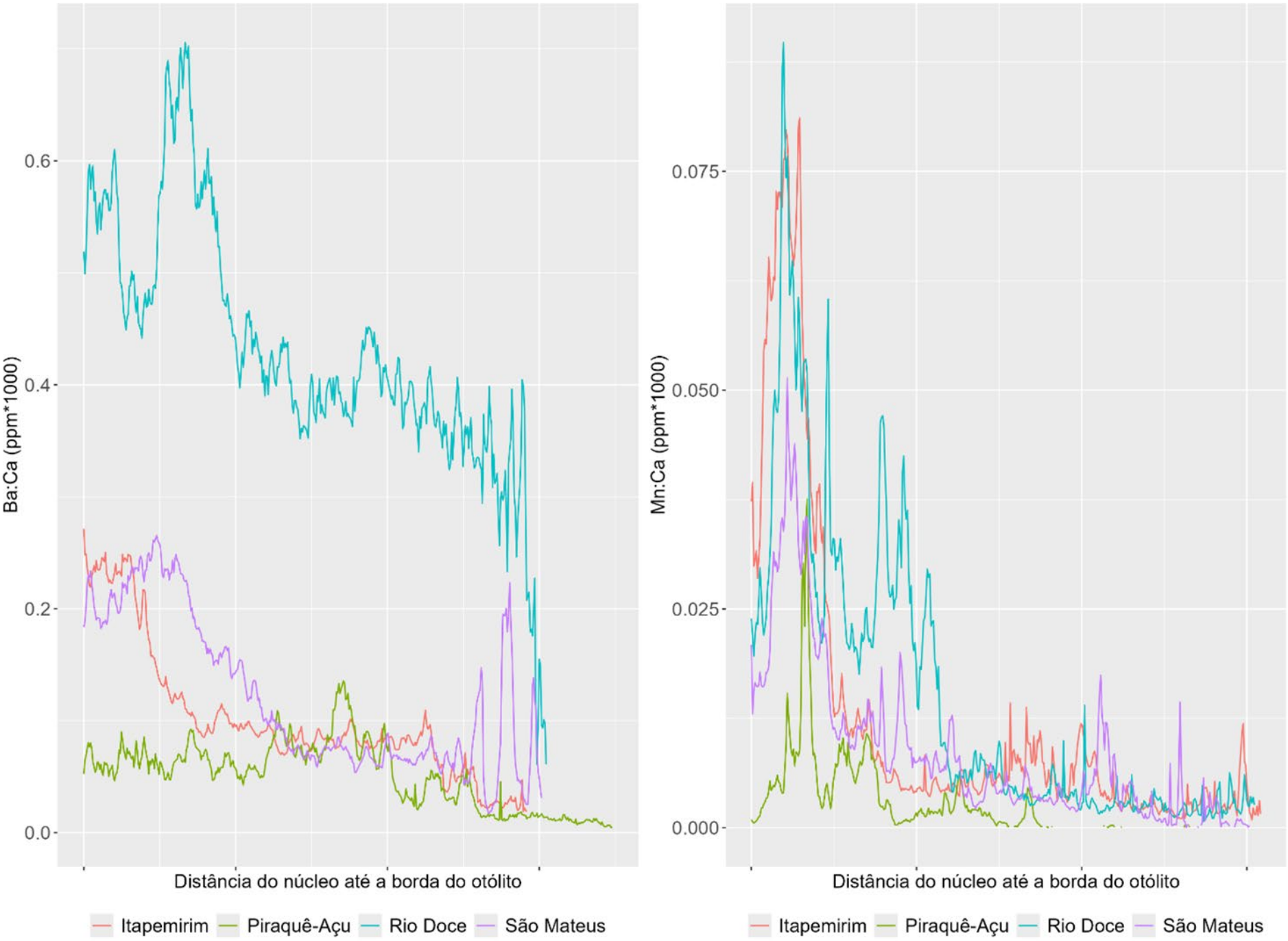
Os resultados dos testes não-paramétricos de Kruskal Wallis das razões elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (últimas camadas formadas, representando o local onde os exemplares foram coletados) do bagre-guri, *Genidens genidens*, apresentaram valores estatisticamente semelhantes para as médias 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, em que o estuário do rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, apresentou a maior média apenas na razão Ba:Ca, elemento 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 38: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) 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.



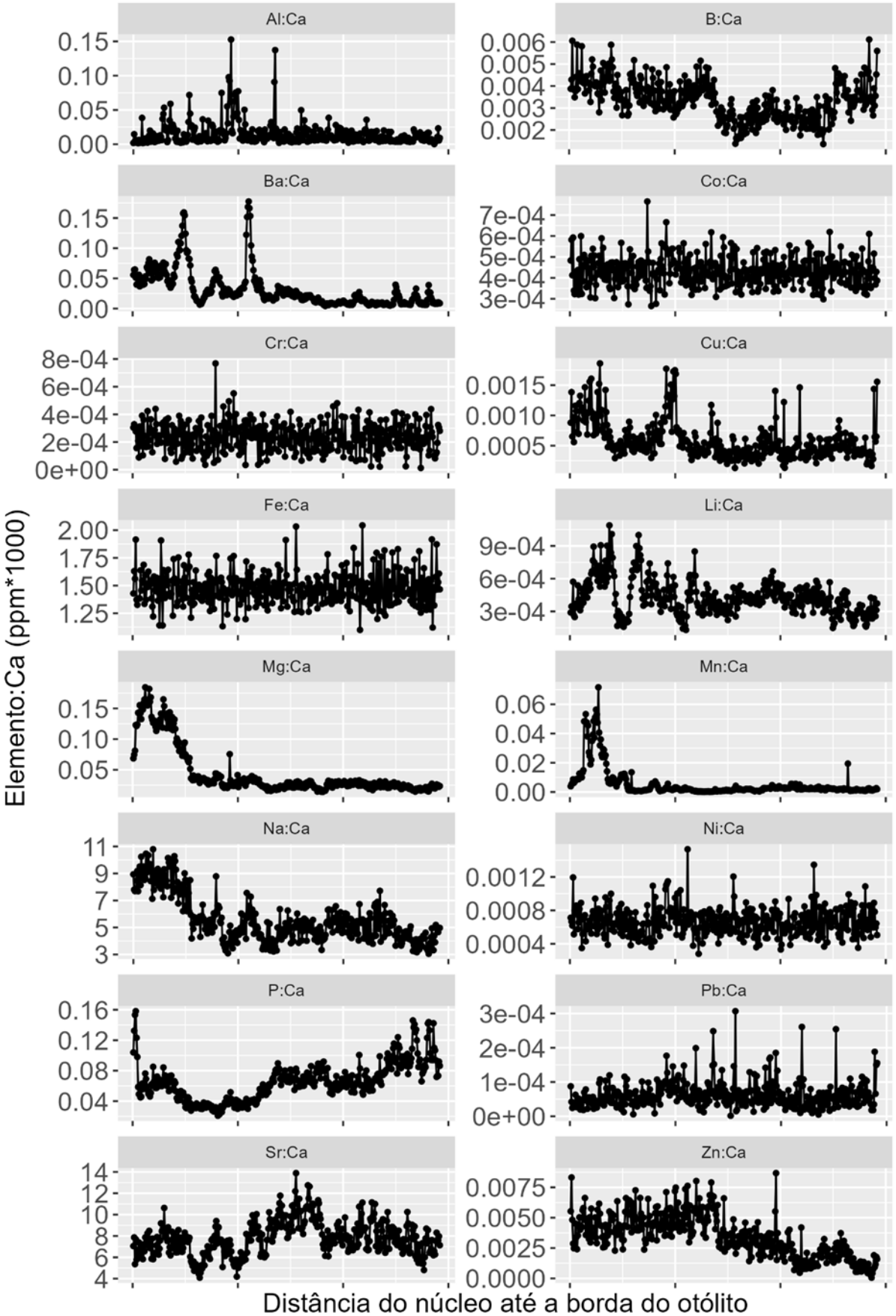
As razões elemento:Ca da borda dos otólitos amostrados entre 2022 e 2024, apresentaram variabilidade espacial, principalmente o Sr:Ca no estuário do Piraquê-Açu e o Ba:Ca no rio Doce. As razões Fe:Ca, Al:Ca e Co:Ca mostram maior dispersão, indicando maior variabilidade na incorporação.

Figura 39: Microquímica de otólito. Fase II (2022-2024): Perfis cronológicos das razões médias Elementos:Ca (ppm*1000) nos otólitos de *Genidens genidens* adultos coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus.

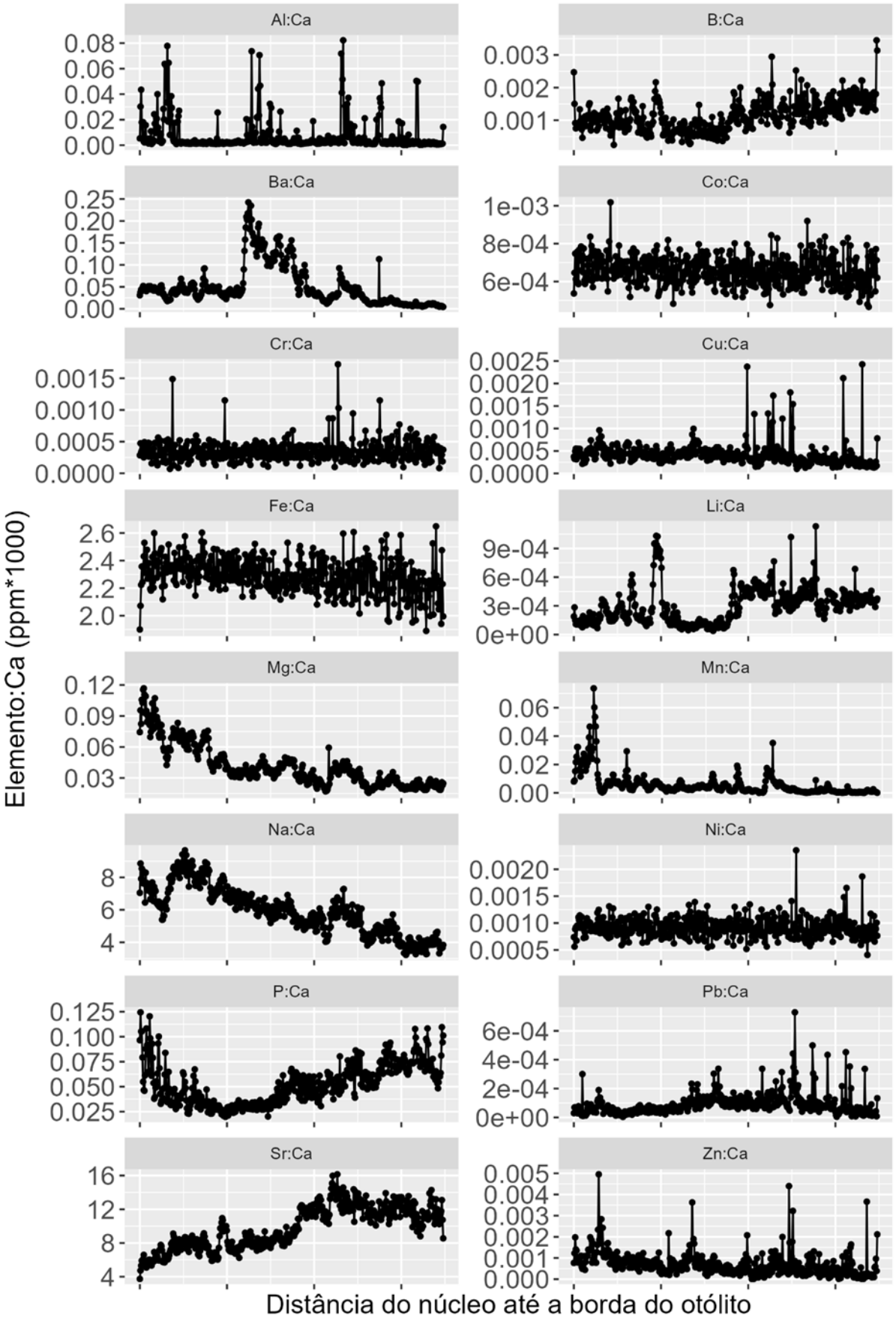


Através das análises de dados obtidos entre outubro de 2022 e janeiro de 2024, foi possível observar através dos perfis cronológicos médios dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no 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 da 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.*

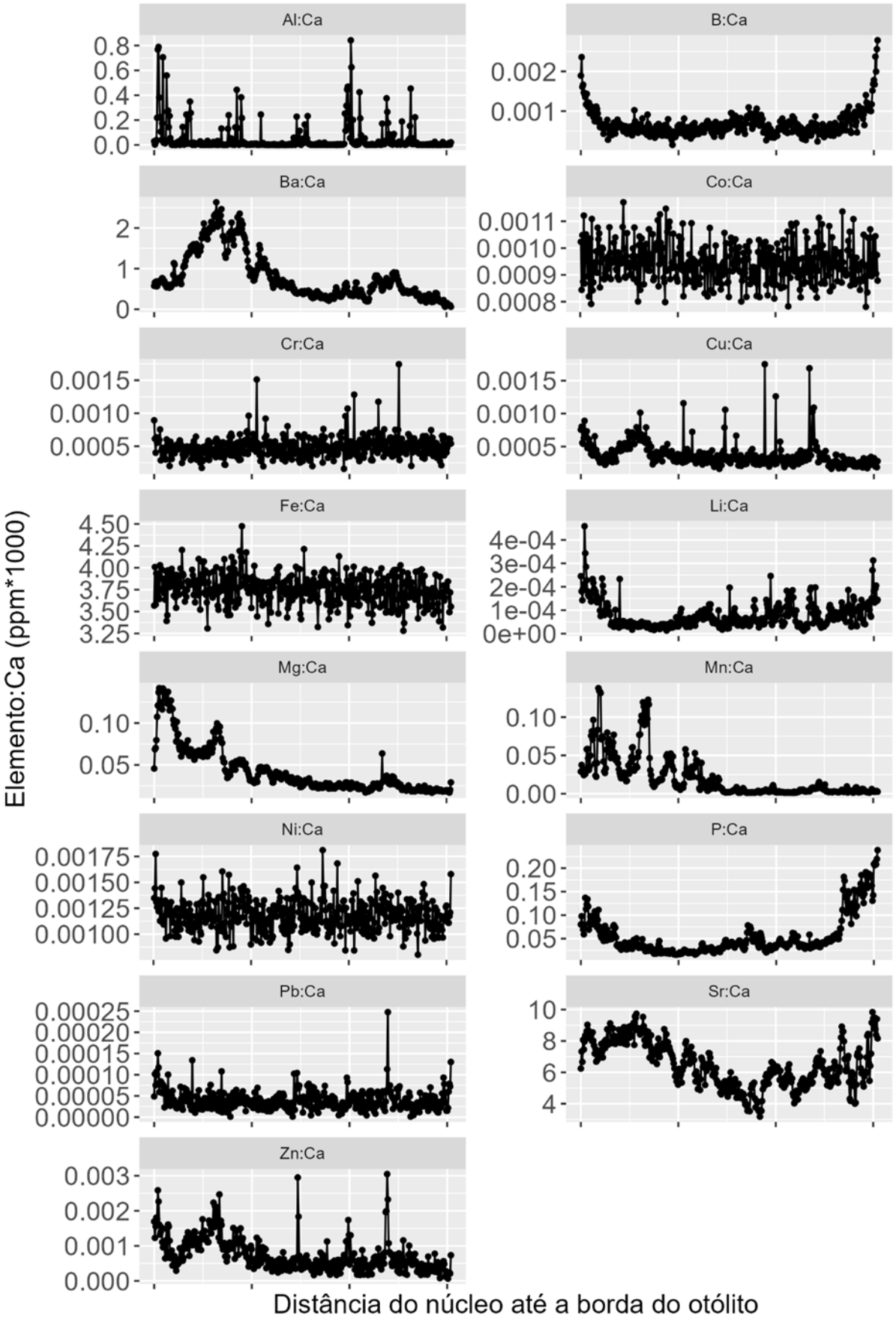
Figura 40: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de *Genidens genidens.* A: Itapemirim, B: Piraquê-Açu, C: rio Doce e D: São Mateus.



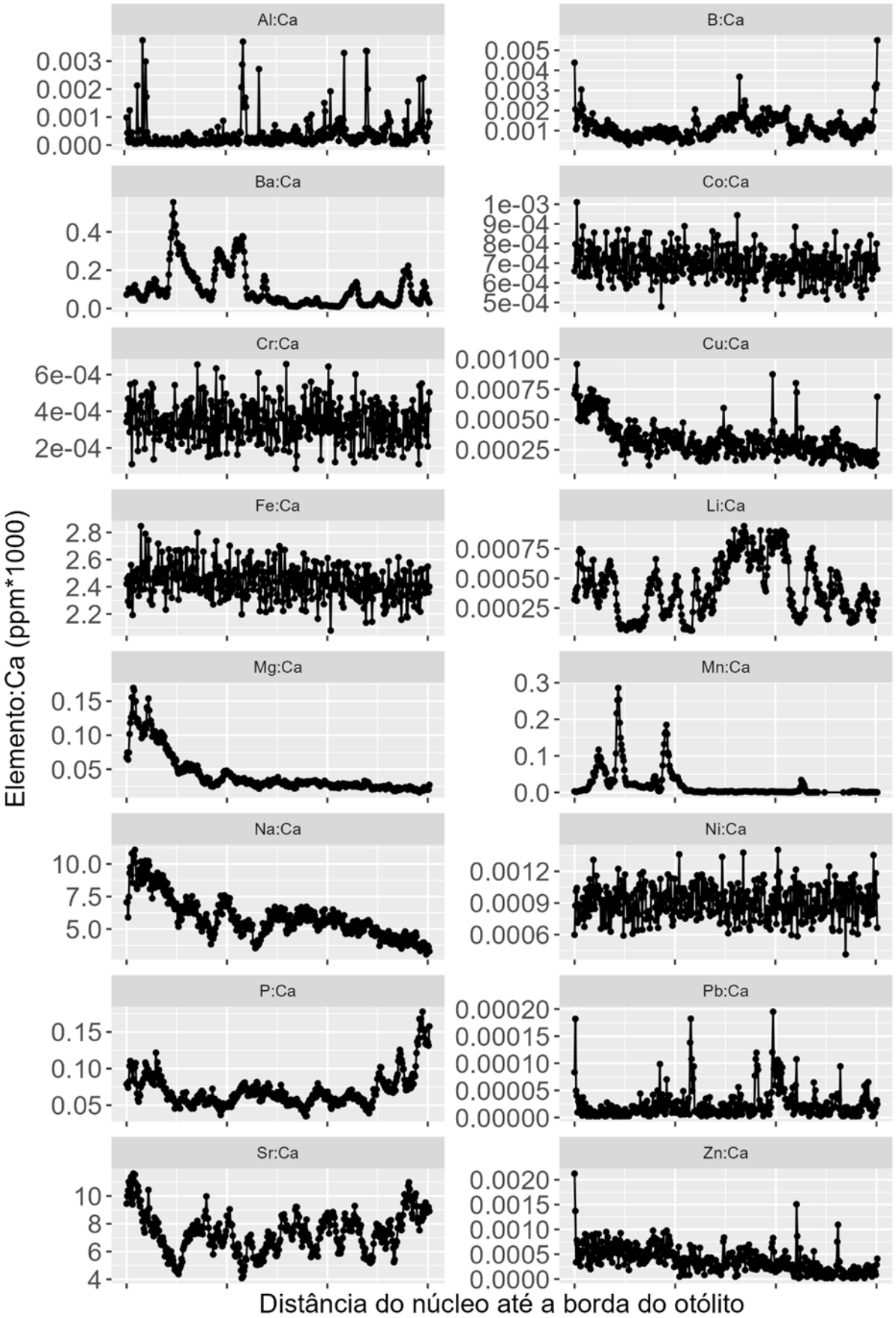
B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

D)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

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^2 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_2), fisiológicas (*eg.* crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (e.g., migração, alimentação) (HÜSSY *et al.*, 2020).

Tabela 13: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Genidens genidens* (bagre-guri) coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, Doce e São Mateus durante os anos de 2025 e 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão			
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Itapemirim**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	360,10	**0,0001**	1.32e-4 ± 6.81e-5^{b}	3.49e-4 ± 1.32e-4^{a}	6.80e-5 ± 8.90e-5^{b}	4.47e-4 ± 1.66e-4^{a}
B:Ca	44,26	**0,0001**	0.001 ± 0.001^{c}	8.35e-4 ± 2.89e-4^{c}	0.002 ± 0.001^{b}	0.002 ± 8.39e-4^{a}
Na:Ca	28,18	**0,0001**	4.50 ± 0.62^{a}	4.74 ± 1.04^{a}	4.09 ± 1.41^{b}	4.38 ± 1.60^{a}
Mg:Ca	23,44	**0,0001**	0.024 ± 0.005^{a}	0.018 ± 0.002^{bc}	0.019 ± 0.008^{b}	0.018 ± 0.004^{c}
Al:Ca	103,70	**0,0001**	0.014 ± 0.029^{a}	4.57e-4 ± 4.64e-4^{b}	0.005 ± 0.014^{b}	0.012 ± 0.023^{a}
P:Ca	48,12	**0,0001**	0.054 ± 0.019^{b}	0.066 ± 0.008^{ab}	0.106 ± 0.115^{a}	0.070 ± 0.037^{b}
Cr:Ca	8,13	**0,0434**	2.60e-4 ± 1.16e-4^{b}	3.71e-4 ± 1.11e-4^{a}	2.88e-4 ± 1.14e-4^{b}	2.79e-4 ± 1.33e-4^{b}
Mn:Ca	17,36	**0,0006**	0.004 ± 0.002^{ab}	0.004 ± 5.64e-4^{ab}	0.006 ± 0.007^{a}	0.004 ± 0.002^{b}
Fe:Ca	7,76	0,0513	2.47 ± 1.16^{a}	2.07 ± 0.33^{a}	2.03 ± 1.03^{a}	1.96 ± 1.04^{a}
Co:Ca	4,69	0,1956	7.08e-4 ± 3.08e-4^{a}	6.31e-4 ± 1.74e-4^{a}	6.11e-4 ± 3.25e-4^{a}	5.91e-4 ± 3.15e-4^{a}
Ni:Ca	1,85	0,6044	1.70e-4 ± 1.40e-4^{a}	2.76e-4 ± 1.81e-4^{a}	1.94e-4 ± 1.56e-4^{a}	1.94e-4 ± 1.48e-4^{a}
Cu:Ca	4,42	0,2198	4.14e-4 ± 1.10e-4^{a}	3.28e-4 ± 9.57e-5^{a}	4.16e-4 ± 2.14e-4^{a}	3.87e-4 ± 1.84e-4^{a}
Zn:Ca	7,10	0,0689	6.75e-4 ± 0.001^{a}	1.53e-4 ± 1.62e-4^{a}	0.002 ± 0.006^{a}	6.80e-4 ± 0.001^{a}
Sr:Ca	192,08	**0,0001**	9.09 ± 3.74^{ab}	9.56 ± 1.29^{a}	5.39 ± 1.26^{c}	7.31 ± 1.67^{b}
Ba:Ca	423,52	**0,0001**	0.079 ± 0.049^{c}	0.015 ± 0.010^{b}	0.398 ± 0.270^{a}	0.029 ± 0.022^{b}
Pb:Ca	20,95	**0,0001**	1.44e-5 ± 1.31e-5^{ab}	2.24e-6 ± 1.42e-6^{c}	2.30e-5 ± 3.61e-5^{a}	1.77e-5 ± 3.07e-5^{b}

A microquímica da borda dos otólitos de *G. genidens* evidenciou diferenças significativas entre os estuários para a maioria das razões Elemento:Ca ($p < 0,05$) (Tabela 13), indicando variação espacial na composição química dos ambientes. Destacaram-se os elevados valores de Ba:Ca no rio Doce e as maiores concentrações de Sr:Ca em Itapemirim e Piraquê-Açu, enquanto Li:Ca, Al:Ca, P:Ca e Mn:Ca também apresentaram diferenças entre os estuários. Em contrapartida, Co:Ca, Ni:Ca, Cu:Ca e Zn:Ca não diferiram significativamente, sugerindo menor influência das características ambientais sobre esses elementos.

Tabela 14: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Genidens genidens* (bagre-guri) coletados nos estuários dos rios Doce e São Mateus durante o período chuvoso e seco de 2025. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média ± desvio padrão							
	Período chuvoso/2025				**Período seco/2025**			
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Rio Doce**	**São Mateus**	**X^2**	**p valor**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	130.52	**3.15e-30**	2.81e-5 ± 2.47e-5^b	4.17e-4 ± 1.58e-4^a	114.24	**1.16e-26**	1.19e-4 ± 1.16e-4^b	5.13e-4 ± 1.89e-4^a
B:Ca	18.12	**2.08e-05**	0.002 ± 0.001^a	0.002 ± 5.02e-4^b	69.89	**6.29e-17**	9.87e-4 ± 4.52e-4^b	0.002 ± 6.27e-4^a
Na:Ca	29.00	**7.24e-08**	3.57 ± 0.91^b	4.40 ± 2.00^a	4.19	**0.041**	4.27 ± 1.53^b	4.44 ± 0.80^a
Mg:Ca	9.13	**0.002**	0.02 ± 0.01^a	0.02 ± 0.003^b	2.36	0.125	0.02 ± 0.005^a	0.02 ± 0.004^a
Al:Ca	63.92	**1.29e-15**	0.005 ± 0.01^b	0.01 ± 0.03^a	91.79	**9.62e-22**	0.001 ± 0.005^b	0.01 ± 0.02^a
P:Ca	79.84	**4.05e-19**	0.16 ± 0.17^a	0.06 ± 0.01^b	1.56	0.212	0.08 ± 0.04^a	0.08 ± 0.05^a
Cr:Ca	0.23	0,63	2.79e-4 ± 1.04e-4^a	2.80e-4 ± 1.22e-4^a	7.36	**0.007**	3.01e-4 ± 1.22e-4^a	2.62e-4 ± 1.27e-4^b
Mn:Ca	7.44	**0.006**	0.004 ± 0.003^b	0.004 ± 0.002^a	12.51	**4.06e-4**	0.006 ± 0.007^a	0.003 ± 0.002^b
Fe:Ca	19.57	**9.72e-06**	2.08 ± 0.66^a	1.91 ± 1.24^b	2.39	0.122	2.07 ± 1.09^a	2.16 ± 0.99^a
Co:Ca	18.34	**1.85e-05**	6.76e-4 ± 2.76e-4^a	5.49e-4 ± 3.30e-4^b	5.64	**0.018**	6.01e-4 ± 3.39e-4^b	6.78e-4 ± 3.39e-4^a
Ni:Ca	1.14	**0.29**	2.05e-4 ± 1.5e-4^a	1.78e-4 ± 1.47e-4^b	11.57	**6.70e-4**	1.60e-4 ± 1.33e-4^b	2.38e-4 ± 1.43e-4^a
Cu:Ca	6.34	0.01	4.53e-4 ± 2.49e-4^a	3.70e-4 ± 1.19e-4^a	1.07	0.300	3.46e-4 ± 1.23e-4^a	3.83e-4 ± 1.96e-4^a
Zn:Ca	14.99	1.08e-4	0.005 ± 0.009^a	3.58 ± 5.67e-4^a	0.881	0.348	0.001 ± 0.004^a	8.20e-4 ± 0.002^a
Sr:Ca	123.60	**1.03e-28**	4.65 ± 1.10^b	7.59 ± 1.54^a	53.31	**2.85e-13**	5.59 ± 1.07^b	7.42 ± 1.87^a
Ba:Ca	152.91	**4e-35**	0.33 ± 0.10^a	0.04 ± 0.02^b	138.93	**4.56e-32**	0.25 ± 0.13^a	0.02 ± 0.02^b
Pb:Ca	16.20	**5.7e-05**	3.58e-5 ± 5.05e-5^a	1.44e-5 ± 2.81e-5^b	2.42	0.120	1.47e-5 ± 1.81e-5^a	1.32e-5 ± 1.72e-5^a

A comparação entre os períodos chuvoso e seco de 2025 revelou diferenças significativas, com maior número de elementos discriminando rio Doce e São Mateus durante a período chuvoso (Tabela 14). Razões como Li:Ca, B:Ca, Al:Ca, P:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca apresentaram diferenças entre os estuários em ambos os períodos, enquanto outros elementos, como Fe:Ca, Cu:Ca, Zn:Ca e Pb:Ca, mostraram diferenças apenas no período chuvoso. De modo geral, os resultados indicam que, embora exista influência sazonal sobre alguns elementos, os contrastes entre os estuários permanecem evidentes.

Tabela 15: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Genidens genidens* (bagre-guri) coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão (Período chuvoso/2026)			
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Itapemirim**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	119.74	**8.78e-26**	1.32e-4 ± 6.81e-5^{b}	3.49e-4 ± 1.31e-4^{a}	3.56e-5 ± 3.20e-5^{c}	4.01e-4 ± 1.02e-4^{a}
B:Ca	24.52	**1.95e-5**	0.001 ± 0.001^{b}	8.34e-4 ± 2.89e-4^{b}	0.002 ± 0.002^{b}	0.002 ± 0.001^{a}
Na:Ca	1.04	0.791	4.50 ± 0.62^{a}	4.73 ± 1.03^{a}	4.53 ± 1.60^{a}	4.26 ± 1.72^{a}
Mg:Ca	21.39	**8.76e-5**	0.02 ± 0.005^{a}	0.02 ± 0.002^{b}	0.02 ± 0.007^{b}	0.02 ± 0.004^{b}
Al:Ca	11.00	**0.012**	0.01 ± 0.03^{a}	4.56e-4 ± 4.64e-4^{b}	0.009 ± 0.02^{a}	0.005 ± 0.01^{b}
P:Ca	6.73	0.081	0.05 ± 0.02^{a}	0.06 ± 0.008^{a}	0.06 ± 0.02^{a}	0.07 ± 0.03^{a}
Cr:Ca	5.04	0.169	2.59e-4 ± 1.11e-4^{a}	3.70e-4 ± 1.11e-4^{a}	2.78e-4 ± 1.15e-4^{a}	3.02e-4 ± 1.57e-4^{a}
Mn:Ca	44.51	**1.18e-9**	0.004 ± 0.001^{b}	0.004 ± 5.64e-4^{b}	0.01 ± 0.01^{a}	0.003 ± 0.001^{c}
Fe:Ca	14.73	**0.002**	2.47 ± 1.15^{a}	2.07 ± 0.33^{a}	1.89 ± 1.30^{b}	1.73 ± 0.63^{b}
Co:Ca	13.11	**0.004**	7.07e-4 ± 3.07e-4^{a}	6.31e-4 ± 1.74e-4^{a}	5.35e-4 ± 3.51e-4^{b}	5.32e-4 ± 2.12e-4^{b}
Ni:Ca	3.45	0.328	1.69e-4 ± 1.40e-4^{a}	2.76e-4 ± 1.81e-4^{a}	2.14e-4 ± 1.81e-4^{a}	1.68e-4 ± 1.48e-4^{a}
Cu:Ca	3.60	0.308	4.13e-4 ± 1.09e-4^{a}	3.28e-4 ± 9.57e-5^{a}	4.57e-4 ± 2.36e-4^{a}	4.22e-4 ± 2.42e-4^{a}
Zn:Ca	8.88	**0.031**	6.75e-4 ± 0.001^{ab}	1.52e-4 ± 1.61e-4^{b}	5.01e-4 ± 9.27e-4^{b}	9.02e-4 ± 0.001^{a}
Sr:Ca	34.25	**1.75e-7**	9.09 ± 3.74^{a}	9.56 ± 1.29^{a}	6.11 ± 1.20^{c}	6.69 ± 1.39^{b}
Ba:Ca	138.06	**9.92e-30**	0.08 ± 0.05^{b}	0.01 ± 0.01^{c}	0.68 ± 0.34^{a}	0.02 ± 0.01^{c}
Pb:Ca	9.73	**0.021**	1.43e-5 ± 1.30e-5^{a}	2.24e-6 ± 1.41e-6^{b}	1.57e-5 ± 2.19e-5^{a}	3.08e-5 ± 4.56e-5^{a}

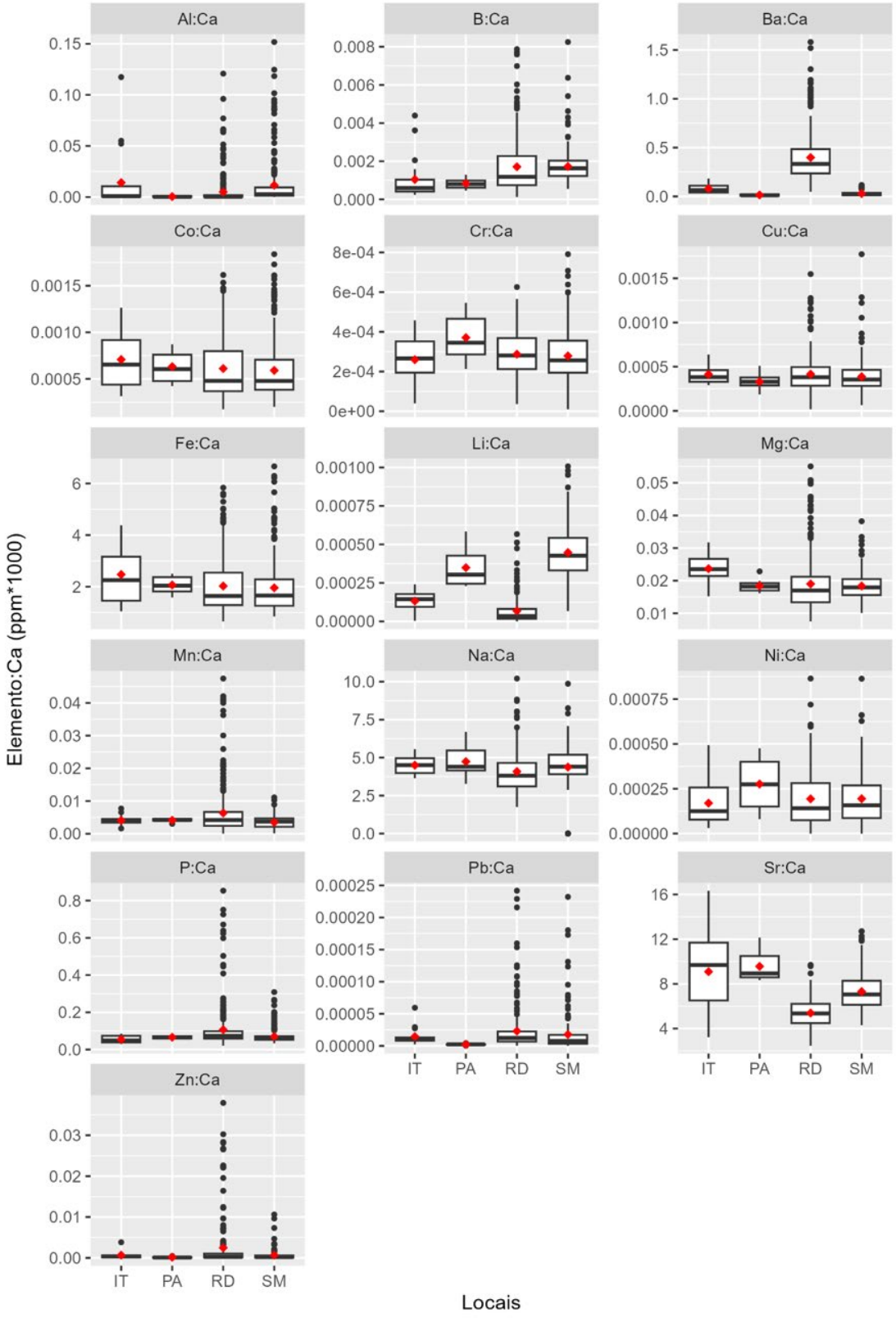
O período chuvoso de 2026 (Tabela 15) apresentou diferenças significativas entre os estuários para a maior parte das razões Elemento:Ca, evidenciando a manutenção dos contrastes espaciais observados anteriormente. Li:Ca, Mn:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca destacaram-se entre as variáveis com maior poder de discriminação, enquanto Na:Ca, Cr:Ca, Ni:Ca e Cu:Ca não apresentaram diferenças significativas. De forma geral, os resultados reforçam a existência de assinaturas geoquímicas distintas entre os ambientes avaliados.

Tabela 16: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Genidens genidens* (bagre-guri) coletados no estuário do rio Doce e São Mateus durante as campanhas Chuvosa 2025, Seca 2025 e Chuvosa 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média ± desvio padrão									
	rio Doce					**São Mateus**				
Elemento:Ca (ppm*1000)	***X²***	**p valor**	**Chuvosa/25**	**Seca/25**	**Chuvosa/26**	***X²***	**p valor**	**Chuvosa/25**	**Seca/25**	**Chuvosa/26**
Li:Ca	69.87	6.72e-16	2.81e-5 ± 2.48e-5^{b}	1.19e-4 ± 1.16e-4^{a}	3.56e-5 ± 3.20e-5^{ab}	29.49	3.95e-7	4.16e-4 ± 1.61e-4^{b}	5.13e-4 ± 1.89e-4^{a}	4.04e-4 ± 9.98e-5^{b}
B:Ca	69.44	8.32e-16	0.002 ± 0.001^{a}	9.87e-4 ± 4.52e-4^{b}	0.002 ± 0.002^{b}	1.17	0.558	0.002 ± 4.90e-4^{a}	0.002 ± 6.27e-4^{a}	0.002 ± 0.001^{a}
Na:Ca	14.46	7.24e-4	3.57 ± 0.91^{b}	4.27 ± 1.53^{a}	4.53 ± 1.60^{a}	10.55	0.005	4.72 ± 1.67^{a}	4.44 ± 0.80^{b}	3.91 ± 2.03^{b}
Mg:Ca	5.39	0.067	0.02 ± 0.01^{a}	0.02 ± 0.005^{a}	0.02 ± 0.007^{a}	4.12	0.127	0.02 ± 0.004^{a}	0.02 ± 0.004^{a}	0.02 ± 0.004^{a}
Al:Ca	38.29	4.84e-9	0.01 ± 0.01^{a}	0.001 ± 0.005^{b}	0.01 ± 0.02^{a}	31.39	1.53e-7	0.01 ± 0.02^{a}	0.01 ± 0.02^{a}	0.01 ± 0.03^{b}
P:Ca	41.33	1.06e-9	0.16 ± 0.17^{a}	0.08 ± 0.04^{b}	0.07 ± 0.02^{c}	9.20	0.010	0.06 ± 0.01^{b}	0.08 ± 0.05^{a}	0.07 ± 0.03^{ab}
Cr:Ca	1.19	0.552	2.80e-4 ± 1.05e-4^{a}	3.01e-4 ± 1.22e-4^{a}	2.79e-4 ± 1.15e-4^{a}	2.66	0.265	2.82e-4 ± 1.24e-4^{a}	2.62e-4 ± 1.27e-4^{a}	2.97e-4 ± 1.52e-4^{a}
Mn:Ca	31.12	1.75e-7	0.004 ± 0.003^{b}	0.006 ± 0.007^{b}	0.01 ± 0.01^{a}	39.95	2.11e-9	0.004 ± 0.002^{a}	0.003 ± 0.002^{b}	0.003 ± 0.001^{b}
Fe:Ca	19.42	6.08e-5	2.08 ± 0.67^{a}	2.07 ± 1.09^{a}	1.89 ± 1.30^{b}	12.48	0.002	1.94 ± 1.26^{b}	2.16 ± 0.99^{a}	1.69 ± 0.62^{b}
Co:Ca	19.98	4.59e-5	6.76e-4 ± 2.76e-4^{a}	6.01e-4 ± 3.39e-4^{b}	5.36e-4 ± 3.52e-4^{b}	14.25	8.06e-4	5.59e-4 ± 3.37e-4^{b}	6.78e-4 ± 3.39e-4^{a}	5.21e-4 ± 2.09e-4^{b}
Ni:Ca	3.76	0.152	2.06e-4 ± 1.54e-4^{a}	1.60e-4 ± 1.33e-4^{a}	2.15e-4 ± 1.81e-4^{a}	10.20	0.006	1.77e-4 ± 1.49e-4^{b}	2.38e-4 ± 1.43e-4^{a}	1.70e-4 ± 1.46e-4^{b}
Cu:Ca	13.23	0.001	4.53e-4 ± 2.49e-4^{a}	3.46e-4 ± 1.23e-4^{b}	4.57e-4 ± 2.37e-4^{a}	0.172	0.917	3.74e-4 ± 1.20e-4^{a}	3.83e-4 ± 1.96e-4^{a}	4.13e-4 ± 2.36e-4^{a}
Zn:Ca	10.92	0.004	0.005 ± 0.009^{a}	0.001 ± 0.004^{b}	5.01e-4 ± 9.28e-4^{b}	9.77	0.008	3.69e-4 ± 5.83e-4^{b}	8.20e-4 ± 0.002^{a}	8.59e-4 ± 0.001^{a}
Sr:Ca	65.46	6.12e-15	4.66 ± 1.10^{c}	5.59 ± 1.07^{b}	6.11 ± 1.20^{a}	13.89	9.64e-4	7.61 ± 1.58^{a}	7.42 ± 1.87^{a}	6.74 ± 1.35^{b}
Ba:Ca	90.38	2.37e-20	0.34 ± 0.11^{c}	0.25 ± 0.13^{b}	0.68 ± 0.34^{a}	60.35	7.85e-14	0.04 ± 0.02^{a}	0.02 ± 0.02^{b}	0.02 ± 0.01^{b}
Pb:Ca	9.64	0.008	3.58e-5 ± 5.06e-5^{a}	1.47e-5 ± 1.81e-5^{b}	1.58e-5 ± 2.20e-5^{b}	8.61	0.014	1.27e-5 ± 2.83e-5^{b}	1.32e-5 ± 1.72e-5^{b}	3.16e-5 ± 4.33e-5^{a}

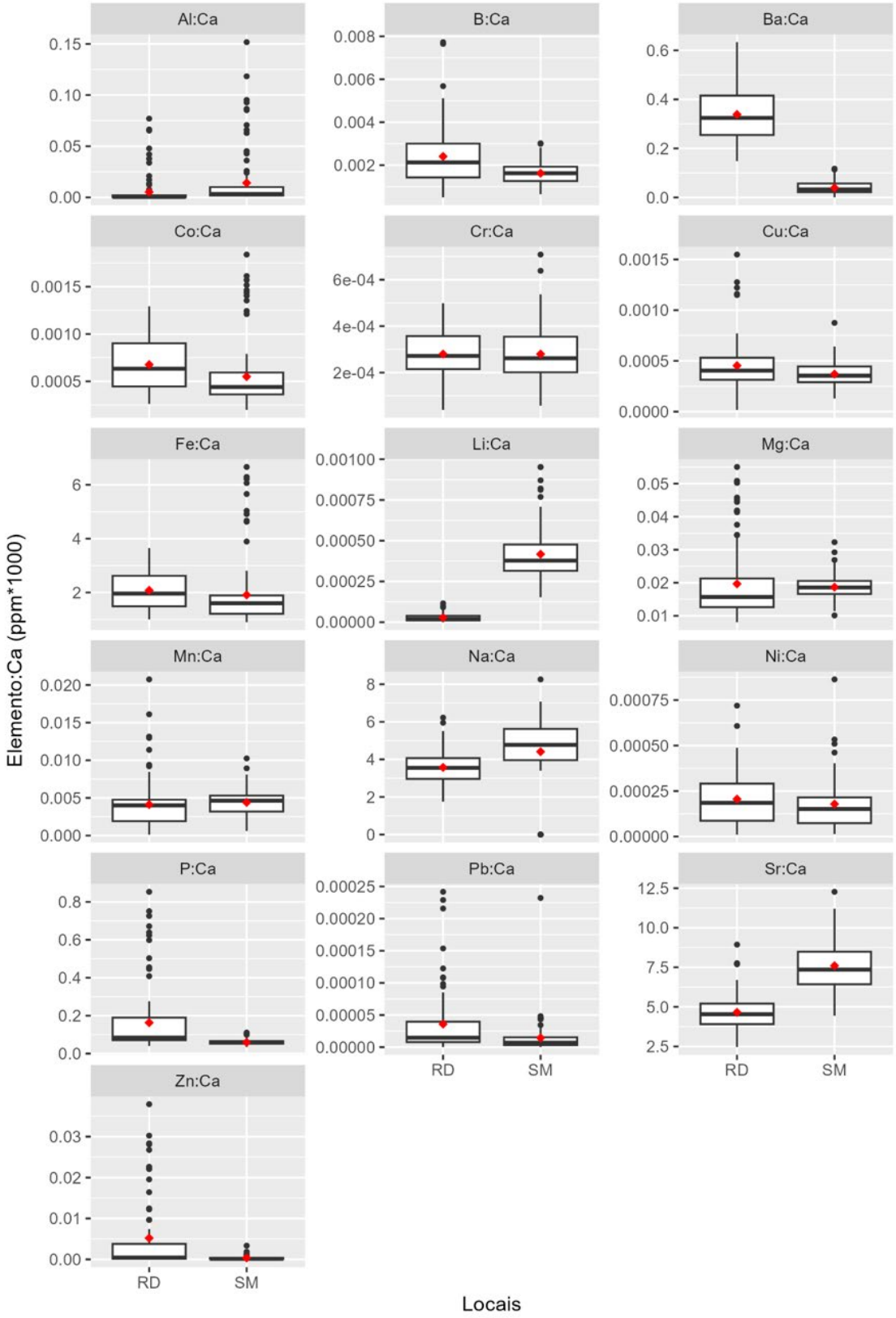
A Tabela 16 apresenta a variação das razões Elemento:Ca entre as campanhas de amostragem para os estuários rio Doce e São Mateus. No rio Doce, observaram-se diferenças significativas para a maior parte dos elementos, destacando-se Li:Ca, B:Ca, Al:Ca, Mn:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca. Em São Mateus, embora também tenham sido registradas diferenças temporais, elas ocorreram para um número menor de elementos, indicando maior estabilidade na composição química ao longo das campanhas.

Figura 41: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) 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.



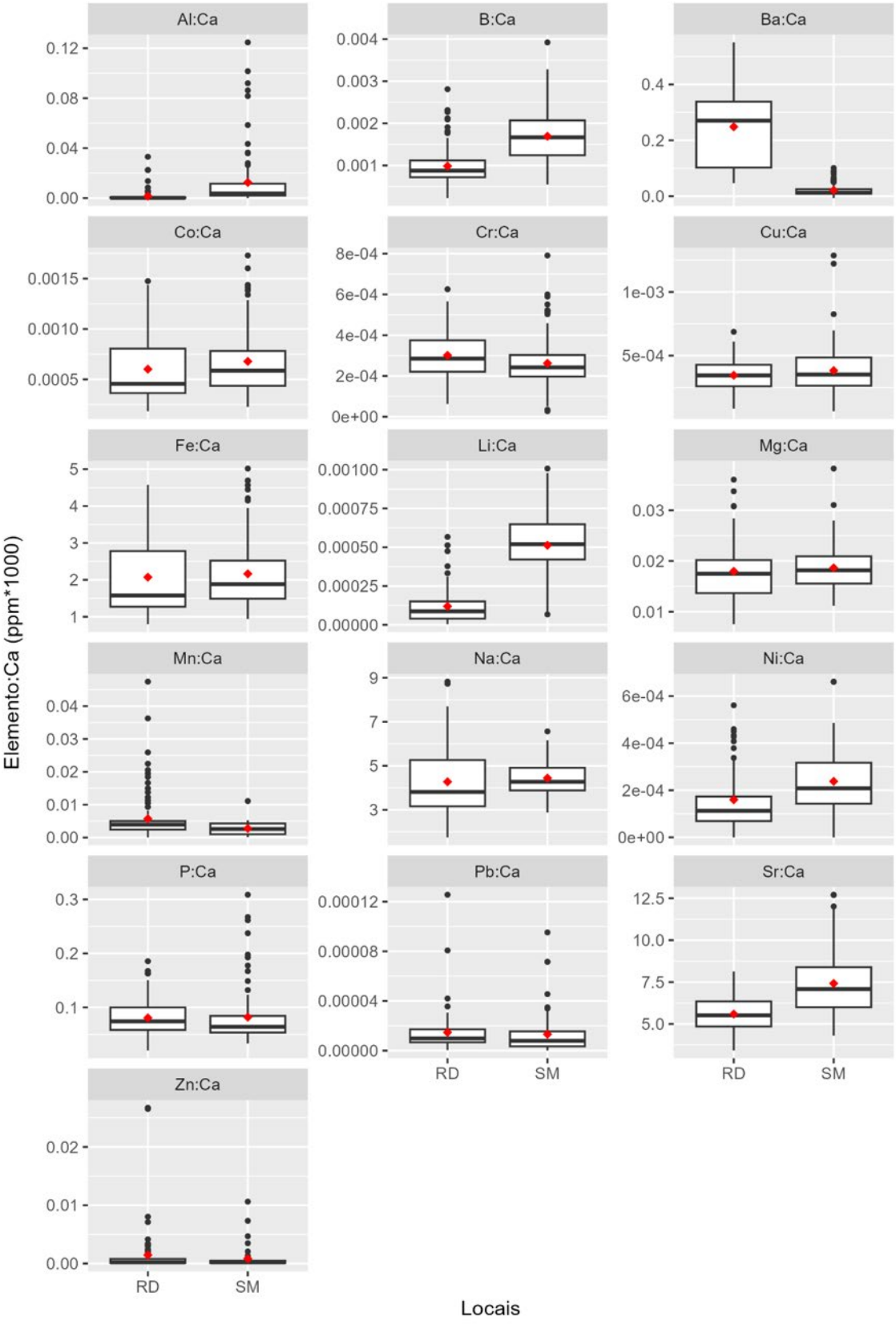
A Figura 41 mostra ampla variação espacial nas razões Elemento:Ca, com diferenças mais evidentes para Ba:Ca, Sr:Ca, Li:Ca, Al:Ca, P:Ca e Mn:Ca. O rio Doce se destaca pelos maiores valores de Ba:Ca e pela maior dispersão em elementos como Al:Ca, Mn:Ca, P:Ca, Fe:Ca, Zn:Ca e Cu:Ca, indicando maior heterogeneidade química entre os indivíduos desse estuário. Em contraste, Sr:Ca apresentou valores mais elevados em Itapemirim e Piraquê-Açu, enquanto o rio Doce exibiu os menores valores. Para Co:Ca, Ni:Ca e Cu:Ca, as medianas foram mais próximas entre os locais, sugerindo menor separação espacial por esses elementos.

Figura 42: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*, durante o período chuvoso de 2025. Ponto vermelho representa a média.



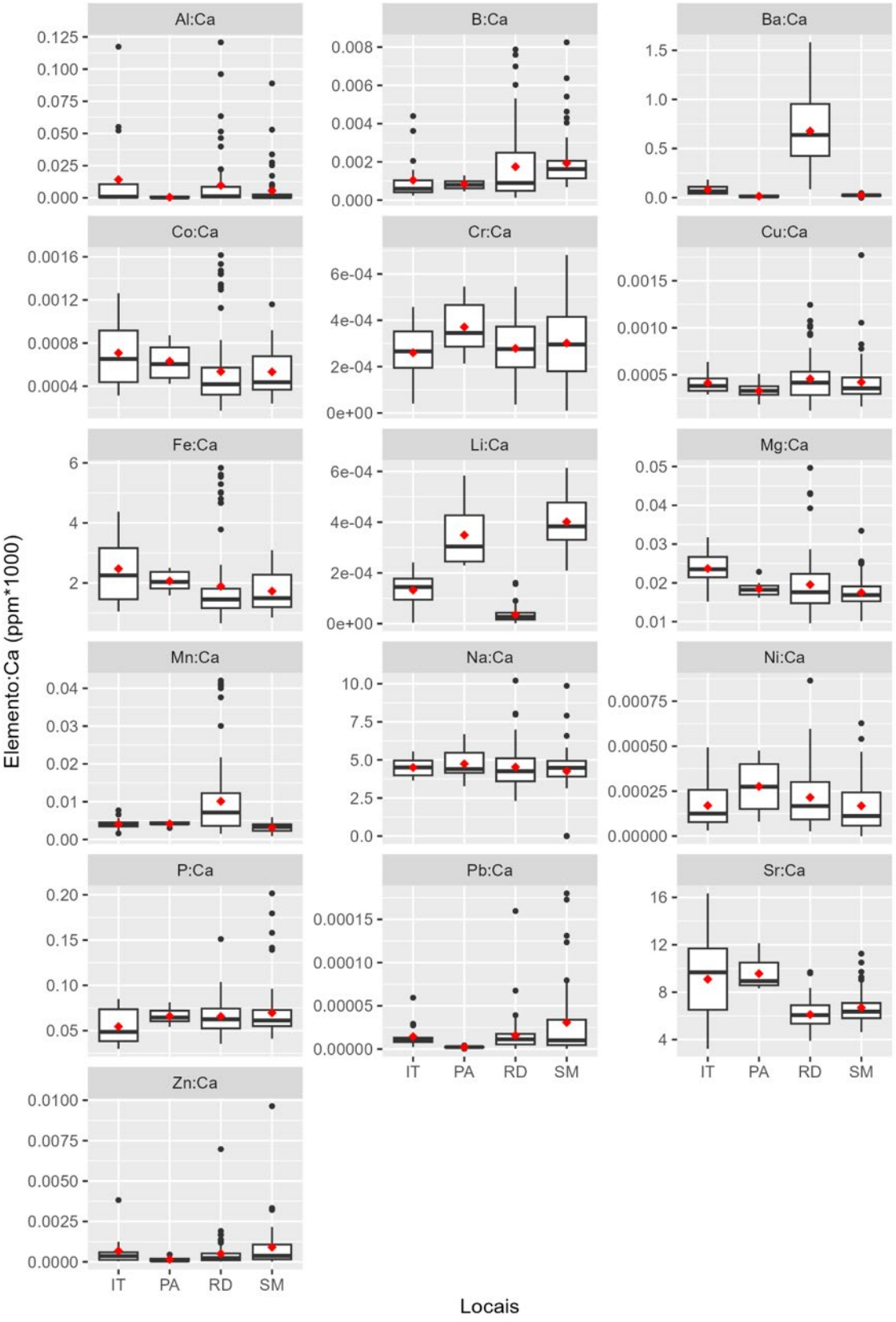
A Figura 42 evidencia a separação entre rio Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2025, com diferenças mais pronunciadas para Ba:Ca, Sr:Ca, Li:Ca, B:Ca, Al:Ca e P:Ca. O rio Doce apresentou maiores valores de Ba:Ca e maior dispersão para elementos como Al:Ca, Fe:Ca, P:Ca e Zn:Ca, enquanto São Mateus exibiu maiores concentrações de Sr:Ca, Li:Ca e Na:Ca. Para elementos como Cr:Ca, Cu:Ca, Mg:Ca e Ni:Ca, observou-se maior sobreposição entre as distribuições, indicando menor distinção entre os estuários.

Figura 43: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*, durante o período seco de 2025. Ponto vermelho representa a média.



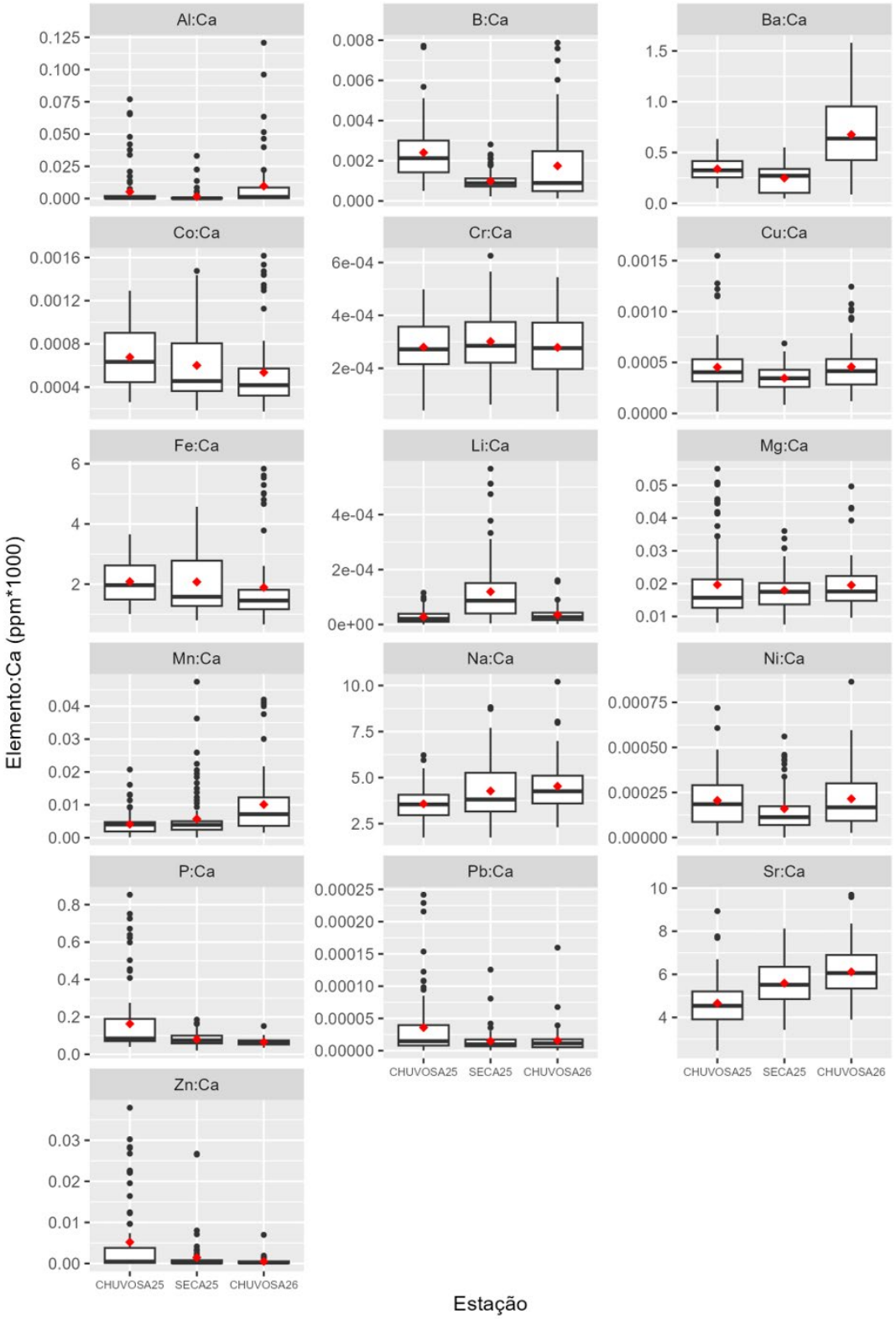
A Figura 43 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre rio Doce e São Mateus durante o período seco de 2025. Observam-se diferenças mais evidentes para Ba:Ca, Sr:Ca, B:Ca e Li:Ca, enquanto Al:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, P:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca exibem maior sobreposição entre as distribuições dos dois estuários. Além disso, alguns elementos apresentaram elevada variabilidade entre os indivíduos, evidenciada pela amplitude dos boxplots e pela presença de valores discrepantes.

Figura 44: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*, durante o período chuvoso de 2026. Ponto vermelho representa a média.



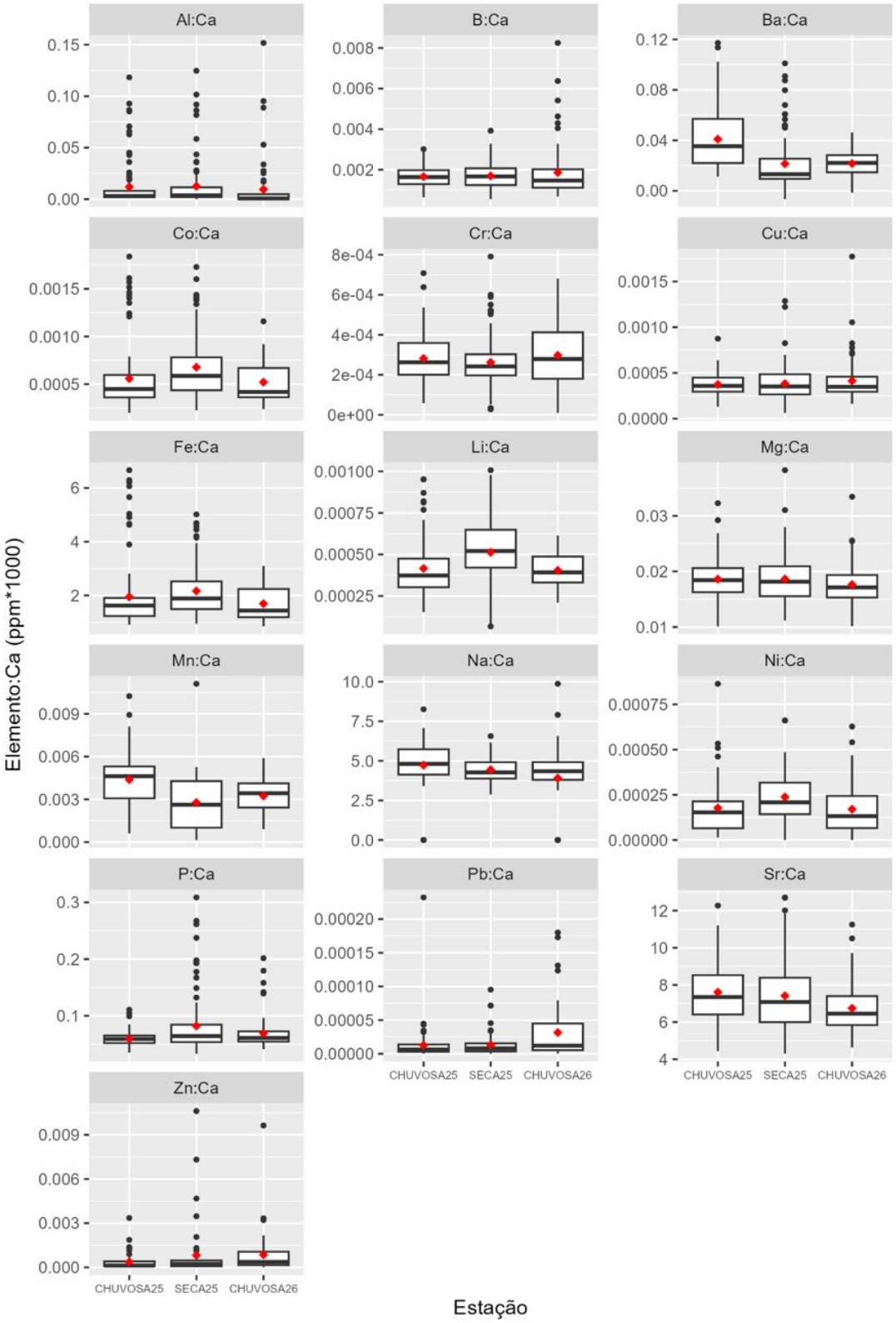
A Figura 44 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre os quatro estuários durante o período chuvoso de 2026. Observam-se diferenças mais evidentes para Ba:Ca, Sr:Ca, Li:Ca, B:Ca e Mn:Ca, enquanto Na:Ca, Co:Ca, Cu:Ca e Ni:Ca exibem maior sobreposição entre as distribuições. Além disso, Al:Ca, Fe:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentaram maior amplitude de variação e ocorrência de valores discrepantes, especialmente no rio Doce.

Figura 45: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*, provenientes do rio Doce (RD). Ponto vermelho representa a média. Chuvosa25 = período chuvoso de 2025, Seca25 = período seco de 2025 e Chuvosa26 = período chuvoso de 2026.



A Figura 45 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as três campanhas de amostragem. Observa-se aumento dos valores centrais de Ba:Ca e Mn:Ca na campanha chuvosa 2026, enquanto B:Ca apresenta maiores valores na campanha chuvosa 2025. As razões Sr:Ca e Na:Ca exibem incremento gradual entre as campanhas, ao passo que Li:Ca apresenta maiores valores na campanha seca 2025. Para a maioria dos demais elementos, as distribuições apresentam ampla sobreposição, embora alguns, como Al:Ca, Fe:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca, exibam elevada dispersão e ocorrência de valores discrepantes.

Figura 46: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do bagre-guri, *Genidens genidens*, provenientes do Rio São Mateus (SM). Ponto vermelho representa a média. Chuvosa25 = período chuvoso de 2025, Seca25 = período seco de 2025 e Chuvosa26 = período chuvoso de 2026.



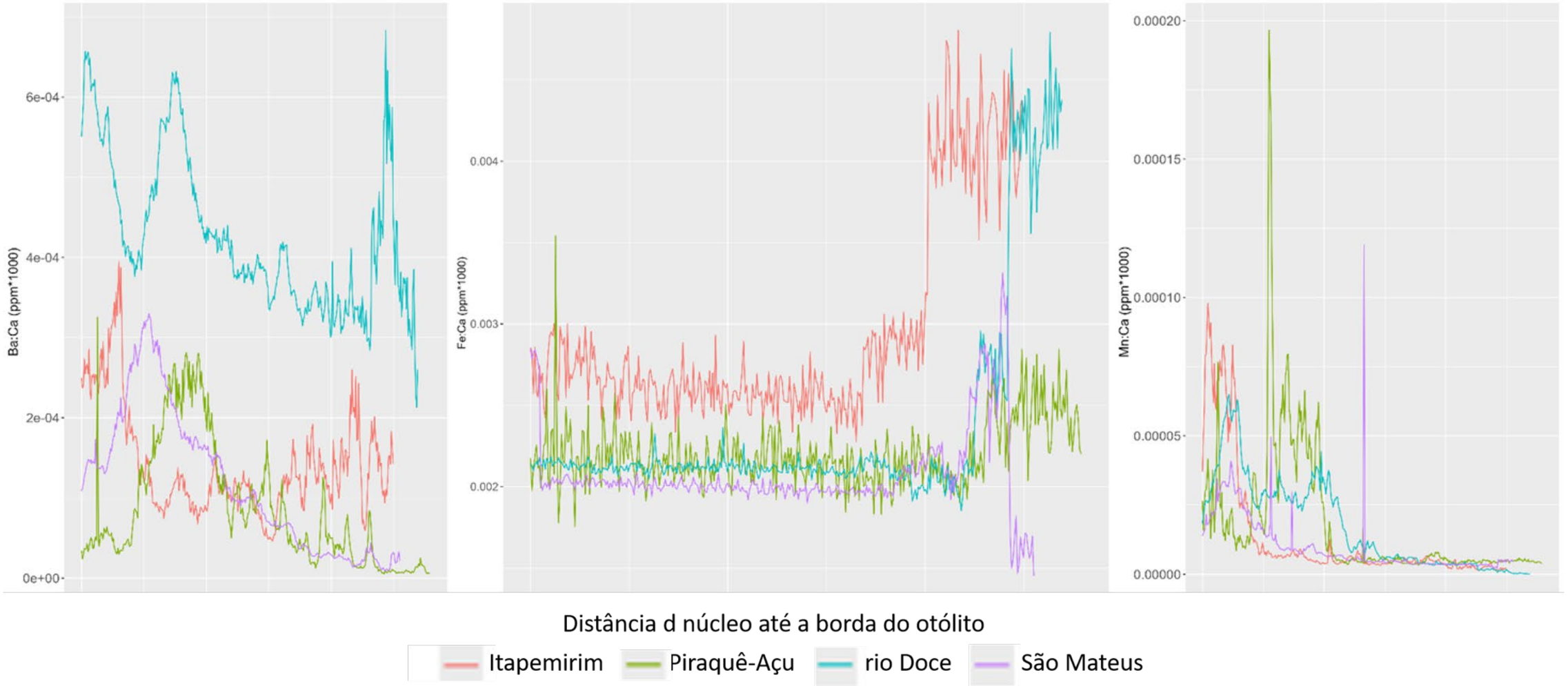
A Figura 46 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as três campanhas de amostragem no estuário de São Mateus. Observam-se medianas mais elevadas de Li:Ca no período seco 2025 e de Pb:Ca no período chuvoso 2026, enquanto Ba:Ca e Sr:Ca apresentam redução ao longo das campanhas. Para Al:Ca, B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, Ni:Ca e P:Ca, as distribuições apresentam ampla sobreposição, embora alguns elementos exibam elevada dispersão e ocorrência de valores discrepantes.

A microquímica dos otólitos evidenciou diferenças consistentes entre os estuários avaliados, indicando que a composição elementar refletiu a heterogeneidade ambiental desses sistemas. As razões Ba:Ca e Sr:Ca apresentaram os contrastes mais marcantes, com o rio Doce caracterizado por maiores concentrações de Ba:Ca e menores valores de Sr:Ca, enquanto Itapemirim e Piraquê-Açu exibiram maiores concentrações de Sr:Ca. Outros elementos, como Li:Ca, P:Ca e Mn:Ca, também contribuíram para a diferenciação entre os estuários, embora com menor consistência entre as campanhas. Os boxplots complementaram esses resultados ao evidenciar a separação entre os ambientes para os principais elementos discriminantes e a elevada variabilidade individual observada para algumas razões, especialmente Ba:Ca, Al:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca, reforçando o potencial da microquímica de otólitos para discriminar ambientes estuarinos.

Apesar das variações observadas entre as campanhas de amostragem, os contrastes espaciais permaneceram mais evidentes que as oscilações temporais. As diferenças registradas entre os estuários foram mantidas nos períodos chuvoso e seco de 2025 e repetidas na campanha chuvosa de 2026, enquanto as variações temporais ocorreram para diferentes elementos, principalmente no rio Doce. Esse comportamento indica que, embora a composição química responda às mudanças ambientais ao longo do tempo, as características próprias de cada estuário exerceram maior influência sobre a incorporação dos elementos aos otólitos.

Esse comportamento é compatível com a dinâmica dos ambientes estuarinos, onde a descarga fluvial, a salinidade e o aporte de sedimentos variam sazonalmente, modificando a disponibilidade de elementos na água (GENZ, 2008; LOITZENBAUER & MENDES, 2011). O comportamento observado para Ba:Ca e Sr:Ca também está de acordo com estudos anteriores, que descrevem essas razões como importantes marcadores de gradientes ambientais em estuários (CAMPANA, 1999; ELSDON *et al*., 2008). Assim, a recorrência desses padrões ao longo das campanhas demonstra que os otólitos registraram de forma consistente as características geoquímicas dos ambientes avaliados, reforçando o potencial da microquímica como ferramenta para estudos ecológicos, reconstrução de históricos ambientais e investigação do uso de habitats por *G. genidens*.

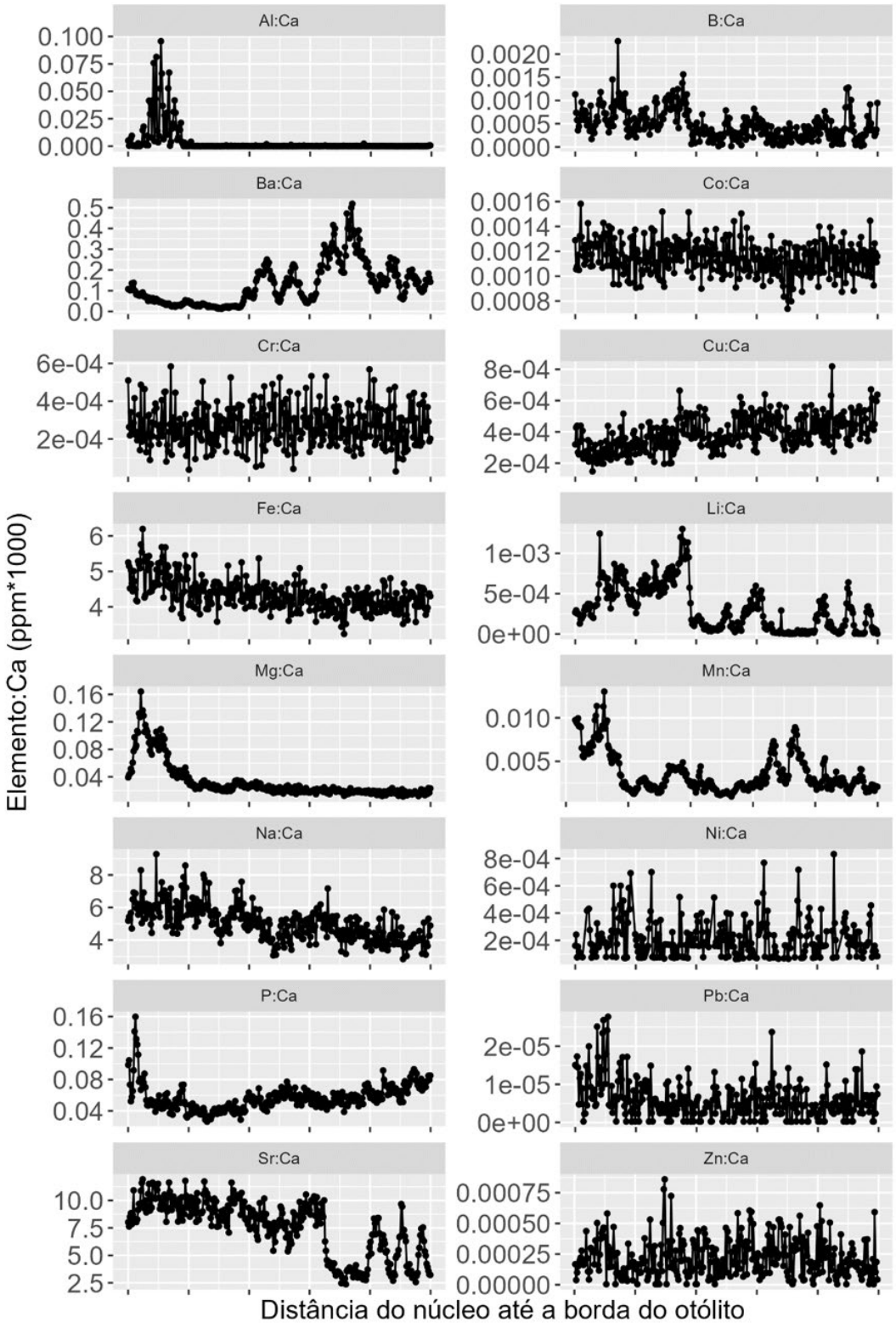
Figura 47: Microquímica de otólito. Fase II (2025-2026): Perfis cronológicos das razões médias Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca (ppm*1000) nos otólitos de *Genidens genidens* adultos coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, Doce e São Mateus.



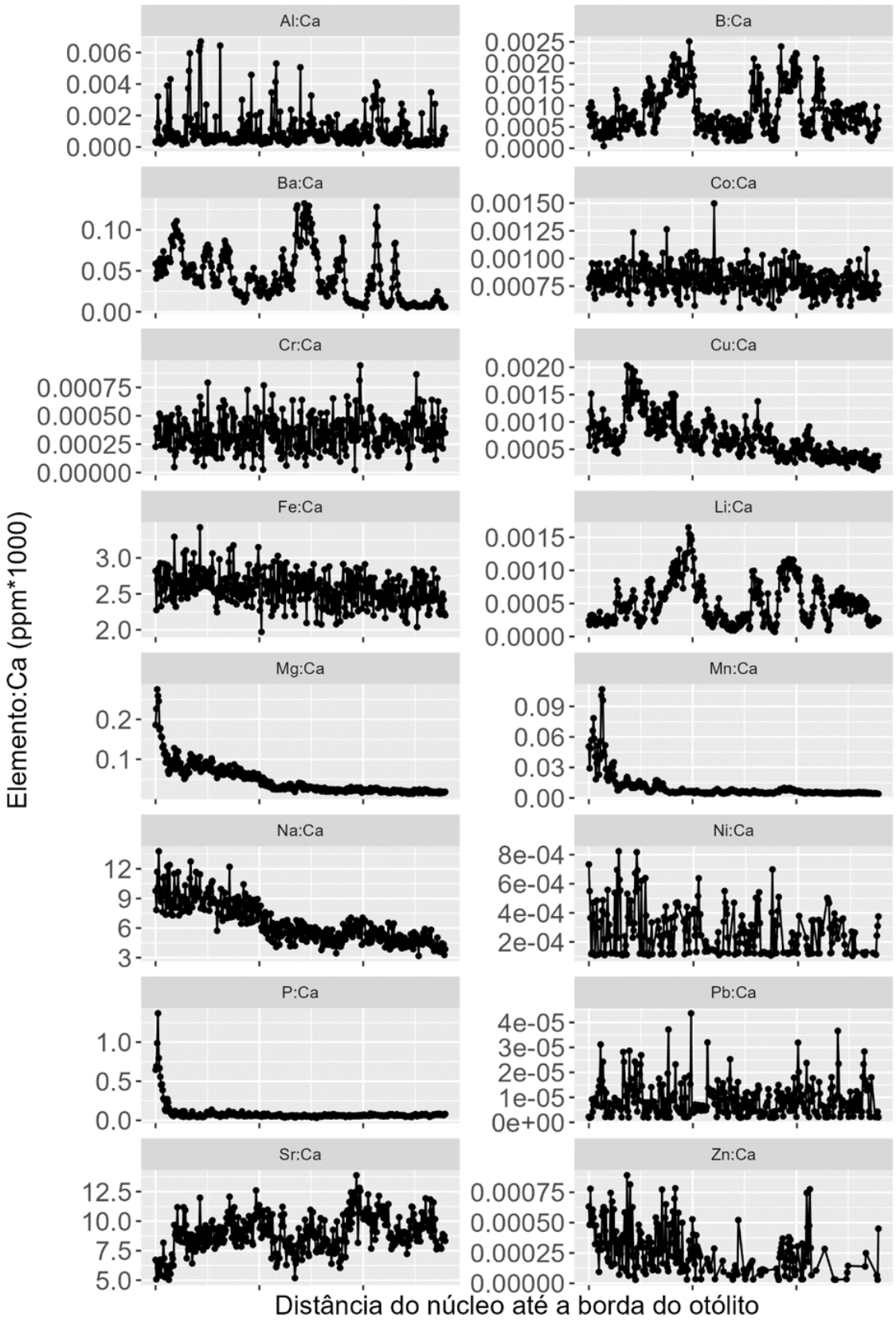
Os perfis cronológicos médios dos otólitos permitiram avaliar a variação das razões Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca ao longo da ontogenia de *G. genidens*, desde a região do núcleo, relacionada aos estágios iniciais de vida, até a borda, correspondente às deposições mais recentes. Os perfis evidenciaram diferenças na incorporação desses elementos entre os estuários ao longo da história de vida dos indivíduos. Entre os elementos avaliados, Ba:Ca apresentou a separação espacial mais evidente, com o rio Doce exibindo valores médios mais elevados ao longo de grande parte do transecto do otólito em comparação aos demais estuários. O bário é amplamente utilizado como indicador da influência de água doce, uma vez que sua incorporação está associada ao aporte continental e aos processos de lixiviação da bacia hidrográfica (ELSDON & GILLANDERS, 2005; SOETH *et al*., 2020). Esse padrão é consistente com os resultados observados na borda dos otólitos, reforçando a maior influência continental registrada para o rio Doce. Os perfis de Fe:Ca apresentaram maior separação entre os estuários, especialmente nas porções mais externas dos otólitos, com destaque para Itapemirim e rio Doce. O ferro está associado a processos biogeoquímicos relacionados às condições redox dos ambientes aquáticos e sua incorporação pode refletir diferenças na disponibilidade ambiental desse elemento entre os sistemas estuarinos (LIMBURG *et al*., 2015). Para Mn:Ca, observaram-se concentrações mais elevadas próximas ao núcleo e redução gradual em direção à borda em todos os estuários. Esse padrão é frequentemente associado à transferência materna durante os estágios iniciais de desenvolvimento, seguida por maior influência das condições ambientais ao longo da ontogenia (LIMBURG *et al*., 2015; SOETH *et al*., 2020). A manutenção de concentrações relativamente baixas durante grande parte do perfil sugere menor disponibilidade ambiental do elemento nas fases posteriores da vida dos indivíduos. De modo geral, os perfis cronológicos indicam que Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca registram variações ambientais experimentadas pelos indivíduos ao longo da ontogenia e complementam os padrões observados na borda dos otólitos, evidenciando diferenças persistentes entre os estuários avaliados.

Figura 48: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de *Genidens genidens*. A: Itapemirim; B: Piraquê-Açu; C: rio Doce; D: São Mateus.

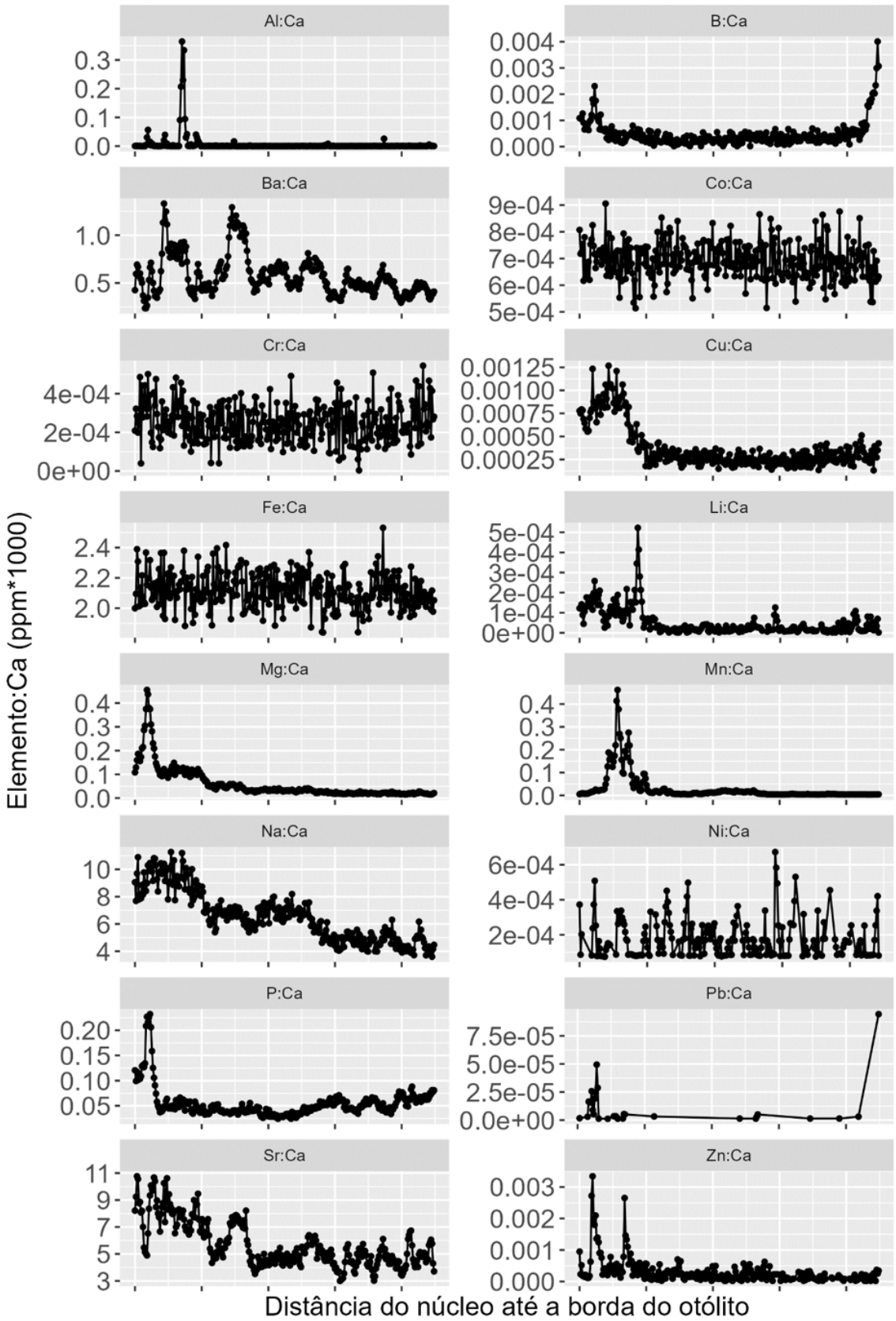
A)



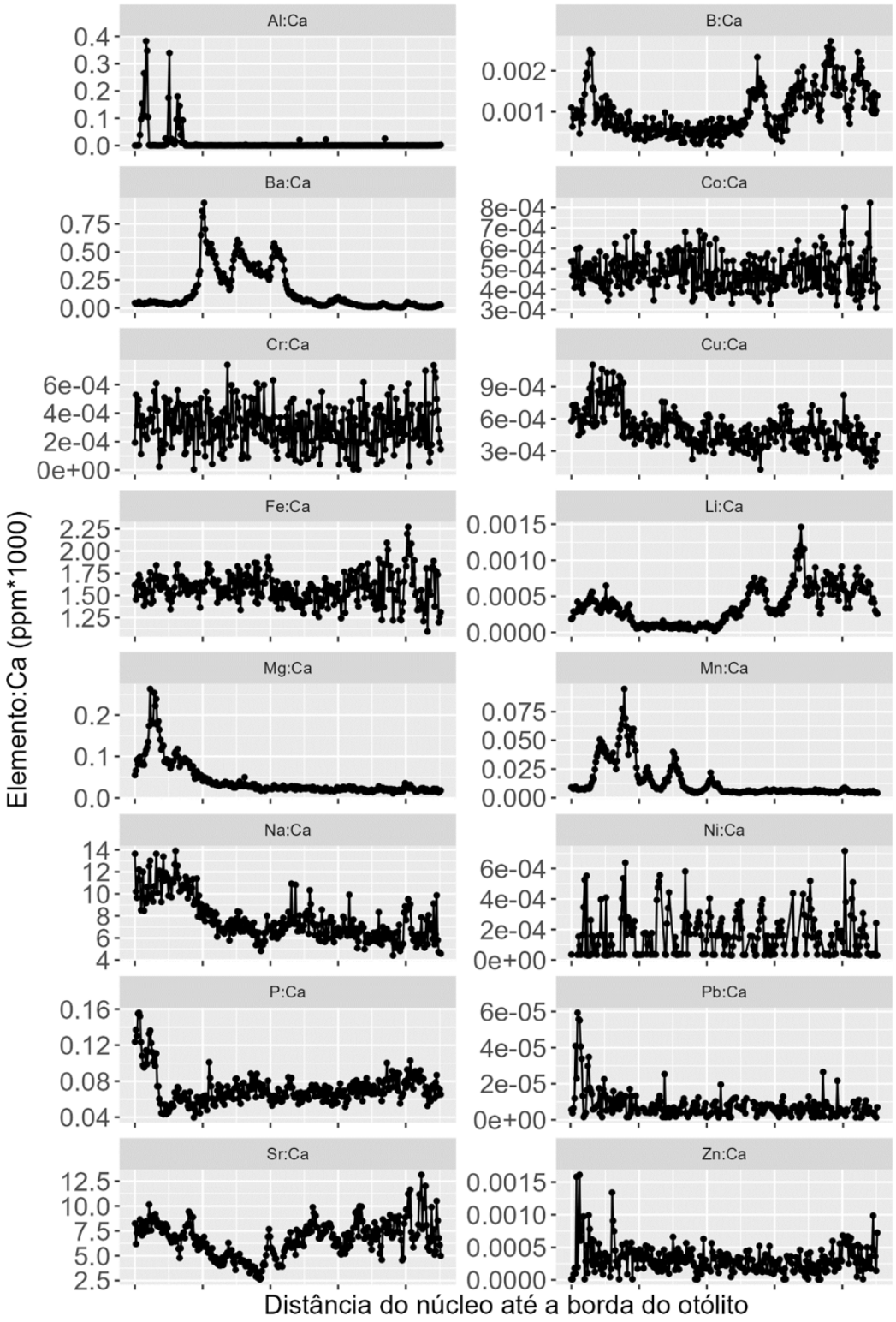
B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

D)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

A Figura 48 apresenta os perfis cronológicos das razões Elemento:Ca, entre o núcleo e a borda dos otólitos, dos maiores exemplares coletados em cada estuário. No estuário do rio Itapemirim, observam-se maiores oscilações no início do perfil para Al:Ca, Mg:Ca, P:Ca, Mn:Ca e Li:Ca, seguidas por redução ou estabilização em direção à borda. Ba:Ca apresenta aumento progressivo após a porção inicial, com picos mais evidentes na região intermediária e final do perfil, enquanto Sr:Ca mantém valores elevados em boa parte do trajeto e apresenta queda mais marcada próximo à borda. Fe:Ca e Na:Ca mostram tendência geral de redução ao longo do perfil, ao passo que Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca exibem oscilações menores e maior dispersão pontual (Figura 48A). Os perfis cronológicos do exemplar coletado no Piraquê-Açu, Al:Ca apresenta oscilações ao longo de todo o perfil, com picos distribuídos desde a região inicial até a borda. B:Ca e Li:Ca exibem sucessivos aumentos e reduções ao longo do trajeto, com picos bem definidos na porção intermediária. Ba:Ca mostra oscilações acentuadas na primeira metade do perfil, seguidas por redução em direção à borda, enquanto Sr:Ca permanece relativamente elevado durante todo o perfil, com discreto aumento na porção final. Mg:Ca, Mn:Ca, Na:Ca e P:Ca apresentam valores mais elevados próximos ao núcleo, seguidos por redução e posterior estabilização. Já Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca exibem pequenas oscilações ao longo do perfil, sem tendências visuais marcantes (Figura 48B). No Doce, os perfis das razões Al:Ca, Mg:Ca e Mn:Ca apresentam picos acentuados próximos ao núcleo, seguidos por redução e estabilização em direção à borda. Ba:Ca exibe oscilações ao longo de todo o perfil, com valores mais elevados na porção inicial e intermediária, enquanto Sr:Ca apresenta tendência geral de redução, apesar de oscilações recorrentes. Na:Ca também diminui progressivamente ao longo do perfil, ao passo que P:Ca reduz na região inicial e permanece relativamente estável até a borda. B:Ca apresenta redução nas porções iniciais, mantendo valores semelhantes na maior parte do perfil e aumento acentuado próximo à borda. Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca e Ni:Ca exibem pequenas oscilações em torno de valores relativamente constantes, enquanto Pb:Ca e Zn:Ca apresentam valores reduzidos na maior parte do perfil, com picos isolados (Figura 48C). Já no São Mateus, o perfil Al:Ca apresenta picos acentuados próximos ao núcleo, mantendo valores reduzidos no restante do perfil. Ba:Ca exibe aumento expressivo na porção inicial, seguido por oscilações na região intermediária e redução em direção à borda. B:Ca e Li:Ca apresentam oscilações ao longo de todo o perfil, com aumento mais evidente na porção final, enquanto Sr:Ca oscila durante todo o trajeto, com redução na região intermediária e elevação próxima à borda. Mg:Ca, Na:Ca, Mn:Ca e P:Ca apresentam maiores valores próximos ao núcleo, seguidos por redução e posterior estabilização. Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca e Ni:Ca exibem pequenas oscilações em torno de valores relativamente constantes, enquanto Pb:Ca e Zn:Ca apresentam valores reduzidos na maior parte do perfil, com picos isolados principalmente próximos ao núcleo (Figura 48D).

Os perfis cronológicos evidenciaram que a composição química dos otólitos registrou mudanças ao longo da ontogenia dos indivíduos, embora a intensidade dessas variações tenha diferido entre os elementos e os estuários. De maneira geral, Al:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca e P:Ca apresentaram picos mais pronunciados próximos ao núcleo dos otólitos, enquanto Ba:Ca exibiu oscilações ao longo do perfil,

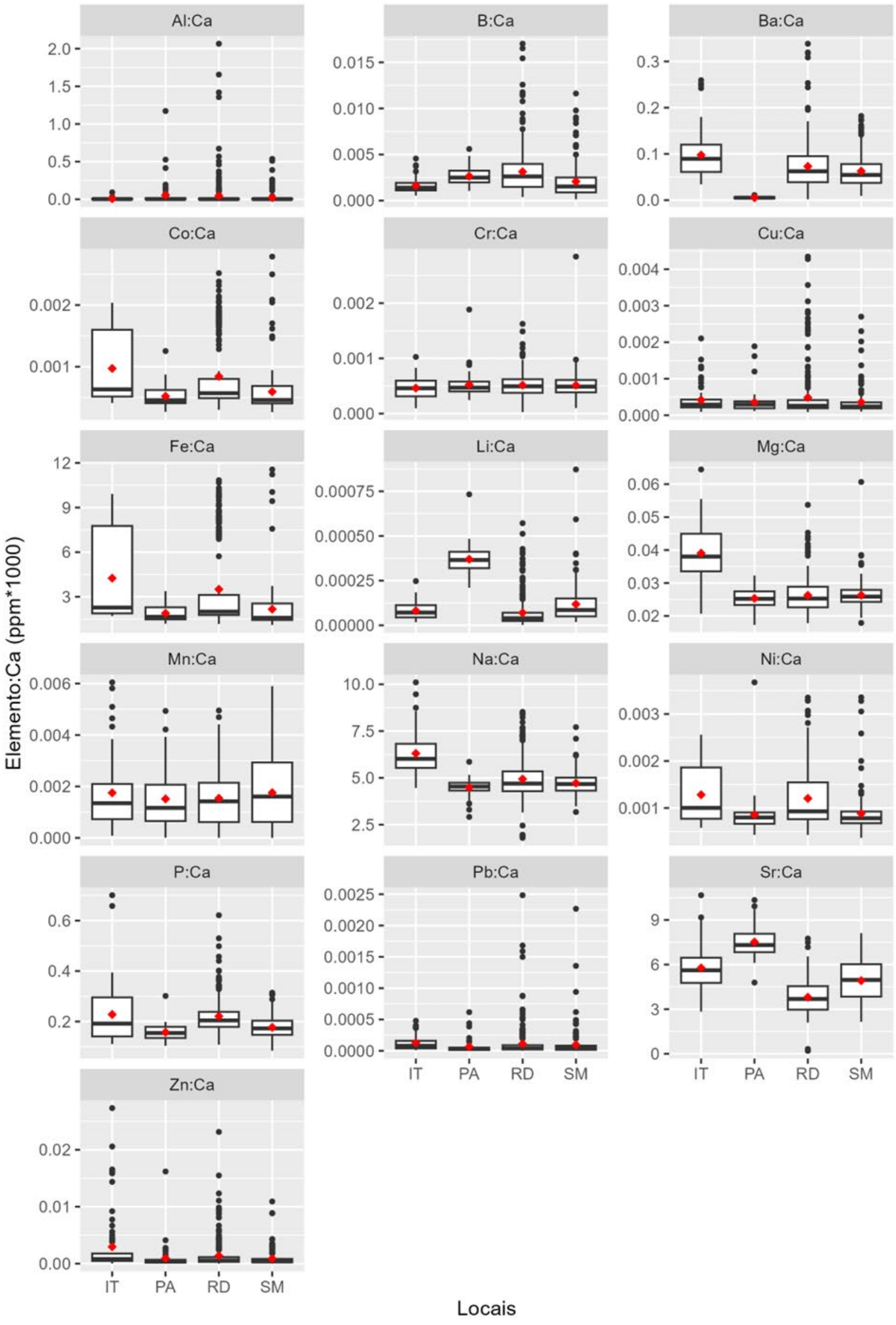
com valores persistentemente mais elevados nos indivíduos do rio Doce. Em contraste, Cr:Ca, Co:Ca, Ni:Ca e Pb:Ca apresentaram menor amplitude de variação, mantendo concentrações relativamente estáveis durante grande parte do perfil. As oscilações observadas para Ba:Ca sugerem alterações na exposição dos indivíduos a ambientes com diferentes contribuições continentais ao longo da vida, comportamento frequentemente descrito para espécies estuarinas (ELSDON *et al*., 2008; SOETH *et al*., 2020). Os picos de Mn:Ca registrados próximos ao núcleo também concordam com estudos que relacionam esse elemento à transferência materna durante o desenvolvimento embrionário (STURROCK *et al*., 2015), embora o manganês também possa refletir condições ambientais associadas à baixa concentração de oxigênio dissolvido (LIMBURG *et al*., 2015). Da mesma forma, as elevadas concentrações de Al:Ca observadas nas porções iniciais dos perfis podem refletir períodos de maior disponibilidade ambiental desse elemento durante as fases iniciais da vida dos indivíduos. Em conjunto, os perfis cronológicos demonstram que os otólitos registraram não apenas as diferenças espaciais entre os estuários, mas também a variabilidade ambiental experimentada ao longo da ontogenia. A recorrência de padrões semelhantes para alguns elementos entre os indivíduos reforça o potencial da microquímica de otólitos para reconstruir históricos ambientais e compreender o uso de habitats por *G. genidens*, integrando informações relacionadas tanto às condições ambientais quanto aos processos fisiológicos envolvidos na incorporação dos elementos (HÜSSY *et al*., 2020).

Tabela 17: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Média ± desvio padrão e Kruskal Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* (robalo-peva) coletados nos estuários do rio Itapemirim, Piraquê-Açu, 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.

	Média ± desvio padrão						
Elemento:Ca	**Itapemirim**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**	X^2	*df*	*p.valor*
Li:Ca	0.0004 ± 0.0002^a	0.002 ± 0.0004^b	0.0003 ± 0.0004^c	0.0006 ± 0.0005^a	203.59	3	**7.03E-44**
B:Ca	0.005 ± 0.002^a	0.008 ± 0.003^b	0.01 ± 0.007^b	0.007 ± 0.007^a	65.54	3	**3.84E-14**
Na:Ca	11.16 ± 2.06^a	7.91 ± 0.79^b	8.61 ± 1.88^b	8.28 ± 1.10^b	119.3	3	**1.09E-25**
Mg:Ca	0.06 ± 0.01^a	0.04 ± 0.005^b	0.04 ± 0.007^b	0.042 ± 0.004^b	133.01	3	**1.21E-28**
Al:Ca	0.005 ± 0.007	0.01 ± 0.04	0.01 ± 0.06	0.02 ±0.10	6.01	3	0.11
P:Ca	0.27 ± 0.11^a	0.19 ± 0.03^b	0.27 ± 0.06^a	0.22 ± 0.05^c	104.23	3	**1.91E-22**
Cr:Ca	0.0003 ± 0.0001	0.0003 ± 0.0001	0.0003 ± 0.0001	0.0003 ± 0.0001	7.75	3	0.05
Mn:Ca	0.001 ± 0.001	0.001 ± 0.0008	0.001 ± 0.0008	0.001 ± 0.0009	2.01	3	0.57
Fe:Ca	3.02 ± 2.15^a	1.35 ± 0.43^b	2.52 ± 2.03^c	1.57 ± 1.138^b	71.03	3	**2.56E-15**
Co:Ca	0.0006 ± 0.0004^a	0.0003 ± 0.0001b	0.0005 ± 0.0003^a	0.0004 ± 0.0002^b	56.05	3	**4.09E-12**
Ni:Ca	0.0008 ± 0.0004^a	0.0005 ± 0.0002^b	0.0008 ± 0.0004^a	0.0005 ± 0.0002^b	43.8	3	**1.65E-09**
Cu:Ca	0.0001 ± 8E-05	0.0001 ± 0.0001	0.0002 ± 0.0003	0.0001 ± 0.0001	7.3	3	0.06
Zn:Ca	0.0006 ± 0.0009^a	0.0002 ± 0.0002^b	0.0005 ± 0.0008^c	0.0003 ± 0.0003^b	39.56	3	**1.31E-08**
Sr:Ca	2.64 ± 0.72^a	3.45 ± 0.51^b	1.76 ± 0.54^c	2.25 ± 0.62^d	219.04	3	**3.23E-47**
Ba:Ca	0.03 ± 0.016^a	0.001 ± 0.0004^b	0.02 ± 0.01^c	0.01 ± 0.01^c	176.36	3	**5.37E-38**
Pb:Ca	1.9E-0 5± 2E-05^a	5E-06 ± 5E-06^b	1E-05 ± 1E-05^b	8E-06 ±1E-05^b	43.2	3	**2.22E-09**

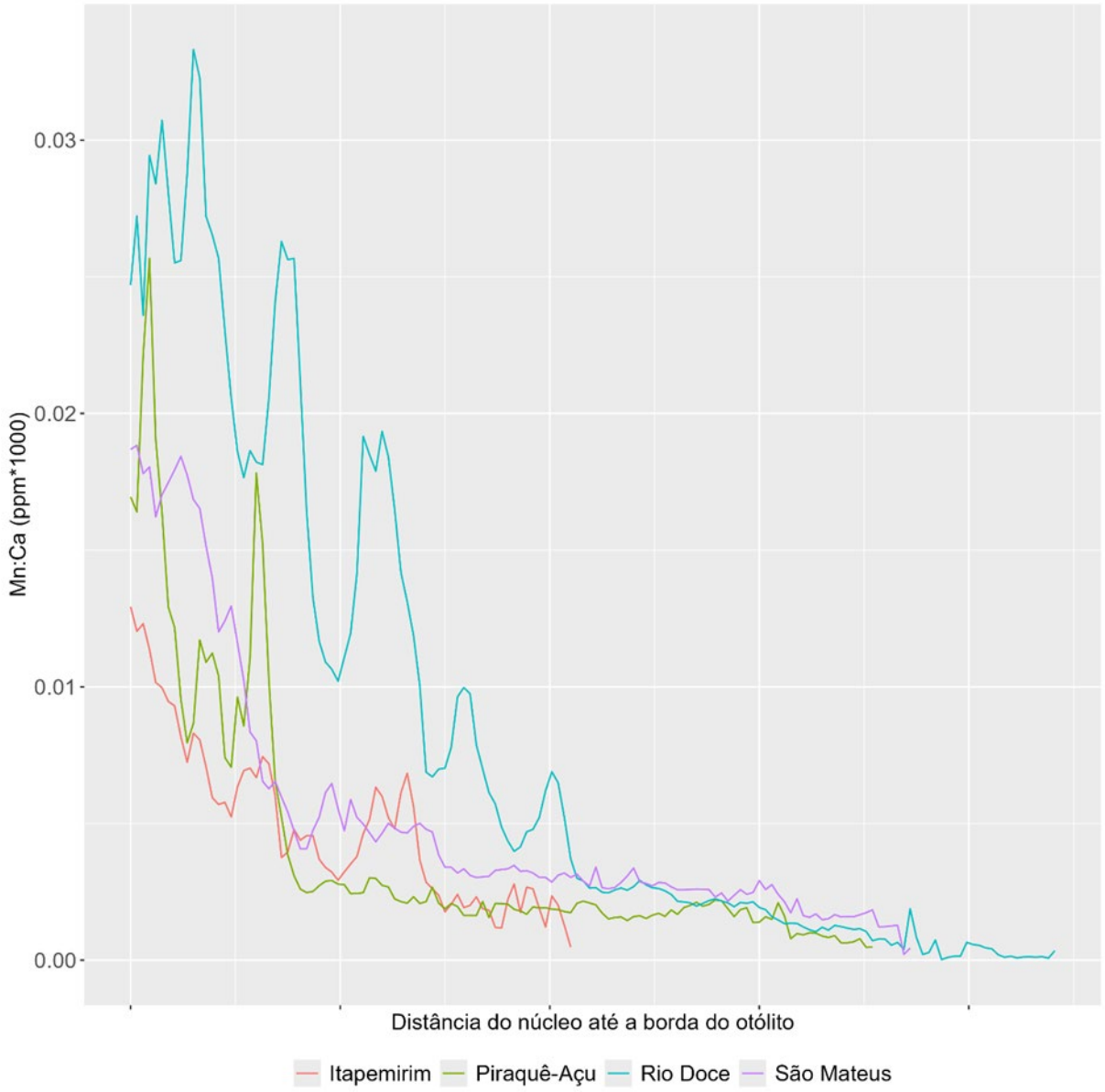
Através das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus), onde as razões médias de 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 (Tabela 17).

Figura 49: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): 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.



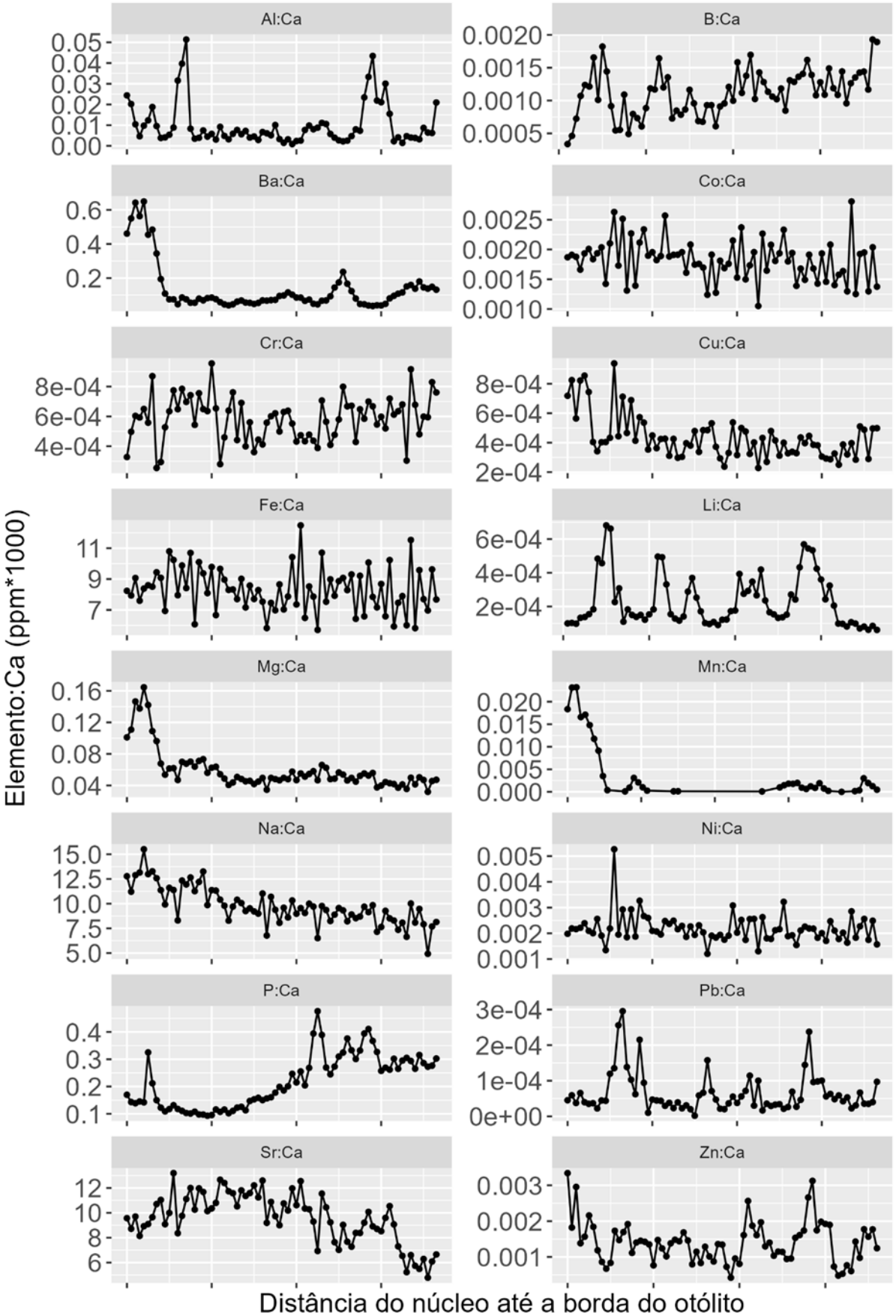
As relações dos elementos presentes nas bordas dos otólitos, local onde ocorre a deposição na matriz dos otólitos mais recente dos elementos presentes na água, seguem as mesmas premissas apresentadas na Figura 49.

Figura 50: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): 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.

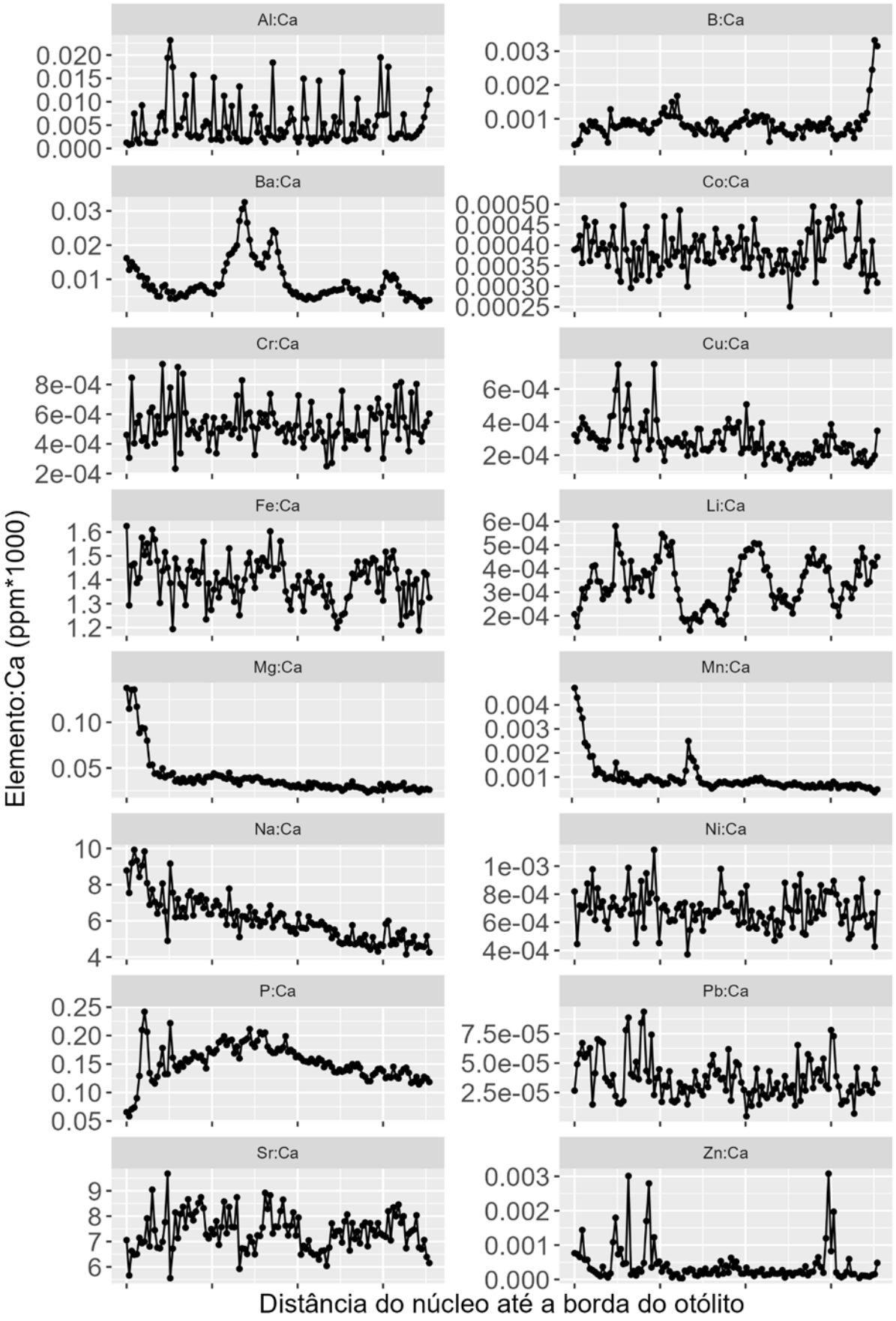


As análises microquímicas dos otólitos de robalo-peva obtidos entre agosto de 2023 e janeiro de 2024, mostraram através do perfil cronológico dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no 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.

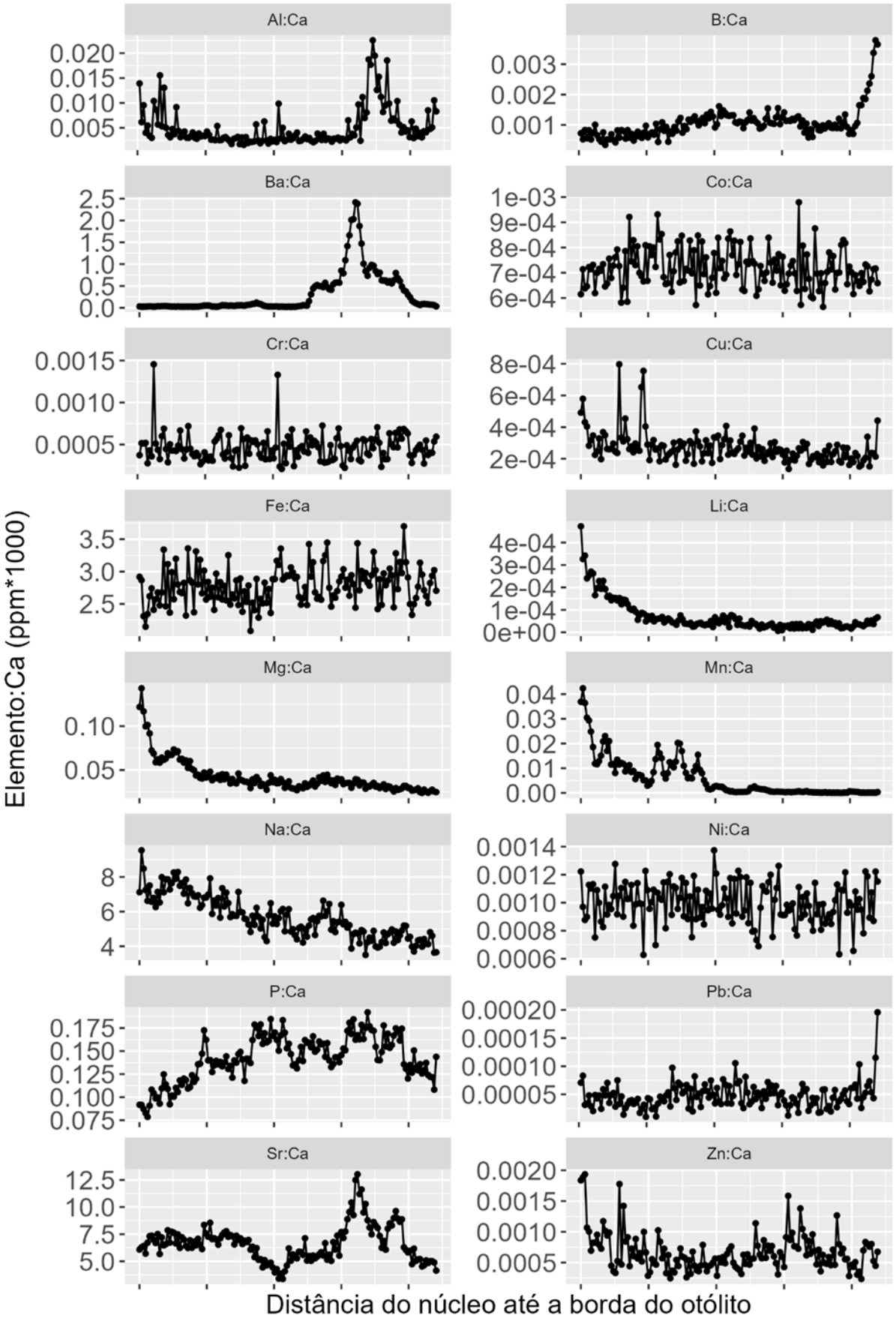
Figura 51: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de *Centropomus parallelus*. A: Itapemirim (CT = 394 mm), B: Piraquê-Açu, C: rio Doce e D: São Mateus.



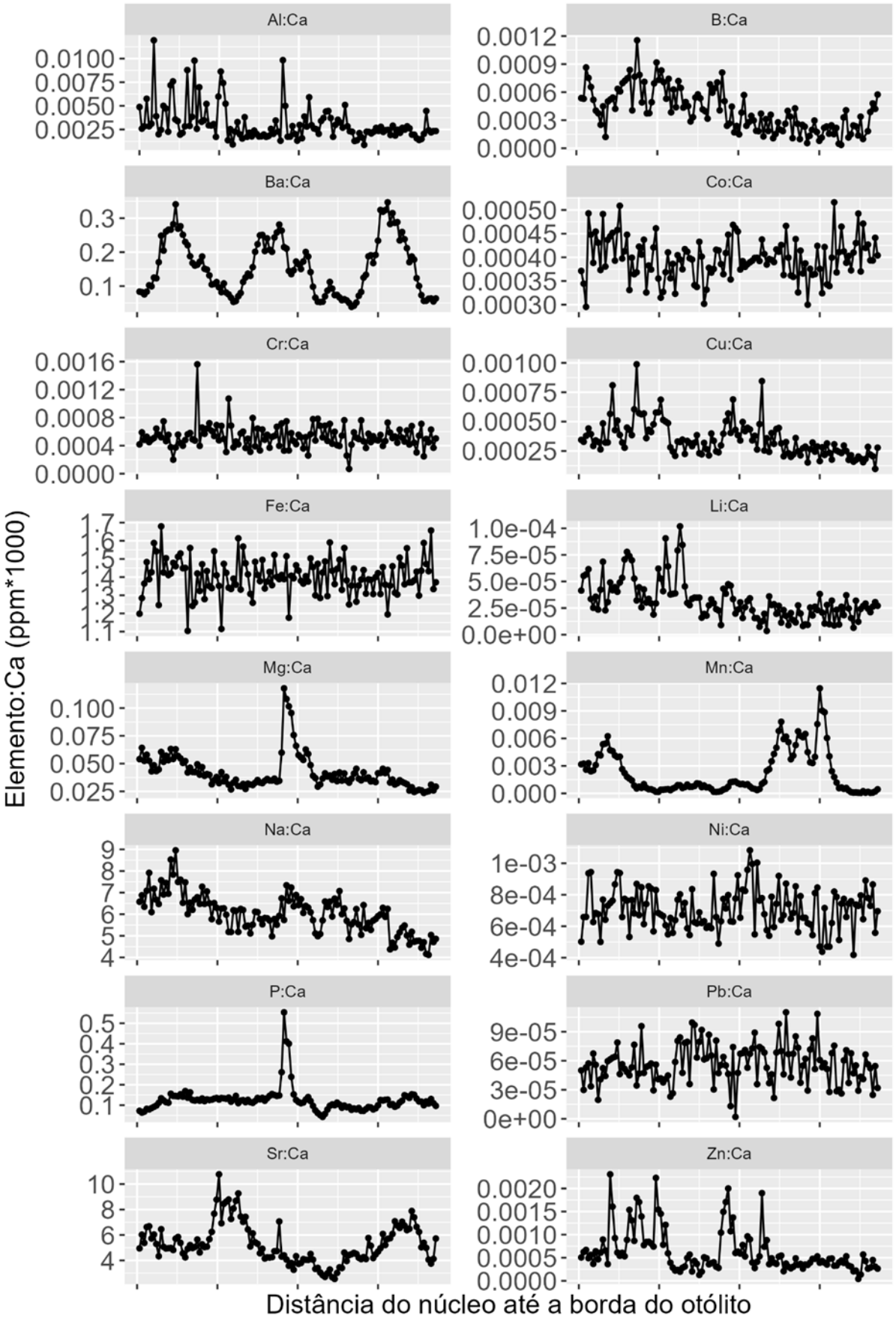
B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

D)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

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_2 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_2), fisiológicas (*eg.* crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (*eg.* migração, alimentação) (HÜSSY *et al.*, 2020).

Tabela 18: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, Doce e São Mateus durante os anos de 2025 e 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão (Geral)			
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Itapemirim**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	224.03	2.70e-48	2.18e-4 ± 2.49e-4	4.29e-4 ± 9.21e-5	9.87e-5 ± 1.18e-4	1.23e-4 ± 8.22e-5
B:Ca	150.94	1.65e-32	0.002 ± 0.002	7.27e-4 ± 2.94e-4	0.004 ± 0.006	0.002 ± 0.002
Na:Ca	40.91	6.84e-9	4.12 ± 0.569	4.99 ± 0.791	4.11 ± 1.29	4.19 ± 1.32
Mg:Ca	26.34	8.10e-6	0.026 ± 0.005	0.028 ± 0.005	0.025 ± 0.009	0.026 ± 0.006
Al:Ca	27.63	4.35e-6	0.026 ± 0.040	0.019 ± 0.036	0.031 ± 0.093	0.011 ± 0.031
P:Ca	22.14	6.10e-5	0.219 ± 0.065	0.252 ± 0.115	0.207 ± 0.079	0.209 ± 0.066
Cr:Ca	23.27	3.55e-5	4.57e-4 ± 2.59e-4	4.79e-4 ± 2.65e-4	3.79e-4 ± 3.35e-4	3.61e-4 ± 2.31e-4
Mn:Ca	20.72	1.20e-4	0.001 ± 7.65e-4	9.76e-4 ± 5.58e-4	0.009 ± 0.030	0.002 ± 0.001
Fe:Ca	121.25	4.16e-26	3.22 ± 0.875	2.40 ± 0.666	3.75 ± 1.99	4.51 ± 1.91
Co:Ca	81.84	1.24e-17	0.001 ± 3.90e-4	8.40e-4 ± 3.00e-4	0.001 ± 7.22e-4	0.002 ± 6.74e-4
Ni:Ca	2.13	0.546	2.57e-4 ± 1.62e-4	2.45e-4 ± 1.50e-4	2.49e-4 ± 1.93e-4	2.80e-4 ± 2.29e-4
Cu:Ca	3.44	0.329	5.29e-4 ± 6.20e-4	3.07e-4 ± 1.21e-4	3.26e-4 ± 2.87e-4	3.11e-4 ± 2.87e-4
Zn:Ca	8.00	0.046	9.01e-4 ± 0.001	3.99e-4 ± 5.49e-4	0.001 ± 0.003	7.37e-4 ± 0.002
Sr:Ca	178.34	2.02e-38	3.99 ± 2.57	8.39 ± 0.993	5.55 ± 1.65	5.64 ± 1.81
Ba:Ca	208.79	5.32e-45	0.043 ± 0.030	0.007 ± 0.002	0.087 ± 0.088	0.073 ± 0.048
Pb:Ca	47.64	2.54e-10	4.52e-5 ± 7.75e-5	2.13e-5 ± 3.39e-5	7.01e-5 ± 1.39e-4	6.52e-5 ± 1.62e-4

A Tabela 18 apresenta diferenças significativas entre os estuários para a maioria das razões Elemento:Ca. Os contrastes mais evidentes foram observados para Ba:Ca e Sr:Ca, com o rio Doce apresentando os maiores valores de Ba:Ca, enquanto Piraquê-Açu apresentou as maiores concentrações de Sr:Ca. Além disso, Itapemirim destacou-se pelos maiores valores de Li:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, Mn:Ca e Fe:Ca, enquanto São Mateus apresentou maiores concentrações de Co:Ca e Pb:Ca. Em contrapartida, Ni:Ca e Cu:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 19: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* coletados nos estuários dos rios Doce e São Mateus durante o período chuvoso e seca de 2025. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média ± desvio padrão							
	Período chuvoso/2025				**Período seco/ 2025**			
Elemento:Ca (ppm*1000)	X^2	**p valor**	**rio Doce**	**São Mateus**	X^2	**p valor**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	69.37	**8.16e-17**	6.76e-5 ± 8.01e-5^b	1.54e-4 ± 7.81e-5^a	2.44	0.118	1.31e-4 ± 1.58e-4^a	9.77e-5 ± 6.50e-5^a
B:Ca	17.27	**3.24e-5**	0.002 ± 9.20e-4^b	0.002 ± 9.83e-4^a	55.39	**9.88e-14**	0.003 ± 0.002^a	0.001 ± 5.52e-4^b
Na:Ca	6.42	**0.011**	3.71 ± 0.98^b	4.15 ± 1.19^a	0.646	0.421	3.84 ± 1.36^a	3.82 ± 1.56^a
Mg:Ca	0.102	0.749	0.024 ± 0.007^a	0.023 ± 0.006^a	6.84	**0.009**	0.027 ± 0.012^b	0.028 ± 0.006^a
Al:Ca	4.15	**0.042**	0.003 ± 0.006^b	0.012 ± 0.028^a	8.21	**0.004**	0.003 ± 0.005^b	0.003 ± 0.007^a
P:Ca	24.55	**7.24e-7**	0.178 ± 0.038^b	0.203 ± 0.037^a	19.30	**1.12e-5**	0.193 ± 0.042^b	0.220 ± 0.044^a
Cr:Ca	0.331	0.565	3.03e-4 ± 1.39e-4^a	3.16e-4 ± 1.31e-4^a	3.77	0.052	3.73e-4 ± 4.40e-4^a	3.00e-4 ± 2.12e-4^a
Mn:Ca	4.15	**0.042**	0.002 ± 0.002^a	0.001 ± 0.002^b	7.55	**0.006**	0.005 ± 0.019^a	0.002 ± 0.001^b
Fe:Ca	12.61	**3.83e-4**	4.85 ± 1.85^a	4.22 ± 1.68^b	9.83	**0.002**	4.25 ± 1.59^b	4.89 ± 1.96^a
Co:Ca	14.21	**1.64e-4**	0.002 ± 6.44e-4^a	0.001 ± 5.79e-4^b	8.74	**0.003**	0.001 ± 5.83e-4^b	0.002 ± 6.78e-4^a
Ni:Ca	0.624	0.430	2.46e-4 ± 1.98e-4^a	2.59e-4 ± 1.90e-4^a	0.806	0.369	2.56e-4 ± 2.05e-4^a	3.00e-4 ± 2.56e-4^a
Cu:Ca	0.043	0.837	3.13e-4 ± 1.69e-4^a	2.84e-4 ± 1.03e-4^a	7.04	**0.008**	2.45e-4 ± 7.68e-5^b	2.82e-4 ± 1.06e-4^a
Zn:Ca	2.45	0.117	0.001 ± 0.005^a	7.20e-4 ± 0.002^a	0.114	0.736	4.42e-4 ± 8.61e-4^a	3.59e-4 ± 6.26e-4^a
Sr:Ca	3.37	0.066	5.64 ± 1.14^a	5.94 ± 1.27^a	1.24	0.265	4.96 ± 1.50^a	5.43 ± 2.15^a
Ba:Ca	21.07	**4.44e-6**	0.052 ± 0.038^b	0.074 ± 0.039^a	9.51	**0.002**	0.071 ± 0.063^b	0.091 ± 0.055^a
Pb:Ca	31.74	**1.76e-8**	9.35e-5 ± 8.56e-5^a	4.13e-5 ± 7.64e-5^b	1.03	0.310	5.25e-5 ± 7.41e-5^a	6.45e-5 ± 9.73e-5^a

A Tabela 19 apresenta a comparação entre rio Doce e São Mateus durante os períodos chuvoso e seco de 2025. No período chuvoso, observaram-se diferenças significativas para Li:Ca, B:Ca, Na:Ca, Al:Ca, P:Ca, Mn:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca, com destaque para os maiores valores de Li:Ca, Al:Ca, P:Ca, Fe:Ca, Co:Ca e Pb:Ca no rio Doce e de Na:Ca, Mn:Ca e Ba:Ca em São Mateus. No período seco, diferenças significativas foram registradas para B:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, P:Ca, Mn:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Cu:Ca e Ba:Ca. Em ambos os períodos, Ni:Ca, Zn:Ca e Sr:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 20: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão (Período chuvoso/2026)			
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Itapemirim**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	139.19	**5.64e-30**	2.18e-4 ± 2.49e-4^{b}	4.29e-4 ± 9.21e-5^{a}	9.69e-5 ± 8.45e-5^{b}	1.18e-4 ± 9.58e-5^{b}
B:Ca	65.92	**3.20e-14**	0.002 ± 0.002^{bc}	7.27e-4 ± 2.94e-4^{c}	0.010 ± 0.009^{a}	0.002 ± 0.003^{b}
Na:Ca	30.47	**1.10e-6**	4.12 ± 0.57^{b}	4.99 ± 0.79^{a}	5.03 ± 1.09^{a}	4.79 ± 0.83^{a}
Mg:Ca	9.58	**0.023**	0.026 ± 0.005^{ab}	0.028 ± 0.005^{b}	0.159 ± 0.501^{a}	0.026 ± 0.005^{ab}
Al:Ca	37.39	**3.80e-8**	0.026 ± 0.040^{ab}	0.019 ± 0.036^{b}	0.101 ± 0.156^{a}	0.019 ± 0.035^{b}
P:Ca	54.29	**9.73e-12**	0.219 ± 0.065^{bc}	0.252 ± 0.115^{ab}	0.251 ± 0.068^{a}	0.204 ± 0.109^{c}
Cr:Ca	0.707	0.872	4.57e-4 ± 2.59e-4^{a}	4.79e-4 ± 2.65e-4^{a}	4.67e-4 ± 2.63e-4^{a}	5.02e-4 ± 2.87e-4^{a}
Mn:Ca	56.05	**4.10e-12**	0.001 ± 7.65e-4^{bc}	9.76e-4 ± 5.58e-4^{c}	0.009 ± 0.027^{a}	0.002 ± 0.001^{b}
Fe:Ca	88.61	**4.37e-19**	3.22 ± 0.88^{a}	2.40 ± 0.67^{b}	1.60 ± 0.12^{c}	4.36 ± 2.06^{a}
Co:Ca	94.10	**2.88e-20**	0.001 ± 3.90e-4^{a}	8.40e-4 ± 3.00e-4^{b}	4.82e-4 ± 9.19e-5^{c}	0.002 ± 7.50e-4^{a}
Ni:Ca	0.190	0.979	2.57e-4 ± 1.62e-4^{a}	2.45e-4 ± 1.50e-4^{a}	2.43e-4 ± 1.61e-4^{a}	2.53e-4 ± 1.55e-4^{a}
Cu:Ca	6.28	0.099	5.29e-4 ± 6.20e-4^{a}	3.07e-4 ± 1.21e-4^{a}	4.17e-4 ± 3.84e-4^{a}	3.42e-4 ± 3.72e-4^{a}
Zn:Ca	26.32	**8.18e-6**	9.01e-4 ± 0.001^{ab}	3.99e-4 ± 5.49e-4^{b}	0.001 ± 0.002^{a}	4.09e-4 ± 6.77e-4^{b}
Sr:Ca	120.45	**6.18e-26**	3.99 ± 2.57^{c}	8.39 ± 0.99^{a}	6.27 ± 2.01^{b}	5.53 ± 1.86^{c}
Ba:Ca	163.60	**3.07e-35**	0.043 ± 0.030^{b}	0.007 ± 0.002^{c}	0.163 ± 0.131^{a}	0.045 ± 0.035^{b}
Pb:Ca	17.66	**5.17e-4**	4.52e-5 ± 7.75e-5^{a}	2.13e-5 ± 3.39e-5^{b}	3.33e-5 ± 6.77e-5^{ab}	4.21e-5 ± 7.72e-5^{a}

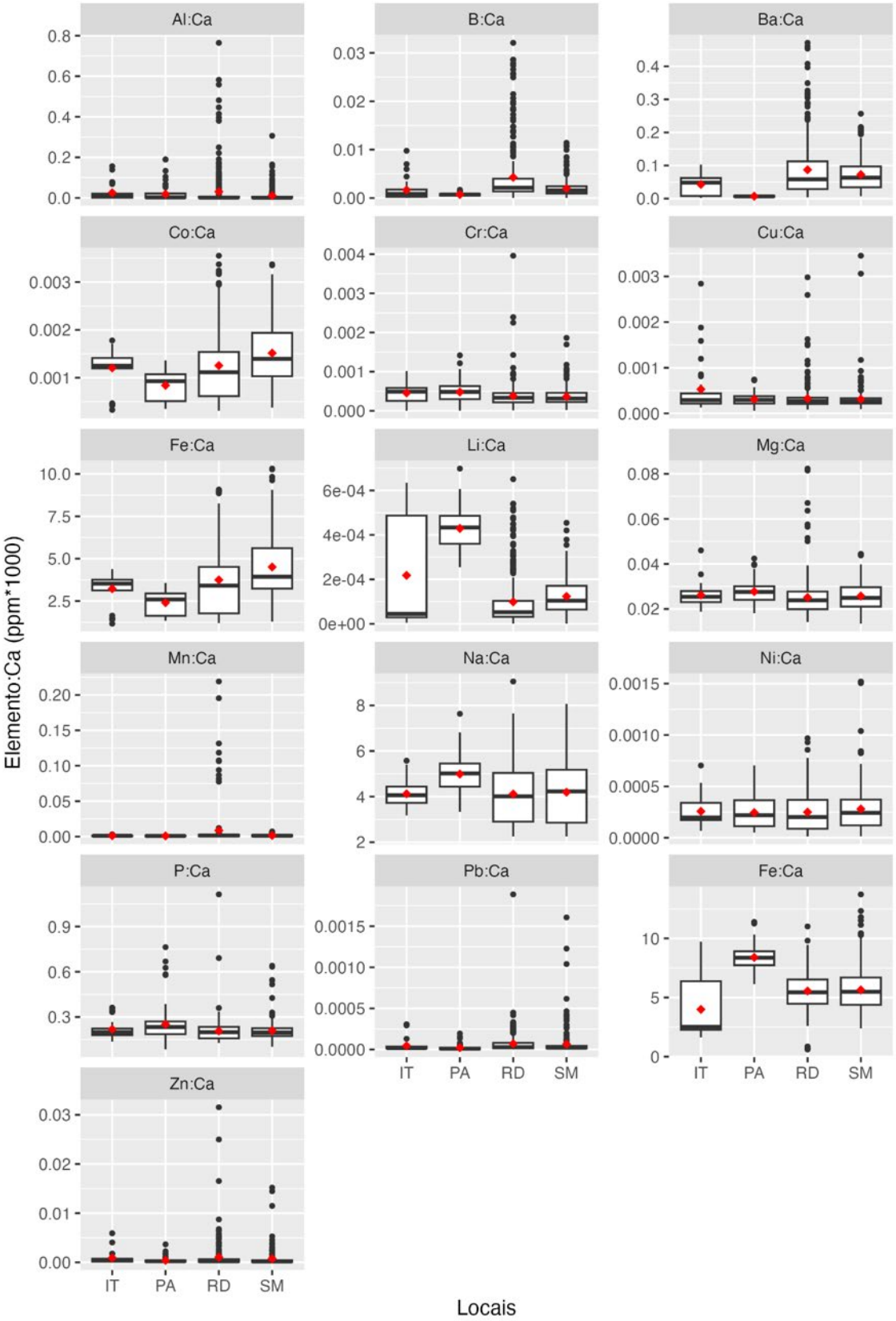
A Tabela 20 apresenta diferenças significativas entre os estuários durante o período chuvoso de 2026 para a maior parte das razões Elemento:Ca. Os contrastes mais evidentes foram observados para Li:Ca, B:Ca, Na:Ca, P:Ca, Mn:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Sr:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca. Itapemirim destacou-se pelos maiores valores de Li:Ca, Al:Ca, Co:Ca, Ni:Ca, Zn:Ca, Sr:Ca e Pb:Ca, enquanto o rio Doce apresentou as maiores concentrações de B:Ca, Mg:Ca e Ba:Ca. São Mateus apresentou maiores valores de Fe:Ca e Cr:Ca, ao passo que Piraquê-Açu se destacou para Mn:Ca. Em contrapartida, Cr:Ca, Cu:Ca e Ni:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 21: Microquímica de otólitos Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Centropomus parallelus* coletados no estuário do rio Doce e São Mateus durante as campanhas Chuvosa 2025, Seca 2025 e Chuvosa 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	rio Doce					Rio São Mateus				
	Média ± desvio padrão					Média ± desvio padrão				
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Chuvosa 25**	**Seca 25**	**Chuvosa 26**	**X^2**	**p valor**	**Chuvosa 25**	**Seca 25**	**Chuvosa 26**
Li:Ca	12.09	**0.002**	6.76e-5 ± 8.01e-5^{b}	9.69e-5 ± 8.45e-5^{a}	1.31e-4 ± 1.58e-4^{a}	26.83	**1.49e-6**	1.54e-4 ± 7.81e-5^{a}	1.18e-4 ± 9.58e-5^{b}	9.77e-5 ± 6.50e-5^{b}
B:Ca	42.46	**6.02e-10**	0.002 ± 9.20e-4^{b}	0.010 ± 0.009^{a}	0.003 ± 0.002^{b}	49.67	**1.64e-11**	0.002 ± 9.83e-4^{a}	0.002 ± 0.003^{ab}	0.001 ± 5.62e-4^{b}
Na:Ca	55.29	**9.85e-13**	3.71 ± 0.98^{b}	5.03 ± 1.09^{a}	3.84 ± 1.36^{b}	25.21	**3.35e-6**	4.15 ± 1.19^{b}	4.79 ± 0.829^{a}	3.82 ± 1.56^{c}
Mg:Ca	10.15	**0.006**	0.024 ± 0.007^{b}	0.159 ± 0.501^{a}	0.027 ± 0.012^{b}	25.97	**2.29e-6**	0.023 ± 0.006^{b}	0.026 ± 0.005^{a}	0.028 ± 0.006^{a}
Al:Ca	77.19	**1.73e-17**	0.007 ± 0.029^{b}	0.101 ± 0.156^{a}	0.003 ± 0.005^{b}	3.91	0.141	0.012 ± 0.028^{a}	0.019 ± 0.035^{a}	0.003 ± 0.007^{a}
P:Ca	73.10	**1.34e-16**	0.208 ± 0.174^{b}	0.251 ± 0.068^{a}	0.193 ± 0.042^{b}	33.87	**4.42e-8**	0.203 ± 0.037^{b}	0.204 ± 0.109^{b}	0.220 ± 0.044^{a}
Cr:Ca	20.62	**3.33e-5**	3.22e-4 ± 2.39e-4^{b}	4.56e-4 ± 2.77e-4^{a}	3.69e-4 ± 4.40e-4^{b}	38.69	**3.98e-9**	3.24e-4 ± 1.51e-4^{b}	5.02e-4 ± 2.87e-4^{a}	3.00e-4 ± 2.12e-4^{b}
Mn:Ca	28.12	**7.85e-7**	0.002 ± 0.002^{b}	0.009 ± 0.027^{a}	0.011 ± 0.040^{a}	5.77	0.056	0.001 ± 0.002^{a}	0.002 ± 0.001^{a}	0.002 ± 0.001^{a}
Fe:Ca	167.51	**4.23e-37**	4.85 ± 1.85^{a}	1.60 ± 0.12^{c}	4.25 ± 1.59^{b}	10.73	**0.005**	4.22 ± 1.68^{b}	4.36 ± 2.06^{ab}	4.89 ± 1.96^{a}
Co:Ca	167.69	**3.86e-37**	0.002 ± 6.69e-4^{a}	4.82e-4 ± 9.19e-5^{c}	0.001 ± 5.83e-4^{b}	11.55	**0.003**	0.001 ± 5.79e-4^{b}	0.002 ± 7.50e-4^{ab}	0.002 ± 6.78e-4^{a}
Ni:Ca	0.362	0.834	2.46e-4 ± 1.98e-4^{a}	2.43e-4 ± 1.61e-4^{a}	2.56e-4 ± 2.05e-4^{a}	0.362	0.835	2.59e-4 ± 1.90e-4^{a}	2.53e-4 ± 1.55e-4^{a}	2.84e-4 ± 2.14e-4^{a}
Cu:Ca	28.52	**6.40e-7**	3.40e-4 ± 3.15e-4^{b}	4.17e-4 ± 3.84e-4^{a}	2.45e-4 ± 7.68e-5^{c}	0.152	0.927	3.18e-4 ± 3.41e-4^{a}	3.42e-4 ± 3.72e-4^{a}	2.84e-4 ± 1.05e-4^{a}
Zn:Ca	29.80	**3.39e-7**	0.003 ± 0.009^{a}	0.001 ± 0.002^{b}	4.42e-4 ± 8.61e-4^{b}	4.67	0.097	8.76e-4 ± 0.002^{a}	9.85e-4 ± 0.003^{a}	3.59e-4 ± 6.26e-4^{a}
Sr:Ca	45.48	**1.33e-10**	5.64 ± 1.14^{c}	6.27 ± 2.01^{a}	4.92 ± 1.55^{b}	12.14	**0.002**	5.94 ± 1.27^{a}	5.53 ± 1.86^{b}	5.43 ± 2.15^{b}
Ba:Ca	48.09	**3.61e-11**	0.052 ± 0.038^{b}	0.163 ± 0.131^{a}	0.071 ± 0.063^{b}	45.12	**1.59e-10**	0.074 ± 0.039^{ab}	0.045 ± 0.035^{b}	0.091 ± 0.055^{a}
Pb:Ca	44.80	**1.87e-10**	9.35e-5 ± 8.56e-5^{a}	3.33e-5 ± 6.77e-5^{c}	5.25e-5 ± 7.41e-5^{b}	8.97	**0.011**	5.91e-5 ± 1.83e-4^{a}	7.38e-5 ± 2.00e-4^{a}	6.45e-5 ± 9.73e-5^{a}

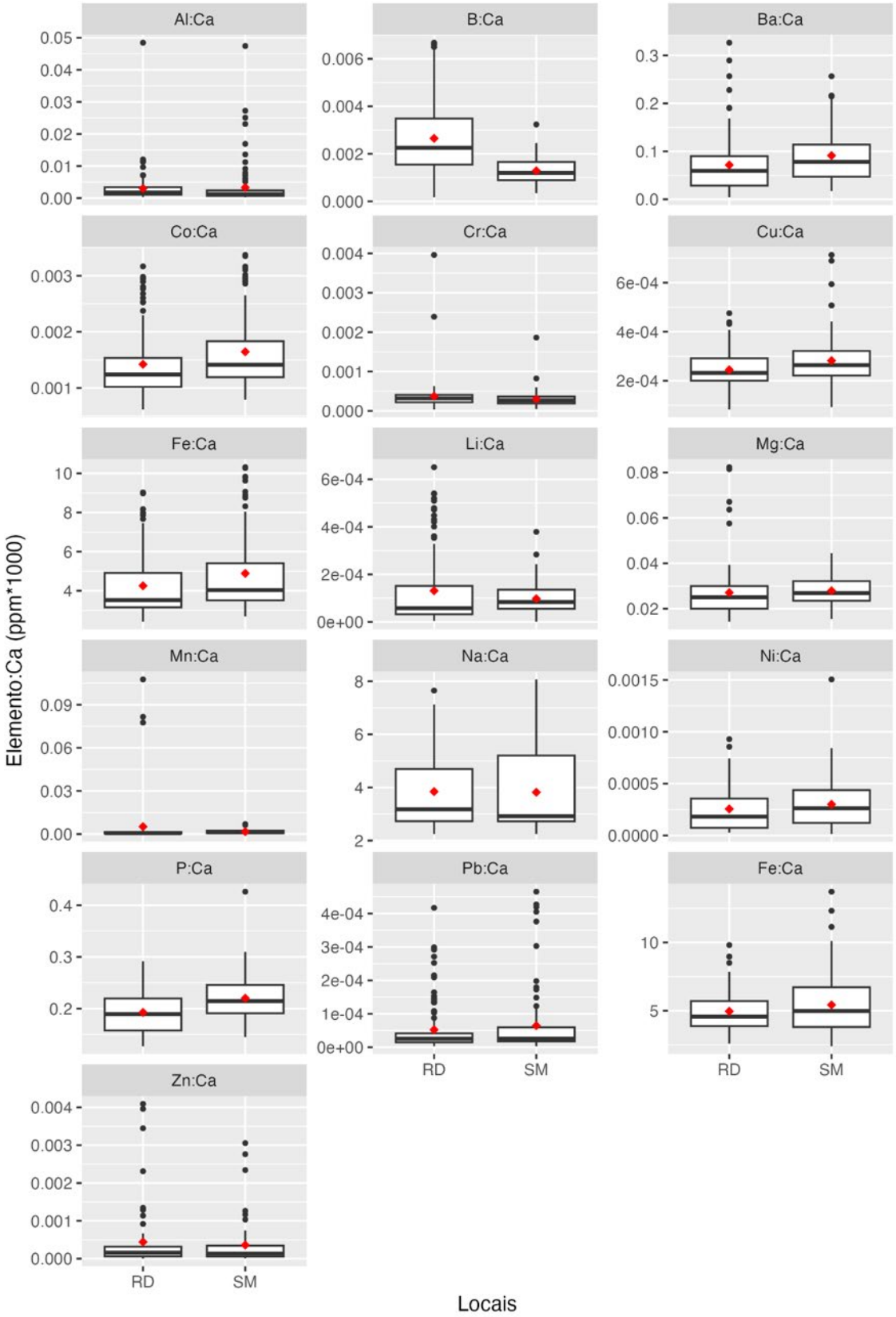
A Tabela 21 apresenta a variação temporal das razões Elemento:Ca nos estuários rio Doce e São Mateus entre as campanhas de amostragem. No rio Doce, observaram-se diferenças significativas para Li:Ca, B:Ca, Na:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, P:Ca, Cr:Ca, Mn:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Cu:Ca, Zn:Ca, Sr:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca, enquanto Ni:Ca não apresentou variação significativa entre as campanhas. Em São Mateus, diferenças temporais foram registradas para Li:Ca, B:Ca, Na:Ca, Mg:Ca, P:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Sr:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca, ao passo que Al:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, Cu:Ca e Zn:Ca permaneceram sem diferenças significativas ao longo das campanhas.

Figura 52: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. Ponto vermelho representa a média. IT = Rio Itapemirim, PA = Piraquê-Açu, RD = rio Doce e SM = Rio São Mateus.



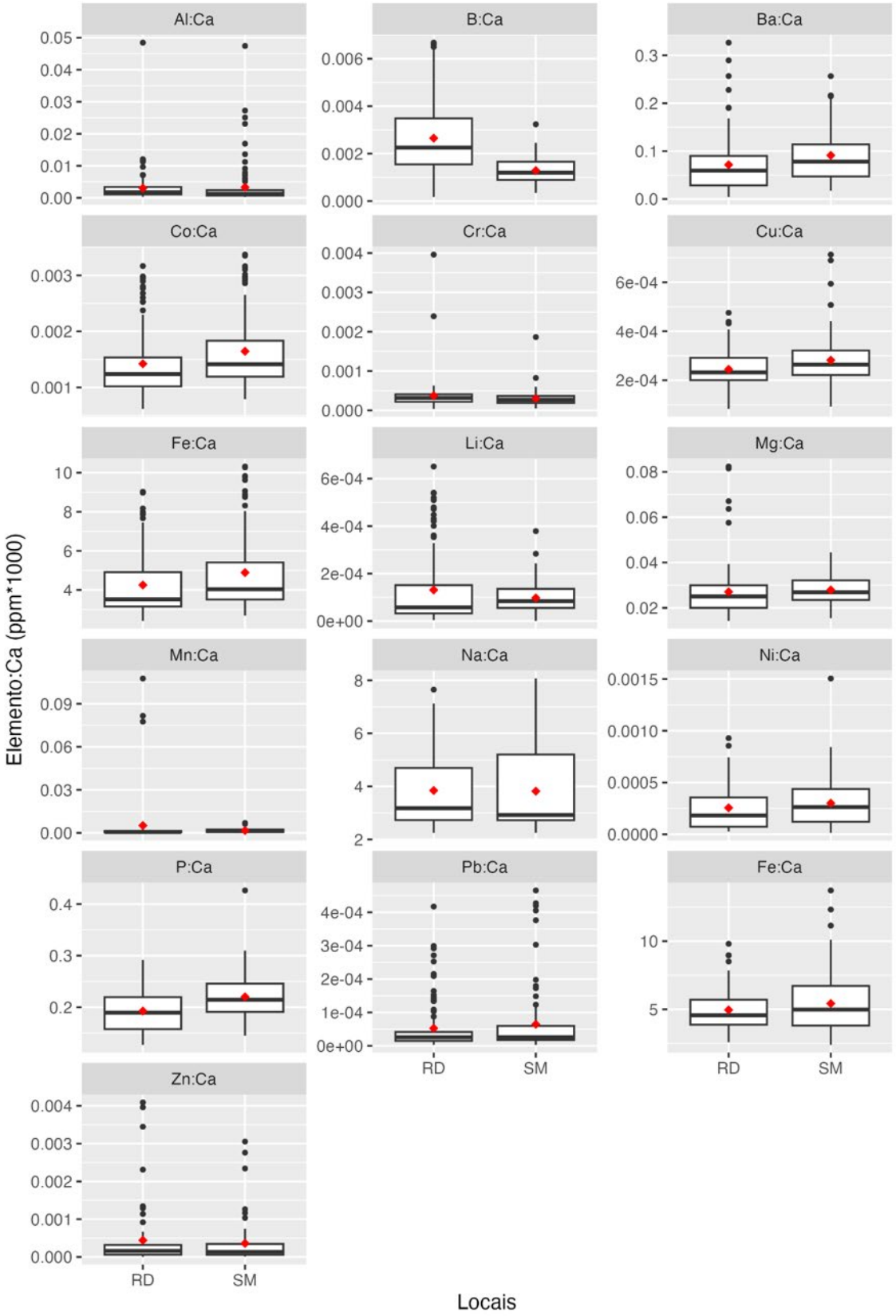
A Figura 52 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre os estuários. Observam-se maiores valores de Ba:Ca no rio Doce, enquanto Sr:Ca apresenta maiores valores em Piraquê-Açu. Li:Ca também exibe maiores valores em Piraquê-Açu, ao passo que Co:Ca, Fe:Ca e Pb:Ca apresentam maiores concentrações em São Mateus. Itapemirim destaca-se pelos maiores valores de Mg:Ca, enquanto Na:Ca apresenta valores mais elevados em Piraquê-Açu. Para Al:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca e Zn:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições dos estuários, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes, principalmente Al:Ca, Ba:Ca, Mn:Ca e Zn:Ca.

Figura 53: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, durante o período chuvoso de 2025. Ponto vermelho representa a média.



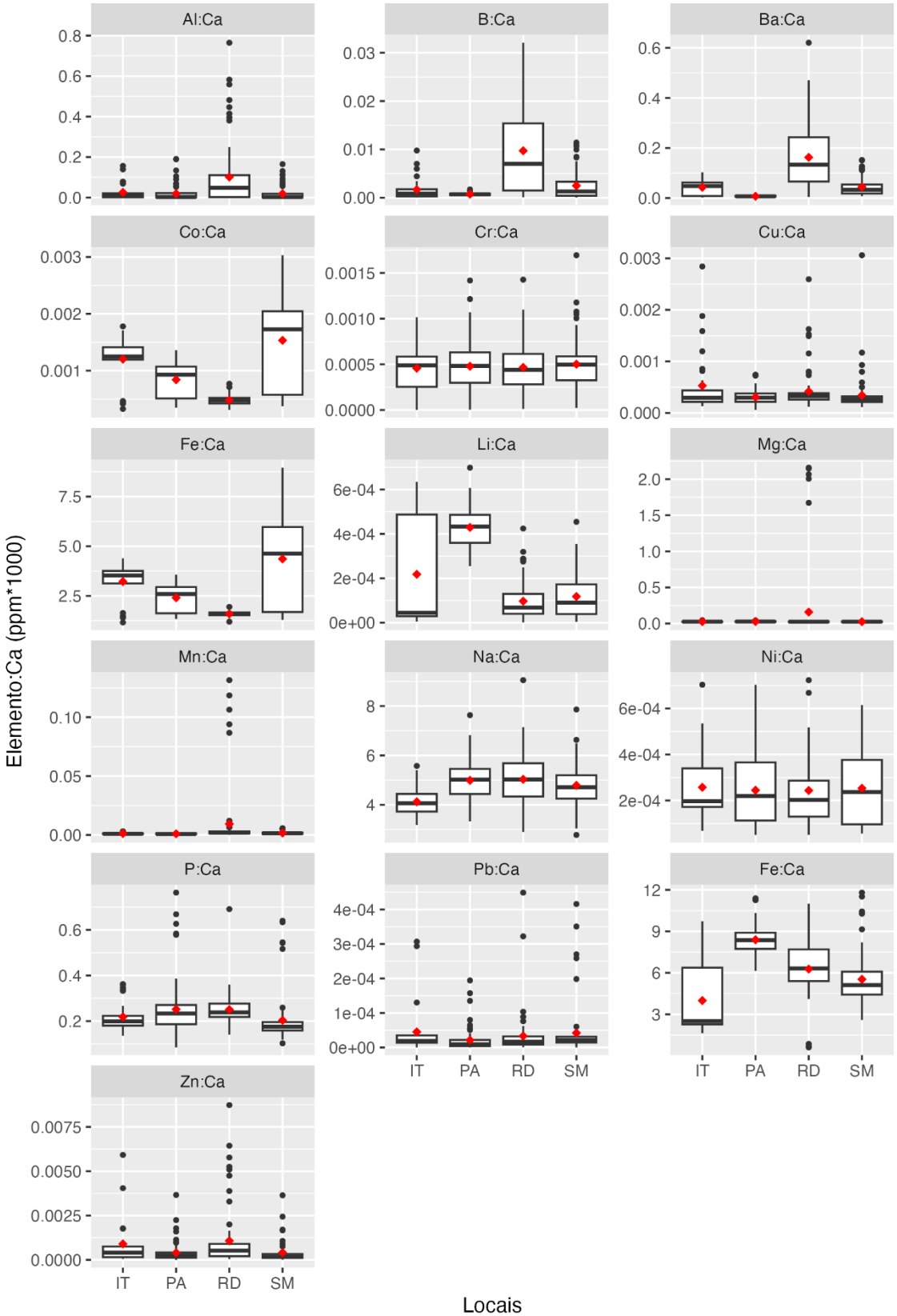
A Figura 53 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre rio Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2025. Observam-se maiores valores de Ba:Ca, Co:Ca, Fe:Ca, Cu:Ca e P:Ca em São Mateus, enquanto B:Ca e Li:Ca apresentam maiores valores no rio Doce. Para Al:Ca, Cr:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca, Zn:Ca e Sr:Ca, as distribuições apresentam maior sobreposição entre os estuários, embora alguns elementos exibam elevada dispersão e valores discrepantes.

Figura 54: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, durante o período seco de 2025. Ponto vermelho representa a média.



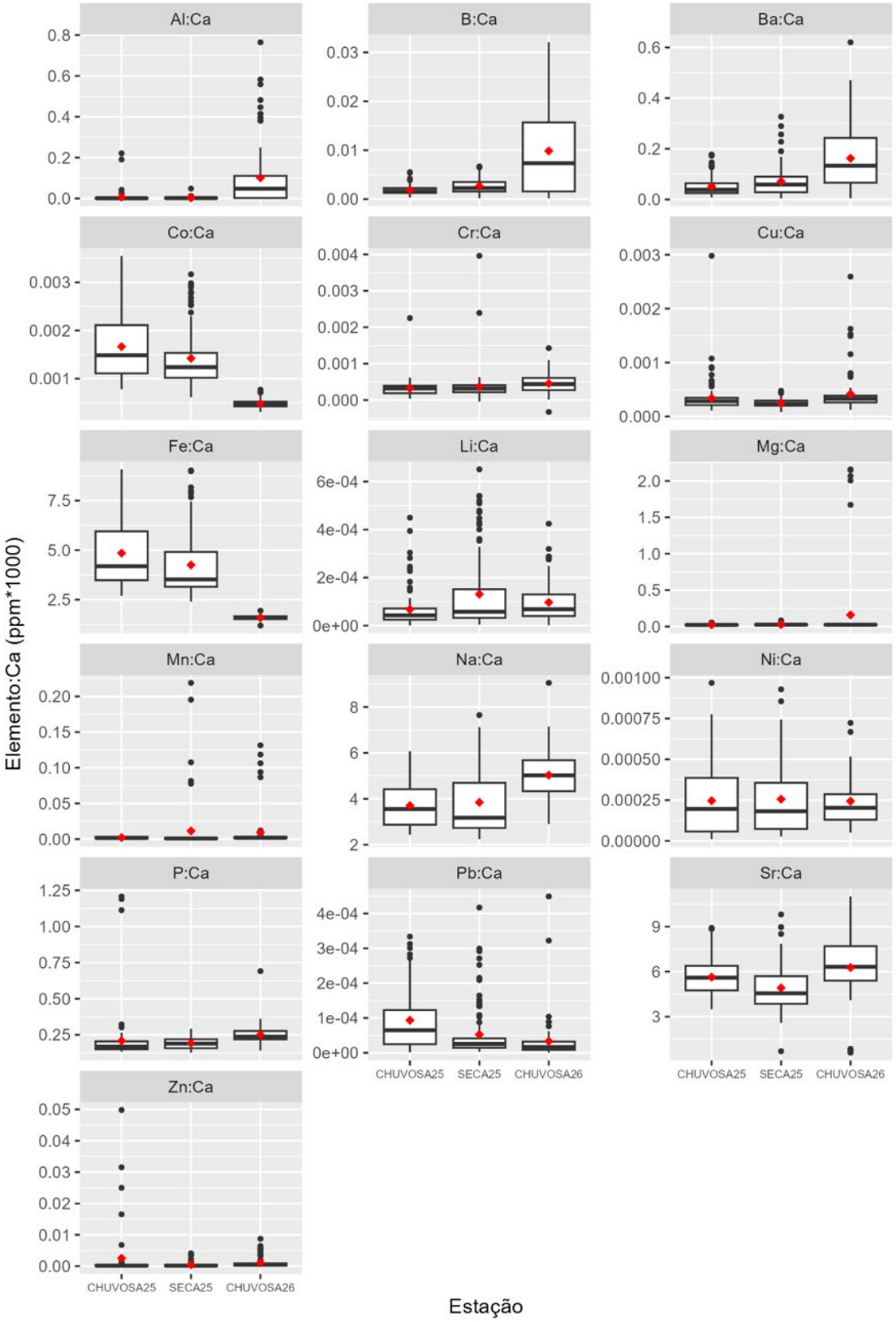
A Figura 54 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre rio Doce e São Mateus durante o período seco de 2025. Observam-se maiores valores de Ba:Ca, Co:Ca, Fe:Ca, Cu:Ca, Mg:Ca, P:Ca e Ni:Ca em São Mateus, enquanto B:Ca e Li:Ca apresentam maiores valores no rio Doce. Para Al:Ca, Cr:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, Pb:Ca, Zn:Ca e Sr:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições dos estuários, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes, principalmente Ba:Ca, Fe:Ca e Pb:Ca.

Figura 55: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, durante o período chuvoso de 2026. Ponto vermelho representa a média.



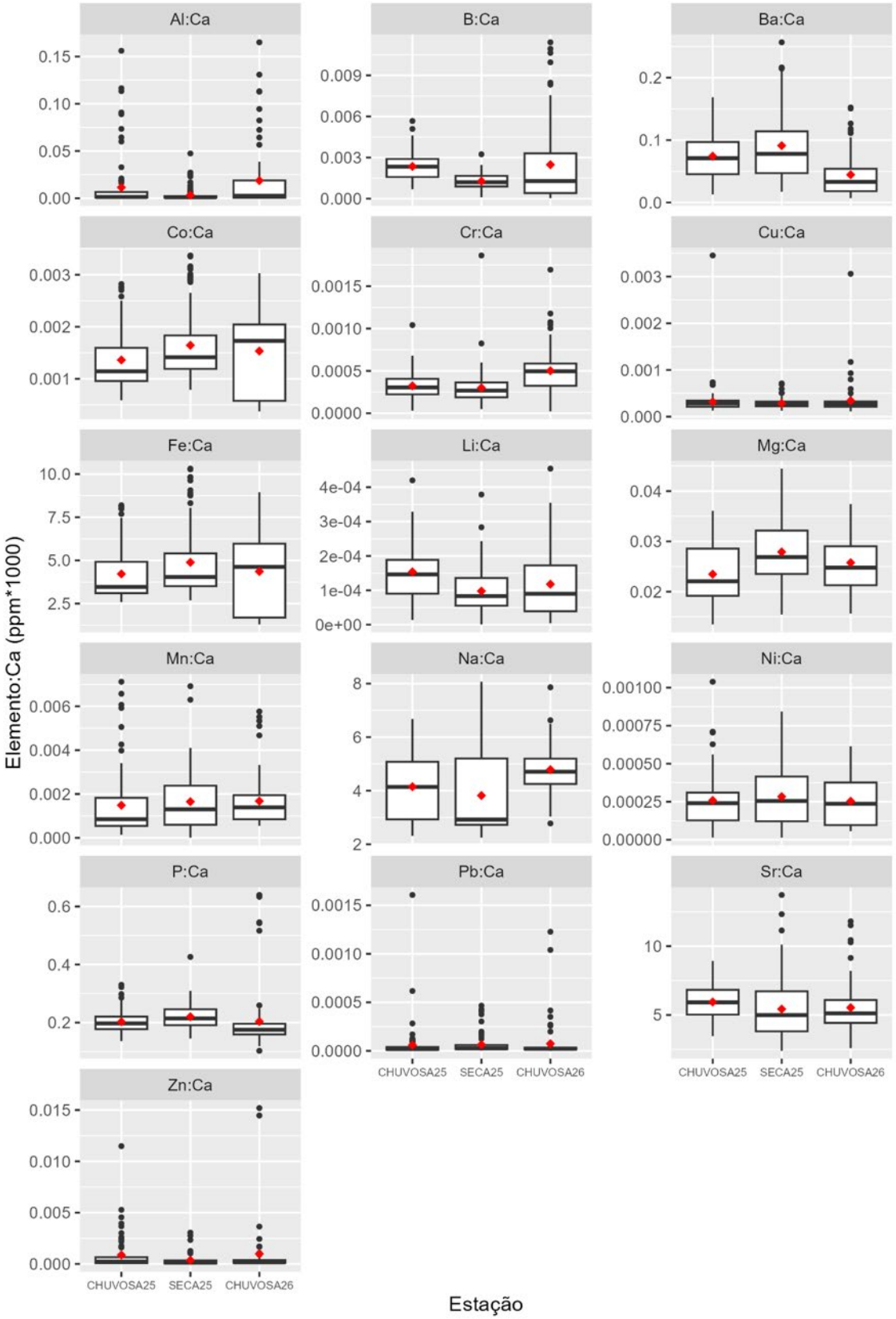
A Figura 55 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre os estuários durante o período chuvoso de 2026. Observam-se maiores valores de Ba:Ca no rio Doce, enquanto Li:Ca, Na:Ca e Sr:Ca apresentam maiores valores em Piraquê-Açu. São Mateus destaca-se pelos maiores valores de Co:Ca e Fe:Ca, ao passo que Itapemirim apresenta maiores concentrações de Mg:Ca. Para Al:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições dos estuários, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes, principalmente Al:Ca, Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca e Zn:Ca.

Figura 56: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, Centropomus parallelus, provenientes do rio Doce (RD). Ponto vermelho representa a média.



A Figura 56 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as campanhas de amostragem no rio Doce. Observam-se maiores valores de B:Ca e Ba:Ca na campanha chuvosa de 2026, enquanto Na:Ca e Fe:Ca também apresentam valores mais elevados nesse período. Li:Ca apresenta valores ligeiramente maiores na seca de 2025, ao passo que Co:Ca exibe maiores valores na chuvosa de 2025 e na seca de 2025, com redução na chuvosa de 2026. Para Al:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca, Pb:Ca, Sr:Ca e Zn:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as campanhas, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes.

Figura 57: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) do robalo-peva, Centropomus parallelus, provenientes do Rio São Mateus (SM). Ponto vermelho representa a média.



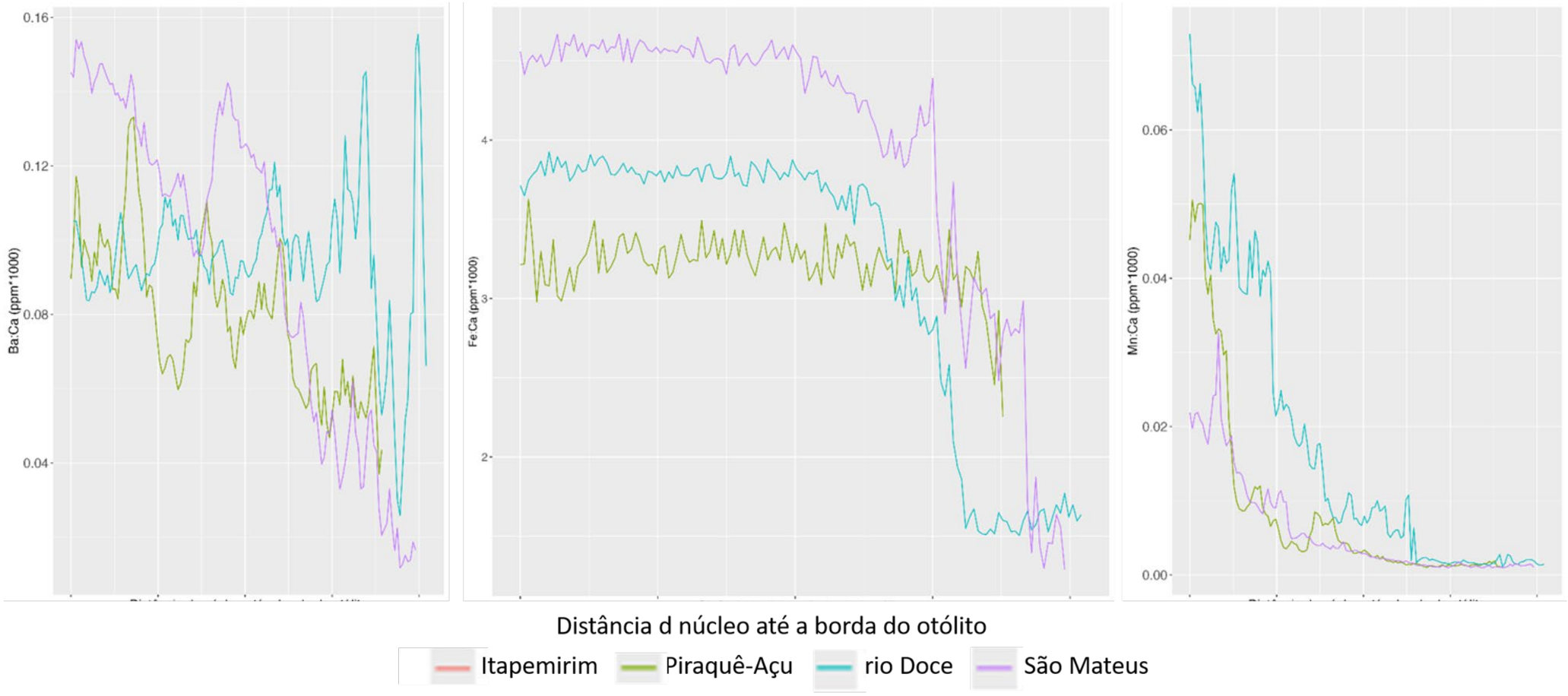
A Figura 57 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as campanhas de amostragem em São Mateus. Observam-se maiores valores de B:Ca e Fe:Ca na campanha chuvosa de 2026, enquanto Ba:Ca apresenta menores valores nesse período e maiores valores na seca de 2025. Mg:Ca também exibe aumento gradual, com maiores valores na seca de 2025, ao passo que Na:Ca apresenta redução nesse período. Para Al:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Li:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca, Pb:Ca, Sr:Ca e Zn:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições das campanhas, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes, principalmente Al:Ca, Ba:Ca, Fe:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca.

A microquímica dos otólitos evidenciou diferenças consistentes entre os estuários avaliados, indicando que a composição elementar refletiu características próprias de cada ambiente. Entre os elementos analisados, Ba:Ca e Sr:Ca apresentaram os contrastes espaciais mais evidentes, sendo acompanhados por variações em Al:Ca, Mn:Ca, Fe:Ca e Co:Ca, que também contribuíram para a diferenciação entre os sistemas estuarinos. Em conjunto, esses resultados demonstram que a composição química dos otólitos foi capaz de discriminar os estuários, registrando diferenças na disponibilidade ambiental dos elementos.

Apesar das variações observadas entre as campanhas de amostragem, os padrões espaciais permaneceram relativamente estáveis ao longo do período de estudo. As diferenças registradas durante os períodos chuvoso e seco de 2025 foram mantidas no período chuvoso de 2026, embora diferentes elementos tenham apresentado oscilações temporais em cada estuário. Esse comportamento indica que a sazonalidade influenciou a composição elementar dos otólitos, mas não alterou o padrão geral de diferenciação entre os ambientes, sugerindo que as características locais exerceram maior influência sobre a incorporação dos elementos do que as variações entre campanhas.

Esse comportamento é compatível com a dinâmica dos ambientes estuarinos, onde alterações na descarga fluvial, na salinidade e no transporte de sedimentos modificam a disponibilidade dos elementos dissolvidos e particulados ao longo do ano (ELSDON; GILLANDERS, 2005; CAMPANA, 1999). A persistência dos contrastes observados para Ba:Ca e Sr:Ca entre as diferentes campanhas reforça o potencial dessas razões como marcadores de diferenças ambientais entre estuários. Assim, os resultados demonstram que a microquímica de otólitos constitui uma ferramenta eficiente para investigar a heterogeneidade ambiental e reconstruir o histórico de utilização dos habitats por *C. parallelus*.

Figura 58: Microquímica de otólito. Fase II (2025-2026): Perfis cronológicos das razões médias Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca nos otólitos de Centropomus parallelus adultos coletados nos estuários dos rios Itapemirim, Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus. O eixo horizontal representa a distância do núcleo à borda do otólito, enquanto o eixo vertical representa as razões elemento:Ca.



Os perfis cronológicos médios dos otólitos de *C. parallelus* evidenciaram diferenças na incorporação de Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca ao longo da ontogenia e entre os estuários analisados (Figura 58). As razões Ba:Ca apresentaram valores relativamente associado à influência de água doce, ao aporte continental e a gradientes de salinidade, esse padrão sugere elevados nas porções internas dos otólitos, especialmente nos indivíduos de São Mateus e do rio Doce, seguidos por oscilações ao longo do perfil e tendência de redução em direção à borda. Como o bário é amplamente diferenças na exposição dos indivíduos a ambientes com distintas contribuições fluviais ao longo da vida (CAMPANA, 1999; ELSDON & GILLANDERS, 2005; HÜSSY *et al*., 2020; SOETH *et al*., 2020).

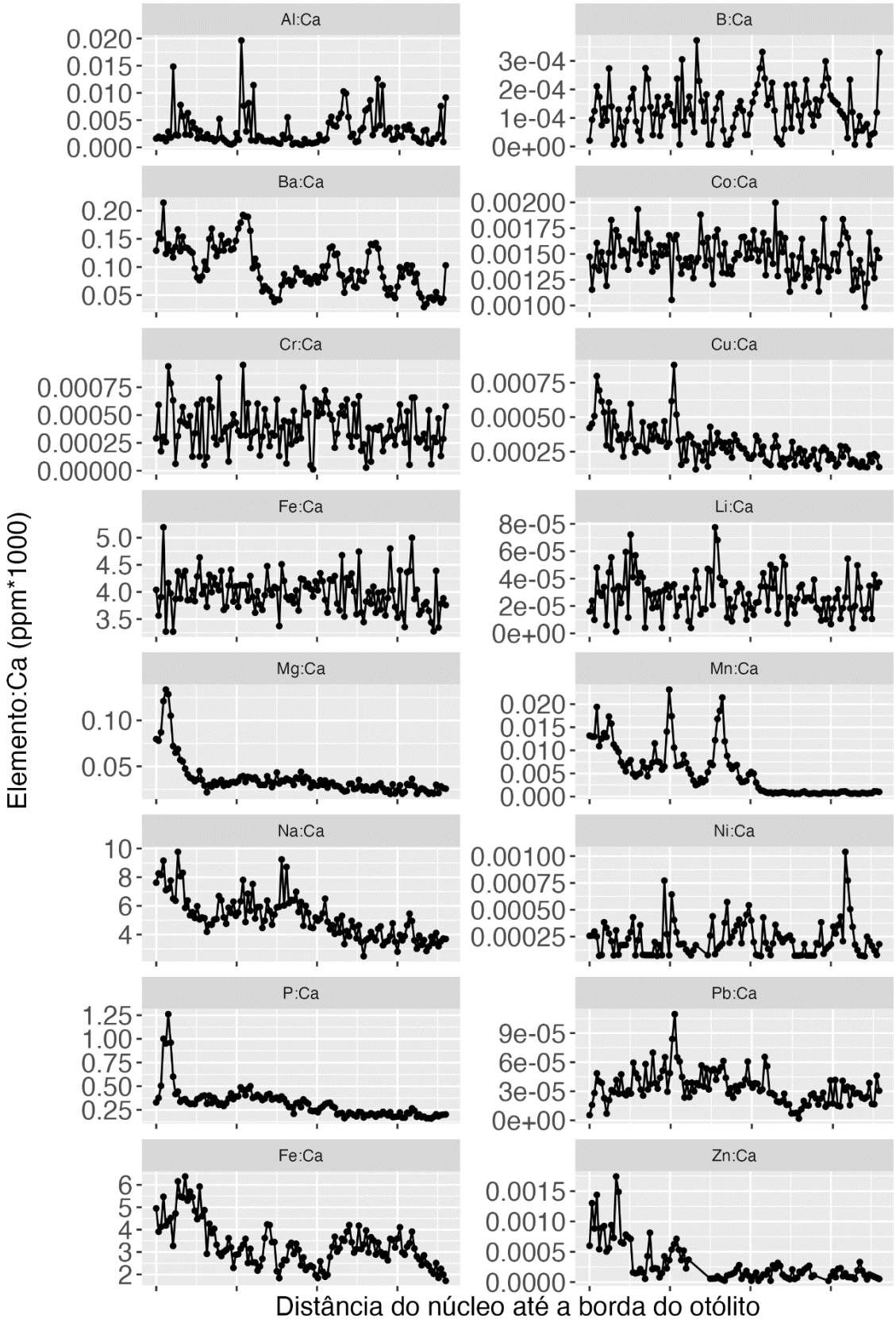
Para Fe:Ca, observou-se separação entre os estuários durante grande parte do perfil, com maiores valores em São Mateus e rio Doce, seguida por redução nas porções mais externas dos otólitos. Essa variação pode estar relacionada à disponibilidade ambiental do ferro e às condições redox dos habitats utilizados, uma vez que a biodisponibilidade desse elemento pode aumentar sob condições de menor oxigenação, além de também estar associada a processos fisiológicos e à matriz orgânica do otólito (LIMBURG *et al*., 2015; HÜSSY *et al*., 2020).

Já as razões Mn:Ca apresentaram concentrações elevadas próximas ao núcleo e declínio acentuado em direção às porções externas em todos os estuários, padrão frequentemente relacionado à transferência materna e aos estágios iniciais de desenvolvimento, embora também possa refletir mudanças ontogenéticas e ambientais associadas à disponibilidade do manganês (BROPHY *et al*., 2004; LIMBURG *et al*., 2015; STURROCK *et al*., 2015; HÜSSY *et al*., 2020; SOETH *et al*., 2020).

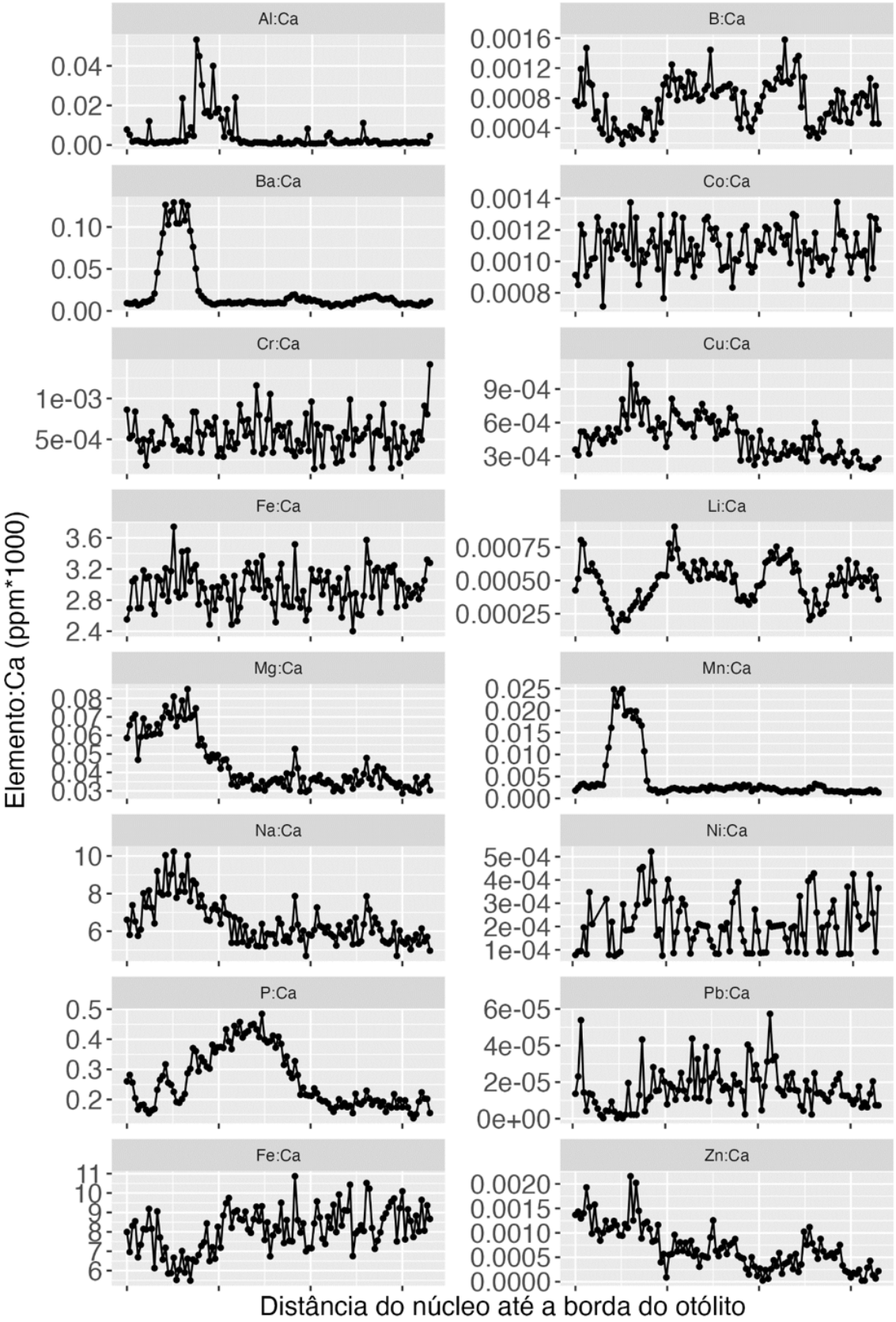
Em conjunto, os perfis sugerem que a composição química dos otólitos de *C. parallelus* registra mudanças ambientais e ontogenéticas ao longo da história de vida dos indivíduos, refletindo a interação entre disponibilidade ambiental, fisiologia e uso de habitat.

Figura 59: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de Centropomus parallelus. A: Itapemirim; B: Piraquê-Açu; C: rio Doce; D: São Mateus.

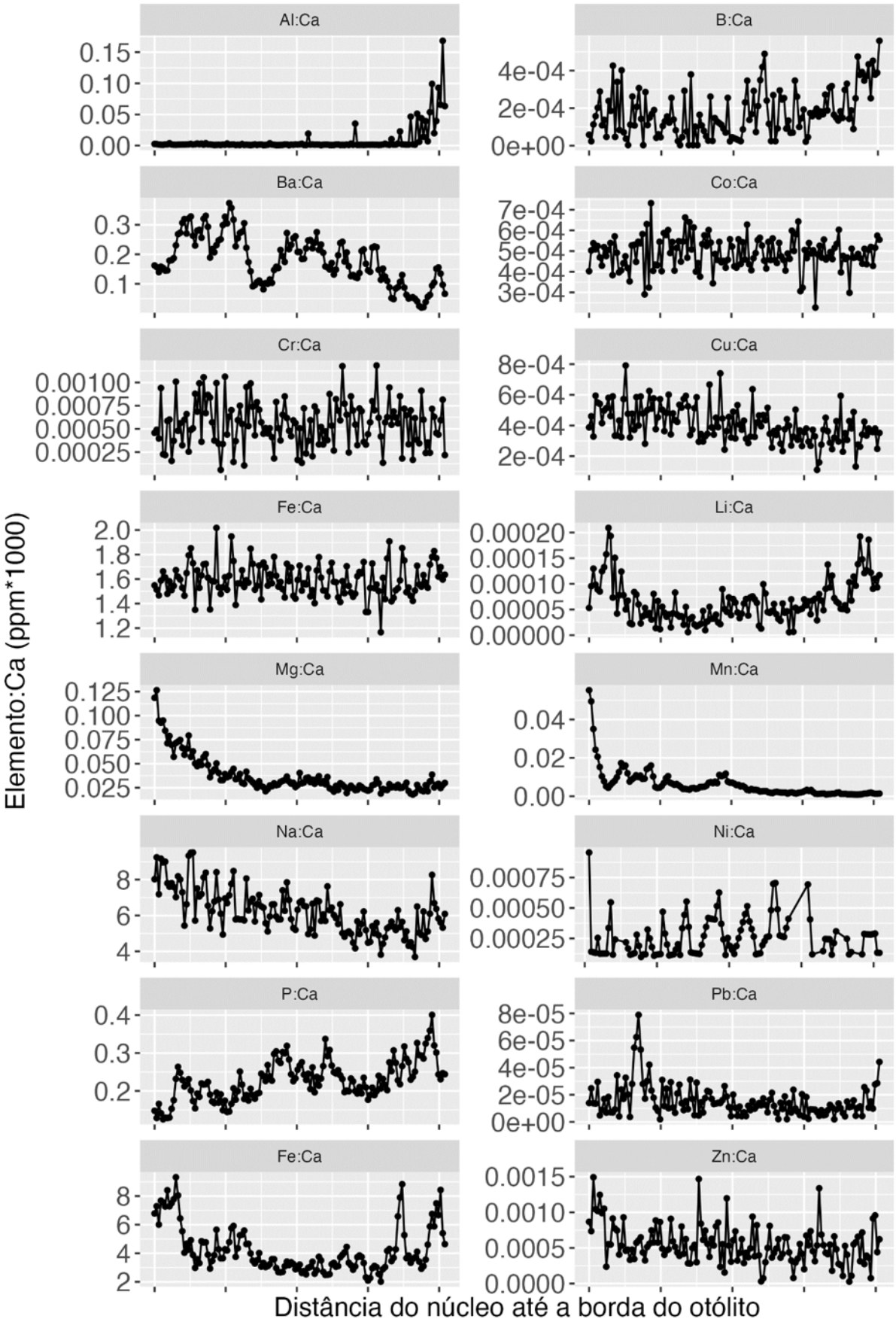
A)



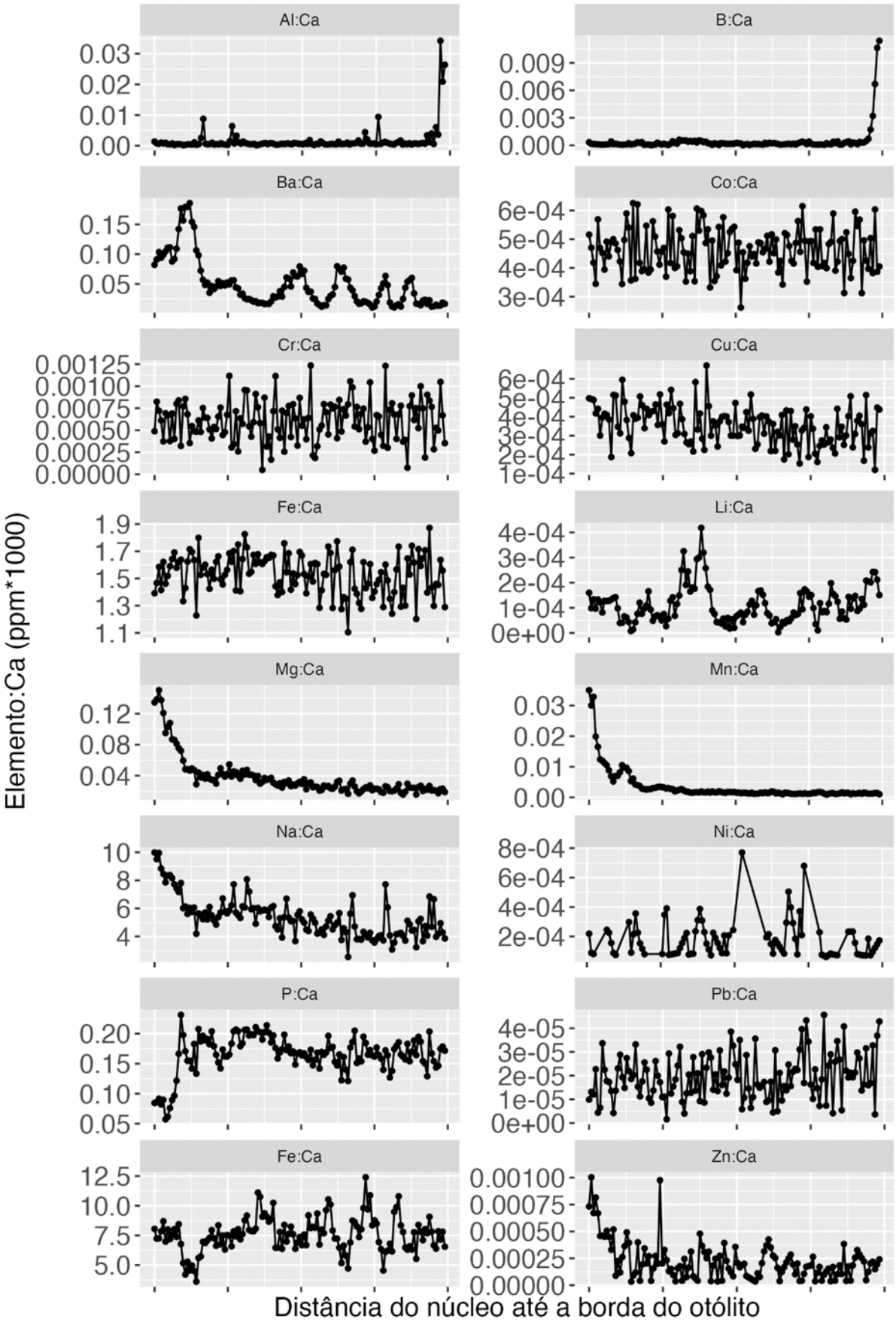
B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Fe:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Fe:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

D)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Fe:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

A Figura 59 apresenta os perfis cronológicos das razões Elemento:Ca, entre o núcleo e a borda dos otólitos, dos maiores exemplares coletados em cada estuário. No Itapemirim, o perfil de Ba:Ca apresenta oscilações ao longo de todo o perfil, com tendência de redução em direção à borda. Mg:Ca, Mn:Ca, Na:Ca, P:Ca e Sr:Ca exibem valores mais elevados próximos ao núcleo, seguidos por redução e estabilização ao longo do perfil. Cu:Ca também apresenta redução gradual em direção à borda, enquanto Pb:Ca apresenta aumento na porção inicial, seguido por relativa estabilidade. Al:Ca, B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Ni:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem tendência visual consistente (Figura 59A). Os perfis de Al:Ca, Ba:Ca e Mn:Ca apresentam picos acentuados na porção inicial do perfil no Piraquê-Açu, seguidos por redução e estabilização em direção à borda. Mg:Ca e Na:Ca também exibem redução gradual ao longo do perfil, enquanto P:Ca aumenta até a região intermediária e diminui na porção final. Cu:Ca apresenta discreta redução em direção à borda, ao passo que Sr:Ca exibe tendência de aumento ao longo do perfil. B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem tendência visual consistente (Figura 59B). No Doce, os perfis cronológicos de Al:Ca apresenta aumento acentuado próximo à borda, enquanto Ba:Ca exibe oscilações ao longo de todo o perfil, com tendência de redução em direção à borda. Mg:Ca, Mn:Ca e Na:Ca apresentam maiores valores próximos ao núcleo, seguidos por redução e estabilização ao longo do perfil. P:Ca apresenta aumento gradual em direção à borda, enquanto Li:Ca exibe redução na porção inicial, seguida por aumento próximo à borda. Cu:Ca apresenta discreta redução ao longo do perfil, ao passo que Sr:Ca apresenta oscilações durante todo o transecto. B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem tendência visual consistente (Figura 59C). Já no São Mateus, os perfis de Al:Ca e B:Ca permanecem em baixos valores durante grande parte do perfil, apresentando aumento acentuado próximo à borda. Ba:Ca apresenta oscilações ao longo do perfil, com tendência de redução em direção à borda. Mg:Ca, Mn:Ca e Na:Ca exibem maiores valores próximos ao núcleo, seguidos por redução e estabilização ao longo do perfil. P:Ca apresenta aumento na porção inicial, mantendo valores relativamente estáveis até a borda, enquanto Cu:Ca apresenta discreta redução ao longo do perfil. Sr:Ca exibe oscilações ao longo de todo o transecto, sem tendência visual definida. Co:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem um padrão consistente (Figura 59D).

Os perfis cronológicos evidenciaram que a composição química dos otólitos variou ao longo da ontogenia dos indivíduos, refletindo diferenças tanto entre os estuários quanto durante a história de vida. Entre os elementos avaliados, Ba:Ca, Mn:Ca, Mg:Ca, Na:Ca e P:Ca apresentaram as mudanças mais evidentes ao longo dos perfis, enquanto os demais elementos exibiram oscilações de menor magnitude ou padrões menos consistentes. As diferenças observadas entre os indivíduos reforçam que a incorporação dos elementos aos otólitos resulta da interação entre processos ambientais, fisiológicos e ontogenéticos. As variações registradas para Ba:Ca são compatíveis com mudanças na influência de águas continentais ao longo da vida dos indivíduos, comportamento frequentemente descrito para espécies estuarinas (ELSDON; GILLANDERS, 2005; CAMPANA, 1999). Da mesma forma, as elevadas concentrações de Mn:Ca nas porções iniciais dos perfis concordam com estudos que relacionam esse elemento tanto à transferência materna durante os estágios iniciais do desenvolvimento quanto às condições ambientais associadas à disponibilidade de oxigênio dissolvido (STURROCK *et al.*, 2015;

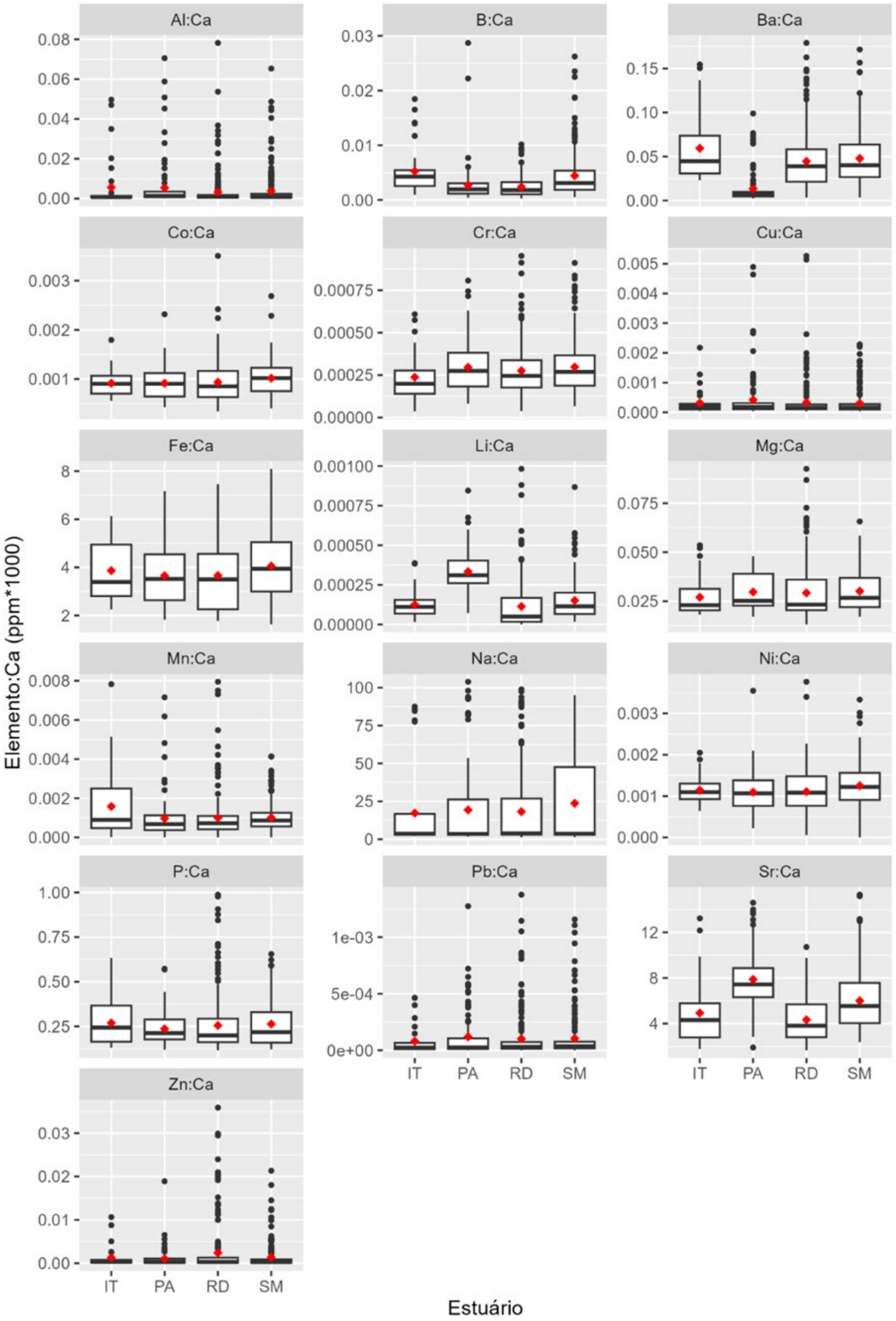
LIMBURG *et al*., 2015). As tendências observadas para Mg:Ca e Na:Ca também são compatíveis com alterações fisiológicas e ontogenéticas relacionadas ao metabolismo e aos processos de biomineralização dos otólitos (CAMPANA, 1999; HÜSSY *et al*., 2020), enquanto as variações de P:Ca podem refletir mudanças na deposição da matriz orgânica durante o crescimento (HÜSSY *et al*., 2020). Em conjunto, os perfis cronológicos complementam os resultados obtidos pela microquímica da borda dos otólitos, demonstrando que a composição elementar registrada integra informações sobre a história ambiental e o desenvolvimento dos indivíduos ao longo da ontogenia (CAMPANA, 1999; HÜSSY *et al*., 2020). Esses resultados reforçam o potencial da microquímica de otólitos para reconstruir históricos ambientais e compreender a utilização dos habitats estuarinos por *C. parallelus*.

Tabela 22: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Média ± 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, Piraquê-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 ± SD						
	Itapemirim	Piraquê-Açu	rio Doce	São Mateus	X^2	*df*	*p valor*
Al:Ca	0.005 ± 0.01^{b}	0.005 ± 0.01^{a}	0.003 ± 0.008^{b}	0.003 ± 0.008^{b}	9.44	3	**0.024**
B:Ca	0.005 ± 0.004^{a}	0.002 ± 0.003b	0.002 ± 0.001^{b}	0.004 ± 0.004^{a}	72.49	3	**0.000**
Ba:Ca	0.05 ± 0.03^{a}	0.01 ± 0.01^{b}	0.04 ± 0.03^{a}	0.04 ± 0.03^{a}	150.07	3	**0.000**
Co:Ca	0.0009 ± 0.0002^{ab}	0.0009 ± 0.0003^{b}	0.0009 ± 0.0003^{b}	0.001 ± 0.0003^{a}	12.31	3	**0.006**
Cr:Ca	0.0002 ± 0.0001	0.0002 ± 0.0001	0.0002 ± 0.0001	0.0002 ± 0.0001	7.75	3	0.051
Cu:Ca	0.0003 ± 0.0004	0.0004 ± 0.0007	0.0003 ± 0.0006	0.0003 ± 0.0004	1.80	3	0.616
Fe:Ca	3.86 ± 1.16^{ab}	3.65 ± 1.31^{ab}	3.66 ± 1.40^{b}	4.05 ± 1.37^{a}	12.32	3	**0.006**
Li:Ca	0.0001 ± 0.00008^{bc}	0.0003 ±0.0001^{a}	0.0001 ± 0.0001^{c}	0.0001 ± 0.0001^{b}	174.71	3	**0.000**
Mg:Ca	0.02 ± 0.009^{b}	0.02 ± 0.008^{a}	0.02 ± 0.01^{b}	0.03 ± 0.01^{a}	13.16	3	**0.004**
Mn:Ca	0.001 ± 0.001^{a}	0.0009 ± 0.001^{b}	0.0009 ± 0.001^{ab}	0.001 ± 0.0007^{a}	10.34	3	**0.016**
Na:Ca	17.24 ± 27.24	19.31 ± 27.43	18.19 ± 25.91	23.71 ± 28.59	0.74	3	0.865
Ni:Ca	0.001 ± 0.0003^{ab}	0.001 ± 0.0004^{b}	0.001 ± 0.0005^{b}	0.001 ± 0.0005^{a}	11.16	3	**0.011**
P:Ca	0.26 ± 0.12	0.23 ± 0.08	0.25 ± 0.15	0.26 ± 0.12	2.78	3	0.427
Pb:Ca	0.00008 ± 0.0001	0.0001 ± 0.0002	0.0001 ± 0.0002	0.0001 ± 0.0001	2.38	3	0.497
Sr:Ca	4.92 ± 2.77^{c}	7.87 ± 2.54^{a}	4.33 ± 1.91^{c}	5.99 ± 2.54^{b}	137.40	3	**0.000**
Zn:Ca	0.001 ± 0.002	0.001 ± 0.002	0.002 ± 0.005	0.001 ± 0.003	1.36	3	0.714

Através das razões elemento:Ca da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) da carapeba, *Eugerres brasilianus*, representa o local de onde os exemplares foram coletados. Foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Itapemirim, Piraquê-Açu, 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 rio Doce (Tabela 22).

Figura 60: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Box-plot da distribuição (mediana e quartis) das razões Elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da carapeva, *Eugerres brasilianus* coletados nos rios Itapemirim, Piraquê-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 60.

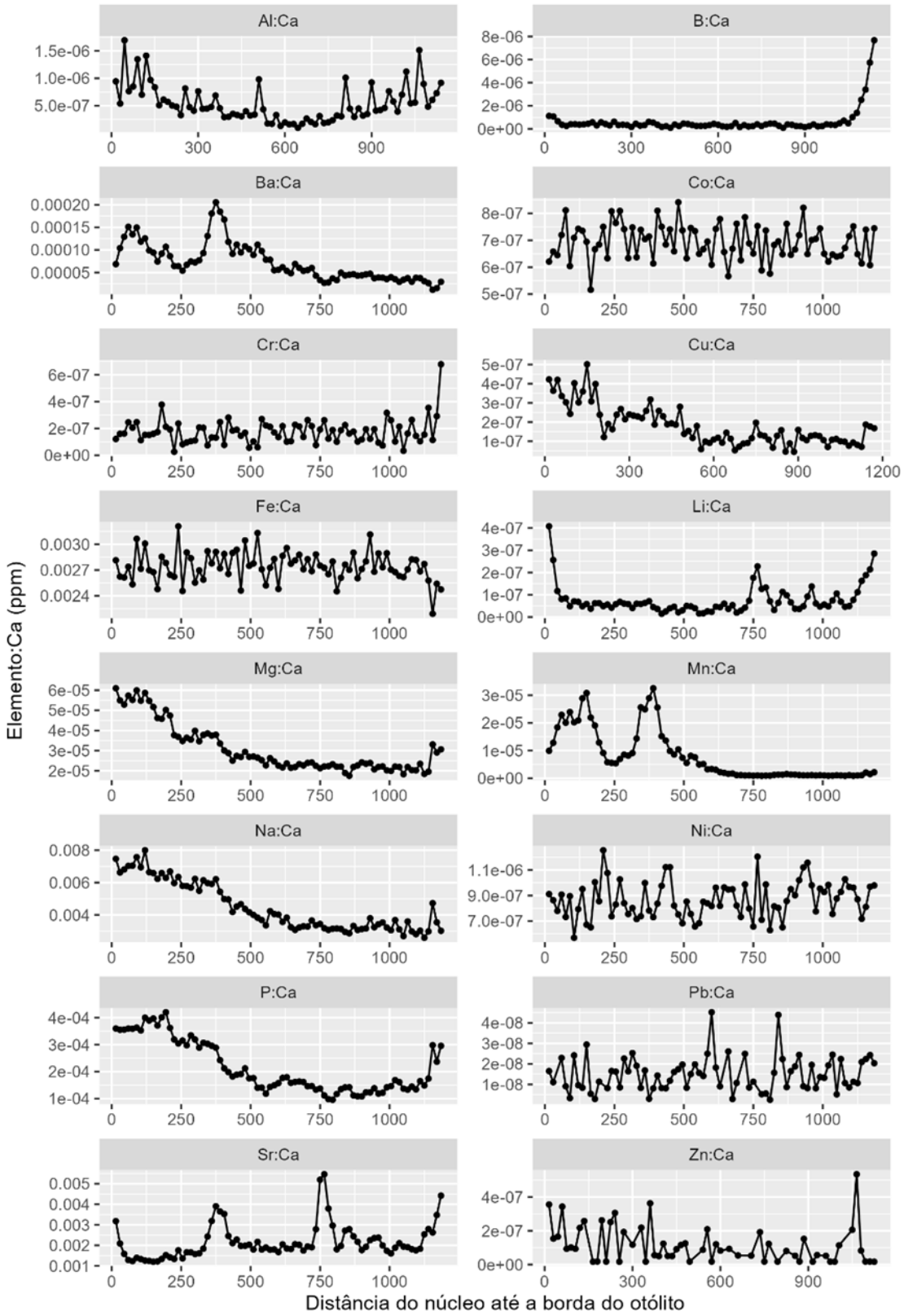
Figura 61: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Perfil cronológico da razão média elemento:Ca nos otólitos de *Eugerres brasilianus* coletados nos estuários dos Rios Doce, Piraquê-Açu, Itapemirim e São Mateus



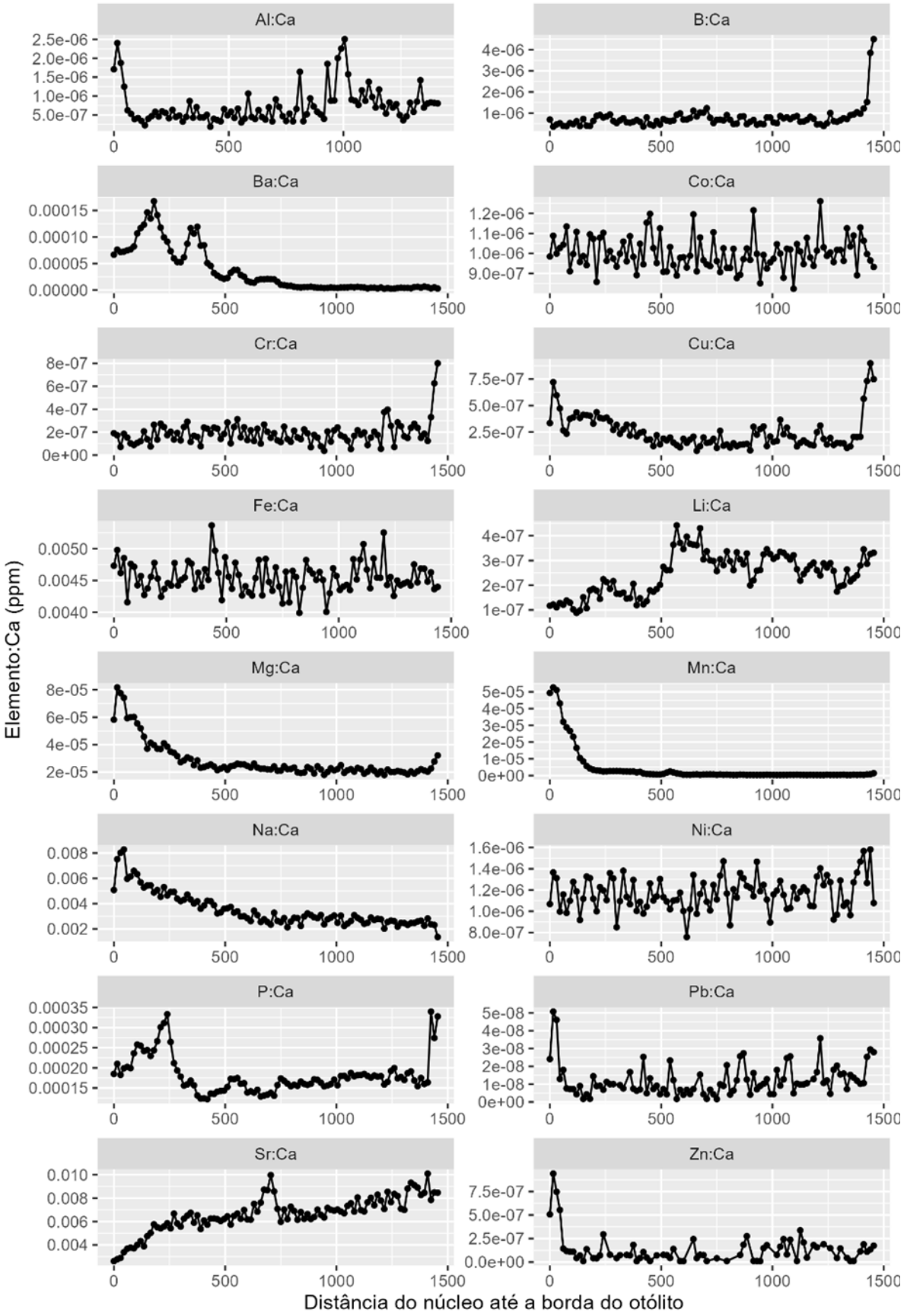
Através das análises de dados obtidos entre outubro de 2022 e janeiro de 2024, foi possível observar através dos perfis cronológicos dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) 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 brasilianus*, 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 61). 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 62: Microquímica de otólitos. Fase II (2022-2024): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de *Eugerres brasilianus*. A: Itapemirim (CT = 394 mm), B: Piraquê-Açu, C: rio Doce e D: São Mateus.

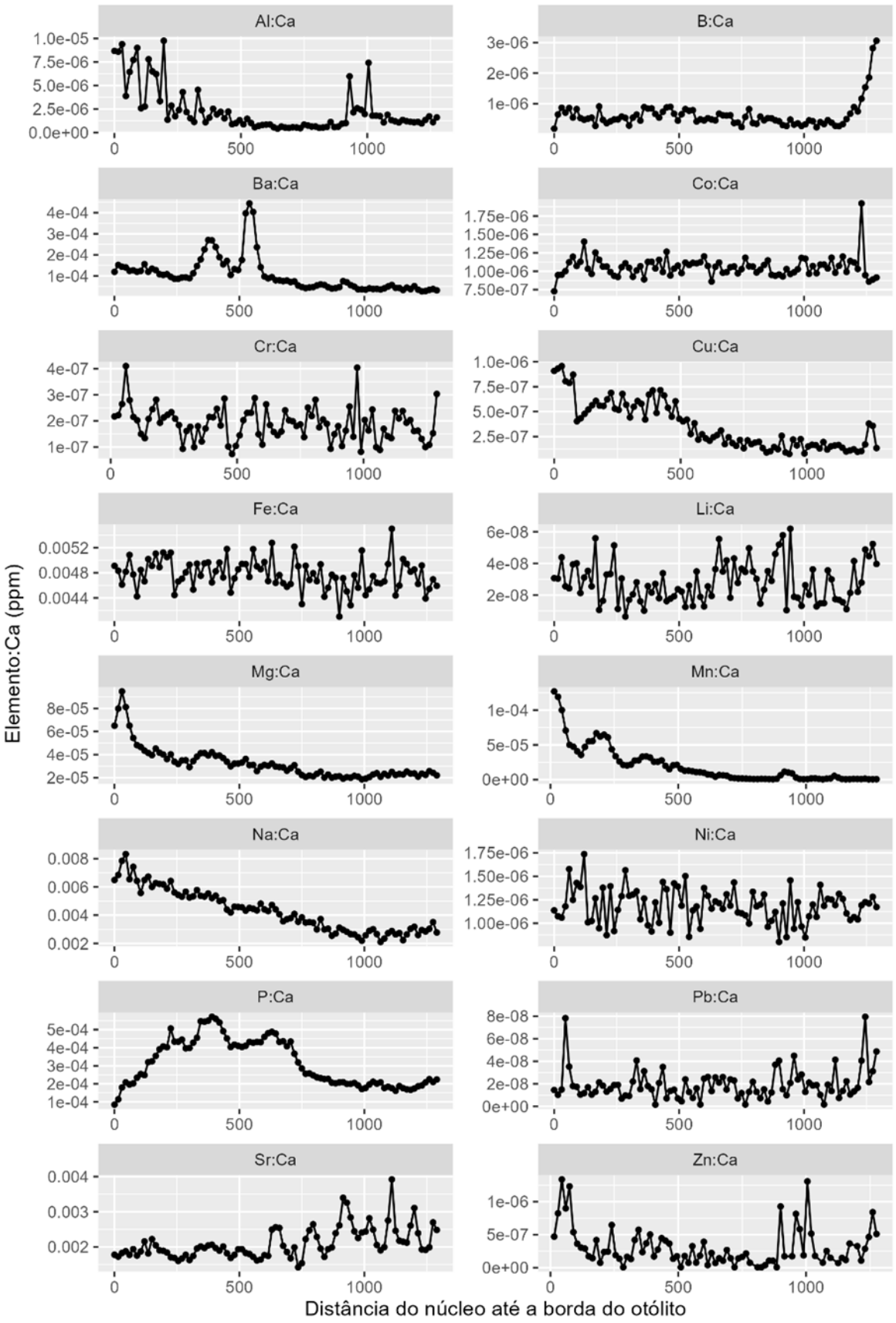
A)



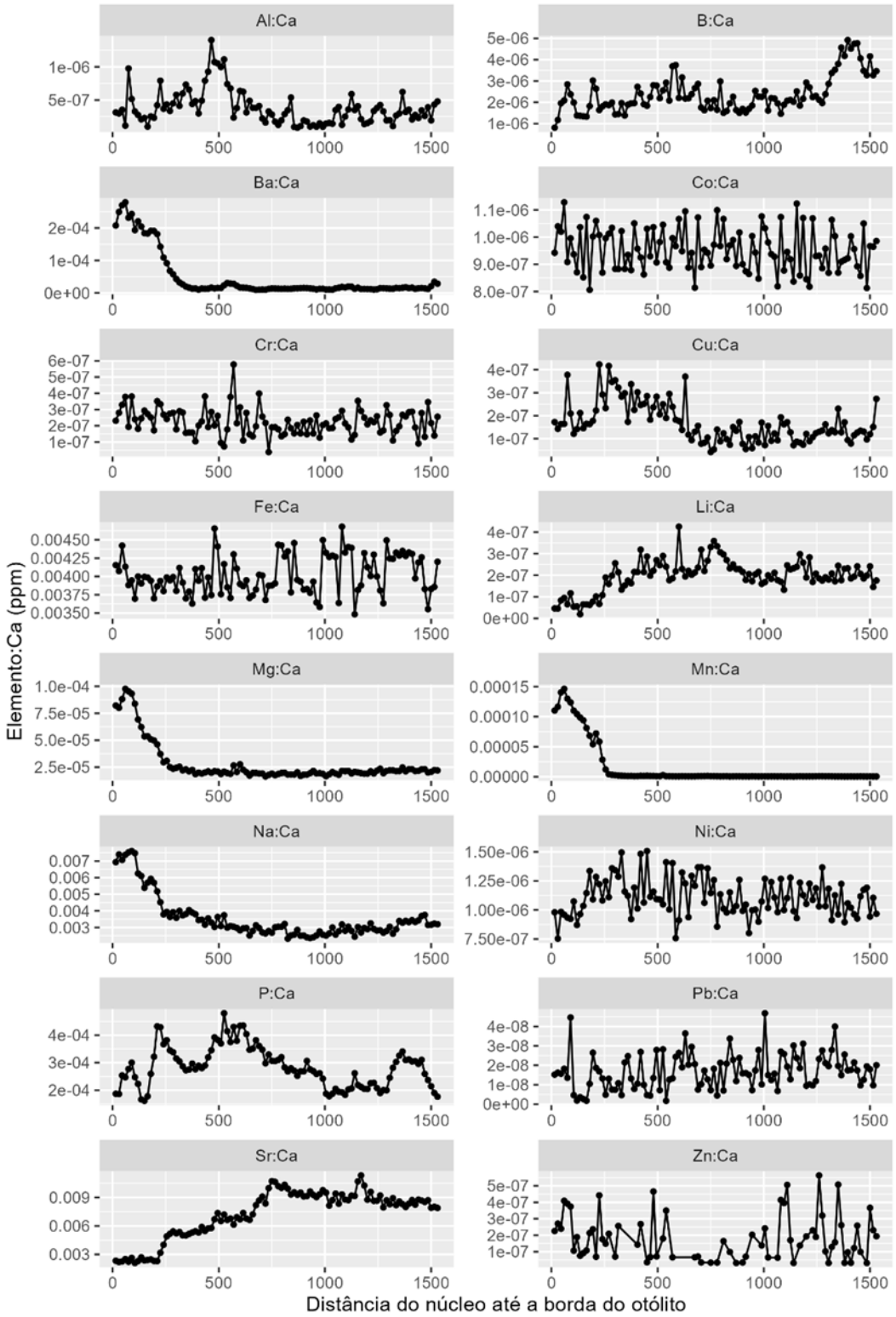
B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm)
Distância do núcleo até a borda do otólito

D)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm)
Distância do núcleo até a borda do otólito

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 tendencia 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 Itapemirim. 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^2 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_2), fisiológicas (*eg.* crescimento, período reprodutivo) e comportamentais (*eg.* migração, alimentação) (HÜSSY *et al.*, 2020).

Tabela 23: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Eugerres brasilianus* coletados nos estuários dos rios Piraquê-Açu, Doce e São Mateus durante os anos de 2025 e 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão		
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	215.04	**2.02e-47**	4.55e-4 ± 7.22e-4^{a}	1.25e-4 ± 1.10e-4^{c}	2.75e-4 ± 2.12e-4^{b}
B:Ca	32.59	**8.40e-8**	0.003 ± 0.005^{b}	0.003 ± 0.003^{a}	0.002 ± 0.002^{c}
Na:Ca	0.106	0.948	3.25 ± 1.79^{a}	2.45 ± 2.47^{a}	2.44 ± 2.55^{a}
Mg:Ca	14.77	**6.22e-4**	0.054 ± 0.114^{a}	0.024 ± 0.007^{c}	0.040 ± 0.136^{b}
Al:Ca	62.93	**2.16e-14**	0.255 ± 1.01^{a}	0.005 ± 0.030^{b}	0.005 ± 0.025^{b}
P:Ca	11.99	**0.002**	0.345 ± 0.553^{a}	0.216 ± 0.154^{b}	0.210 ± 0.059a^{b}
Cr:Ca	11.17	**0.004**	0.014 ± 0.072^{a}	4.94e-4 ± 0.001^{b}	4.08e-4 ± 2.85e-4^{b}
Mn:Ca	29.43	**4.06e-7**	0.004 ± 0.002^{c}	0.005 ± 0.002^{a}	0.004 ± 0.001^{b}
Fe:Ca	0.350	0.839	2.43 ± 2.23^{a}	2.14 ± 1.57^{a}	1.97 ± 1.29^{a}
Co:Ca	1.23	0.541	8.00e-4 ± 0.001^{a}	7.11e-4 ± 7.98e-4^{a}	7.13e-4 ± 0.001^{a}
Ni:Ca	3.36	0.186	0.002 ± 0.007^{a}	6.75e-4 ± 0.004^{a}	6.19e-4 ± 0.003^{a}
Cu:Ca	45.65	**1.22e-10**	0.002 ± 0.006^{a}	3.75e-4 ± 0.001^{b}	4.14e-4 ± 0.003^{b}
Zn:Ca	17.81	**1.36e-4**	0.008 ± 0.020^{a}	0.001 ± 0.004^{b}	0.002 ± 0.007^{ab}
Sr:Ca	133.87	**8.52e-30**	6.31 ± 2.44^{a}	5.07 ± 1.61^{b}	6.70 ± 1.64^{a}
Ba:Ca	214.01	**3.38e-47**	0.012 ± 0.022^{c}	0.048 ± 0.040^{a}	0.020 ± 0.020^{b}
Pb:Ca	9.55	**0.008**	0.002 ± 0.007^{a}	1.11e-4 ± 6.31e-4^{b}	1.26e-4 ± 7.00e-4^{ab}

A Tabela 23 apresenta diferenças significativas entre os estuários para a maioria das razões Elemento:Ca. Os contrastes mais evidentes foram observados para Ba:Ca e Sr:Ca, com o rio Doce apresentando maiores valores de Ba:Ca, enquanto São Mateus apresentou as maiores concentrações de Sr:Ca. Além disso, Piraquê-Açu destacou-se pelos maiores valores de Li:Ca, Al:Ca, P:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca e Zn:Ca, enquanto Mn:Ca apresentou maiores concentrações no rio Doce. Em contrapartida, Na:Ca, Fe:Ca, Co:Ca e Ni:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 24: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de Eugerres brasilianus coletados nos estuários dos rios Doce e São Mateus durante o período chuvoso e seca de 2025. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média ± desvio padrão							
	Período chuvoso/2025				**Período seco/ 2025**			
Elemento:Ca (ppm*1000)	***X²***	**p valor**	**rio Doce**	**São Mateus**	***X²***	**p valor**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	66.77	**3.06e-16**	1.07e-4 ± 1.02e-4[b]	2.49e-4 ± 8.83e-5[a]	30.59	**3.19e-8**	1.43e-4 ± 1.18e-4[b]	2.43e-4 ± 1.07e-4[a]
B:Ca	40.04	**2.49e-10**	0.003 ± 0.002[a]	0.001 ± 5.89e-4[b]	40.61	**1.86e-10**	0.005 ± 0.004[a]	0.003 ± 0.003[b]
Na:Ca	1.65e-4	0.99	1.80 ± 2.43[a]	1.12 ± 2.39[a]	3.65	0.056	1.23 ± 2.34[a]	2.40 ± 2.68[a]
Mg:Ca	9.70	**0.002**	0.023 ± 0.006[a]	0.021 ± 0.004[b]	5.50	**0.019**	0.024 ± 0.004[a]	0.023 ± 0.004[b]
Al:Ca	25.72	**3.94e-7**	0.002 ± 0.004[b]	0.004 ± 0.012[a]	29.49	**5.63e-8**	0.0013 ± 0.003[a]	0.0011 ± 0.003[b]
P:Ca	2.52	0.112	0.232 ± 0.220[a]	0.222 ± 0.054[a]	0.234	0.629	0.215 ± 0.105[a]	0.197 ± 0.041[a]
Cr:Ca	2.21	0.137	7.32e-04 ± 0.002[a]	3.87e-4 ± 2.16e-4[a]	4.60	**0.032**	3.47e-4 ± 2.09e-4[b]	4.32e-4 ± 3.80e-4[a]
Mn:Ca	5.99	**0.014**	0.005 ± 0.003[a]	0.004 ± 9.80e-4[b]	0.036	0.849	0.004 ± 0.001[a]	0.004 ± 0.001[a]
Fe:Ca	1.19	0.275	2.20 ± 1.47[a]	2.40 ± 1.62[a]	3.62	0.057	2.61 ± 1.72[a]	2.04 ± 1.18[a]
Co:Ca	0.035	0.851	7.33e-4 ± 8.08e-4[a]	8.72e-4 ± 0.001[a]	5.69	**0.017**	8.94e-4 ± 9.96e-4[a]	6.18e-4 ± 3.67e-4[b]
Ni:Ca	1.16	0.282	2.28e-4 ± 2.16e-4[a]	0.001 ± 0.005[a]	0.33	0.566	0.001 ± 0.007[a]	2.46e-4 ± 1.71e-4[a]
Cu:Ca	0.054	0.817	5.14e-4 ± 0.002[a]	6.82e-4 ± 0.005[a]	2.06	0.152	3.14e-4 ± 0.001[a]	2.19e-4 ± 4.22e-4[a]
Zn:Ca	3.45	0.063	0.002 ± 0.004[a]	0.004 ± 0.013[a]	3.04	0.081	0.001 ± 0.004[a]	4.61e-4 ± 8.05e-4[a]
Sr:Ca	56.82	**4.77e-14**	4.93 ± 1.47[b]	6.64 ± 1.31[a]	53.7	**2.34e-13**	4.72 ± 1.37[b]	6.45 ± 1.46[a]
Ba:Ca	57.90	**2.76e-14**	0.054 ± 0.037[a]	0.019 ± 0.015[b]	8.87	**0.003**	0.044 ± 0.044[a]	0.022 ± 0.021[b]
Pb:Ca	0.247	0.62	1.40e-4 ± 7.76e-4[a]	1.31e-4 ± 6.14e-4[a]	5.47	**0.019**	1.54e-4 ± 7.32e-4[a]	1.07e-4 ± 5.09e-4[b]

A Tabela 24 apresenta a comparação entre rio Doce e São Mateus durante os períodos chuvoso e seco de 2025. No período chuvoso, observaram-se diferenças significativas para Li:Ca, B:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, Mn:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca, com destaque para os maiores valores de Ba:Ca e Mn:Ca no rio Doce e de Sr:Ca em São Mateus. No período seco, diferenças significativas também foram registradas para Li:Ca, B:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, Cr:Ca, Co:Ca, Sr:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca, mantendo-se o padrão de maiores concentrações de Ba:Ca no rio Doce e de Sr:Ca em São Mateus. Em ambos os períodos, Na:Ca, Fe:Ca, Ni:Ca, Cu:Ca e Zn:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 25: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento:Ca (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de *Eugerres brasilianus* coletados nos estuários dos rios Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

			Média ± desvio padrão (Período chuvoso/2026)		
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Piraquê-Açu**	**rio Doce**	**São Mateus**
Li:Ca	94.43	**3.12e-21**	4.55e-4 ± 7.22e-4^{a}	1.23e-4 ± 1.07e-4^{b}	3.53e-4 ± 3.63e-4^{a}
B:Ca	24.82	**4.08e-6**	0.003 ± 0.005^{a}	9.77e-4 ± 0.002^{b}	0.001 ± 0.001^{a}
Na:Ca	17.09	**1.95e-4**	3.25 ± 1.79^{b}	3.99 ± 1.71^{a}	3.49 ± 2.05^{ab}
Mg:Ca	3.08	0.214	0.054 ± 0.114^{a}	0.023 ± 0.011^{a}	0.087 ± 0.255^{a}
Al:Ca	4.21	0.122	0.255 ± 1.01^{a}	0.013 ± 0.053^{a}	0.014 ± 0.045^{a}
P:Ca	15.31	**4.75e-4**	0.345 ± 0.553^{a}	0.200 ± 0.113^{b}	0.211 ± 0.080^{ab}
Cr:Ca	5.78	0.056	0.014 ± 0.072^{a}	4.16e-4 ± 2.74e-4^{a}	4.04e-4 ± 2.10e-4^{a}
Mn:Ca	35.06	**2.44e-8**	0.004 ± 0.002^{b}	0.005 ± 0.001^{a}	0.005 ± 0.001^{a}
Fe:Ca	14.9	**5.80e-4**	2.43 ± 2.23^{a}	1.54 ± 1.28^{b}	1.31 ± 0.411^{b}
Co:Ca	7.55	**0.023**	8.00e-4 ± 0.001^{a}	4.74e-4 ± 3.43e-4^{b}	6.27e-4 ± 0.002^{ab}
Ni:Ca	0.225	0.894	0.002 ± 0.007^{a}	2.78e-4 ± 2.17e-4^{a}	4.03e-4 ± 8.13e-4^{a}
Cu:Ca	20.78	**3.07e-5**	0.002 ± 0.006^{a}	2.98e-4 ± 4.67e-4^{b}	3.18e-4 ± 4.75e-4^{b}
Zn:Ca	15.05	**5.41e-4**	0.008 ± 0.020^{a}	8.34e-4 ± 0.002^{b}	9.35e-4 ± 0.001^{ab}
Sr:Ca	27.15	**1.27e-6**	6.31 ± 2.44^{b}	5.62 ± 1.86^{c}	7.11 ± 2.12^{a}
Ba:Ca	94.81	**2.59e-21**	0.012 ± 0.022^{c}	0.047 ± 0.038^{a}	0.018 ± 0.025^{b}
Pb:Ca	12.31	**0.002**	0.002 ± 0.007^{a}	2.82e-5 ± 5.09e-5^{b}	1.45e-4 ± 9.55e-4^{b}

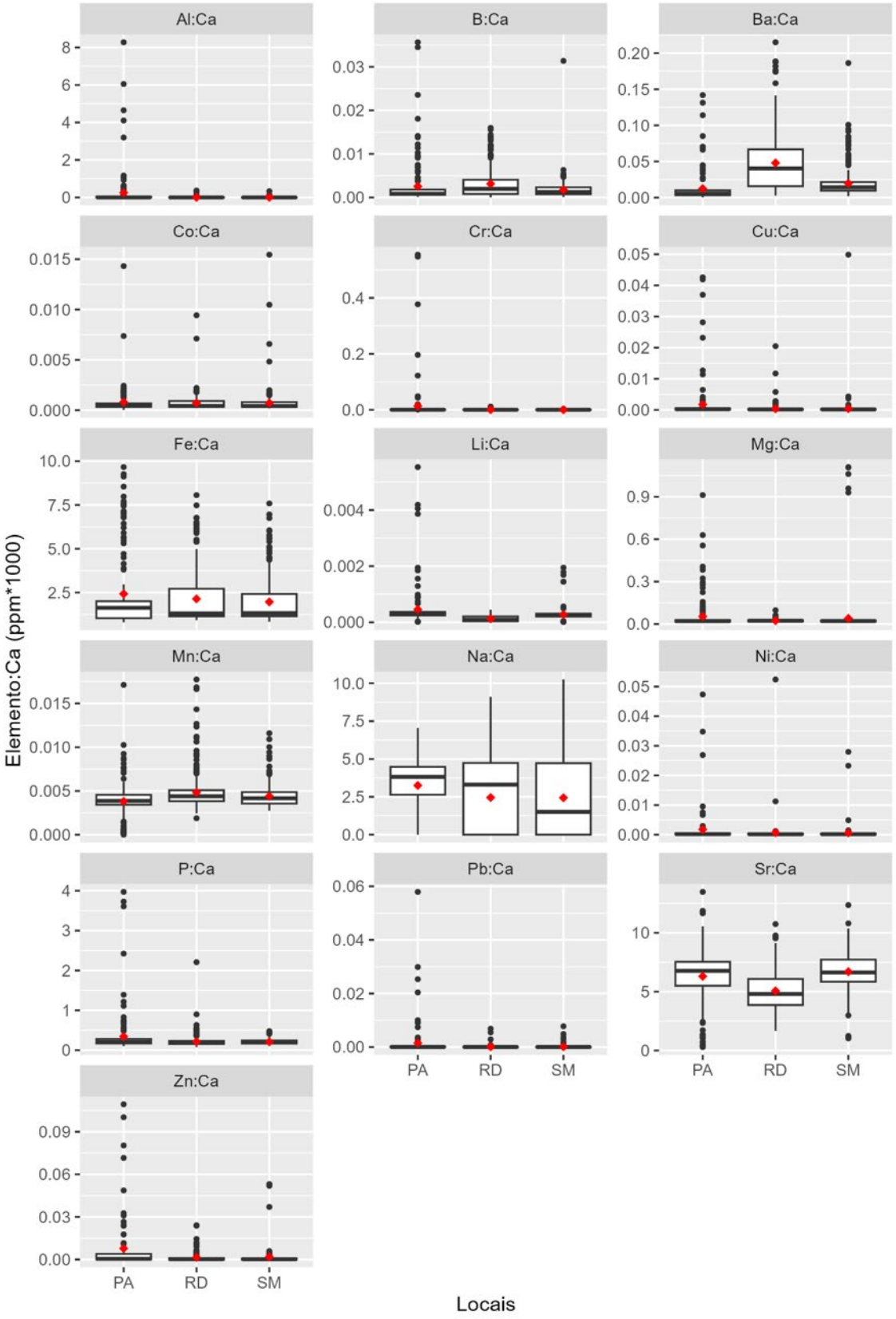
A Tabela 25 apresenta diferenças significativas entre os estuários durante o período chuvoso de 2026 para a maior parte das razões Elemento:Ca. Os contrastes mais evidentes foram observados para Li:Ca, B:Ca, Na:Ca, P:Ca, Mn:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca. Piraquê-Açu apresentou os maiores valores de Li:Ca, P:Ca e Sr:Ca, enquanto o rio Doce se destacou pelos maiores valores de B:Ca e Ba:Ca. São Mateus apresentou as maiores concentrações de Mg:Ca, Co:Ca, Ni:Ca, Cu:Ca, Zn:Ca e Pb:Ca. Em contrapartida, Al:Ca, Cr:Ca e Fe:Ca não apresentaram diferenças significativas entre os estuários.

Tabela 26: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Média ± desvio padrão e Kruskal-Wallis das razões Elemento (ppm*1000) da borda dos otólitos (momento da captura dos exemplares) de Eugerres brasilianus coletados no estuário do rio Doce e São Mateus durante as campanhas dos períodos Chuvoso 2025, Seco 2025 e Chuvoso 2026. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos (p<0,05), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	rio Doce					rio São Mateus				
			Média ± desvio padrão					Média ± desvio padrão		
Elemento:Ca (ppm*1000)	**X^2**	**p valor**	**Chuvosa 25**	**Seca 25**	**Chuvosa 26**	**X^2**	**p valor**	**Chuvosa 25**	**Seca 25**	**Chuvosa 26**
Li:Ca	4.64	0.098	1.07e-4 ± 1.02e-4^{a}	1.23e-4 ± 1.07e-4^{a}	1.43e-4 ± 1.18e-4^{a}	3.82	0.148	2.49e-4 ± 8.83e-5^{a}	3.53e-4 ± 3.63e-4^{a}	2.43e-4 ± 1.07e-4^{a}
B:Ca	132.13	**2.04e-29**	0.003 ± 0.002^{b}	9.77e-4 ± 0.002^{c}	0.005 ± 0.004^{a}	106.06	**9.33e-24**	0.001 ± 5.89e-4^{b}	0.001 ± 0.001^{b}	0.003 ± 0.003^{a}
Na:Ca	22.59	**1.24e-5**	1.80 ± 2.43^{b}	3.99 ± 1.71^{a}	1.23 ± 2.34^{b}	6.67	**0.036**	1.12 ± 2.39^{b}	3.49 ± 2.05^{a}	2.40 ± 2.68^{ab}
Mg:Ca	11.35	**0.003**	0.023 ± 0.006^{a}	0.023 ± 0.011^{b}	0.024 ± 0.004^{a}	16.33	**2.84e-4**	0.021 ± 0.004^{a}	0.087 ± 0.255^{b}	0.023 ± 0.004^{a}
Al:Ca	2.68	**0.262**	0.002 ± 0.004^{a}	0.013 ± 0.053^{a}	0.001 ± 0.003^{a}	46.10	**9.77e-11**	0.004 ± 0.012^{b}	0.014 ± 0.045^{a}	0.001 ± 0.003^{b}
P:Ca	7.34	**0.025**	0.232 ± 0.220^{a}	0.200 ± 0.113^{b}	0.215 ± 0.105^{ab}	9.49	**0.009**	0.222 ± 0.054^{a}	0.211 ± 0.080^{ab}	0.197 ± 0.041^{b}
Cr:Ca	7.97	**0.019**	7.32e-4 ± 0.002^{a}	4.16e-4 ± 2.74e-4^{ab}	3.47e-4 ± 2.09e-4^{b}	0.92	0.631	3.87e-4 ± 2.16e-4^{a}	4.04e-4 ± 2.10e-4^{a}	4.32e-4 ± 3.80e-4^{a}
Mn:Ca	9.59	**0.008**	0.005 ± 0.003^{a}	0.005 ± 0.001^{b}	0.004 ± 0.001^{a}	4.14	0.126	0.004 ± 9.80e-4^{a}	0.005 ± 0.001^{a}	0.004 ± 0.001^{a}
Fe:Ca	54.88	**1.21e-12**	2.20 ± 1.47^{b}	1.54 ± 1.28^{c}	2.61 ± 1.72^{a}	42.47	**5.98e-10**	2.40 ± 1.62^{a}	1.31 ± 0.411^{c}	2.04 ± 1.18^{b}
Co:Ca	27.40	**1.12e-6**	7.33e-4 ± 8.08e-4^{a}	4.74e-4 ± 3.43e-4^{b}	8.94e-4 ± 9.96e-4^{a}	8.88	**0.012**	8.72e-4 ± 0.001^{a}	6.27e-4 ± 0.002^{b}	6.18e-4 ± 3.67e-4^{ab}
Ni:Ca	1.36	0.508	2.28e-4 ± 2.16e-4^{a}	2.78e-4 ± 2.17e-4^{a}	0.001 ± 0.007^{a}	0.30	0.859	0.001 ± 0.005^{a}	4.03e-4 ± 8.13e-4^{a}	2.46e-4 ± 1.71e-4^{a}
Cu:Ca	1.32	0.516	5.14e-4 ± 0.002^{a}	2.98e-4 ± 4.67e-4^{a}	3.14e-4 ± 0.001^{a}	2.74	0.254	6.82e-4 ± 0.005^{a}	3.18e-4 ± 4.75e-4^{a}	2.19e-4 ± 4.22e-4^{a}
Zn:Ca	4.73	0.094	0.002 ± 0.004^{a}	8.34e-4 ± 0.002^{a}	0.001 ± 0.004^{a}	2.93	0.231	0.004 ± 0.013^{a}	9.35e-4 ± 0.001^{a}	4.61e-4 ± 8.05e-4^{a}
Sr:Ca	9.88	**0.007**	4.93 ± 1.47^{b}	5.62 ± 1.86^{a}	4.72 ± 1.37^{b}	14.91	**5.78e-4**	6.64 ± 1.31^{b}	7.11 ± 2.12^{a}	6.45 ± 1.46^{b}
Ba:Ca	7.71	**0.021**	0.054 ± 0.037^{a}	0.047 ± 0.038^{ab}	0.044 ± 0.044^{b}	6.04	**0.049**	0.019 ± 0.015^{ab}	0.018 ± 0.025^{b}	0.022 ± 0.021^{a}
Pb:Ca	9.23	**0.010**	1.40e-4 ± 7.76e-4^{a}	2.82e-5 ± 5.09e-5^{b}	1.54e-4 ± 7.32e-4^{a}	2.67	0.263	1.31e-4 ± 6.14e-4^{a}	1.45e-4 ± 9.55e-4^{a}	1.07e-4 ± 5.09e-4^{a}

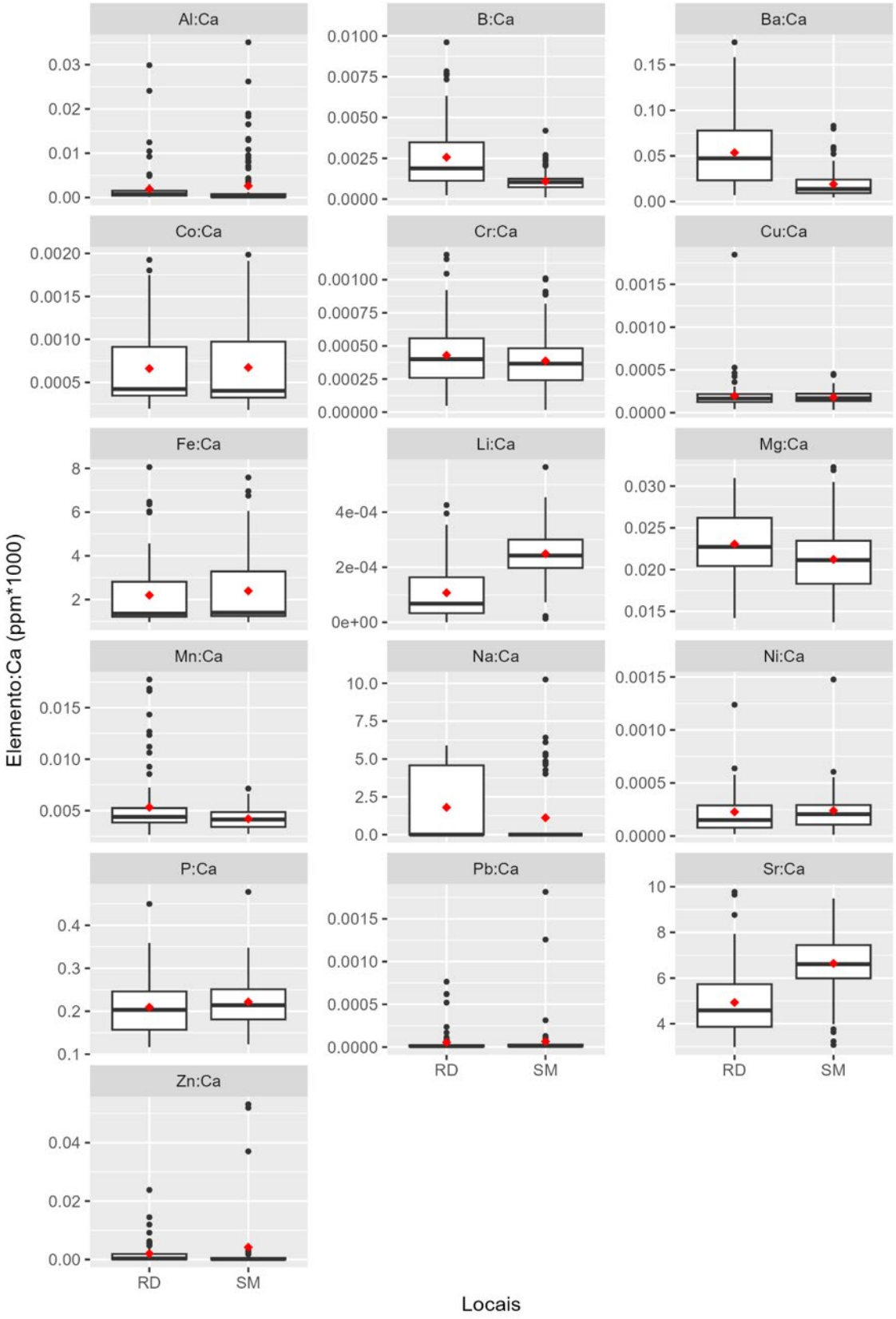
A Tabela 26 apresenta a variação temporal das razões Elemento:Ca nos estuários rio Doce e São Mateus entre as campanhas de amostragem. No rio Doce, observaram-se diferenças significativas para Na:Ca, Mg:Ca, P:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Co:Ca, Sr:Ca, Ba:Ca e Pb:Ca, enquanto B:Ca apresentou a maior variação entre as campanhas. Em São Mateus, diferenças temporais foram registradas para Na:Ca, Mg:Ca, P:Ca, Fe:Ca, Sr:Ca e Ba:Ca, além de B:Ca, que também apresentou variação expressiva entre os períodos. Em ambos os estuários, Li:Ca, Al:Ca e Ni:Ca não apresentaram diferenças significativas ao longo das campanhas.

Figura 63: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*. Ponto vermelho representa a média. PA = Piraquê-Açu, RD = rio Doce e SM = Rio São Mateus.



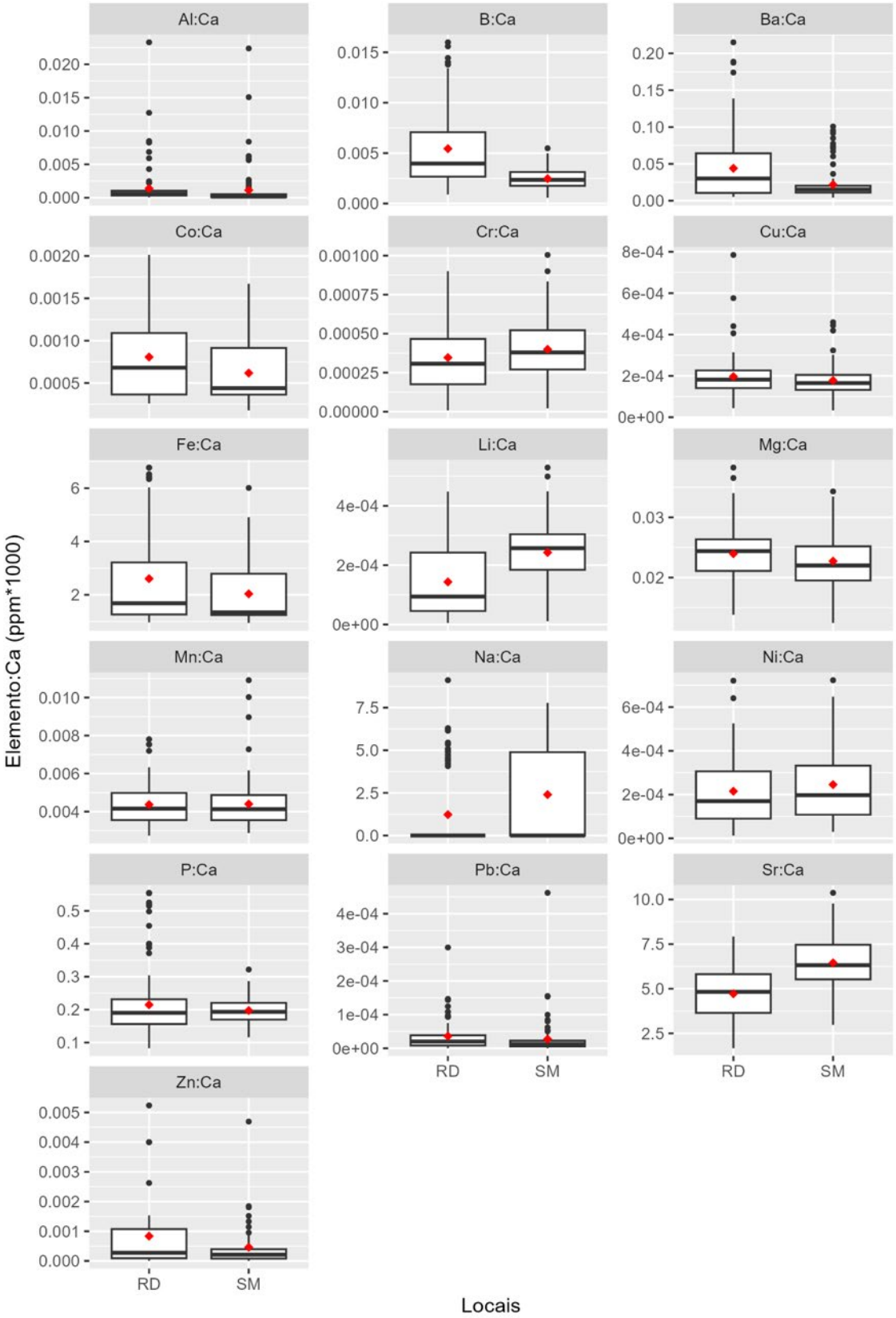
A Figura 63 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre os estuários. As diferenças mais evidentes são observadas para Ba:Ca e Sr:Ca, com maiores valores de Ba:Ca no rio Doce e de Sr:Ca em São Mateus. Piraquê-Açu apresenta maiores valores de Li:Ca, Al:Ca, P:Ca e Zn:Ca, enquanto Mn:Ca exibe valores ligeiramente superiores no rio Doce. Para Na:Ca, Fe:Ca, Co:Ca e Ni:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes entre os indivíduos.

Figura 64: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*, durante o período chuvoso de 2025. Ponto vermelho representa a média.



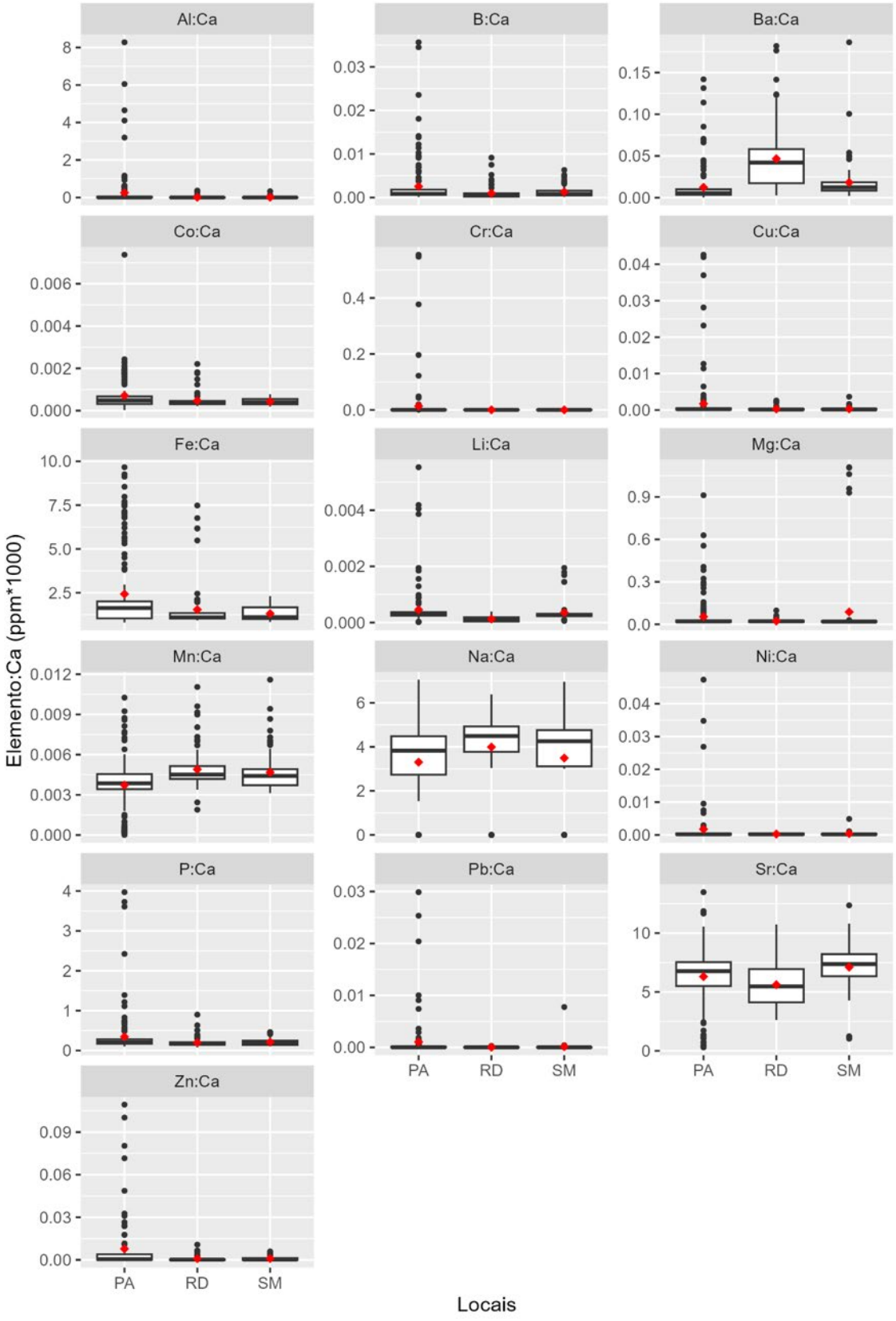
A Figura 64 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre rio Doce e São Mateus durante o período chuvoso de 2025. Observam-se maiores valores de Ba:Ca no rio Doce e de Sr:Ca em São Mateus. Li:Ca também apresenta valores mais elevados em São Mateus, enquanto B:Ca exibe maiores valores no rio Doce. Para Al:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, P:Ca e Zn:Ca, as distribuições apresentam ampla sobreposição entre os estuários, embora alguns elementos exibam elevada dispersão e valores discrepantes. Fe:Ca, Co:Ca, Ni:Ca e Pb:Ca apresentam distribuições semelhantes entre as localidades.

Figura 65: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*, durante o período seco de 2025. Ponto vermelho representa a média.



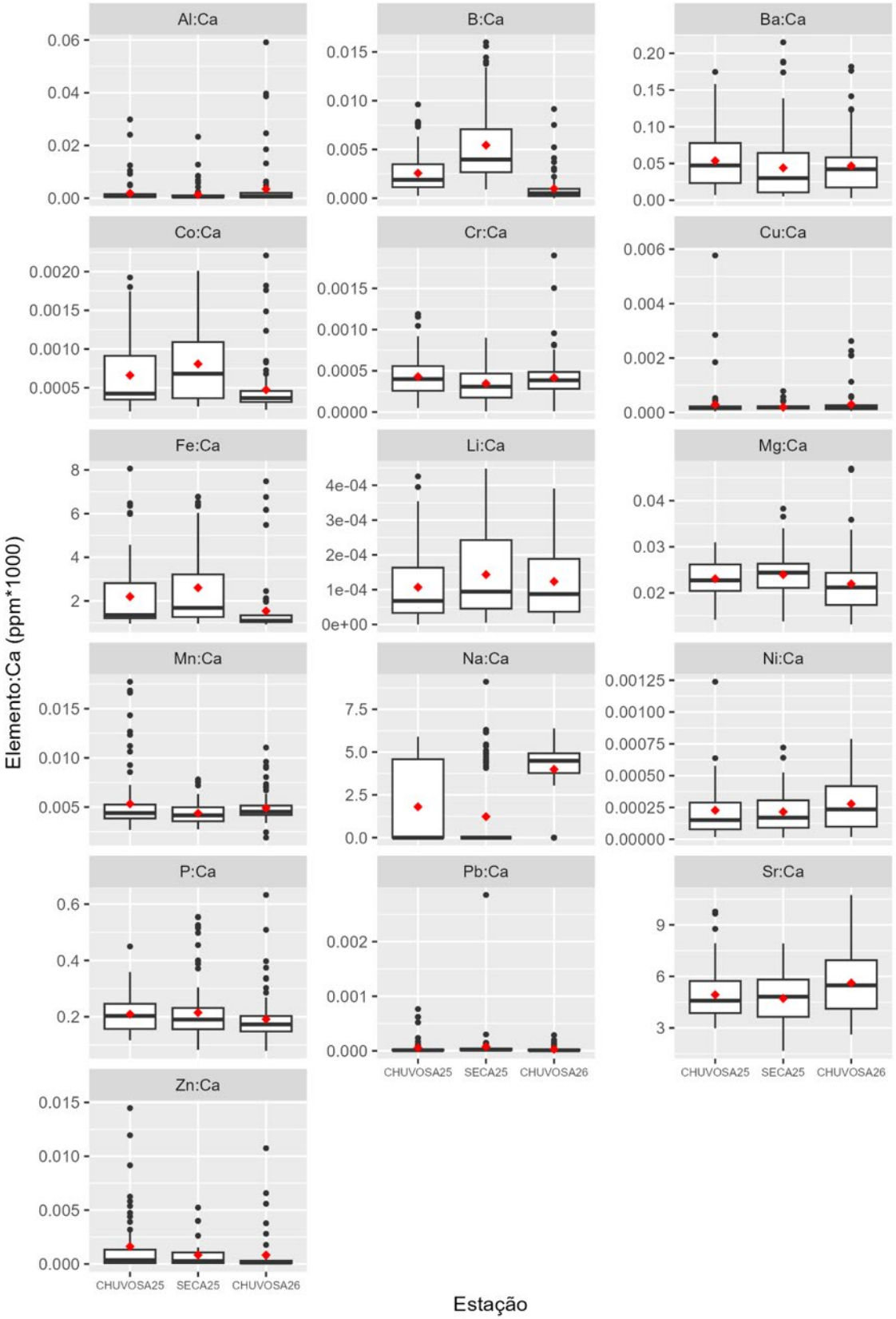
A Figura 65 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre rio Doce e São Mateus durante o período seco de 2025. Observam-se maiores valores de Ba:Ca e B:Ca no rio Doce, enquanto Sr:Ca e Li:Ca apresentam maiores valores em São Mateus. Cr:Ca também exibe valores ligeiramente superiores em São Mateus, ao passo que Al:Ca, Co:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca e Zn:Ca apresentam ampla sobreposição entre as distribuições dos estuários. Além disso, alguns elementos, como B:Ca, Ba:Ca, Fe:Ca e Na:Ca, exibem elevada dispersão e ocorrência de valores discrepantes entre os indivíduos.

Figura 66: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*, durante o período chuvoso de 2026. Ponto vermelho representa a média.



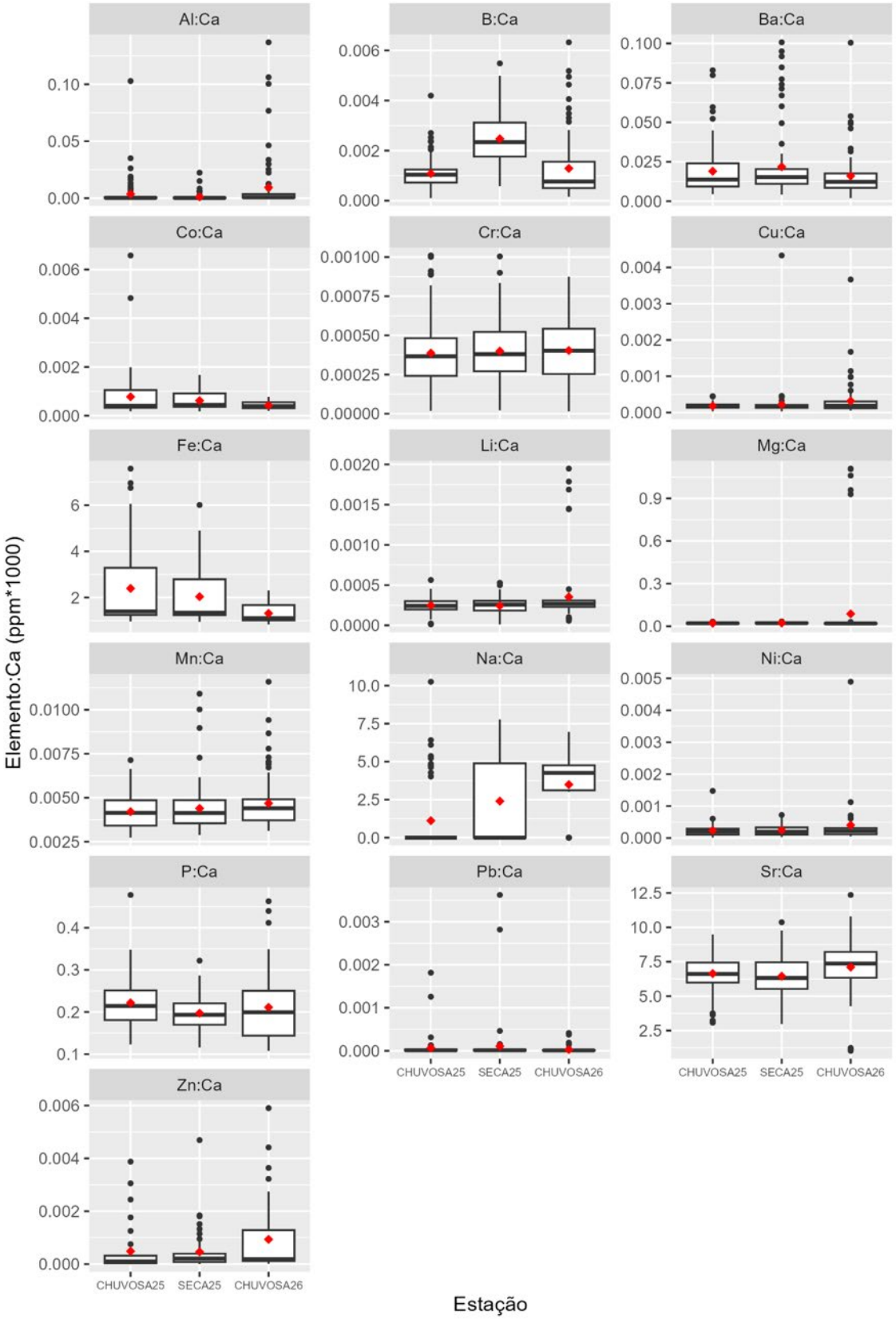
A Figura 66 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre os estuários durante o período chuvoso de 2026. Observam-se maiores valores de Ba:Ca no rio Doce, enquanto Sr:Ca apresenta maiores valores em São Mateus. Na:Ca também exibe valores mais elevados no rio Doce, ao passo que Li:Ca apresenta maiores valores em Piraquê-Açu. Para Al:Ca, Cr:Ca, Fe:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Co:Ca, Cu:Ca, Ni:Ca, P:Ca e Zn:Ca, observa-se ampla sobreposição entre as distribuições dos estuários, embora alguns elementos apresentem elevada dispersão e valores discrepantes, especialmente Al:Ca, Fe:Ca, Mg:Ca, P:Ca e Zn:Ca.

Figura 67: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*, provenientes do rio Doce (RD). Ponto vermelho representa a média.



A Figura 67 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as campanhas de amostragem no rio Doce. Observam-se maiores valores de B:Ca no período seco de 2025 e de Sr:Ca no período chuvoso de 2026, enquanto Ba:Ca apresenta distribuições semelhantes entre as campanhas, com maior dispersão no período chuvoso de 2025. Na:Ca e Fe:Ca exibem menores valores no período seco de 2025, enquanto Li:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca, Ni:Ca, P:Ca e Zn:Ca apresentam ampla sobreposição entre as distribuições. Além disso, alguns elementos, como Al:Ca, Fe:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca, apresentam elevada dispersão e ocorrência de valores discrepantes entre os indivíduos.

Figura 68: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Box-plot (mediana e quartis) da razão elemento:Ca (ppm*1000) observados nas bordas dos otólitos (momento da captura) da caratinga, *Eugerres brasilianus*, provenientes do Rio São Mateus (SM). Ponto vermelho representa a média.



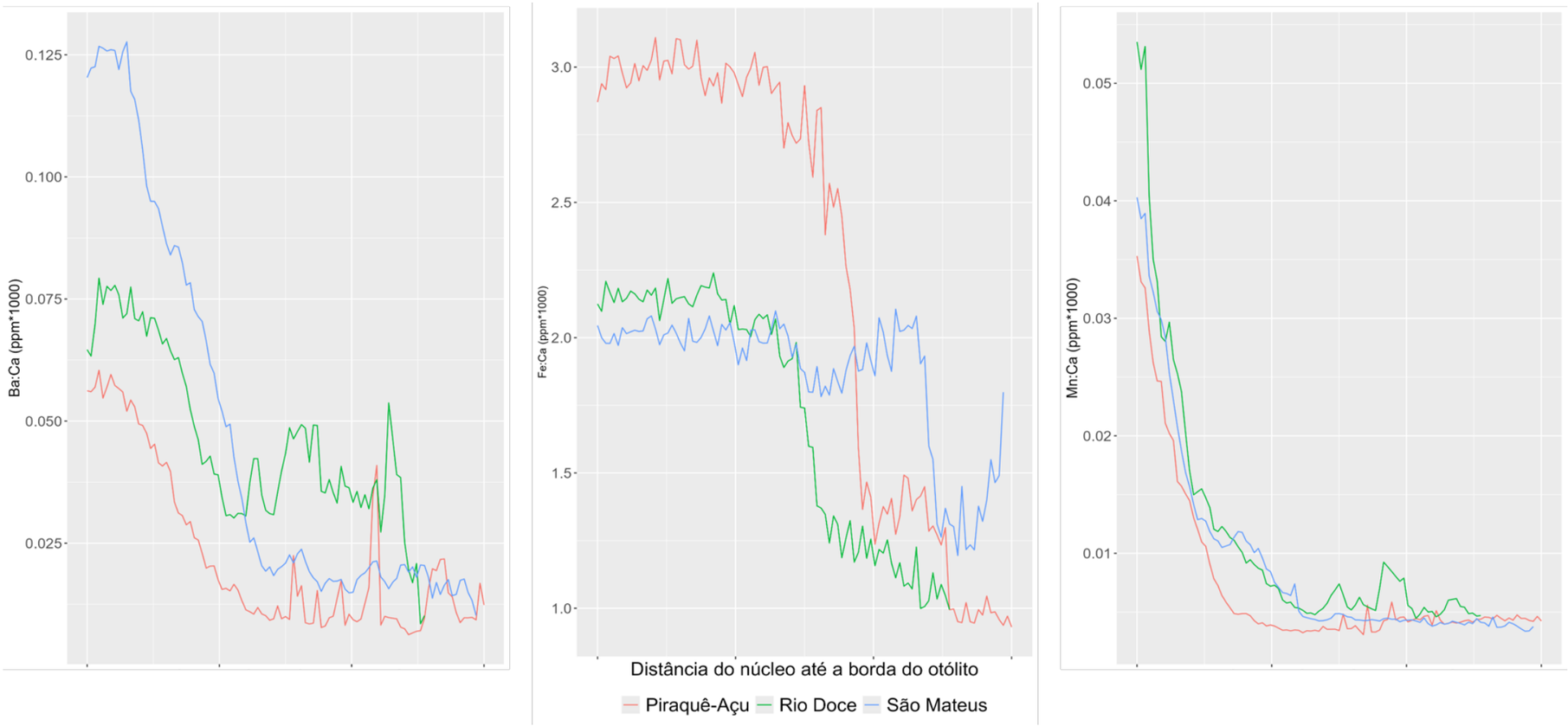
A Figura 68 apresenta a distribuição das razões Elemento:Ca entre as campanhas de amostragem em São Mateus. Observam-se maiores valores de B:Ca no período seco de 2025 e de Sr:Ca no período chuvoso de 2026, enquanto Fe:Ca apresenta redução gradual ao longo das campanhas. Cr:Ca e Na:Ca exibem valores mais elevados na campanha chuvosa de 2026, ao passo que Ba:Ca, Li:Ca, Mn:Ca e P:Ca apresentam distribuições semelhantes entre os períodos. Além disso, Al:Ca, Cu:Ca, Mg:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam ampla sobreposição entre as distribuições, embora alguns elementos exibam elevada dispersão e valores discrepantes.

A microquímica dos otólitos evidenciou diferenças consistentes entre os estuários avaliados, indicando que a composição elementar refletiu a heterogeneidade ambiental desses sistemas. As razões Ba:Ca e Sr:Ca constituíram os principais marcadores espaciais, com o rio Doce caracterizado por maiores concentrações de Ba:Ca e menores valores de Sr:Ca, enquanto Piraquê-Açu e São Mateus apresentaram concentrações mais elevadas de Sr:Ca. Outros elementos, como Li:Ca, Al:Ca, P:Ca, Cu:Ca e Mn:Ca, também contribuíram para a diferenciação entre os estuários, embora com menor consistência ao longo das campanhas. Em conjunto, os resultados demonstram que a composição química registrada nos otólitos foi capaz de discriminar os ambientes estudados, evidenciando diferenças na disponibilidade dos elementos entre os sistemas estuarinos.

Embora tenham sido observadas variações entre as campanhas de amostragem, os contrastes espaciais permaneceram relativamente consistentes ao longo do período de estudo. As diferenças registradas entre os estuários durante os períodos chuvoso e seco de 2025 foram mantidas na campanha chuvosa de 2026, enquanto as variações temporais ocorreram para diferentes elementos, principalmente no rio Doce. Essas oscilações indicam que a composição elementar dos otólitos responde às mudanças ambientais entre as campanhas, sem alterar o padrão geral de diferenciação entre os estuários, sugerindo que as características locais exerceram maior influência sobre a incorporação dos elementos do que a sazonalidade.

Esse comportamento é compatível com a dinâmica dos ambientes estuarinos, onde alterações na descarga fluvial, na salinidade e no transporte de sedimentos modificam a disponibilidade de elementos dissolvidos e particulados ao longo do ano (LOITZENBAUER; MENDES, 2011; ELSDON *et al*., 2008). A persistência dos padrões observados para Ba:Ca e Sr:Ca entre as diferentes campanhas também está de acordo com estudos que reconhecem essas razões como importantes marcadores de gradientes ambientais em estuários (CAMPANA, 1999; ELSDON *et al*., 2008). Assim, os resultados reforçam o potencial da microquímica de otólitos para identificar diferenças ambientais entre estuários e reconstruir a história de utilização desses habitats por *E. brasilianus*.

Figura 69: Microquímica de otólito. Fase II (2025-2026): Perfis cronológicos das razões médias Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca nos otólitos de *Eugerres brasilianus* adultos coletados nos estuários dos rios Piraquê-Açu, rio Doce e São Mateus.



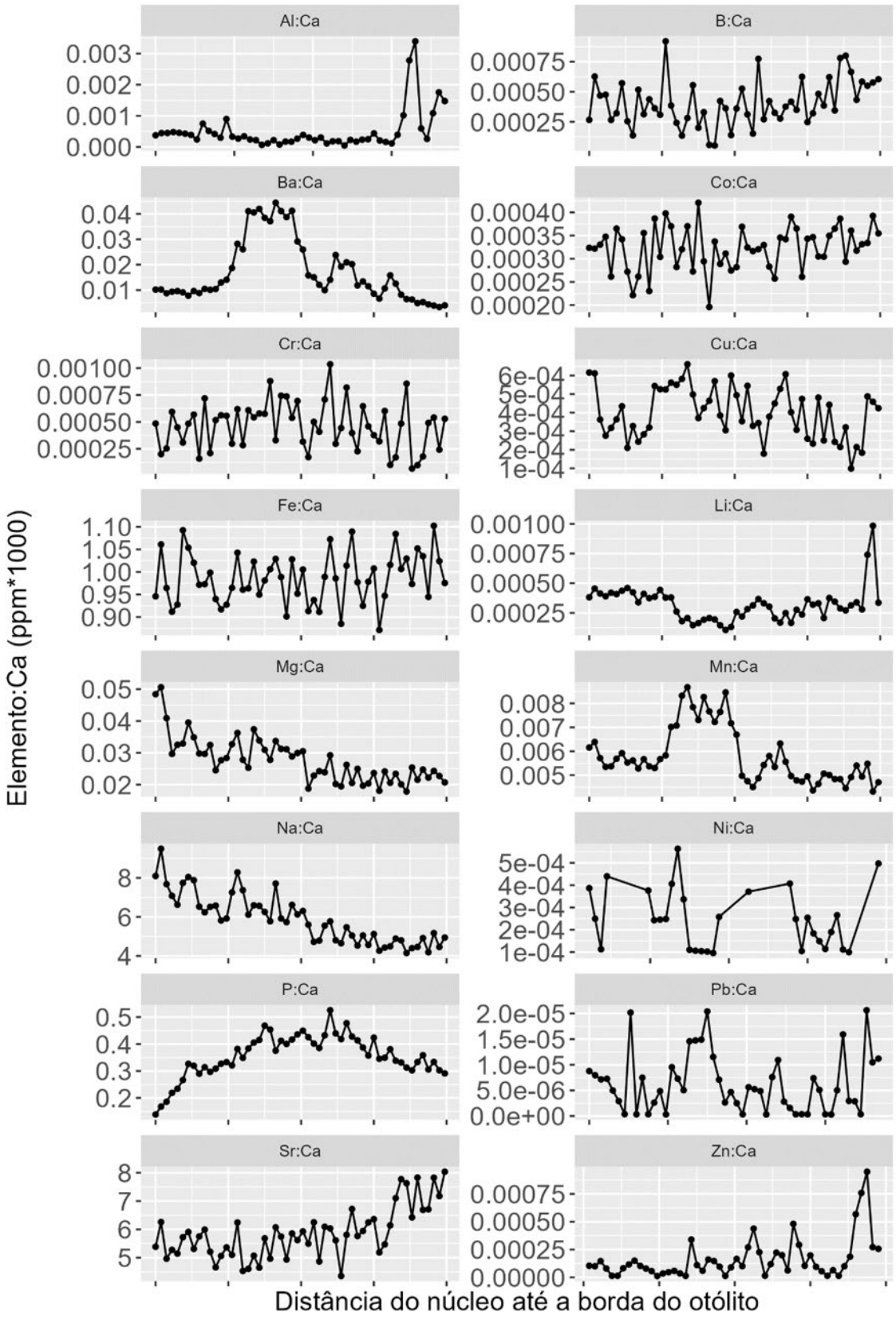
Os perfis cronológicos médios das razões Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca permitiram avaliar variações na incorporação desses elementos ao longo da ontogenia de *E. brasilianus* nos diferentes estuários estudados (Figura 69). Os perfis de Ba:Ca evidenciaram uma clara separação entre os estuários ao longo da ontogenia. São Mateus apresentou as maiores concentrações nas regiões mais internas dos otólitos, seguido pelo rio Doce e Piraquê-Açu, enquanto todos os perfis exibiram redução progressiva em direção à borda. Como o bário é amplamente reconhecido como indicador da influência continental e de gradientes de salinidade, uma vez que sua disponibilidade tende a aumentar em ambientes sob maior aporte fluvial (CAMPANA, 1999; ELSDON & GILLANDERS, 2005; SOETH *et al*., 2020), as diferenças observadas sugerem contrastes na influência de águas continentais ao longo da vida dos indivíduos. A convergência dos perfis nas porções mais externas dos otólitos pode indicar exposição a condições ambientais mais semelhantes durante os períodos mais recentes de crescimento.

Os perfis de Fe:Ca apresentaram diferenças marcantes entre os estuários, tanto na magnitude quanto na trajetória temporal das concentrações. Piraquê-Açu apresentou os maiores valores ao longo de grande parte do perfil, enquanto rio Doce e São Mateus exibiram concentrações intermediárias e redução gradual em direção às regiões mais externas. A incorporação de ferro aos otólitos é frequentemente associada à disponibilidade ambiental desse elemento e às condições redox do ambiente, uma vez que sua forma reduzida se torna mais biodisponível em condições de menor oxigenação (LIMBURG *et al*., 2015). Além disso, metais de transição como o ferro podem ser influenciados por processos fisiológicos relacionados ao crescimento e à deposição da matriz orgânica do otólito (THOMAS *et al*., 2017; HÜSSY *et al*., 2020).

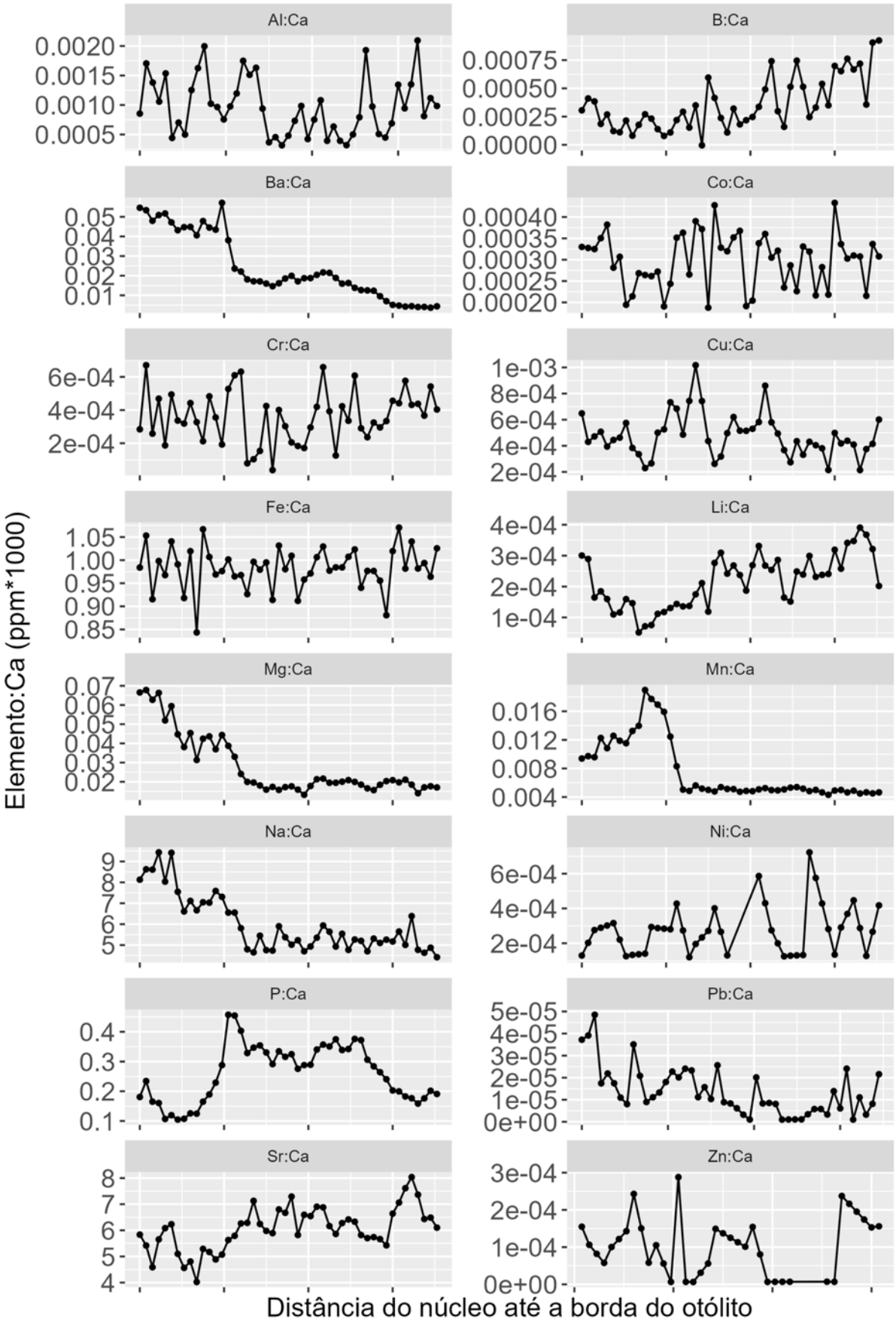
Para Mn:Ca, observou-se um padrão semelhante entre os estuários, caracterizado por concentrações elevadas próximas ao núcleo e redução acentuada logo após as primeiras fases de crescimento, seguida por relativa estabilidade ao longo da maior parte do perfil. Os maiores valores iniciais foram registrados no rio Doce, enquanto Piraquê-Açu e São Mateus apresentaram trajetórias bastante semelhantes. Concentrações elevadas de manganês nas regiões centrais dos otólitos são frequentemente associadas à transferência materna durante o desenvolvimento embrionário e aos primeiros estágios de vida dos peixes (BROPHY *et al*., 2004; LIMBURG *et al*., 2015; SOETH *et al*., 2020). Posteriormente, a manutenção de valores reduzidos ao longo da ontogenia sugere menor disponibilidade ambiental do elemento ou condições relativamente estáveis durante as fases juvenis e adultas (HÜSSY *et al*., 2020). Em conjunto, os perfis indicam que Ba:Ca, Fe:Ca e Mn:Ca registram mudanças ambientais e ontogenéticas ao longo da história de vida dos indivíduos, evidenciando diferenças na disponibilidade desses elementos entre os estuários avaliados.

Figura 70: Microquímica de otólitos. Fase II (2025-2026): Perfil cronológico da razão Elementos:Ca (ppm*1000) no otólito de *Eugerres brasilianus*. A: Piraquê-Açu; B: rio Doce; C: São Mateus.

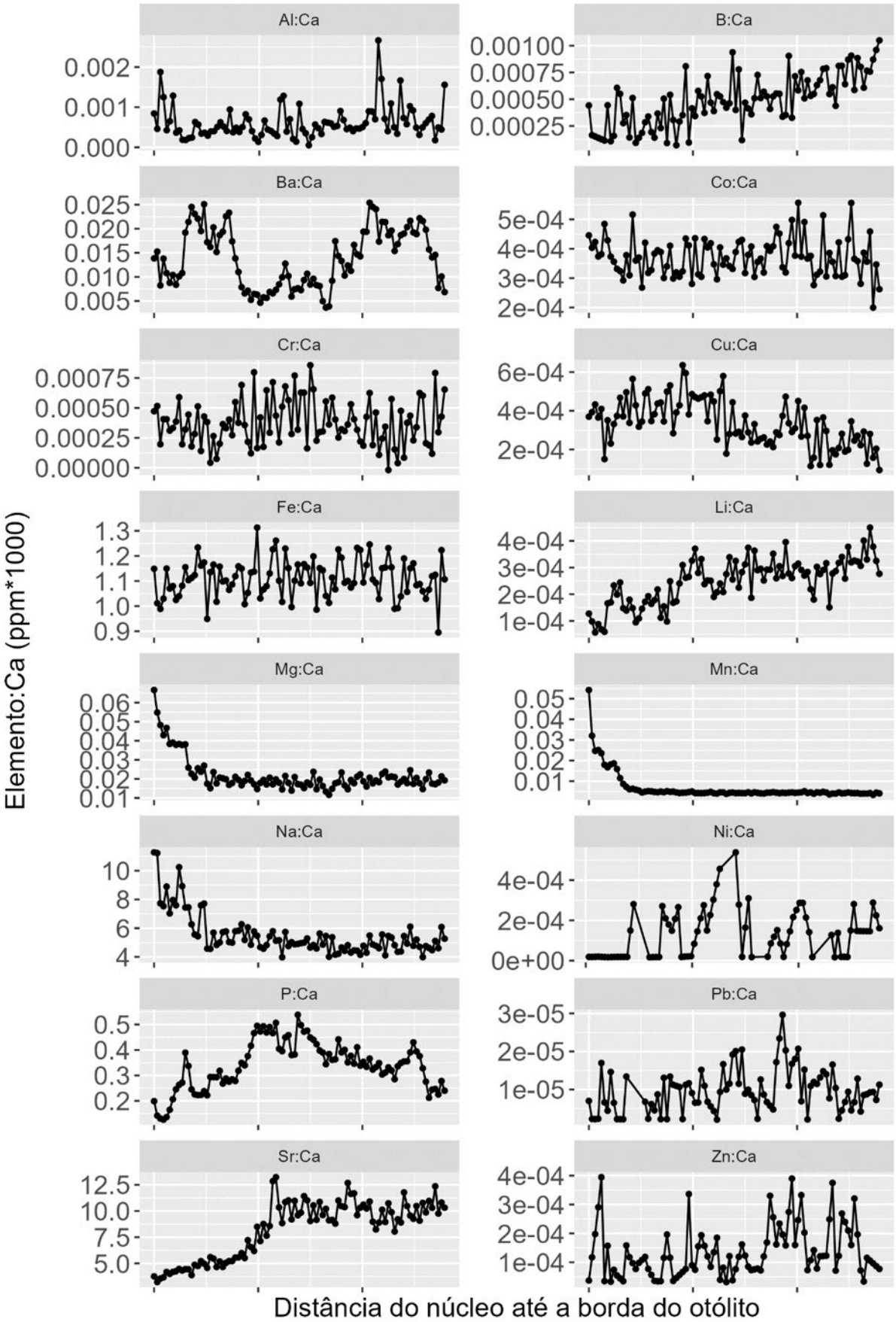
A)



B)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

C)


Al:Ca
B:Ca
Ba:Ca
Co:Ca
Cr:Ca
Cu:Ca
Fe:Ca
Li:Ca
Mg:Ca
Mn:Ca
Na:Ca
Ni:Ca
P:Ca
Pb:Ca
Sr:Ca
Zn:Ca
Elemento:Ca (ppm*1000)
Distância do núcleo até a borda do otólito

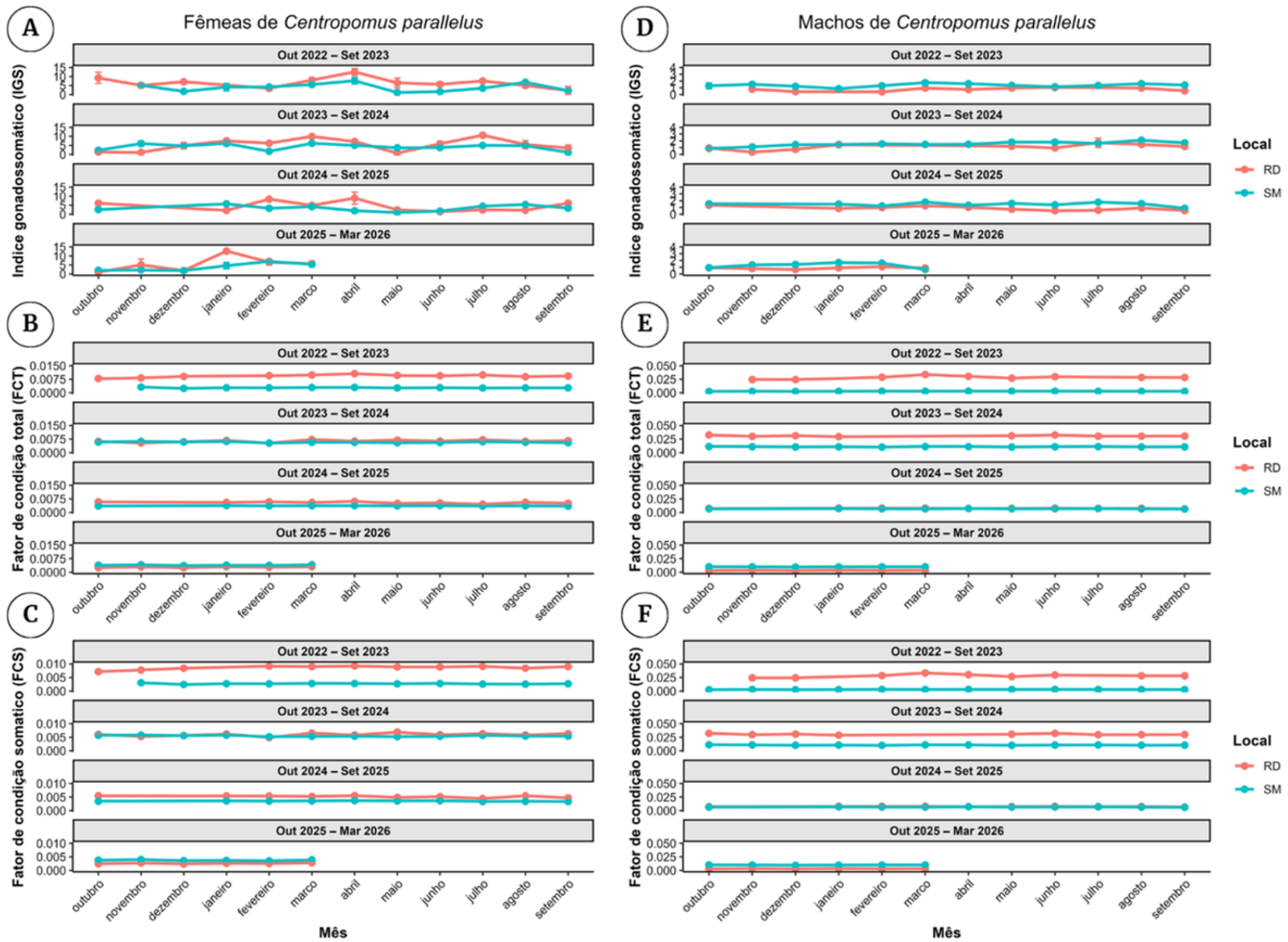
A Figura 70 apresenta os perfis cronológicos das razões Elemento:Ca, entre o núcleo e a borda dos otólitos, dos maiores exemplares coletados em cada estuário. No Piraquê-Açu, Al:Ca mantém valores reduzidos durante grande parte do perfil, apresentando aumento acentuado próximo à borda. Ba:Ca apresenta elevação na porção inicial, seguida por oscilações e redução em direção à borda, enquanto P:Ca aumenta progressivamente até a região intermediária e diminui na porção final. Sr:Ca apresenta tendência de aumento ao longo do perfil, com valores mais elevados próximos à borda, ao passo que Na:Ca e Mg:Ca exibem redução gradual em direção à borda. Mn:Ca apresenta aumento na região intermediária, seguido por redução, enquanto B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Li:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem tendências visuais marcantes (Figura 70A). O maior exemplar coletado no Rio Doce, o Ba:Ca apresenta tendência de redução ao longo do perfil, enquanto Sr:Ca exibe aumento na porção intermediária, seguido por oscilações até a borda. Mg:Ca e Na:Ca apresentam redução progressiva em direção à borda, ao passo que Li:Ca aumenta gradualmente ao longo do perfil. Mn:Ca apresenta aumento na porção inicial, seguido por redução acentuada e estabilização. P:Ca exibe aumento na região intermediária e redução na porção final. Al:Ca, B:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca apresentam oscilações ao longo do perfil, sem tendência visual consistente (Figura 70B). Já no estuário do rio São Mateus, os perfis de B:Ca, Li:Ca e Sr:Ca apresentam tendência de aumento em direção à borda, enquanto Mg:Ca e Na:Ca exibem redução acentuada nas porções iniciais, seguida por estabilização ao longo do restante do perfil. Ba:Ca apresenta oscilações ao longo de todo o trajeto, com redução na região intermediária e aumento na porção final, enquanto P:Ca aumenta até a região intermediária e reduz em direção à borda. Mn:Ca apresenta valores mais elevados próximos ao núcleo, seguidos por redução e estabilização. Al:Ca, Co:Ca, Cr:Ca, Cu:Ca, Fe:Ca, Ni:Ca, Pb:Ca e Zn:Ca exibem oscilações ao longo do perfil, sem tendência visual consistente (Figura 70C).

Os perfis cronológicos evidenciaram que a composição química dos otólitos variou ao longo da ontogenia dos indivíduos, refletindo diferenças tanto entre os estuários quanto ao longo da história de vida. Entre os elementos avaliados, Ba:Ca, Sr:Ca, Mn:Ca, Mg:Ca, Na:Ca e P:Ca apresentaram as mudanças mais evidentes ao longo dos perfis, enquanto os demais elementos exibiram oscilações de menor magnitude ou padrões menos consistentes. As diferenças observadas entre os indivíduos reforçam que a incorporação dos elementos aos otólitos não ocorre de maneira uniforme, sendo influenciada pela interação entre condições ambientais e processos fisiológicos. As variações registradas para Ba:Ca e Sr:Ca acompanham o comportamento descrito para esses elementos em ambientes estuarinos, onde alterações na influência de água doce e na salinidade podem modificar sua incorporação aos otólitos (ELSDON; GILLANDERS, 2005; ELSDON *et al*., 2008; SOETH *et al*., 2020). Da mesma forma, as elevadas concentrações de Mn:Ca nas porções iniciais dos perfis estão de acordo com estudos que associam esse elemento tanto à transferência materna durante os estágios iniciais de desenvolvimento quanto às condições ambientais relacionadas à disponibilidade de oxigênio dissolvido (BROPHY *et al*., 2004; STURROCK *et al*., 2015; LIMBURG *et al*., 2015). As tendências observadas para Mg:Ca e Na:Ca também são compatíveis com alterações fisiológicas e ontogenéticas relacionadas ao metabolismo e aos processos de biomineralização dos otólitos (Campana, 1999; STURROCK *et al*., 2015; HÜSSY *et al*., 2020), enquanto as variações de P:Ca podem refletir mudanças

na deposição da matriz orgânica durante o crescimento (HÜSSY *et al*., 2020). Em conjunto, os perfis cronológicos complementam as informações obtidas pela microquímica da borda dos otólitos ao demonstrar que a composição elementar registrada resulta da interação entre fatores ambientais, fisiológicos e ontogenéticos ao longo da vida dos indivíduos (WHEELER *et al*., 2016; HÜSSY *et al*., 2020). Dessa forma, os resultados reforçam o potencial da microquímica de otólitos para reconstruir históricos ambientais e compreender a utilização dos habitats estuarinos por *E. brasilianus*.

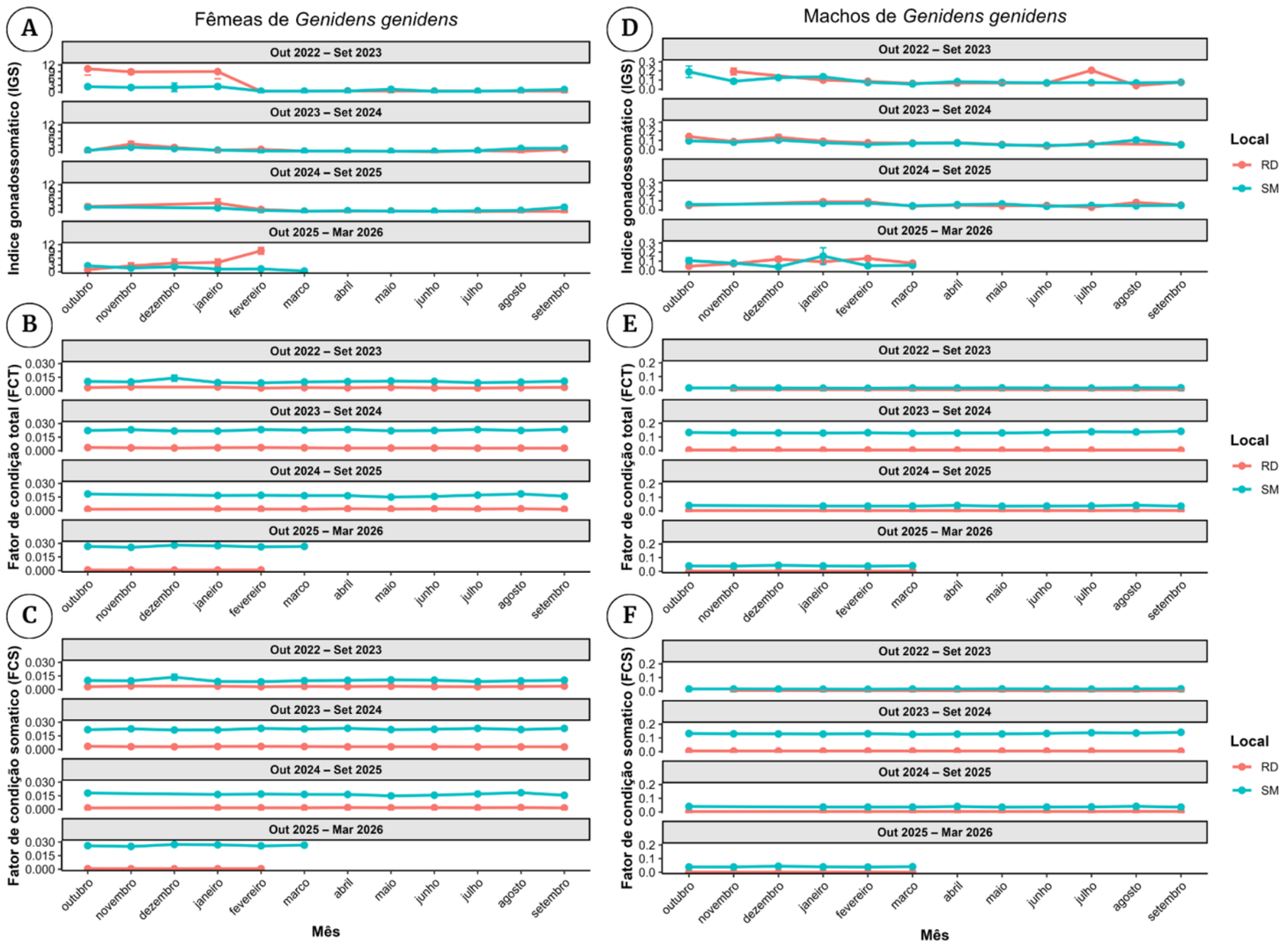
3.8.1 Peixes estuarinos/marinhos

Figura 71: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonadossomático), 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; out/24-mar/25 e out/25-mar/26) e seco (abr/set/23; abr/set/24 abr/set/25) dos anos 5, 6, 7 e 8 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do período amostral, separados pelos diferentes anos e áreas de estudo (linhas com os marcadores). As lacunas indicam ausência de captura mensal dos espécimes.



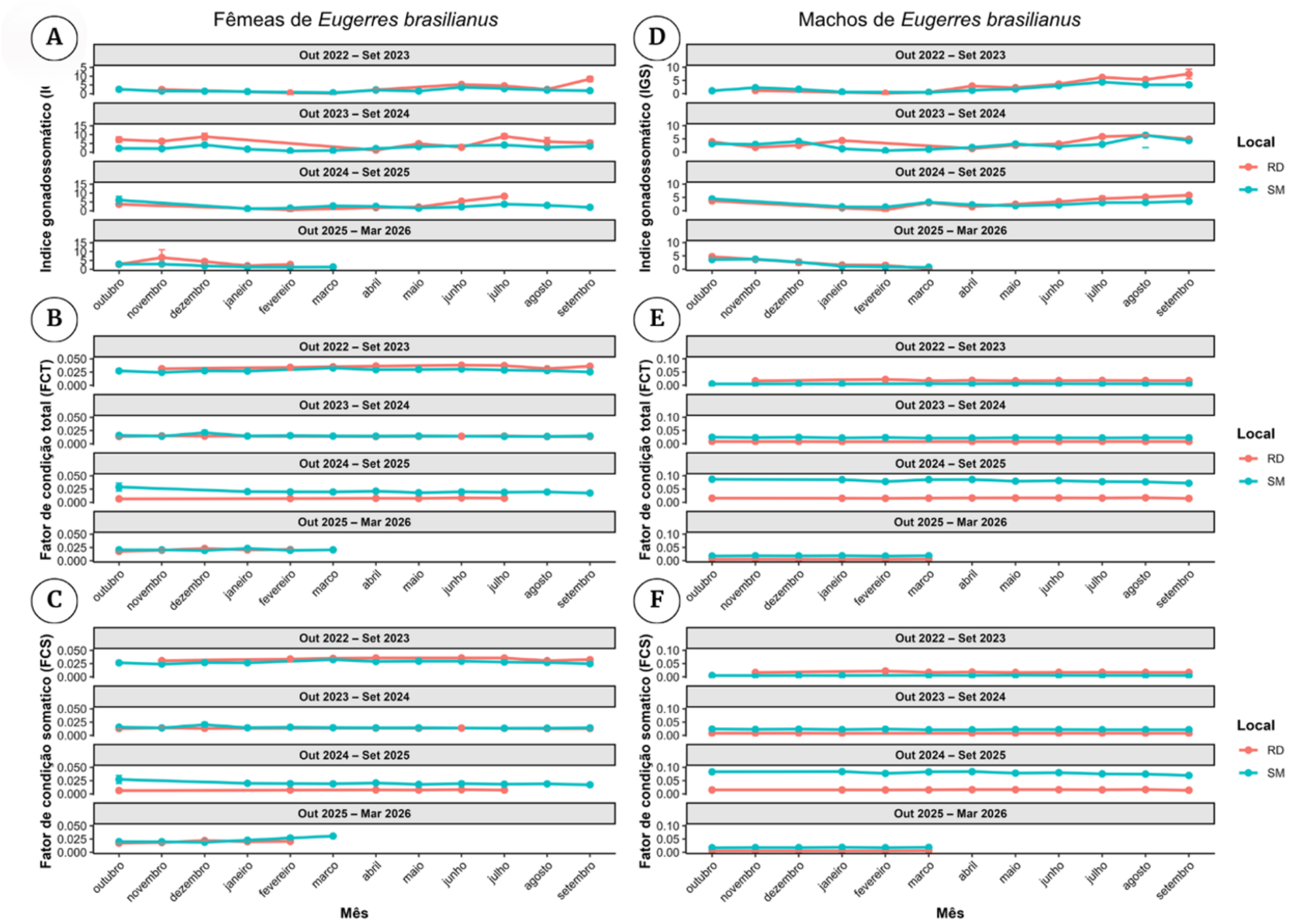
Para a espécie *Centropomus parallelus*, o IGS demonstra que, em ambas as populações, rio Doce (RD) e São Mateus (SM) a atividade reprodutiva ocorre ao longo de grande parte do ciclo reprodutivo anual, sem a ocorrência de picos reprodutivos definidos. Em ambas as localidades, observou-se sincronismo reprodutivo entre machos e fêmeas, com períodos semelhantes de aumento e redução dos valores de IGS. Entretanto, diferenças na sazonalidade e no aporte reprodutivo foram registradas entre localidades e anos. No ano 5, em ambos os sexos, o RD apresentou reduzida variação do IGS, com redução pontual da atividade gonadal em fevereiro. Em SM foi observado maior sazonalidade, com maiores valores de IGS principalmente em março, abril, agosto e novembro (Figura 71A e D). No ano 6, as fêmeas apresentaram elevados valores de IGS em diversos meses, especialmente em SM, evidenciando período reprodutivo mais amplo (Figura 71A). Os machos apresentaram padrão semelhante, com redução pontual em novembro no RD e maiores valores entre agosto e outubro em SM. No ano 7, ocorreu redução do IGS no meio do ano, para ambos os sexos, principalmente em junho e julho no RD, seguida de retomada da atividade reprodutiva no segundo semestre. Em SM, apesar de reduções pontuais, os valores de IGS permaneceram elevados durante a maior parte do ciclo (Figura 71A e 1D). No ano 8, as fêmeas do RD apresentaram maiores valores de IGS em janeiro, enquanto em SM não houve diferença entre os meses; para os machos, os maiores valores ocorreram entre novembro e fevereiro em SM e no RD não houve diferença entre os meses. De modo geral, a ausência de diferenças significativas entre a maioria dos meses indica atividade reprodutiva prolongada, corroborando estudos prévios para a família Centropomidae (CHÁVES, 1963; TAYLOR *et al*., 1998; COSTA & SILVA *et al*., 2021). Por outro lado, registros de períodos reprodutivos mais restritos em algumas populações evidenciam a elevada plasticidade reprodutiva de *C. parallelus* (RODRIGUES, 2005; CHÁVEZ E NOGUEIRA, 2018; ASSIS *et al*., 2019; COSTA & SILVA *et al*., 2021). Os fatores de condição (FCT e FCS) revelaram diferenças espaciais e temporais entre as populações. Nas fêmeas, os maiores valores desses índices ocorreram no RD durante os anos 5, 6 e 7, indicando melhor condição fisiológica e maior direcionamento energético. No ano 8, entretanto, observou-se inversão desse padrão, com maiores valores em SM e declínio dos índices no RD (Figura 71B e C). Os machos apresentaram tendência semelhante, com maiores valores de FCT e FCS no RD nos anos 5 e 6, redução no ano 7 e maiores valores em SM no ano 8 (Figura 71E e F). Esses resultados indicam variações interanuais no investimento energético e na condição corporal de *C. parallelus*, possivelmente relacionadas tanto aos impactos ambientais decorrentes do MLD, quanto a fatores naturais, como pluviosidade, temperatura, salinidade e produtividade estuarina. A redução dos índices no ano 8, especialmente no RD, sugere comprometimento da condição fisiológica; entretanto, os valores de IGS permaneceram elevados, indicando manutenção do investimento reprodutivo mesmo sob possível limitação energética. Para os machos, a relação entre condição corporal e aporte reprodutivo não foi consistente, possivelmente em função do menor custo energético da espermatogênese em comparação à ovogênese (HAYWARD e GILLOOLY, 2011; LOWERRE-BARBIERI *et al*., 2023). De modo geral, os fatores de condição apresentaram baixa variação temporal, e as reduções observadas em alguns períodos podem estar associadas à mobilização de reservas energéticas para sustentar a maturação gonadal e os processos reprodutivos

Figura 72: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonadossomático), 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; out/24-mar/25 e out/25-mar/26) e seco (abr/set/23; abr/set/24 abr/set25) dos anos 5, 6, 7 e 8 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do período amostral, separados pelos diferentes anos e áreas de estudo (linhas com os marcadores). As lacunas indicam ausência de captura mensal dos espécimes.



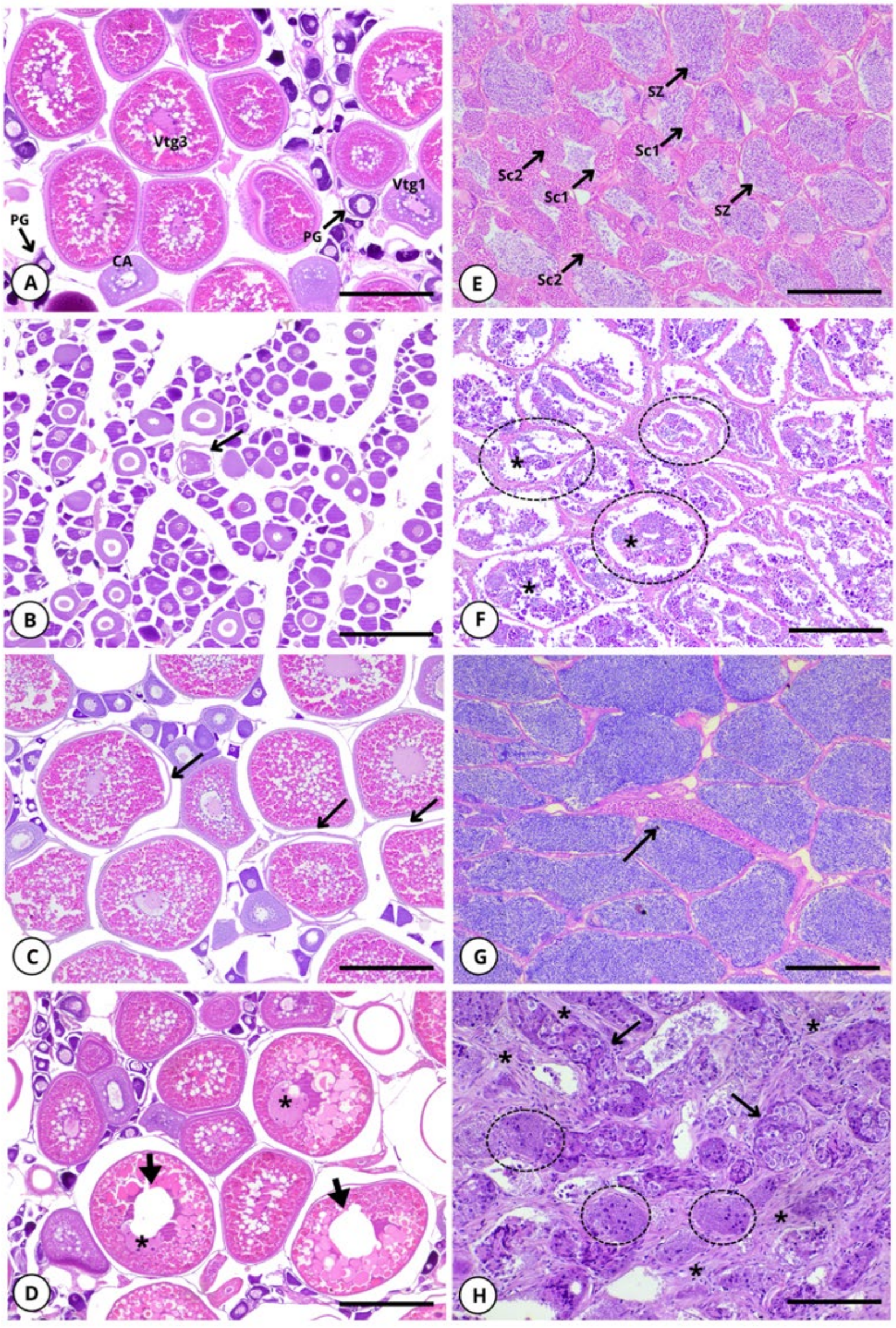
As análises do IGS evidenciaram padrão reprodutivo sazonal bem definido para *Genidens genidens* nas populações do RD e SM, com maior atividade reprodutiva entre o final do período seco e o início do chuvoso. Esse padrão manteve-se relativamente estável entre os ciclos avaliados, embora diferenças temporais e espaciais do investimento reprodutivo tenham sido observadas, possivelmente associadas a variações ambientais como temperatura, pluviosidade, salinidade e disponibilidade alimentar (LOWERRE-BARBIERI *et al*., 2011; 2023). As fêmeas apresentaram maior sincronização reprodutiva e sazonalidade mais acentuada comparadas aos machos, com valores de IGS significativamente mais elevados no RD. Em ambas as localidades, os maiores valores ocorreram, principalmente, entre setembro e janeiro (Figura 72A e D). No ano 5, os maiores valores de IGS foram observados entre outubro e janeiro. No ano 6, novembro foi o mês com maior atividade reprodutiva em ambas as localidades, enquanto no ano 7 os maiores valores ocorreram entre outubro e janeiro no RD e entre agosto e janeiro em SM. No ano 8, não foram observadas diferenças significativas para as fêmeas do RD, possivelmente em razão da amostragem restrita ao período chuvoso (Figura 72A). Esse padrão reprodutivo segue a tendência geral observada por diversos autores, coincidindo com o aumento da temperatura, com início na 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 machos apresentaram menores valores de IGS e menor sazonalidade que as fêmeas, refletindo o menor investimento energético na produção de gametas e a manutenção da atividade gonadal por períodos mais prolongados (WOOTTON, 1990). Esse padrão é compatível com estratégias reprodutivas descritas para ariídeos estuarinos, associadas ao cuidado parental e à incubação oral dos ovos (HOSTIM-SILVA *et al*., 2009). Apesar da maior estabilidade do índice, os períodos de elevação do IGS coincidiram, em grande parte, com os meses de maior atividade reprodutiva das fêmeas, indicando sincronismo reprodutivo entre os sexos (Figura 72D). Os indivíduos de SM apresentaram, de modo geral, maiores valores de FCT e FCS do que os indivíduos do RD, indicando melhores condições fisiológicas e energéticas. Entretanto, apesar da menor condição corporal, os espécimes do RD apresentaram maior aporte reprodutivo, sugerindo priorização do investimento reprodutivo em detrimento da manutenção das reservas corporais. Esse padrão sugere uma estratégia adaptativa que assegura o sucesso reprodutivo mesmo sob condições ambientais menos favoráveis (STEARNS, 1992; LOWERRE-BARBIERI *et al*., 2023). Por outro lado, os indivíduos de SM apresentaram melhor condição corporal, porém menor investimento reprodutivo, sugerindo estratégias distintas de alocação energética entre as populações. As variações dos fatores de condição ao longo dos meses coincidiram, em geral, com períodos que antecederam os picos reprodutivos. Para as fêmeas, os maiores valores de FCT e FCS ocorreram principalmente entre setembro e janeiro no RD e em dezembro em SM no ano 5, além de setembro, outubro e janeiro no ano 6 e abril, junho e agosto no ano 7 (Figura 72C e D). Para os machos, os maiores valores foram observados principalmente entre setembro e fevereiro no ano 5, enquanto em diversos períodos dos anos 7 e 8 não foram registradas diferenças entre os meses (Figura 72E e F). O aumento dos fatores de condição em períodos que antecedem os períodos reprodutivos reforça a relação desses índices com a alimentação e o acúmulo de reservas energéticas utilizadas posteriormente na reprodução (MORESCO & BEMVENUTI, 2006).

Figura 73: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonadossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) de *Eugerres brasilianus* (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; out/24-mar/25 e out/25-mar/26) e seco (abr/set/23; abr/set/24 abr/set25) dos anos 5, 6, 7 e 8 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do período amostral, separados pelos diferentes anos e áreas de estudo (linhas com os marcadores). As lacunas indicam ausência de captura mensal dos espécimes.



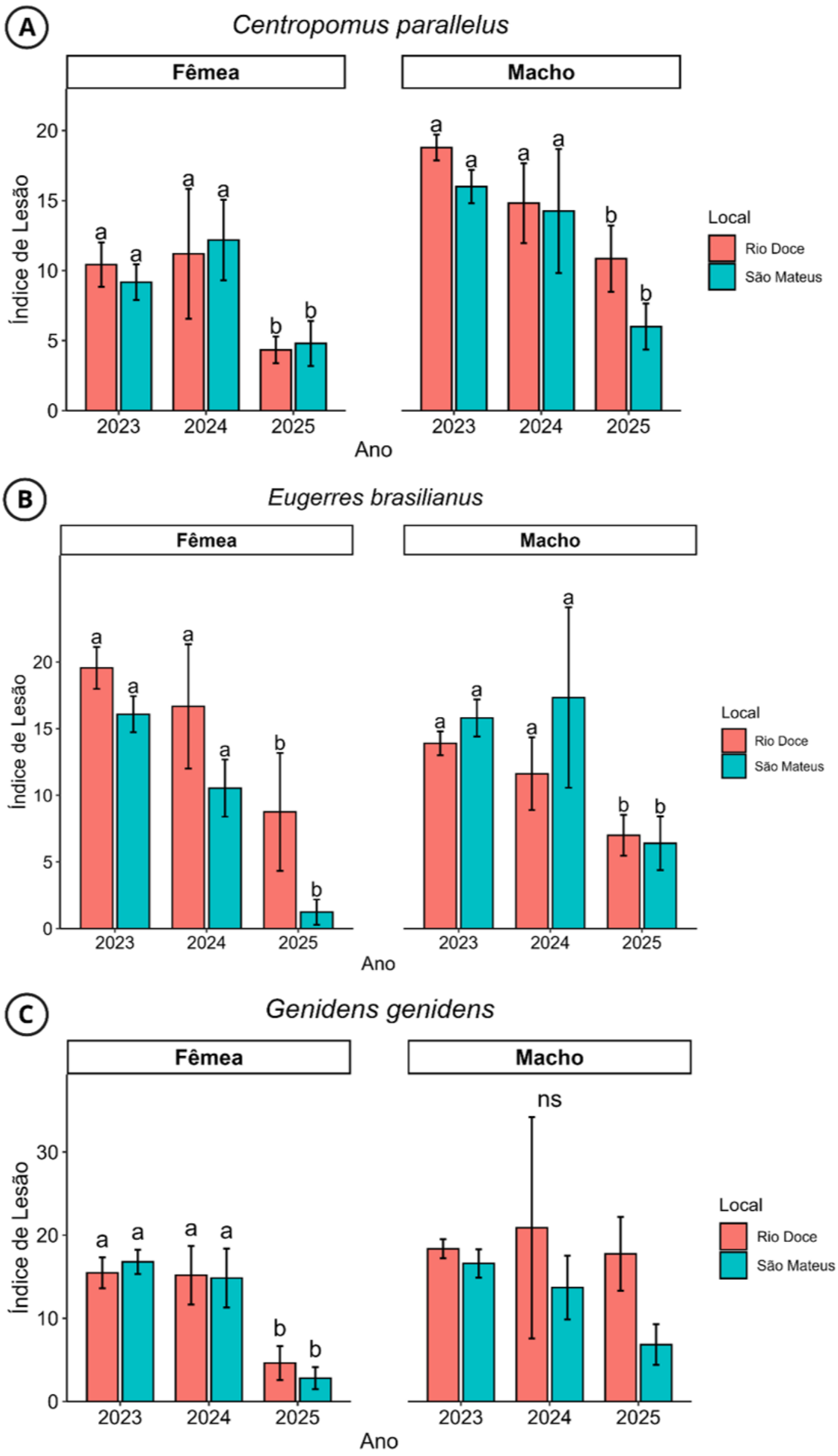
O período reprodutivo de *Eugerres brasilianus* apresentou padrão sazonal bem definido em ambos os estuários (RD e SM), para machos e fêmeas, com maiores valores de IGS entre o inverno e a primavera, principalmente de junho a novembro, indicando intensificação da atividade reprodutiva no final do período seco e início do chuvoso. Essa tendência acompanha o padrão reprodutivo observado para *E. brasilianus* (SOARES *et al*., 2016) e *Diapterus rhombeus*, (BEZERRA *et al*., 2001) espécie também pertencente à família Gerreidae e popularmente conhecida como carapeba, o qual sugerem que o segundo semestre contemple o melhor período reprodutivo para espécie, reforçando a existência de um padrão sazonal reprodutivo característico para representantes dessa família em ambientes estuarinos tropicais. As fêmeas apresentaram maior investimento e sincronização reprodutiva quando comparados aos machos, com ciclos mais pronunciados no RD e mais prolongados em SM. Nas fêmeas, os maiores valores de IGS ocorreram entre junho e setembro no RD e entre junho e outubro em SM no ano 5; entre julho e dezembro em ambas as localidades no ano 6; entre junho e julho no RD e julho e outubro em SM no ano 7; e, no ano 8, novembro apresentou os maiores valores de IGS, embora com poucas diferenças entre os meses (Figura 73A). Para os machos, os maiores valores de IGS concentraram-se entre junho e outubro ao longo dos ciclos avaliados, com ampliação do período reprodutivo no ano 6 e deslocamento do pico para outubro e novembro no ano 8 (Figura 73B). Os fatores de condição total (FCT) e somático (FCS) evidenciaram variações temporais e espaciais no estado fisiológico e no direcionamento energético dos indivíduos. Nas fêmeas do RD, os índices permaneceram relativamente estáveis nos anos 5 e 6, apresentando variações significativas apenas nos anos 7 e 8, quando foram observadas reduções durante períodos de maior atividade reprodutiva e recuperação das reservas energéticas ao final do ciclo (Figura 73C e D) Em SM, o padrão sazonal foi mais evidente nos anos 5 e 6, com maiores valores de FCT e FCS ocorrendo antes ou após os períodos de maior atividade gonadal, sugerindo acúmulo e posterior utilização das reservas energéticas durante a reprodução. Nos anos 7 e 8, os índices mostraram-se mais homogêneos ao longo do tempo (Figura 73C e D). Para os machos, o FCT e o FCS apresentaram variações significativas apenas em alguns ciclos reprodutivos, com destaque para os maiores valores observados em fevereiro no ano 5, período posterior ao pico reprodutivo, indicando recuperação energética após o investimento gonadal. Por outro lado, durante os meses de maior atividade reprodutiva, observou-se redução dos fatores de condição, evidenciando mobilização das reservas corporais para sustentar a reprodução (Figura 73E e F). Em SM, nos anos 6 e 7, os maiores valores de FCT e FCS coincidiram com períodos de elevada atividade gonadal (Figura 73E e F). Esse padrão sugere que os indivíduos se encontravam em elevada condição nutricional e fisiológica, indicando disponibilidade energética suficiente para sustentar, simultaneamente, a manutenção corporal e o investimento gonadal, esse padrão é frequentemente observada em peixes estuarinos submetidos a períodos de elevada produtividade ambiental (LOWERRE-BARBIERI *et al.,* 2023; LEE *et al.,* 2025). As variações observadas nos fatores de condição indicam estreita relação entre estado fisiológico, disponibilidade energética e ciclo reprodutivo da espécie.

Figura 74: Biologia reprodutiva. Fotomicrografias de alterações histopatológicas observadas nos órgãos reprodutivos de fêmeas e machos das espécies de peixes estuarinos/marinhos *Centropomus parellelus* (Robalo-peva); *Eugerres brasilianus* (Carapeba) e *Genidens genidens* (Bagre-guri), coletados no estuário diretamente impactado (RD - rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante os anos 5, 6, e 7 de monitoramento. A, B, C e D: ovário de peixes estuarinos/marinhos. E, F, G e H: testículos peixes estuarinos/marinhos A: ovário com morfologia normal; B: atresia (seta); C: deslocamento da membrana basal (seta); D: vacuolização citoplasmática (seta) e alteração nuclear (asterisco); E: testículo com morfologia normal; F: desorganização estrutural dos cistos (círculo pontilhado) e alteração nuclear (asterisco); G: congestão de vaso sanguíneo (seta); H: necrose (círculo pontilhado), hipertrofia (asterisco) e desorganização estrutural dos cistos (seta). PG: ovócito de crescimento primário, CA: ovócito com alvéolos corticais, Vtg1: ovócitos vitelogênicos primários, Vtg3: ovócitos vitelogênicos terciários, Sc1: espermatócitos primários, Sc2: espermatócitos secundárias e SZ: espermatozoide. Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B, C, D, E e F: 100 µm e H: 50 µm.



A análise histopatológica das gônadas de *C. parallelus*, *G. genidens* e *E. brasilianus* coletados nos estuários do RD e SM ao longo dos anos 5, 6 e 7 revelou predominância de alterações classificadas como respostas regressivas, frequentemente associadas à degeneração tecidual e à redução da funcionalidade dos órgãos reprodutivos (BERNET *et al.*, 1999). Entre as lesões mais frequentes observadas nas fêmeas, destacaram-se alterações nucleares, descolamento de membrana basal, atresia de ovócitos e vacuolização dos ovócitos (Figura 74A - D). Nos machos, foram registradas, principalmente, atrofia dos cistos/túbulos seminíferos, alterações nucleares, desorganização estrutural, necrose dos túbulos seminíferos, congestão vascular e hiperplasia do tecido intersticial dos cistos seminíferos (Figura 74E e F). O predomínio de alterações regressivas nas gônadas das espécies avaliadas sugere a atuação de estressores capazes de comprometer a integridade dos tecidos reprodutivos. Estudos recentes têm demonstrado que contaminantes presentes em ambientes aquáticos, incluindo metais, hidrocarbonetos aromáticos, pesticidas e contaminantes emergentes, podem desencadear alterações endócrinas, estresse oxidativo, danos genéticos e modificações histológicas nos tecidos reprodutivos, resultando na redução da fertilidade e do sucesso reprodutivo das populações (HASAN *et al.*, 2025; ORÓS *et al.*, 2025; UDDIN *et al.*, 2026). Assim, os resultados observados a partir das análises histopatológicas sugerem que os organismos avaliados estão sujeitos a pressões ambientais contínuas, capazes de afetar a homeostase fisiológica e a capacidade reprodutiva, refletindo potenciais riscos para a manutenção das populações e para o equilíbrio ecológico dos ecossistemas estuarinos.

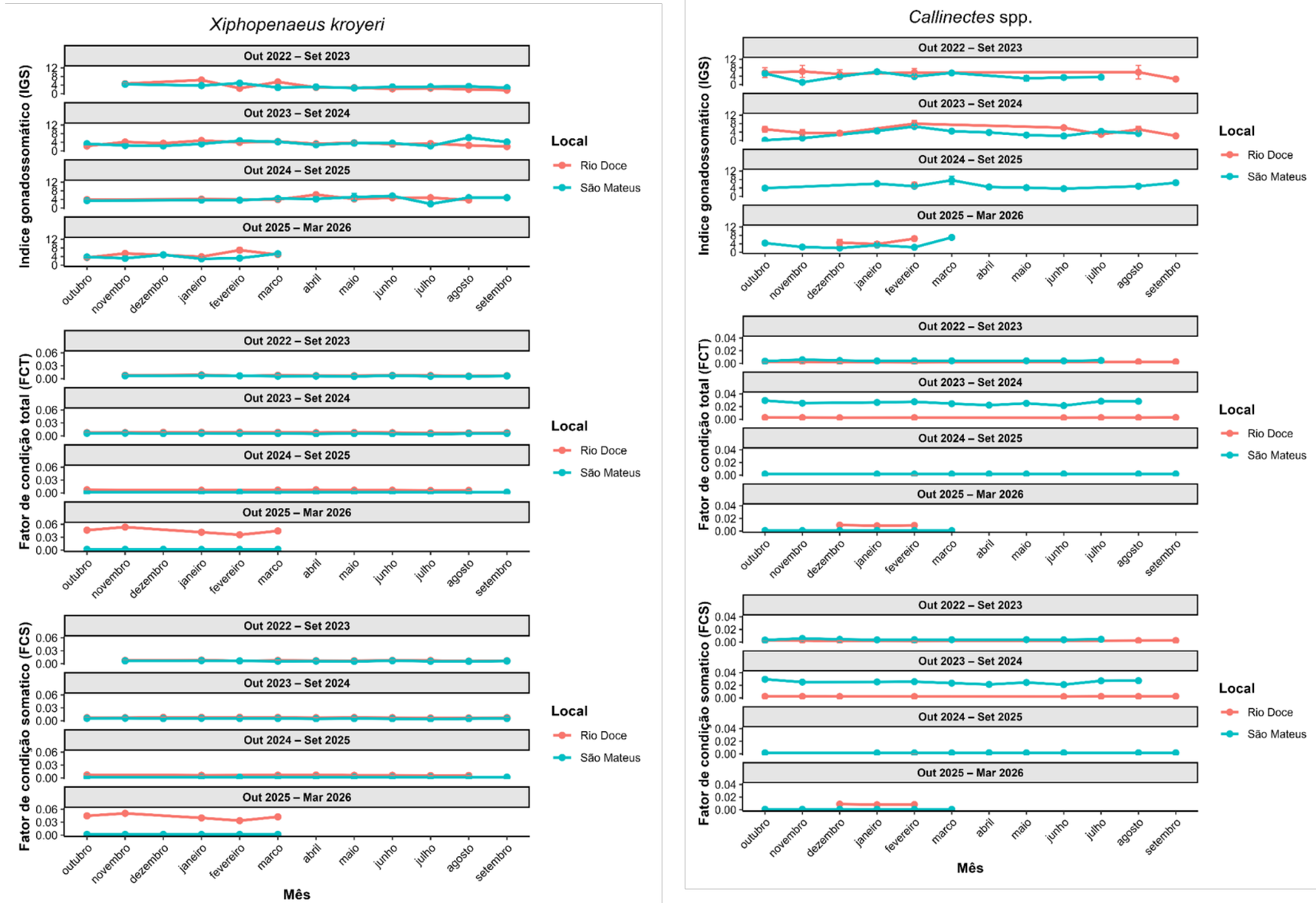
Figura 75: Biologia reprodutiva. Índice de Lesão Gonadal (ILG) de fêmeas e machos de peixes estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD – rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM – São Mateus) durante os anos 5, 6 e 7 de monitoramento. A: *Centropomus parallelus* (robalo-peva); B: *Eugerres brasilianus* (carapeba); e C: *Genidens genidens* (bagre-guri). Os gráficos apresentam as médias ± desvio-padrão dos valores de ILG obtidos para as gônadas de fêmeas e machos em cada ano de monitoramento. Letras diferentes indicam diferenças significativas entre os grupos avaliados (p<0,05), e "ns" indica ausência de diferenças significativas conforme o teste dos modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição gama.



Apesar da ocorrência de alterações histopatológicas em ambos os estuários, não foram observadas diferenças significativas no Índice de Lesão Gonadal (ILG) entre RD e SM, indicando que a integridade das gônadas foi afetada de forma semelhante nas populações avaliadas. Entretanto, foram registradas diferenças temporais significativas ($p<0,05$), caracterizadas pela redução dos valores de ILG no ano 7 (2025) em relação aos anos 5 (2023) e 6 (2024) (Figura 75), exceto para os machos de *G. genidens*, nos quais não foram observadas diferenças significativas entre os anos avaliados, embora tenha sido identificado tendência de redução dos valores de ILG ao longo do período de monitoramento (Figura 75B). Esse padrão sugere uma redução da frequência e/ou da severidade das alterações histopatológicas ao longo do período monitorado, podendo refletir processos de recuperação tecidual gonadal. A manutenção dos padrões reprodutivos observados por meio do IGS, associada à diminuição dos danos histológicos, indica que as espécies avaliadas preservaram sua capacidade de investimento reprodutivo mesmo diante da ocorrência de alterações teciduais. Esses resultados sugerem a atuação de mecanismos fisiológicos compensatórios e respostas adaptativas capazes de minimizar os efeitos dos estressores ambientais sobre os órgãos reprodutivos, contribuindo para a manutenção da homeostase e garantindo a continuidade das populações ao longo do período de monitoramento (ORÓS *et al*., 2025). No entanto, conforme destaca Orós *et al*. (2025), as respostas compensatórias podem mascarar os danos causados pelos contaminantes, e a homeostase nem sempre é completamente restabelecida. Nesse sentido, embora tenha sido observada redução ILG ao longo do período monitorado, alterações histopatológicas ainda podem persistir em nível tecidual, incluindo alterações na qualidade dos gametas, na fecundidade, nas taxas de fertilização e no sucesso larval. Dessa forma, a continuidade do monitoramento, aliada à avaliação de indicadores complementares em diferentes níveis de organização biológica, torna-se fundamental para compreender a evolução das respostas das populações frente aos impactos decorrentes do MLD, especialmente em relação aos aspectos reprodutivos, permitindo avaliar a persistência, atenuação ou eventual recuperação dos efeitos sobre a saúde dos organismos e a dinâmica populacional das espécies estuarinas

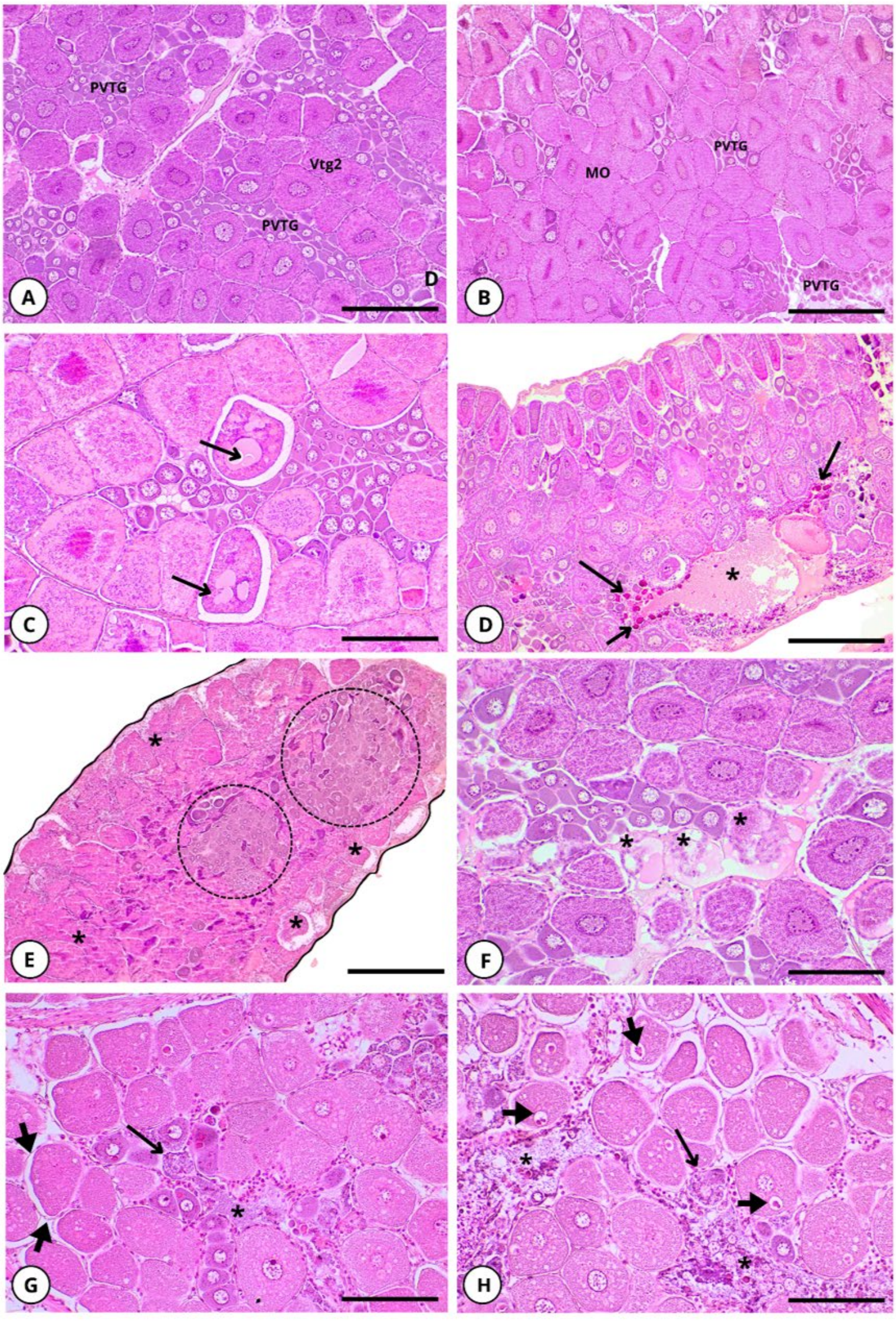
3.8.2 Crustáceos estuarinos/marinhos

Figura 76: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonadossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) das espécies de crustáceos marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) e estuarinos (siris 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; out/24-mar/25 e out/25-mar/26) e seco (abr/set/23; abr/set/24 abr/set/25) dos anos 5, 6, 7 e 8 de monitoramento. Variação mensal dos valores médios dos indicadores avaliados em fêmeas de *Xiphopenaeus kroyeri* (A) e siris das espécies C*allinectes 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 trâmites de finalização de aditivo, como descrito no sumário executivo.



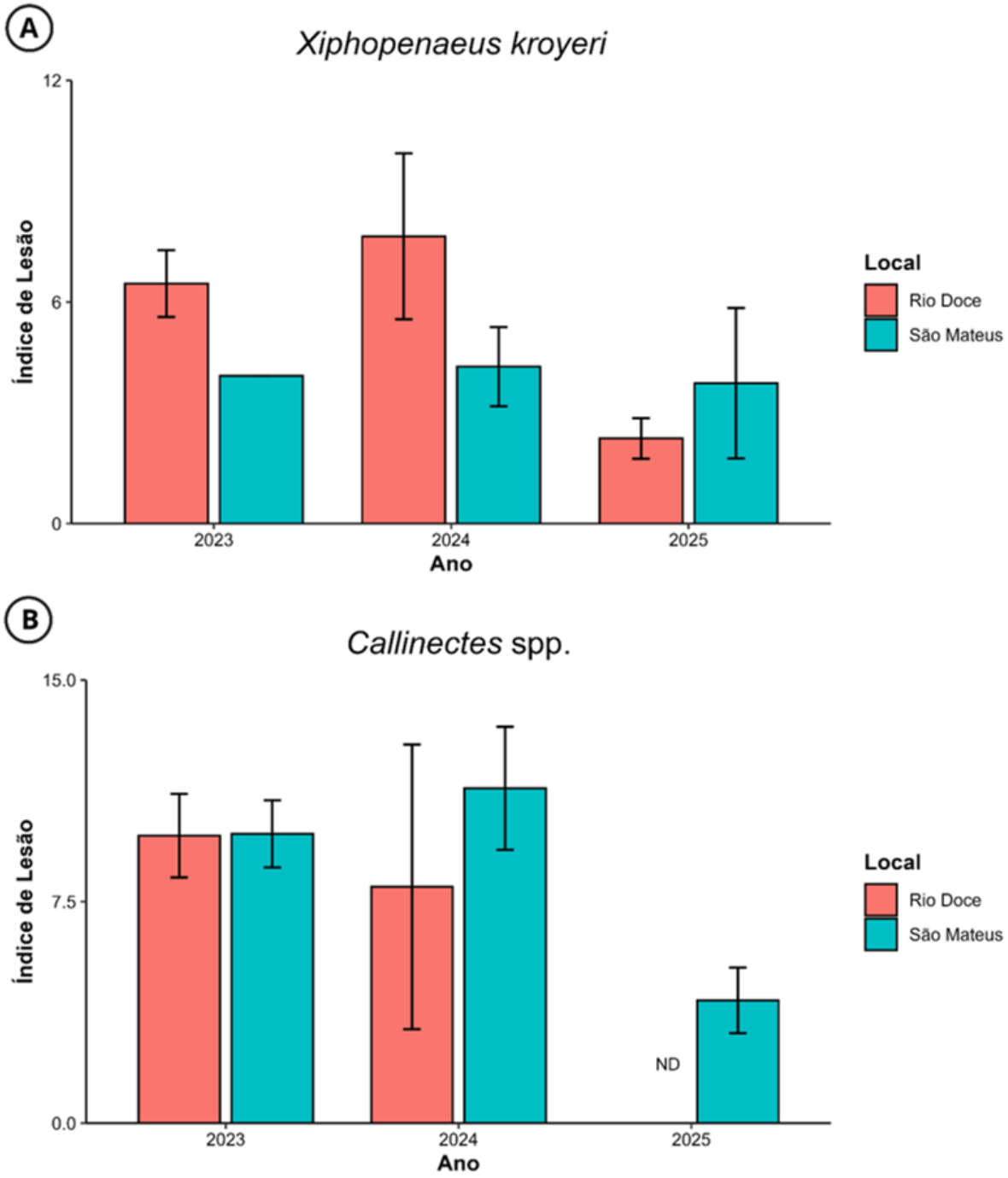
Os resultados dos indicadores apontam para o padrão de atividade reprodutiva contínua com predomínio de picos no período chuvoso, mas que variaram ao longo dos anos de monitoramento e setores amostrados, tanto para o camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* quanto para os siris das espécies *Callinectes bocourti, C. sapidus, C. danae* e *C. exasperatus*. Para *X. kroyeri*, o maior direcionamento energético para o desenvolvimento gonadal foi no setor impactado (RD). No ano 5, os três indicadores foram maiores no período chuvoso, confirmando o padrão reprodutivo descrito para a espécie ao longo da costa brasileira, associado à maior disponibilidade de alimento e às condições oceanográficas favoráveis durante o período de maior precipitação (BRANCO, 2005; CASTILHO *et al*., 2015; SANTOS *et al*., 2020). No ano 6, os valores dos indicadores foram similares entre os períodos o que pode indicar uma homogeneização das condições ambientais ao longo do ano ou uma resposta a fatores não-sazonais que atuaram sobre a população nesse período. A inversão do padrão sazonal no ano 7, com valores significativamente maiores no período seco do que no chuvoso pode estar relacionada a múltiplos fatores, como remobilização expressiva dos sedimentos durante as chuvas de 2024/2025, mudanças na disponibilidade de alimento ao longo do ano, decorrentes de alterações na estrutura do fitoplâncton e do zooplâncton associadas aos aportes de nutrientes e sedimentos, além de respostas populacionais de médio prazo ao estresse crônico acumulado ao longo dos anos de monitoramento, que podem ter alterado a sazonalidade reprodutiva da espécie no setor impactado. Já para os siris do gênero *Callinectes,* o IGS foi maior no período chuvoso e não variou entre locais, indicando sincronia reprodutiva sazonal independente das condições dos setores amostrados. Houve expressiva variação interanual em todos os indicadores, sendo o ano 6 o de melhor condição corporal e o IGS mais elevado observado no ano 7. Os fatores de condição total e somático foram maiores no setor não impactado São Mateus e no período seco, revelando um *trade-off* entre desenvolvimento gonadal e acúmulo de reservas somáticas. A variação observada no padrão reprodutivo e na condição somática no último ano, justifica e reforça a continuidade do monitoramento de longo prazo no âmbito do PMBA, pois tendências como essa só são detectáveis com séries temporais extensas, assim como a possível relação dessas alterações com o MLD.

Figura 77: Biologia reprodutiva. Fotomicrografias de alterações histopatológicas observadas em ovários de crustáceos marinhos (Xiphopenaeus kroyeri) e estuarinos (*Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) coletados mensalmente nas regiões interna e externa dos estuários diretamente impactado (RD – rio Doce) e indiretamente impactado (SM – São Mateus), durante os períodos chuvoso (out/22-mar/23; out/23-mar/24; out/24-mar/25) e seco (abr/set/23; abr/set/24 abr/set25) dos anos 5, 6 e 7 de monitoramento. A, C, D, E e F: ovário de Xiphopenaeus kroyeri. B, G e H: ovário de *Callinectes* sp. A: ovário de *X. kroyeri* com morfologia normal; B: ovário de Callinectes sp com morfologia normal; C: vacuolização citoplasmática (seta); D: alteração nuclear (seta) associada à necrose (asterisco); E: Degeneração ovocitária (asterisco), desorganização estrutural dos lóbulos ovarianos (linha contínua) e ovócitos iniciais em processo de degeneração (círculo pontilhado); F: atresia (asterisco), G: deslocamento da membrana basal (cabeça de seta), atresia (seta), necrose (asterisco), H: atresia (seta), vacuolização citoplasmática (cabeça de seta), necrose (asterisco). PVTG: ovócitos previtelogênicos, Vtg2: ovócitos vitelogênicos secundários, MO: ovócitos maduros. Coloração: Hematoxilina & Eosina. Barra: A, B, D e E: 100 µm e F e C= 50 µm.



A análise histopatológica em ovários de crustáceos marinhos (*Xiphopenaeus kroyeri*) e estuarinos (*Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) coletados nos estuários do RD e SM ao longo dos anos 5, 6 e 7 revelou predominância de alterações classificadas como respostas regressivas, frequentemente associadas à degeneração tecidual e à redução da funcionalidade dos órgãos reprodutivos (BERNET *et al*., 1999). Entre as lesões mais frequentes observadas nas fêmeas, destacaram-se alterações nucleares, descolamento de membrana basal, atresia de ovócitos e vacuolização dos ovócitos (Figura 77C-H). A degeneração das células foliculares, ao restringir o suprimento de precursores metabólicos e atuar como fator vascular limitante (GIRÓN-PÉREZ *et al*., 2009), compromete a maturação pré-vitelogênica (CAREY *et al*., 2013; SINGH *et al*., 2017), o comprometimento do crescimento folicular prejudica a oogênese, levando à redução do sucesso reprodutivo, que pode ocasionar declínio em populações naturais.

Figura 78: Índice de lesão gonodal (IL) das espécies de crustáceos marinhos e estuarinos. A: camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* e B: siris 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 os anos 5, 6 e 7 de monitoramento. Os gráficos apresentam as médias ± desvio-padrão dos valores de ILG obtidos para as gônadas de fêmeas dos camarões e siris em cada ano de monitoramento.



Apesar da ocorrência de alterações histopatológicas em ambos os setores, não foram observadas diferenças significativas no Índice de Lesão Gonadal (ILG) entre RD e SM, indicando que a integridade das gônadas foi afetada de forma semelhante nas populações avaliadas. Entretanto, foram registradas diferenças temporais significativas ($p<0,05$), caracterizadas pela redução dos valores de ILG no ano 7 (2025) em relação aos anos 5 (2023) e 6 (2024), para os siris do gênero *Callinectes.* Para os camarões sete-barbas *X. kroyeri*, não foram observadas diferenças significativas entre os anos avaliados, embora tenha sido identificado tendência de redução dos valores de ILG ao longo do período de monitoramento. Esse padrão sugere uma redução da frequência e/ou da severidade das alterações histopatológicas ao longo do período monitorado, podendo refletir processos de recuperação tecidual gonadal. A manutenção dos padrões reprodutivos observados por meio do IGS, associada à diminuição dos danos histológicos, indica que as espécies avaliadas preservaram sua capacidade de investimento reprodutivo mesmo diante da ocorrência de alterações teciduais. Essa tendência pode refletir uma oscilação interanual na ocorrência de atresia possivelmente associada à variação no aporte do MLD que é intensificado em anos de maior precipitação, quando a remobilização dos sedimentos contaminados depositados na calha do rio Doce é mais expressiva (HATJE *et al.*, 2017; PINHEIRO *et al.*, 2025). Os resultados dos indicadores reprodutivos apontam para padrões dinâmicos e não-lineares, características que tornam o monitoramento de longo prazo com séries temporais extensas, indispensáveis para a detecção, quantificação e compreensão dos impactos do MLD sobre as populações de crustáceos estuarinos e marinhos.

.

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

Peixes estuarinos/marinhos: Não houve mudanças conspícuas na composição e estrutura da comunidade de peixes estuarinos/marinhos, desde o último relatório (FEST, 2025). As principais observações foram: 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-Açu); 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. Em RDI, menos espécies compõem 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, sendo que salinidade e profundidade influenciam mais as áreas externas dos três estuários, e turbidez é a variável mais relevante, principalmente em RDI.

Em relação à última avaliação (FEST, 2025), as tendências sazonais para densidade, biomassa e riqueza foram mantidas (declínio até S4, com aumento nos períodos subsequentes) em RDI. No entanto, vale destacar que a riqueza foi menor na área interna do rio Doce do que na sua área externa; nos dois estuários indiretamente impactados, a riqueza não foi significativamente diferente entre as áreas (SMI=SME e PAI=PAE), fatos que já haviam sido observados anteriormente (FEST, 2025). Por outro lado, como também vem sendo observado ao longo do monitoramento, as diferenças foram mais conspícuas entre as áreas interna e externa de cada estuário do que entre os estuários, uma vez que as áreas externas são mais similares entre si, pois sofrem menos influência da descarga continental. Enquanto as áreas externas foram mais influenciadas por maiores valores de salinidade e profundidade, a turbidez influenciou mais em RDI, tanto nos períodos chuvosos quanto nos secos. A influência da turbidez na estrutura da ictiofauna vem sendo observada desde as volumosas chuvas observadas entre outubro/2022 e janeiro/2023, reforçando que a ressuspensão do sedimento do MLD influencia na estrutura da comunidade ictiofaunística.

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 (em ambas as áreas, observado em C4) para que ocorressem picos de indicadores. Quanto a ampla dominância de *G. genidens*, em densidade e biomassa, 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. Dentre as seis áreas monitoradas, a área interna do rio Doce é a mais atingida pelo MLD e a que mais demonstrou influência do impacto na estrutura da comunidade de peixes estuarinos/marinhos. Além disso, ao longo dos anos de monitoramento, foram observadas

oscilações que não são necessariamente anuais, confirmando a importância do monitoramento de longo prazo.

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 (especialmente *Farfantepenaeus subtilis* e *F. brasiliensis*), 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 foi exclusiva na área externa do rio Doce em relação aos outros locais monitorados. É importante ainda ressaltar que espécies mais raras continuam sendo capturadas a medida que novas campanhas de coletas são realizadas. 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 impactados (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 áreas 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, onde a plataforma continental é mais estreita, e por temperaturas mais baixas em virtude das correntes marítimas com águas mais frias vindas do sul que banham diretamente a região.

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 brânquias 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 $\delta^{15}N$ e amplitude de $\delta^{13}C$ 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. Para as espécies de peixes (*Cynoscion jamaicensis*, pescada-goete; *Paralonchurus brasiliensis*, maria-luísa) e crustáceos

(*Farfantepenaeus subtilis*, camarão-rosa; *Xiphopenaeus kroyeri*, camarão-sete-barbas) foi identificada presença de fluxo gênico entre os rios e períodos (seco e chuvoso) avaliados e índices de diversidade genética de moderados a altos para a população de cada espécie. Para *Genidens genidens* (bagre-guri) foi identificada sutil diferenciação genética (tanto mitocondrial quanto nuclear) entre os rios (São Mateus e Doce) e períodos (seco e chuvoso), indicando ausência de fluxo gênico; e, moderados a altos valores de diversidade genética, sendo os maiores índices encontrados para o rio São Mateus e para o período seco. Para a espécie *Centropomus parallelus* (robalo-peva) foi identificada: ausência de diferenciação genética (tanto mitocondrial quanto nuclear) entre os rios (São Mateus e Doce); valores altos de diversidade haplotípica para a população identificada, sendo os maiores valores para o rio Doce; moderados valores de heterozigosidade, sendo os maiores para o rio São Mateus. Já para a análise sazonal, foi verificada sutil diferenciação genética nuclear entre os períodos avaliados (chuvoso e seco), com moderados valores de heterozigosidade, sendo os maiores para o período seco.

Microquímica de otólitos: A microquímica dos otólitos de *G. genidens* evidenciou assinaturas geoquímicas distintas entre os estuários avaliados, com destaque para o rio Doce, caracterizado por elevadas concentrações de Ba:Ca e menores valores de Sr:Ca. Esse padrão foi observado tanto nas análises da borda quanto nos perfis cronológicos, indicando que as diferenças registradas refletem condições ambientais experimentadas ao longo da vida dos indivíduos. Embora tenham ocorrido variações sazonais em diferentes elementos, as diferenças entre os estuários permaneceram mais evidentes que as oscilações temporais, demonstrando a forte influência das características ambientais locais sobre a composição dos otólitos.

Para o *E. brasilianus*, os principais contrastes também estiveram associados às razões Ba:Ca e Sr:Ca. O rio Doce apresentou maiores concentrações de Ba:Ca e menores valores de Sr:Ca, enquanto Piraquê-Açu se destacou pelos maiores valores de Sr:Ca e por concentrações elevadas de elementos como Li:Ca, Mg:Ca, Al:Ca, P:Ca, Cr:Ca e Cu:Ca. Apesar das variações observadas entre campanhas, os padrões registrados permaneceram relativamente estáveis, indicando que as diferenças ambientais entre os estuários exerceram influência mais importante que as mudanças sazonais. Os perfis cronológicos reforçaram essa interpretação ao evidenciar variações na incorporação dos elementos ao longo da ontogenia.

Enquanto no *C. parallelus* as maiores diferenças estiveram associadas às razões Ba:Ca e Sr:Ca, acompanhadas por contribuições importantes de Fe:Ca, Co:Ca, Al:Ca e Mn:Ca. O rio Doce apresentou maiores concentrações de Ba:Ca, Al:Ca e Mn:Ca, enquanto Piraquê-Açu destacou-se por Sr:Ca e São Mateus por Fe:Ca e Co:Ca. Embora alterações temporais tenham sido registradas para diversos elementos, a estrutura observada entre os estuários permaneceu consistente ao longo do monitoramento. Os perfis cronológicos confirmaram que essas assinaturas são registradas ao longo da história de vida dos indivíduos e refletem a interação entre fatores ambientais e processos fisiológicos. De forma geral, os resultados demonstram que as três espécies registram diferenças ambientais entre os estuários por meio da composição química dos otólitos, sendo Ba:Ca e Sr:Ca os marcadores mais consistentes para a discriminação dos ambientes. Além disso, os padrões observados indicam que as características próprias de cada sistema estuarino exerceram maior influência sobre as assinaturas geoquímicas do que as variações sazonais registradas durante o período de estudo.

Biologia Reprodutiva: A Biologia reprodutiva de peixes estuarinos (*Centropomus parallelus*, *Eugerres brasilianus* 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 – rio São Mateus) foi implementada no monitoramento a partir do ano 5 e as análises compreendem o período de outubro de 2022 a março de 2026. A interação significativa entre os períodos seco e chuvoso e anos de monitoramento para os indicadores, revela que o efeito da sazonalidade sobre a fisiologia reprodutiva e a condição somática de peixes e crustáceos não foi constante ao longo do período de monitoramento, mas variou substancialmente entre os anos avaliados. As lacunas observadas durante o período amostral são decorrentes das chuvas torrenciais que acometeram os setores 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 brasilianus* 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 rio São Mateus, tanto para peixes quanto para o camarão sete-barbas, que possuem importância comercial, é necessário que o período de análises seja constante, 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, Model Based Inference in the Life Sciences: a Primer on Evidence**. 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, n. 1-3), p. 183–197, 1997.

ÁVILA da SILVA, A. O.; VAZ dos SANTOS, A. M.; da SILVEIRA, E. L. **Biologia, pesca e vulnerabilidade do bagre-branco Genidens barbus no litoral do estado de São Paulo: diagnóstico e diretrizes para uso sustentável,** Pontal do Paraná: Universidade Federal do Paraná, 2026.

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, n.3, p. 277–283, 2018.

BARRILLI, G. H. C., DE BIASI, J. B., DE LIMA, A. L. R., HOSTIM-SILVA, M., HACKRADT, C. W., & FÉLIX-HACKRADT, F. C. Possible turbidity effects on post-larval fish composition in selected tropical regions along the Brazilian coast. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 197, n8, 870, (2025).

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.; BURKHARDDT-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., DE CASTRO, M. S., COSTA, P. G., BIANCHINI, A., & BONECKER, S. L. C. Larval fish assemblages of the coastal area affected by the tailings of the collapsed dam in southeast Brazil. **Regional Studies in Marine Science**, v. 32, 100848. 2019.

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.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e Mudança do Clima. Portaria GM/MMA No 1667 de 27 de abril de 2026. Lista Nacional de Espécies da Fauna Ameaçadas de Extinção – Peixes e Invertebrados Aquáticos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 2026. Disponível em https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/pan/saiba-mais/documentos-e-downloads/9-portaria-gm_mma-no-1-667-de-27-de-abril-de-2026.pdf. Acesso em 28 de maio de 2026.

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 Pratical Approach**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 219–225.

CAREY, J. L., DUNN, C., GASPARI, R. J. Central respiratory failure during acute organophosphate poisoning. **Respiratory Physiology and Neurobiology**, v. 189, n. 2, p. 403–410, 2013.

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 aquas 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.

CHAVES, P. T. C.; VENDEL, A. L. Aspectos da alimentação de *Genidens genidens* (Valenciennes) (Siluriformes, Ariidae) na Baía de Guaratuba, Paraná. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 13, n. 3, p. 669 – 675, 1996.

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. **Peer J**, v. 11, p. E14992, 2023.

COSTA, R. C; FRANSOZO, A; FREIRE, F. A. M. Abundance and ecological distribution of the "sete-barbas" shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (heller, 1862) (Decapoda: Penaeoidea) in three bays of the Ubatuba region, Souhteastern Brazil. Gulf and Caribbean Research, v. 19, n. 1, p. 33-41, 2007.

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.; BRISCONE, D. A. Genetic management of captive populations. Chapter 19. In R. Frankham, J. D. Ballou, D. A. Briscone (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, n.8, p. 1869–1877. 2019.

GIRÓN-PÉREZ, M., VELÁZQUEZ-FERNÁNDEZ, J., DÍAZ-RESENDIZ, K., DÍAZ-SALAS, F., CANTO-MONTERO, C., MEDINA-DÍAZ, I., ROBLEDO-MARENCO, M., ROJAS-GARCÍA, A., ZAITSEVA, G. Immunologic parameters evaluations in Nile tila-pia (*Oreochromis niloticus*) exposed to sublethal concen-trations of diazinon. **Fish & Shellfish Immunology**, v. 27, n. 2, p. 383–385. 2009.

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**, v. **10**, p. 377–397, 1976.

HATJE, V.; PEDREIRA, R. M. A.; REZENDE, C. E. de; SCHETTINI, C. A. F.; de SOUZA, G. C.; MARNI, D. C.; HACKSPACHER, P. C. The environmental impacts of one of the largest tailing dam failures worldwide. **Scientific Reports**, v. 7, n. 10706, p. 1–13, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-11143-x

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. **Peer J**, 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.

LEE, W. J.; J. CONROY; W. HUNTING HOWELL; T. D. KOCHER. Structure and evolution of teleost control regions. **Journal of Molecular Evolution**, v 41, p. 54–66, 1995.

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, Engraulididae). **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 141, p. 17–25, 2014.

MARIN, V.; ARRANZ, I.; GRENOILLET, G.; CUCHEROUSSET, J. Fish size spectrum as a complementary biomonitoring approach of freshwater ecosystems. **Ecological Indicators***,* v. 146, 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, n.1, p. 290–297, 2001.

MCMILLAN, W. O., & PALUMBI, S. R. Concordant evolutionary patterns among Indo-West Pacific butterflyfishes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 260 (1358), p. 229-236, 1995.

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**, version 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, 2021.

OLIVEIRA-FILHO, R. R.; MUSIELLO-FERNANDES, J.; PICHLER, H.; VILAR, C. C.; JOYEUX, J. C.; MANTELATTO, F. L.; CATTANI, A. P.; CHIQUIERI, 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.

OLIVEIRA-FILHO, R. R.; ANTUNES, M.; MUSIELLO-FERNANDES, J.; GUÉRON, R.; PICHLER, H. A.; VILAR, C. C.; MANTELATTO, F. L.; CHIQUIERI, J.; JOYEUX, J.-C.; HOSTIM-SILVA, M.; BAUMAN, D. Decapod community composition is seasonally driven by different environmental factors in an estuarine-coastal gradient (Eastern Brazil). **Regional Studies in Marine Science**, 85, 104135, 2025.

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.

SINGH, S., TIWARI, R., GHOSH, S., PANDEY, R. Impact of triazophos on *Channa punctatus*: Hematological and histopathological studies. **International Journal Current Research**, v. 9, n. 3, p. 48246–48252. 2017.

SOARES, E.C.; PAIVA, A.G.; SANTOS, E.L.; PEREIRA, S.M.; ALMEIDA, E.O.; SILVA, T.J. Potencial de Carapeba (*Eugerres brasilianus*) 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 mojarras (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, n. 2, p. 315-324, 2014.

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**, v. 52, p.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.