

**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- 46/ JUN 24

RA2023 PMBA/Fest

Vitória,

Junho de 2024

EQUIPE TÉCNICA

Prof. Dr. Maurício Hostim Silva

Profa. Dra. Ana Paula Cazerta Farro

Prof. Dr. Carlos Werner Hackradt

Profa. Dra. Fabiana César Félix Hackradt

Prof. Dr. Felipe Alexandre Lisboa de Miranda Daros

Prof. Dr. Jean-Christophe Joyeux

Profa. Dra. Juliana Castro Monteiro Pirovani

Aline Queiroz Castro

Anna Beatriz Borges Martins

Ana Paula Millani Gutierrez

Carolina de Barros Machado

Carolyne Pereira Rodrigues de Souza

Cecili Barrozo Mendes

Ciro Colodetti Vilar de Araujo

Dahiani Nunes Bossi

Drienne Messa Faria

Edirlan Cardim dos Santos

Fabício de Andrade Frehse

Fernanda Lopes Teixeira

Flávio Toscano Szablak

Gabriela Braz Liuth

Gabriela Singulani de Brito

Germano Henrique Costa Barrilli

Giulia da Silva Marchiori

Helen Audrey Pichler

Herick Simas dos Santos

Joice de Souza Soares

José Anchieta Cintra da Costa Nunes

Julia Pohl Altafin

Juliana Beltramin De Biasi

Juliana Martins de Andrade

Julien Chiquieri

Kathiani Victor Bastos

Korina Blunk da Silva

Leandro Pirovani de Sant'Ana

Lorena Lopes Almeida

Lorena Ziviani Bevitório

Manoela da Silva Pereira

Mariana Antunes da Silva

Mariana Teschima

Mario Vinicius Condini

Mylla Carla Cescon

Natália Priscila Alves Bezerra

Natalia Roos

Niumaique Gonçalves da Silva

Pedro Moreno Villatoro Requena

Rebeka Ferreira Martins

Rhayane Santos Terra

Ricardo Alves de Oliveira Souza

Rodrigo Ferreira Bastos

Rodrigo Guéron Faustini

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	Recrutamento	7
2.1.3	Ecologia trófica	9
2.1.4	Ictiofauna recifal	10
2.1.5	Genética populacional.....	11
2.1.6	Telemetria estuarina	13
2.1.7	Microquímica de otólitos.....	14
2.1.8	Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos.....	14
2.2	ANÁLISE DE DADOS.....	15
2.2.1	Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha	15
2.2.2	Recrutamento	17
2.2.3	Ecologia trófica	18
2.2.4	Ictiofauna recifal	21
2.2.5	Genética populacional.....	23
2.2.6	Telemetria estuarina	38
2.2.7	Microquímica de otólitos.....	39
2.2.8	Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos.....	40
2.3	HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS.....	41
3	RESULTADOS DOS INDICADORES	42
3.1	COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES.....	43
	Ictiofauna estuarina/marinha	43
	Carcinofauna estuarina/marinha	55
	Ictiofauna recifal	66
3.2	COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES DE PÓS-LARVAS DE PEIXES RECIFAIS E ESTUARINOS..	77

3.3	PADRÕES TEMPORAIS DA DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA	106
3.4	PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS	107
3.5	PADRÕES ESPACIAIS DA ECOLOGIA TRÓFICA E CONDIÇÃO CORPORAL.....	109
3.6	ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA.....	117
	Crustáceos marinhos.....	117
	Peixes estuarinos.....	121
	Peixes recifais.....	127
3.7	USO DE HABITAT DO ROBALO-PEVA	141
3.8	MICROQUÍMICA DE OTÓLITOS.....	152
3.9	BIOLOGIA REPRODUTIVA	160
	Peixes estuarinos/marinhos.....	160
	Crustáceos estuarinos/marinhos	162
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE OS 5 ANOS DE MONITORAMENTO ACERCA DOS INDICADORES OBSERVADOS E O AMBIENTE MONITORADO	164
5	ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS	168
6	REFERÊNCIAS	168

1 HISTÓRICO DE MALHA E FREQUÊNCIA AMOSTRAL

A malha e frequência amostral do Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática da Área Ambiental I (PMBA/Fest) passou por modificações ao longo do tempo, visando seu aperfeiçoamento para atendimento aos objetivos do PMBA/Fest. Estas alterações foram aprovadas pela Câmara Técnica da Biodiversidade (CTBio) por meio de: (1) ofício SEI nº 1/2020-CTBio/DIBIO/ICMBio, de outubro de 2019 (para o período de transição) e (2) Proposta Técnica de continuidade do monitoramento, apresentadas e aprovadas em 2022, visando o “Novo Ciclo do PMBA/Fest”.

As modificações implementadas se encontram nos seguintes Materiais Suplementares: 1) MS – Malha e Frequência amostral, onde as diferentes malhas e frequências amostrais são apresentadas nas abas “Ano 1”, “Transição”, “Novo Ciclo” e “Histórico Frequências” e 2) MS – Mapas das malhas amostrais, com a espacialização histórica referente às malhas amostrais dos Ambientes. Como forma de esclarecer os períodos contemplados em cada uma delas, “Ano 1” se refere às estações amostrais monitoradas entre setembro de 2018 e setembro de 2019, “Transição” às estações entre outubro de 2019 e julho de 2022 e “Novo Ciclo” referente às estações amostrais monitoradas a partir de agosto de 2022, à exceção do grupo da Ecotoxicologia, que iniciou a amostragem referente ao Novo Ciclo em janeiro de 2023.

2 METODOLOGIA

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

2.1 COLETA

2.1.1 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/2024) na porção do baixo Rio Doce e sua área marinha adjacente (local do impacto). Além disso, representando um gradiente de impacto, foram também amostrados os estuários e áreas marinhas adjacentes aos rios São Mateus (~120 km ao norte do Rio Doce, em Conceição da Barra/ES) e Piraquê-Açú (~48 km ao sul do Rio Doce). Em cada estuário, foram amostrados dois pontos internos, localizados a 2 e 4 km da foz, e quatro pontos externos (área marinha adjacente), sendo o primeiro localizado a 2 km da foz, e os demais a 4 km da foz, em forma de cruz.

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

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

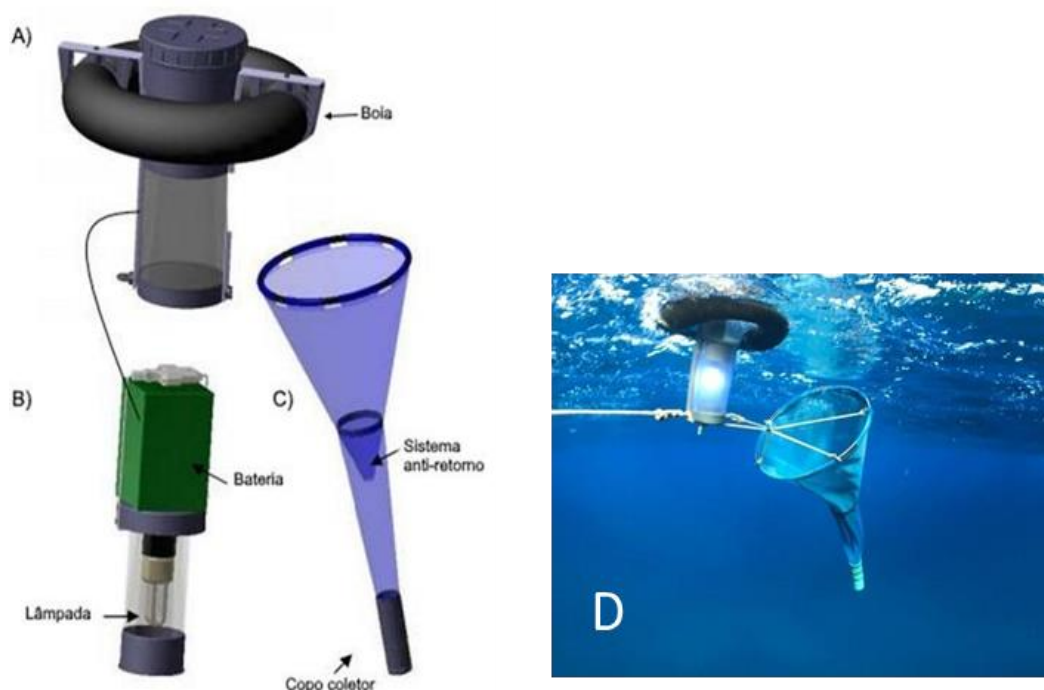
Após a coleta, os peixes e crustáceos estuarinos/marinhos foram acondicionados em sacos plásticos devidamente identificados quanto ao ponto, arrasto, local e data de coleta. O material foi mantido resfriado e encaminhado para os laboratórios responsáveis, onde foram preservados congelados até o seu processamento.

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

2.1.2 Recrutamento

Para o monitoramento do recrutamento larval de peixes nos ambientes estuarinos, quatro regiões marinhas foram amostradas: Rio Doce (zona Impacto), rio Piraquê-Açú (Controle 1), rio São Mateus (Controle 2) rio Mucuri (Controle 3). As campanhas seguiram uma frequência semestral, 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 eram 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).

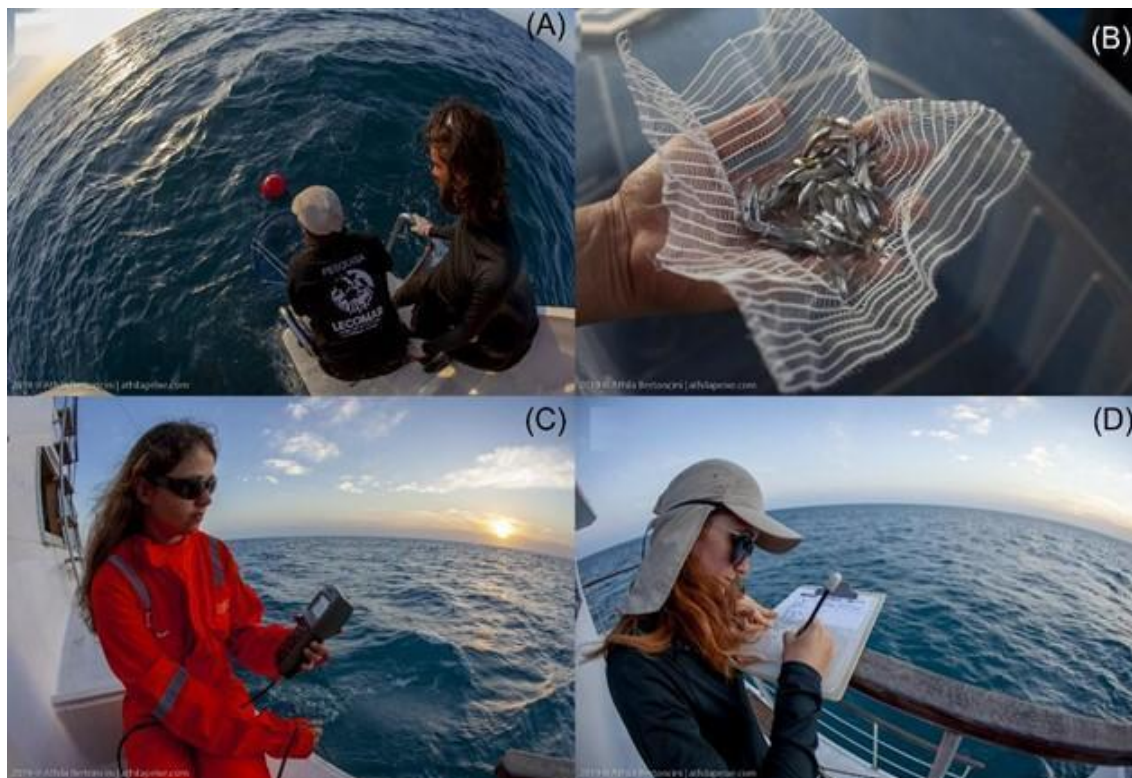
Figura 1: Representação dos componentes de uma armadilha luminosa tipo CARE® (ECOCEAN) indicando, (A) sistema flutuante/impermeável, (B) parte de iluminação e (C) rede cônica; D) armadilha em uso.



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 Surf guru (www.surfguru.com.br). Devido a um possível problema de calibração do sensor de turbidez da sonda multiparâmetros, o coeficiente de atenuação difusa (KD490 nm) foi acessado via sensoriamento remoto e utilizado como proxy da turbidez. Para isso, os dados do sensor MODIS-Aqua (*Level-3, 8-day period*) disponibilizado pelo portal Ocean color da NASA (<https://oceancolor.gsfc.nasa.gov/l3/order/>) foram processados no software SeaDAS (Seadas-7.5.3).

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



2.1.3 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, e junho e dezembro de 2022, junho e dezembro de 2023) da chegada da lama de rejeitos de mineração em Regência, ES. As coletas de 2015 e 2016 foram realizadas previamente ao acordo de cooperação que originou o PMBA/Fest pelo Laboratório de Ictiologia 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 rejeitos (NASCIMENTO et al., 2022). As coletas do bagre-guri foram realizadas com redes de arrasto com portas nos três estuários em fevereiro (Rio Doce e São Mateus) e maio (Itapemirim) de 2022, janeiro (Rio Doce e São Mateus), fevereiro (São Mateus), março

(Itapemirim) de 2023 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 2024. Em todos os estuários as capturas de robalo-peva ocorreram durante as estações seca e chuvosa, 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; São Mateus: abril, maio, junho, julho, agosto, setembro, novembro e dezembro de 2023, e janeiro de 2024). 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).

2.1.4 Ictiofauna recifal

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

Peixes recifais: Seguindo o desenho de impacto *beyond BACI* proposto por UNDERWOOD (1992), onde não há dados prévios ao impacto resultando em uma comparação ACI, estabelecemos múltiplos controles (n=6) a serem contrastados com a zona impacto (n=1). Em cada uma das sete zonas de estudo (C1=Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3=Paredes, C4=Abrolhos, C5=Vitória, C6=Guarapari e I=APA Costa das Algas) foram selecionados seis setores aleatórios. As zonas amostrais C5 e C6 foram inseridas no período de transição no intuito de ampliar as zonas Controle ao sul do Rio Doce, e ampliar a variabilidade de ambientes avaliada. Em cada setor foram realizados seis pontos fixos, sendo que cada um possui um raio de quatro metros, para peixes >20cm, e um raio de dois metros para peixes < 20cm, adaptado de MINTE-VERA et al. (2008). Para realizar um censo, uma trena é estendida sobre o fundo para auxiliar na delimitação do raio amostral que determina o volume do cilindro imaginário onde é realizada a identificação das espécies de peixes por um tempo total de cinco minutos. Em seguida foram anotadas as abundâncias das espécies identificadas. O tamanho dos peixes é estimado em classes de dois em dois centímetros. Estas medidas diminuem o erro amostral e, portanto, aumentam a acurácia dos dados coletados.

Variáveis ambientais e cobertura bentônica: Em cada ponto fixo realizado para censos visuais (censo ou unidade amostral), os dados ambientais foram tomados para controle da variabilidade espacial entre setores e localidades amostradas. Ao finalizar o censo, o mergulhador estima em cada quadrante do cilindro os seguintes parâmetros: 1) Cobertura (através da realização de 2 fotoquadrados por censo);

2) Heterogeneidade do habitat – tipo de substrato (estimando visualmente em % de rocha, % de areia; % de cascalho, % de outros); 3) Complexidade (contagem do: número de blocos pequenos, medianos e grandes; 4) estimativa visual da rugosidade (1 a 4, sendo 1 o terreno liso e 5 o mais arrugado e alto possível); e 5) inclinação do terreno (em escala visual: 0-30°, 30-60°, 60-90 °) (cf.: FÉLIX-HACKRADT et al., 2014), além de profundidade e temperatura da água.

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

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

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

2.1.5 Genética populacional

Peixes estuarinos: Foram avaliados peixes estuarinos provenientes de campanhas de coleta realizadas em três unidades amostrais: Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú, entre setembro de 2018 e janeiro de 2024 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.

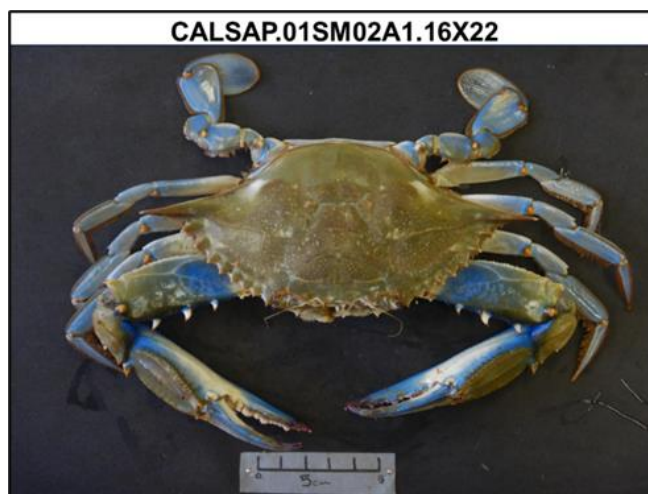
Figura 3: Exemplo de etiqueta contendo todas as informações dos peixes marinhos amostrados. Indivíduo da espécie *Diapterus rhombeus* coletado no Rio São Mateus em 16 de novembro de 2018.



Crustáceos marinhos: Os crustáceos marinhos foram incluídos no escopo do PMBA/Fest a partir do Ano 4. Foram avaliados indivíduos provenientes de campanhas de coleta realizadas em três unidades amostrais: Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú, entre setembro de 2021 e janeiro de 2024 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.



Peixes recifais e estuarinos (Microssatélites): Foram selecionadas oito espécies de peixes estuarinos e sete espécies de peixes recifais para estudos populacionais utilizando marcadores moleculares

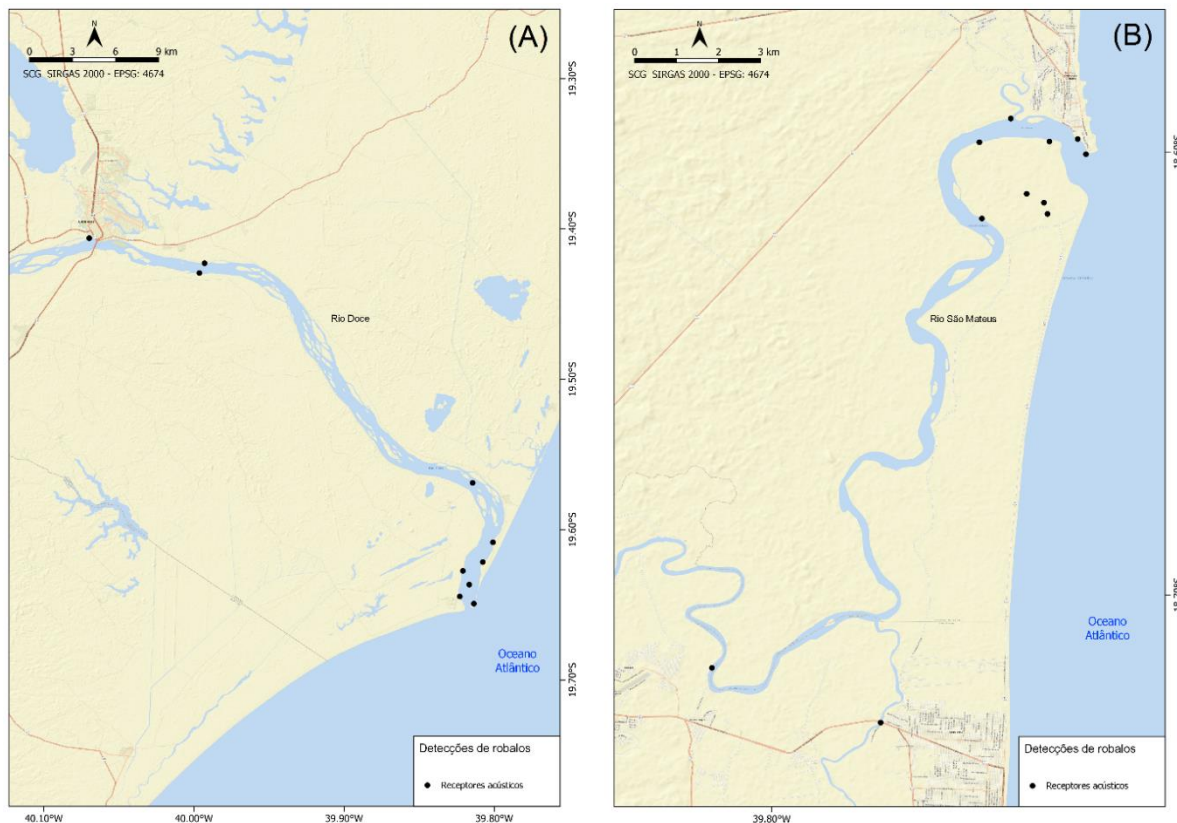
nucleares - Microsatélites. As coletas da ictiofauna estuarina foram realizadas pela equipe do CEUNES – UFES. Paralelamente, a coleta de tecidos da ictiofauna recifal ocorreu por meio de visitas a desembarques de pesca e entrepostos pesqueiros ao longo do litoral capixaba e no sul da Bahia, realizadas pela equipe do Laboratório de Ecologia e Conservação Marinha da UFSB (LECOMAR). Em cada local, foram coletados pelo menos 30 indivíduos de cada espécie. A coleta consistiu na obtenção de tecido da nadadeira caudal ou anal, o qual foi armazenado em microtubos contendo álcool absoluto e conservado a -80°C no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFSB, em Porto Seguro (Bahia). As áreas de amostragem delimitadas para os peixes estuarinos e recifais estão detalhadas no Protocolo de Genética de Populações.

2.1.6 Telemetria estuarina

O sistema de rastreamento utilizado na Telemetria Estuarina é composto por transmissores e receptores acústicos com tecnologia desenvolvida pela empresa Vemco-Innovasea©. No Ano 5 de monitoramento, foram utilizados transmissores codificados (V9-2x, com duração estimada de 280 dias) que emitem sinais acústicos singulares e identificáveis, e os receptores VR2W (fixo) e VR100 (ativo). Para avaliação do uso de habitat pelos robalos foram capturados e marcados com transmissores acústicos um total de 34 indivíduos no Rio Doce e 19 no rio São Mateus (CENPAR 69 a 121), entre março de 2023 e janeiro de 2024.

Para o implante do transmissor acústico, os robalos foram capturados por meio de pesca esportiva com isca artificial, e mantidos em caixas térmicas aeradas. Todos os robalos marcados foram previamente anestesiados. Em uma cama cirúrgica, irrigada com água bombeada, os robalos foram marcados individualmente. Uma incisão de 20 mm foi realizada na cavidade celomática para a inserção do transmissor acústico e suturada com pontos cirúrgicos. Após este procedimento, os indivíduos foram observados por cerca de 30 minutos e devolvidos ao local de captura. Para o monitoramento dos robalos marcados, duas redes com dez receptores acústicos VR2W foram instaladas no Rio Doce e no rio São Mateus (Figura 5). Para obtenção dos dados, os receptores VR2W fundeados foram recuperados por meio de mergulho autônomo em setembro e dezembro de 2023. Destes, foram recuperados sete e dez receptores, respectivamente, no Rio Doce e no São Mateus. O monitoramento por telemetria ativa foi realizado através de campanhas padronizadas mensais, na região interna dos estuários do Rio Doce e São Mateus, utilizando embarcação e um hidrofone multidirecional conectado ao receptor VR100. Para maiores detalhes sobre a metodologia de coleta de dados ver Protocolo da Telemetria Estuarina.

Figura 5: Localização dos receptores acústicos VR2W instalados no Rio Doce (A) e São Mateus (B) para o monitoramento de telemetria passiva dos robalos (*Centropomus parallelus*).



2.1.7 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 brasiliensis* (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.

2.1.8 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 aos rios São Mateus (Conceição da Barra/ES). O período amostral foi de outubro/2022 até janeiro/2024. Três espécies de peixes de interesse comercial, abundantes e amplamente distribuídas ao longo da costa do Espírito Santo foram selecionadas: *Centropomus parallelus* (robalo-peva), *Genidens genidens* (bagre-guri) e *Eugerres brasiliensis* (carapeba). Para a coleta de crustáceos foram selecionados 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. brasiliensis* 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 *Xiphopenaeus kroyeri* (sete-barbas) foram realizadas com auxílio de barco camaroeiro equipado com rede de arrasto de fundo com portas tipo, 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 às áreas amostradas e as oscilações naturais que elas apresentam por conta de especificidades dos ciclos de vida, não foi delimitado uma única espécie-alvo para as análises dos indicadores de biologia reprodutiva e as análises realizadas com as espécies mais abundantes obtidas ao longo do período amostrado.

2.2 ANÁLISE DE DADOS

2.2.1 Ictiofauna e carcinofauna estuarina/marinha

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

Para acessar a representatividade do esforço amostral, a riqueza de espécies (diversidade alfa) foi estimada e comparada usando o estimador de incidência não-paramétrico Chao 2 (GOTELLI & COLWELL, 2011) por meio do pacote iNEXT da plataforma R (CHAO et al., 2019). Posteriormente, foram calculadas a densidade (número de indivíduos - N) e biomassa (g) de peixes e crustáceos por unidade de área (CPUA - Captura por Unidade de Área), dividindo-se N ou biomassa pela área varrida pela rede, multiplicadas por 100. A área varrida pela rede foi calculada por $A = D \cdot 10,25 \cdot 0,5$, onde: A = área varrida em metros; D = distância percorrida pela rede; 10,25 é o comprimento da corda da parte inferior da rede; 0,5 é o fator equivalente a área varrida no arrasto, conforme BARLETTA et al. (2005). Assim, a densidade foi expressa em número de indivíduos/100m², enquanto a biomassa foi expressa em g/100m².

Foram calculadas médias por área (interna, pontos 0 - apenas para o Piraquê-Açú, 1 e 2, exceto Piraquê-Açú; externa – pontos 3, 4, 5 e 6) para cada estuário (Rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú) dos indicadores da comunidade: densidade, biomassa e riqueza (número de espécies). Os períodos avaliados 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) e Seco 5 – S5 (abril/2023 e julho/2023) e Chuvoso 6 – C6 (outubro/2023 e janeiro/2024).

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 et al., 2008), a partir de matrizes de similaridade de Bray-Curtis (matriz multivariada) ou distância Euclidiana (matriz univariada). Para ambos, foram considerados quatro fatores: “Local” (fixo, Diretamente Impactado: Rio Doce; Indiretamente Impactado: São Mateus e Piraquê-Açú); “Estuário” (aleatório, Rio Doce, São Mateus e Piraquê-Açú, aninhados em Local); “Área”, (aleatório, Externa e Interna, aninhado em Estuário); e Período (fixo, C1, S1, C2, S3, C4, S4, C5, S5, C6). 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, 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 et al., 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/100 m²) 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 et al., 2008).

Para avaliar o efeito do rompimento da Barragem de Fundão sobre os indicadores ecológicos utilizamos análises de variância por permutação (PERMANOVA), de maneira multivariada, para a estrutura da assembleia de peixes (composição e abundância de espécies), e de forma univariada para a abundância total, biomassa total, comprimento total (CT) médio, riqueza de espécies (S), diversidade de Shannon-Wiener (H'), equitatividade de Pielou (J), e diversidade alfa (0D, 1D e 2D). Todas as métricas univariadas 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 (3 níveis, aleatório) e Zona (Fixo, ortogonal com o Tempo, com 4 níveis). Para o ambiente estuarino foi adicionada uma análise de contraste (Impacto vs Controles) aos modelos delineados, onde a variância da zona Impacto foi comparada com a somatória das variâncias das zonas Controle. Considerando o objetivo dos indicadores, as interpretações das análises de variância foram baseadas, majoritariamente, no contraste Impacto vs Controles e suas interações com demais fatores analíticos (ANDERSON et al., 2008). As análises de variância por permutação foram feitas no software Primer (versão 6.1.13).

Para visualizar as diferenças na composição e abundância de espécies (taxa) de pós-larvas de peixes entre as zonas de monitoramento, foi utilizado o Diagrama de Escalonamento Multidimensional Não-

Métrico (NMDS), com base na matriz de similaridade de Bray-Curtis com os dados de abundância transformados por 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 (qD) (HILL, 1973) onde, a diversidade poder ser quantificada como espécies igualmente abundantes, com base no aumento do peso da abundância pela ordem de diversidade q. Quando q igual a 0 (0D) as abundâncias foram desconsideradas, o que favorece a representatividade de espécies raras; quando q é igual a 1 (1D) o valor de diversidade gerado equivale a entropia de Shannon e espécies comuns na comunidade têm representação mais efetiva; e quando q é igual a 2 (2D) um peso desproporcional é dado para abundância e as espécies dominantes foram as mais representativas (JOST, 2007). Os índices de diversidade foram calculados utilizando o pacote Entropart (HÉRAULT, 2015) no ambiente R (versão 4.0.1; R Development Core Team, www.r-project.org).

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

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

Padrões temporais da concentração de lipídeos: Os dados brutos de razão C:N (sem correção matemática) foram analisados para as seis espécies no contexto temporal, visto que este é um importante indicador da concentração de lipídeos nos peixes (POST et al., 2007; FAGAN et al., 2011). A variação das métricas de diversidade trófica (amplitude de $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ e SEAc) foram analisadas por meio de regressões lineares, enquanto a variação nos valores de razão carbono e nitrogênio foram verificadas por meio de modelos generalizados aditivos (GAM).

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

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

sobre uma placa de Petri com uma grade milimetrada e a área (mm²) ocupada por cada presa foi registrada.

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

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

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

no qual M_i e CP_i são a massa (em g) e o comprimento padrão (*G. genidens*) ou comprimento total (*C. parallelus*) (em mm) de cada espécime, respectivamente, CP_0 é o comprimento padrão ou total médio e b_{EPR} é a inclinação da reta de uma regressão linear entre o logaritmo da massa e o logaritmo do comprimento padrão, calculada com o método do eixo principal reduzido. Diferentemente de outros métodos (p.ex. o Coeficiente de Condição Relativo e o Coeficiente de Condição de Fulton), este índice não é influenciado pelo tamanho dos indivíduos e não assume uma relação isométrica entre o peso e o comprimento (ou seja, $b = 3$), o que frequentemente não ocorre (PEIG & GREEN, 2010).

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

Para testar a hipótese que a composição da dieta, a atividade alimentar e a condição corporal dos peixes no Rio Doce foram diferentes dos locais de referência (controles), foram utilizadas análises de variância assimétricas (PERMANOVAs; ANDERSON et al., 2008). As PERMANOVAs foram baseadas no índice de similaridade de Bray-Curtis (dieta) ou em matrizes de distância Euclidiana (atividade alimentar e condição corporal). 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 et al., 2008).

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

2.2.4 Ictiofauna recifal

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

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

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

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

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

Buscando aprofundar o efeito do impacto sobre a diversidade das comunidades, aplicamos um índice de diversidade verdadeira (*sensu* JOST, 2006, 2007) considerando que o número efetivo de espécies é equivalente ao número de Hill (qD) (HILL, 1973) onde, a diversidade poder ser quantificada como espécies igualmente abundantes, com base no aumento do peso da abundância pela ordem de diversidade q . Quando q igual a 0 (0D) as abundâncias foram desconsideradas, o que favorece a representatividade de espécies raras; quando q é igual a 1 (1D) o valor de diversidade gerado equivale a entropia de Shannon e espécies comuns na comunidade têm representação mais efetiva; e quando q é igual a 2 (2D) um peso desproporcional é dado para abundância e as espécies dominantes foram as mais representativas (JOST, 2007). Os índices foram calculados no software R (versão 4.0.0) através o pacote 'entropart' (HÉRAULT, 2015).

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

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

Variáveis ambientais: As matrizes de dados foram organizadas segundo Tempo (Campanha 1-5), Zona (sete níveis), Setor (seis níveis) e Amostra (seis amostras). Campanha da estação chuvosa do Ano 1 (1C) foi realizada entre janeiro – março 2019, campanha da estação seca do Ano 1 (1S) durante junho – agosto 2019, campanha do Ano 2 (2) durante dezembro de 2019 – março 2020, Ano 3 (3) durante janeiro - março de 2021, Ano 4 (4) durante janeiro - março de 2022 e Ano 5 (5) durante dezembro de 2022 - março de 2023.

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

2.2.5 Genética populacional

Todos os indivíduos de peixes estuarinos e crustáceos marinhos coletados para a genética populacional foram previamente identificados morfológicamente e molecularmente (DNA Barcoding). O DNA das amostras foi extraído a partir do protocolo de solução salina (BRUFORD et al., 1992) e quantificado em espectrofotômetro. As soluções de DNA extraído foram diluídas para 20 ng/μL para padronizar as reações seguintes e evitar possíveis erros de amplificação devido ao excesso de material genético.

Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de peixes estuarinos, foram avaliados 97 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*), 63 indivíduos do bagre-guri (*Genidens genidens*) e 82 indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*).

Sequências parciais dos genes mitocondriais: ATPase 6 e 8 e Região Controle (D-loop) foram amplificadas utilizando-se os primers detalhados na Tabela 1. Depois de amplificados, os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com Gelred, visualizados e foto-documentados sob UV. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, as reações foram purificadas utilizando a enzima Exo-Sap-IT e enviadas para sequenciamento em empresa terceirizada.

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

Primer	Sequência	Referência	Espécie/ Gene
H8331	5'AAAGCRTYRGCCCTTTTAAGC3'	HUGHES & HILLYER (2006)	<i>G. genidens</i> / ATPase 6 e 8
L9236	5'GTTAGTGGTCAKGGGCTTGGRCTC3'		
L15990 snk	5'TACCGTCAACTCCCAAAGCTA3'	CHAPA (2012)	<i>C. parallelus</i> / D-loop
CRSNOOK4H	5'CTGCCCTCTGGAAATAATGCTRGGC3'		
L1	5'CCTAACTCCCAAAGCTAGGTATTC3'	RODRIGUES et al. (2008)	<i>C. jamaicensis</i> / D-loop
H2	5'CCGGCAGCTCTTAGCTTTAACTA3'		

Para as análises utilizando marcadores moleculares mitocondriais de crustáceos marinhos foram utilizados 95 indivíduos do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e 37 do camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*). Sequências parciais dos genes mitocondriais: Citocromo Oxidase Subunidade I (COI) e 16S rRNA foram amplificadas utilizando-se os primers detalhados na Tabela 2. Depois de amplificados, os fragmentos foram visualizados em gel de agarose (1%) corados com Gelred, visualizados e foto-documentados sob UV. Após a amplificação dos fragmentos de DNA, as reações foram purificadas utilizando-se a enzima Exo-Sap-IT e enviadas para sequenciamento em empresa terceirizada.

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

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

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

Os índices de diversidade haplotípica e nucleotídica, Fst par-a-par e a Análise de Variância Molecular (AMOVA) entre diferentes localidades, baseada no FST com 1.000 permutações, foram calculados no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER et al., 2010). As redes de haplótipos foram construídas a partir do algoritmo TCS (CLEMENT et al., 2002) no programa PopArt.

Para as análises utilizando SNPs do DNA nuclear de peixes estuarinos e crustáceos marinhos, foram avaliadas 20 amostras de robalo-peva (*Centropomus parallelus*), 10 amostras de bagre-guri (*Genidens genidens*), 14 amostras de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*), nove amostras de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*). A extração do DNA foi realizada a partir do protocolo de solução salina (BRUFORD et al., 1992). Para a otimização da extração, 1 µl de B-Mercaptoethano foi acrescentado ao final da metodologia. O DNA extraído foi quantificado em espectrofotômetro, diluído para 35 ng/µl e encaminhado para uma empresa terceirizada. A biblioteca foi montada a partir da metodologia 2bRAD e a digestão foi realizada com a enzima de restrição 1 U BsaXI (New England Biolabs, cat. no. R0609). A ligação dos adaptadores específicos e, posteriormente, a adição dos barcodes foram realizados por PCR e para o sequenciamento utilizou-se a plataforma Illumina Nova PE150.

A fim de mesclar as leituras emparelhadas foi utilizado o programa Pear (versão 0.9.6) (ZHANG et al., 2014) e as leituras foram processadas por meio de um script Perl personalizado para cortar sequências de adaptadores e remoção das leituras com qualidade Phred Quality Score <30. A montagem do catálogo de marcadores e o rastreamento de SNPs foram realizados utilizando a abordagem de novo e posteriormente Refmap, ambos com o uso do STACKS (CATCHEN et al., 2011). Foram utilizados três parâmetros para o rastreamento de SNPs, sendo o primeiro M=1 para determinar o número de incompatibilidades toleradas entre dois alelos em um determinado loci, o segundo m=2 para determinar o número de leituras idênticas mínimas necessárias para iniciar um possível alelo e o terceiro n=1 para determinar o número de incompatibilidades toleradas entre dois loci durante a construção do catálogo.

Em seguida, foi construída a referência de novo utilizando o programa Bowtie2 (v2.2.4). Ao final, o programa Populations (STACKs) foi utilizado para selecionar SNPs que genotiparam em pelo menos 90% dos indivíduos de cada população ($r = 0,90$) e SNPs que apresentaram valor de frequência mínima de alelos (MAF) $< 0,01$ foram excluídos. A heterozigosidade observada (H_o) e esperada (H_e) e os índices de fixação (F_{ST}) foram calculados no programa Arlequin v.3.5 (EXCOFFIER et al., 2010).

Os marcadores microssatélites foram utilizados para analisar as populações de peixes estuarinos e recifais, com a extração de DNA dos organismos seguindo protocolos específicos. Para os peixes recifais, a extração foi realizada conforme o protocolo modificado de solução salina (BRUFORD et al., 1992), enquanto para os peixes estuarinos, foram empregados kits de extração (PureLink™ Genomic DNA Kit - Invitrogen, ThermoFisher Scientific™). A concentração de DNA extraído foi quantificada utilizando o equipamento Qubit Fluorometric Quantitation (ThermoFisher Scientific™).

Diante da ausência de marcadores moleculares microssatélites descritos na literatura para seis das quinze espécies estudadas, foram prospectados 12 novos loci para cada uma dessas espécies pela empresa Allgenetics (Espanha). Esses novos loci foram incorporados ao estudo, enriquecendo a caracterização genética e fornecendo resultados inéditos sobre a diversidade genética na região. Para as demais espécies foram utilizados marcadores descritos na literatura e quando estes eram insuficientes (abaixo de 10 loci), novos loci foram prospectados através de amplificação cruzada entre espécies do mesmo gênero ou da mesma família. Todos os loci utilizados nas amplificações foram detalhadamente listados nas Tabela 3 e Tabela 4.

Cada locus foi avaliado em termos de valores ausentes e aqueles com mais de 20% foram removidos das análises. O software Micro-Checker, versão 2.2.3 (VAN OOSTERHOUT et al., 2004) foi usado para verificar a presença de ruído de microssatélites e grandes perdas de alelos, enquanto as frequências de alelos nulos foram determinadas usando o software FreeNA através do algoritmo Excluding Null Alleles (ENA), com base em 10.000 réplicas de bootstraps (CHAPUIS & ESTOUP, 2007). O número de alelos (A), riqueza alélica média (A_r), heterozigosidade observada (H_o), heterozigosidade esperada (H_e) e coeficiente de endogamia (F_{is}) por locus e por local de coleta foram avaliados usando a função `divBasic` de "diveRsity" pacote (KEENAN et al., 2013) no software R (<http://www.r-project.org/>). Os intervalos de confiança de A_r e F_{is} em 95% também foram calculados usando a função `divBasic` no pacote "diveRsity" R (KEENAN et al., 2013). Alelos privados e por local de coleta foram determinados usando os pacotes R "poppr" (KAMVAR et al., 2014). O teste geral de desequilíbrio de ligação é baseado na hipótese nula de que não há ligação entre os loci. Dois índices foram calculados e testados: o índice de associação (I_a) e a medida de correlação (r_{barD}). A significância foi testada com base em 999 permutações e realizada usando as funções `ia` e `pair.ia` no pacote R "poppr" (KAMVAR et al., 2014). O desvio do equilíbrio de Hardy-Weinberg (HWE) para cada local foi testado usando 2.000 permutações de Monte Carlo no pacote `DiveRsity` do pacote R por meio da função `divBasic` (KEENAN et al., 2013). Os níveis de significância foram ajustados aplicando a correção sequencial de Bonferroni sempre que múltiplos testes eram realizados. A probabilidade de cada locus estar sob seleção foi calculada usando o programa BayeScan v.2.1 (FOLL, 2012), com base em probabilidades anteriores de 10, 20 execuções piloto com 5.000 interações cada e 100.000 interações com burn-in de 50.000. Uma probabilidade

superior a 0,76 é considerada pela escala de evidências de Jeffreys para os fatores de Bayes como uma evidência substancial de seleção.

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

As taxas atuais de migração da população (m) e a direção do fluxo gênico (uni ou bidirecional) entre as populações estuarinas e marinhas foram estimadas usando o software BayesAss v3.0.4 (WILSON & RANNALA, 2003). Três corridas independentes foram realizadas para cada análise utilizando 60 milhões de cadeias de Markov, sendo amostradas a cada 6000 passos, com um burnin de 10%. A convergência das cadeias foi checada no Tracer v1.5 (valores de ESS > 200). Os intervalos de confiança (95%) foram estimados como a média das taxas de migração + 1,96 x desvio padrão. Valores que não incluíssem o zero foram considerados significativos (NAZARENO et al., 2018).

Para avaliar a viabilidade das populações recifais e estuarinas diante das mudanças ambientais futuras, simulamos cenários considerando a diversidade genética, fundamental para a sobrevivência das espécies a longo prazo. De acordo com FRANKHAM et al. (2010), as populações foram consideradas aptas a persistirem frente a cenários de mudanças ambientais se 80% da diversidade genética atual for mantida nos próximos 100 anos. Portanto, foi investigado se as populações da área de impacto apresentam menor viabilidade populacional do que as demais populações e se espécies recifais ou estuarinas estão mais susceptíveis às consequências genéticas dos cenários de redução populacional que todas as populações estão vivenciando (Ver secção de Resultados). Para as simulações computacionais foram utilizados os tamanhos populacionais e as frequências alélicas no software

BottleSim v2.6 (KUO & JANZEN, 2003). Os tamanhos populacionais foram estimados com base em dados coletados sobre a ictiofauna estuarina, considerando a média de captura por espécie ao longo dos cinco anos do projeto. Já os tamanhos populacionais das espécies recifais foram estimados a partir dos dados de monitoramento do desembarque pesqueiro dos estados da Bahia (Área 1 – IBAMA - 2007), Espírito Santos (Área 2 e Área 3 – SOARES & HOSTIM-SILVA, 2011) e Rio de Janeiro (Área 4 – FIPERJ, 2013). Todos os futuros cenários foram simulados mantendo o tamanho populacional atual e a análise foi configurada para apresentar completa sobreposição de gerações, reprodução dioica e acasalamento aleatório. Para cada espécie foi fornecida informações específicas sobre razão sexual, idade de maturidade sexual e longevidade (Tabela 5). Com a ausência de informações específicas para a espécie, foram utilizados os dados de espécies.

Tabela 3: Marcadores microssatélites das espécies recifais que se encontram descritos na literatura.

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

Tabela 4: Marcadores microssatélites de seis espécies de peixes que foram prospectados pelo laboratório Allgenetics (Espanha), durante o período de transição (outubro/2019 e março/2020).

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

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	AG Cno 014	AC	97	AATTCTTGGCAGTTGGATGG	CGCTCATTCATCTGTCTTTGTC	NED
4	AG Cno 275	AG	123	TGGATCTCAATAGGCTTCGG	TATTTATCACATCGCCTCCC	FAM
5	AG Cno 288	AC	127	CTCTCAGAGACGCGCACA	ACCTCACACCTGTAGCACCC	FAM
6	AG Cno 252	AC	90	CTGAGGTGTCACTCTCGCTC	ACAGTCTGAGAAGTTAGTTTGGACA	FAM
	AG Cno 164	AC	92	TAGCCAATCGCACCCCTAGTC	CGTGCTTTATTATTCCTGTCCTG	NED

Isopisthus parvipinnis

1	AG Ipa 150	AC	92	GTGCATATGAGGGTGACAT	GGGTATTTATGTGAGGTGGAAGA	FAM
	AG Ipa 001	AC	94	TTCTCCAGCTCCACCTCTCT	CAAAGTGCAGTGGTCTCCTG	HEX
	AG Ipa 134	AC	107	TGTACCGTAAGCAACATCCG	TGTCTCAAACGTGATCACACC	NED
2	AG Ipa 076	AC	114	GAACCAGCTTTGTACGGTGAA	AAATGGGCCAGTGGTTGTAT	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	AG Ipa 357	AC	110	TTCCGTCTCCACTAACTGGG	TGCGTGGAGTTTATCTCTGG	HEX
	AG Ipa 492	AG	92	GGAGAGAAGGAGAAAGAAGGG	GTGGTGCCTAGCCAGCTATC	NED
3	AG Ipa 214	AC	190	CAGTAATCTGAAGTCAGTGGAGCA	ATTAGGACTGACCTCCATCACTC	FAM
	AG Ipa 187	AC	294	TCCAGTGCCAGGAGAAAGTAA	TCTCCTCCTTTATGGCTTGTTT	FAM
	AG Ipa 406	AC	149	ATCCTCACCCCTTGCAGGAC	GTTTGGACTGCTCCTGCTG	HEX
	AG Ipa 387	AG	249	CGCAAGGTCTGTTTGCTAGA	CGGGATCTTGACTGGACATC	HEX
4	AG Ipa 139	AC	95	GCGTTTGCCTACCTAAAGCA	TCATTCTGAGCAGATGGTCG	FAM
	AG Ipa 478	AC	140	ATCCTTAACGTGTGTAGCAAAC	ATAATCTTTGACATCACTTTTCATGACT	HEX

Larimus breviceps

1	AG Lbr 175	AC	159	GCCACCAGGAAGTTGACATT	CCGCCTAACTGAAGGATCAC	FAM
	AG Lbr 092	AC	277	TGTCAGCTGTCTGAACCGTC	GCAAACCCATCTCCACATTT	FAM
	AG Lbr 345	AC	149	CATACTTTGCCAACGGAGGT	CAGGTGAATCTCATACCCGC	NED

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
2	AG Lbr 195	AC	104	TGTGCTCACACTTCCTCTGG	CCACAGTCTCCCACTCATCA	FAM
	AG Lbr 060	AC	128	CCTCTCGGCTAAGGCTCTTT	TTATGCAATTGGTCTGGCAA	HEX
	AG Lbr 443	AC	115	CTAGCATCATGGACAGCGAC	GCGACAGTCAGCAGGACATA	NED
3	AG Lbr 301	AG	154	TTGAAGGTCAGGAAGACGCT	CTCAACATCCCACAGTGCAT	FAM
	AG Lbr 076	AG	176	GGTCTCACTCTCAGGGTTGC	ACTACGACTCCCATGATGCC	HEX
	AG Lbr 332	AC	98	GCTGCAGTGACCAATGTCTG	CAGCGGCTAATAAAGCGAAC	NED
	AG Lbr 499	AAC	107	GCAGCATGCTATATTCCGCT	CTGCTTCGCTCCTCTGAAAT	FAM
4	AG Lbr 331	AG	210	CAGCCGTCAACCAGACAATA	GAGTGGCATTGATTGCTGAA	FAM
	AG Lbr 372	AG	91	TTCTGAATGGTGGCAAACCTG	GCTTTCAACAGGCCCTCATA	HEX
<i>Pellona harroweri</i>						
1	AG Pha 427	AC	137	TGGTCTTTGAACCTGCCAAT	CTCACAAAGGAACATGCAGC	FAM
	AG Pha	AC	112	AACTCAAAGAAGTGCCGCT	TGGCTGGTCTGGTGGTAGAT	HEX

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	205					
	AG Pha 047	AC	111	AGTTTAGGTGTGCCTGGGTG	CAGCCTTGGTTAGCTGCTCT	NED
2	AG Pha 097	AG	130	GGGATAAGGGAGTGGAGAGG	TGTTTCACTTGACTCCCACG	NED
	AG Pha 268	AC	249	CTTTGTGGGCAGAGTCTCGT	GTGGCCATGCAGTCAACTAA	NED
3	AG Pha 215	AC	137	AGAGGCACGTCTGCAATCTC	CCTATTGATTACGGTGGCT	FAM
	AG Pha 050	AAAC	146	CTTTGGGCATTTAGCCATGT	CCTTGAGGGTGACCAATGAT	HEX
	AG Pha 353	AC	291	GGAGGAAGACCAGGTGTGAA	TTTGGGTGCTGTGTAAACCC	HEX
	AG Pha 122	AC	97	CTCTGCCTTCCTGCTCTTTG	GGCTGTAGGCACCACAGTTT	NED
4	AG Pha	AC	105	TCAGGCCTACTCATGCCATT	GATGCTTCCTCGGTGTTAGC	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	300					
	AG Pha 365	AC	153	GAGAACATGGAGCCAAGCAT	GCGCAACATGTCAGTAGGTC	HEX
	AG Pha 231	AAC	109	TGGGTGGTCTAGCCCATTAG	CCTCAGATTCAGGAGGCAGT	NED

Trinectes paulistanus

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

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	AG Tpa 231	AC	152	GGCCTACAGTAACGGCAGAG	GTGTGCCAGGAAAGGAAGAA	NED
3	AG Tpa 168	AG	169	TCACCCTCCTCTGCCACTAC	ATCCACAGGAACTGTTTGC	HEX
	AG Tpa 251	AAC	101	TTGCCCTTGAAACAACATCA	CATTAAAGCGTCGCCAAACT	NED
4	AG Tpa 472	AC	154	TTGTGGGTAATTTGGGCTGT	TACTGAGCAGCAGTGGAGGA	FAM
	AG Tpa 331	ATC	159	GTTTGTGTCGTTTGTGCGTC	TTGTGTTGTCACACCCTGCT	HEX
5	AG Tpa 144	AC	120	TTCGCTCTGCACAGACAGTT	ACCAGGGAGCGAAATTAGGT	HEX
	AG Tpa 395	AC	172	GACGAGGCGTTGTGTAGTGA	TTGGTCGTGAGGTTTGAAT	NED
<i>Mycteroperca interstitialis</i>						
1	AG Min	AAC	96	CATAGAACAGAAGCCATGCAA	CCCAGTATGTACAGCATGTC	FAM

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	436					
	AG Min 047	AC	134	CCAATCTGCAGCCCATAACT	TTGGTTCGTGGACATTTGTT	HEX
	AG Min 287	AC	98	GACCACAGAACCACATTCACC	TGTATGGTAACCTCGGCCAC	NED
2	AG Min 360	AC	100	TCACCTTCCTCTGTGTGCCT	ACAAGCTCCACCGATCAAAT	FAM
	AG Min 082	AC	148	GCAGCCTAGGATTCAGTTCC	AGGAAGGCAGACTGAAAGGG	HEX
	AG Min 289	AC	91	GGGTTACTCTCACCCCTTAAATAAA	CTGTAGCGAGCTGGTCATTG	NED
	AG Min 019	AATG	192	GATAGTCTGGCGACCTGTCC	GAGGTAACATGTGCGCTGAA	NED
3	AG Min 497	AC	161	TATCAAACCTCGTTAGGCCGC	TTGTCGCCACTCTTTCTTGA	FAM
	AG Min	AC	90	TCTTTATAAGGTCACTTGAGTATCAGA	ATCAGCACCTGCATGCCT	NED

Multiplex	Locus	Motificação	Tamanho do fragmento	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Fluorescência
	276					
4	AG Min 341	AC	91	TGCTCCTCTGTCAGTGTTGG	GCGCTTGAGACAGTCAGTTCT	FAM
	AG Min 344	AC	191	TCCTTGGTGGCTGGCTGT	CCCGCTTTGGACTGAAAGT	FAM
	AG Min 206	AC	95	CCATCTGTTAGTGTGCAGGC	TGTCTCAGTTGTGTGTGTC CG	NED

Tabela 5: Informações sobre a história de vida das espécies estuarinas e recifais utilizadas na análise de persistência populacional no software BottleSim v2.6.

Espécie	Razão sexual	Longevidade	Idade da maturidade sexual
Pellona harroweri	1,4♀:1♂ (OLIVEIRA et al., 2012)	6 anos (BLAXTER & HUNTER, 1982)	1 ano (BLAXTER & HUNTER, 1982)
Lycengraulis grossidens	4♀:1♂ (LOPES et al., 2017)	4 anos (GIACOMETTI & VIEIRA, 2013)	1 ano (GIACOMETTI & VIEIRA, 2013)
Trinectes paulistanus	3♀:1♂ (OLIVEIRA & FÁVARO, 2010)	7 anos (MANSUETI & PAULY, 1956)	2 anos (KOSKI, 1978)
Larimus breviceps	1♀:0,77♂ (SANTOS et al., 2021)	7 anos (SANTOS et al., 2021)	1 ano (SILVA, 2021)
Conodon nobilis	1♀:1♂ (LIRA et al., 2019)	4 anos (POMBO et al., 2014)	1 ano (LIRA et al., 2019)
Isopisthus parvipinnis	1,4♀:1♂ (ROMERO et al., 2008)	7 anos (HOFF et al., 2022)	1 ano (ROMERO et al., 2008)
Odontognathus mucronatus	1♀:0,8♂ (VICENTINI & ARAÚJO, 2003)	7 anos (DOS SANTOS et al., 2002)	1 ano (DOS SANTOS et al., 2002)
Chirocentrodon bleekermanus	1,4♀:1♂ (ROMERO et al., 2008)	6 anos (BLAXTER & HUNTER, 1982)	1 ano (BLAXTER & HUNTER, 1982)
Lutjanus analis	1♀:1♂ (GARCÍA-CAGIDE et al., 2001)	29 anos (BURTON, 2002)	5 anos (CLARO et al., 1999)
Lutjanus jocu	1♀:1♂ (GARCÍA-CAGIDE et al., 2001)	29 anos (GARCÍA-CAGIDE et al., 2001)	5 anos (CLARO et al., 1999)
Cephalopholis fulva	1.15♀:1♂ (TROTT, 2006)	28 anos (TROTT, 2006)	13 anos (GRANDCOURT et al., 2013)
Epinephelus morio	15.4♀:1♂ (CABALLERO-ARANGO et al., 2010)	33 anos (CABALLERO-ARANGO et al., 2010)	5 anos (NELSON et al., 2011)
Mycteroperca bonaci	15.4♀:1♂ (CRABTREE & BULLOCK, 1998)	34 anos (DE ABREU et al., 2022)	4 anos (DE ABREU et al., 2022)
Mycteroperca interstitialis	0.85♀:1♂ (THOMPSON & MUNRO, 1983)	35 anos (MANICKCHAND-HEILEMAN & PHILLIP, 2000)	4 anos (BULLOCK & MURPHY, 1994)
Mycteroperca venenosa	0.85♀:1♂ (THOMPSON & MUNRO, 1983)	15 anos (CUMMINGS, 2007)	4 anos (CUMMINGS, 2007)

2.2.6 Telemetria estuarina

Os índices de residência (IR) e fidelidade (IF) foram estimados para verificar a permanência dos robalos na região de monitoramento. O índice de residência foi calculado considerando o número de dias com detecções sobre o número total de dias em liberdade (número de dias entre a soltura e última detecção) para cada indivíduo. O índice de fidelidade foi baseado no número de horas com detecções sobre o número total de horas em liberdade (número de horas entre a soltura e a última detecção) para cada indivíduo. O Mínimo Polígono Convexo (MPC) (MOHR, 1947) foi calculado para cada indivíduo, correspondendo à área do menor polígono possível incluindo todos os registros do animal. Para definição da área de vida foi utilizado o método de Densidade de Kernel (KUD) (WORTON, 1989). O método KUD é uma abordagem probabilística que oferece uma densidade de uso em toda a área de estudo. O uso do espaço é frequentemente apresentado como uma distribuição de probabilidades por uma função de distribuição do uso (VAN WINKLE, 1975), que dá a densidade de probabilidades de realocar os indivíduos em qualquer lugar conforme as coordenadas geográficas.

Os dados registrados nos receptores foram obtidos através do software VUE - VEMCO®, sendo posteriormente validados de modo a eliminar das análises possíveis ruídos captados e sinais de fraca intensidade (< 60 dB) (ver CLEMENTS et al., 2005; YOUNG et al., 2016). As análises de distância percorrida, MCP e KUD foram realizadas através do website Zoatrack (<https://zoatrack.org>) com o pacote AdeHabitatHR. Para o cálculo das médias de cada atributo (i.e., IR, IF, distância percorrida, MCP, KUD50 e 95) foram considerados apenas os indivíduos com mais de 50 detecções e no mínimo 10 dias de período de detecção. Os valores médios dos atributos foram comparados entre o Rio Doce e São Mateus através do teste de Mann-Whitney com a utilização do software Statistica12. Os mapas de calor foram construídos através do software QGIS, com base nas detecções obtidas através do monitoramento ativo mensal em cada rio.

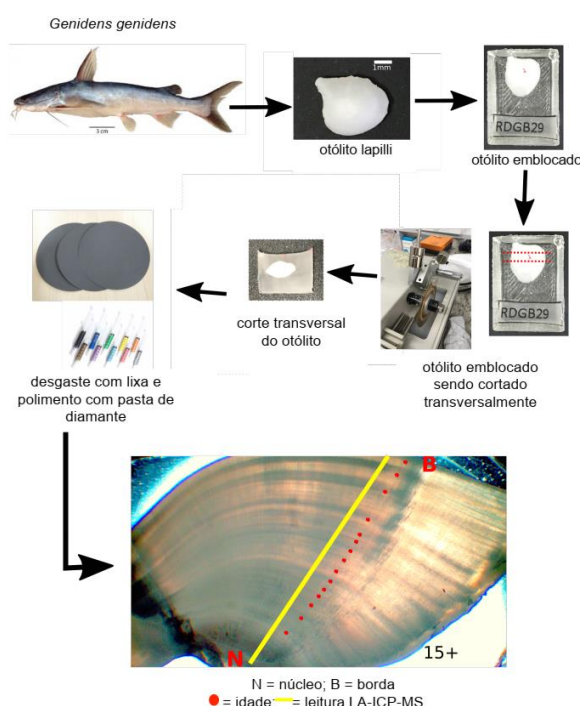
Modelos lineares generalizados (GLMs), Critério de Informação de Akaike corrigido para amostras pequenas (AICc) e pesos de Akaike (pesos AICc) foram utilizados para investigar quais modelos contendo as variáveis ano, identidade do indivíduo e turbidez, explicam a variação no número de detecções de robalos. Nesta análise foram utilizadas detecções obtidas através da telemetria passiva (receptores fixos - VR2W). Os dados de turbidez foram obtidos através do site <https://monitoramentoriadoce.org> (boia RD016 – PMQQS). Apenas indivíduos com mais de 30 dias de período de detecção foram incluídos nos modelos. Os indivíduos marcados no Ano 1 e 2 foram agrupados devido ao número reduzido de indivíduos monitorados por mais de 30 dias durante o Ano 2. Modelos contendo as combinações entre estas variáveis também foram testados. O modelo de melhor ajuste foi definido como o modelo com menor valor de AIC, e modelos com até 2 valores de $\Delta AICs$ foram considerados equiprováveis (ANDERSON, 2008). Os GLMs, a seleção de modelo e o gráfico foram realizados utilizando o software R (R Development Core Team, www.r-project.org) através dos pacotes bbmle, nlme, vegan e ggplot2.

2.2.7 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 6). 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 (^7Li , ^{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.

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 \pm desvio padrão. Os perfis cronológicos das razões elemento:Ca foram gerados através das médias de todos os exemplares para cada estuário, e comparados visualmente.

Figura 6: Processamento dos otólitos para análises de microquímica.



2.2.8 Biologia reprodutiva de peixes e crustáceos estuarinos/marinhos

Em laboratório, a identificação das espécies de peixes (*Centropomus parallelus*, *Eugerres brasiliensis* e *Genidens genidens*) e crustáceos (*Xiphopenaeus 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, a fecundidade absoluta dos indivíduos e a época de desova para peixes, foram estimados. Para determinação do período reprodutivo, foram utilizados concomitantemente a análise da variação temporal da frequência de ovários nos distintos estádios de maturidade, classificados macroscopicamente, e indicadores quantitativos da fase em que a gônada se encontra dentro do processo de maturação. Para complementar a avaliação do período reprodutivo, foi estimado, para cada indivíduo o fator de condição (K), que reflete as condições nutricionais recentes através da relação entre peso e comprimento e fator de condição somático (K') (VAZZOLER, 1996).

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

Análise morfológica das gônadas de peixes e crustáceos

Após análises macroscópicas, para a validação dos estádios de maturação gonadal realizada previamente 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 μ m) e as lâminas histológicas coradas com Hematoxilina & Eosina. Cortes histológicos das gônadas foram examinados em microscópio óptico quanto ao desenvolvimento das células e organização interna do órgão (VAZZOLER, 1996). Análises morfológicas foram realizadas em peixes e crustáceos, a fim de identificar alterações histopatológicas como necrose, infiltrado inflamatório, atrofia, alterações vasculares e nucleares, de acordo com o método proposto por BERNET et al. (1999). Esse método, baseia-se na relevância patológica e na extensão das lesões observadas nos órgãos analisados. As alterações foram classificadas em cinco padrões de reação e cada lesão possui um grau de importância. O Índice de Lesão do Órgão (Iorg) representa o grau de dano apresentado pelo órgão. Já o Índice de Reação (Irp), avalia a gravidade das alterações identificadas.

2.3 HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES E ADAPTAÇÕES DE METODOLOGIAS

Ao se tratar da metodologia dos indicadores relacionados à genética de populações de peixes estuarinos e recifais, a região de controle não codificante (*Dloop*) do DNA mitocondrial não se mostrou eficaz na resolução do indicador diversidade genética neste estudo. Possivelmente os iniciadores (*primer*) utilizados, amplificaram a região central conservada (CCD) o que impossibilitou a verificação

do grau de variabilidade genética presente nas espécies e inferir sobre a diversidade, desta forma, optou-se por seguir o monitoramento apenas com os marcadores microsatélites, 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 crustáceos marinhos, anteriormente não contemplados no escopo do PMBA/Fest, nas análises do Indicador “Índices de diversidade e estruturação Genética”.

3 RESULTADOS DOS INDICADORES

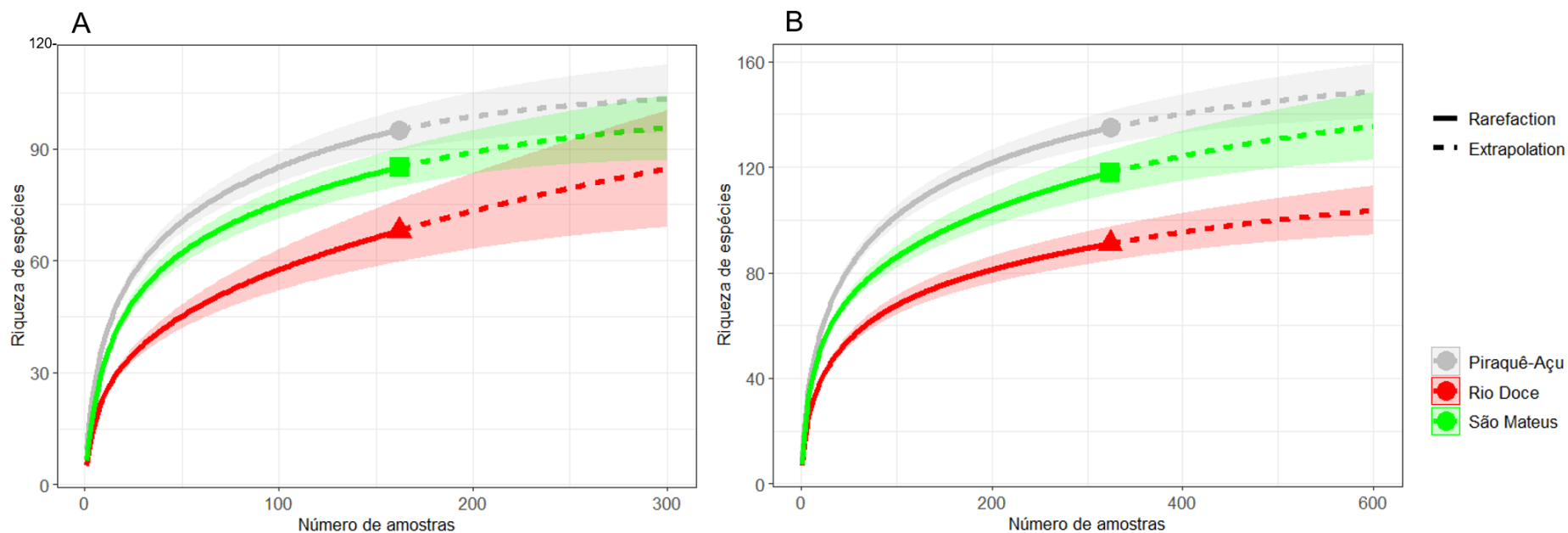
Nesta seção serão apresentados os resultados dos indicadores de qualidade ambiental e da biodiversidade aquática do Tema, os quais foram desenvolvidos pelo PMBA/Fest e obtidos ao longo de todo monitoramento na área ambiental I. Vale ressaltar que, os indicadores aqui apresentados têm como propósito clarificar 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 vêm se consolidando ao longo do monitoramento e, seguindo a proposta estabelecida desde o Relatório Anual de 2022 (RA2022), a apresentação dos resultados será exclusivamente a partir da apresentação dos indicadores, acompanhados de legenda estendida com a explicação de sua variação espaço-temporal de forma mais direta e objetiva como se segue:

3.1 COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE COMUNIDADES E POPULAÇÕES

Ichthyofauna estuarina/marinha

Figura 7: 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 – 162 arrastos por área) e externas (B – 324 arrastos por área) dos rios Piraquê-Açu, Doce e São Mateus entre outubro/2018 e janeiro/2024. As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança.



As curvas de rarefação construídas para as áreas internas (Figura 7A) dos estuários estudados revelaram menor riqueza de espécies de peixes estuarinos/marinheiros no Rio Doce. Conforme observado na riqueza esperada (extrapolação), a estabilização da curva (assíntota) ainda não foi atingida no Rio Doce, indicando que as amostragens ainda não foram suficientes para retratar a riqueza de espécies do local. Apesar de a riqueza de espécies ter sido maior nos estuários indiretamente impactados (Piraquê-Açu e São Mateus), a assíntota ainda não foi atingida, como também observado no Rio Doce.

Entre as áreas externas (Figura 7B), o Rio Doce apresentou menor riqueza de espécies em relação aos estuários indiretamente impactados, Piraquê-Açu e São Mateus, a exemplo do que foi observado na área interna. Da mesma forma, as assíntotas ainda não foram atingidas nos três estuários.

Os valores mais baixos de riqueza de espécies observados tanto na área interna do Rio Doce, quanto na sua área externa pode estar associado a um ambiente impactado por ação antropogênica, pois baixos valores de riqueza de espécies estão associados a estes impactos (VIANA & LUCENA-FRÉDOU, 2014).

Ao longo deste monitoramento, entre outubro/2018 e janeiro/2024, foram coletados 107760 peixes estuarinos/marinheiros, sendo 26788 no Rio Doce. Nos estuários indiretamente impactados, foram coletados 29838 no rio São Mateus e 51134 no rio Piraquê-Açu. O Rio Doce apresentou menor riqueza (129 espécies identificadas) que os estuários indiretamente impactados (São Mateus, 152 espécies; Piraquê-Açu, 163), porém, a família Sciaenidae apresentou a maior riqueza nos três estuários (Rio Doce, 19 espécies; São Mateus, 25; Piraquê-Açu, 22). No Rio Doce, o bagre-guri (*Genidens genidens*) foi a espécie dominante tanto em abundância (constituindo 17,5% do total), quanto em biomassa (51,2%). Por outro lado, a sardinha mole (*Chirocentron bleekermanus*) dominou a abundância nos rios São Mateus (14,7%) e Piraquê-Açu (22,1%). A biomassa foi dominada pela raia lixa *Hypanus guttatus* no rio São Mateus (9,1%), e pelo cangoá *Stellifer brasiliensis*, que representou 8,1% da biomassa total. No Rio Doce, ainda que com baixa contribuição em abundância (<0,3% do total) e biomassa (<2,7%), vale destacar a presença de espécies cuja categoria de ameaça são NT (Perigo Iminente) devido ao seu valor comercial no Espírito Santo (FRAGA et al., 2019). Dentre estas, destacam-se o ariacó/vermelho (*Lutjanus synagris*), o baiacu-ará/arara (*Lagocephalus laevigatus*) e o robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Além destas, foram capturadas *H. guttatus*, cujo declínio populacional vem sendo observado na região nordeste do país (OLIVEIRA et al., 2021). Ainda, foram coletados 85 exemplares do bagre rabo-seco *Paragenidens grandoculis*, espécie classificada como CR (Criticamente Ameaçada) 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*) foi coletada durante o presente monitoramento.

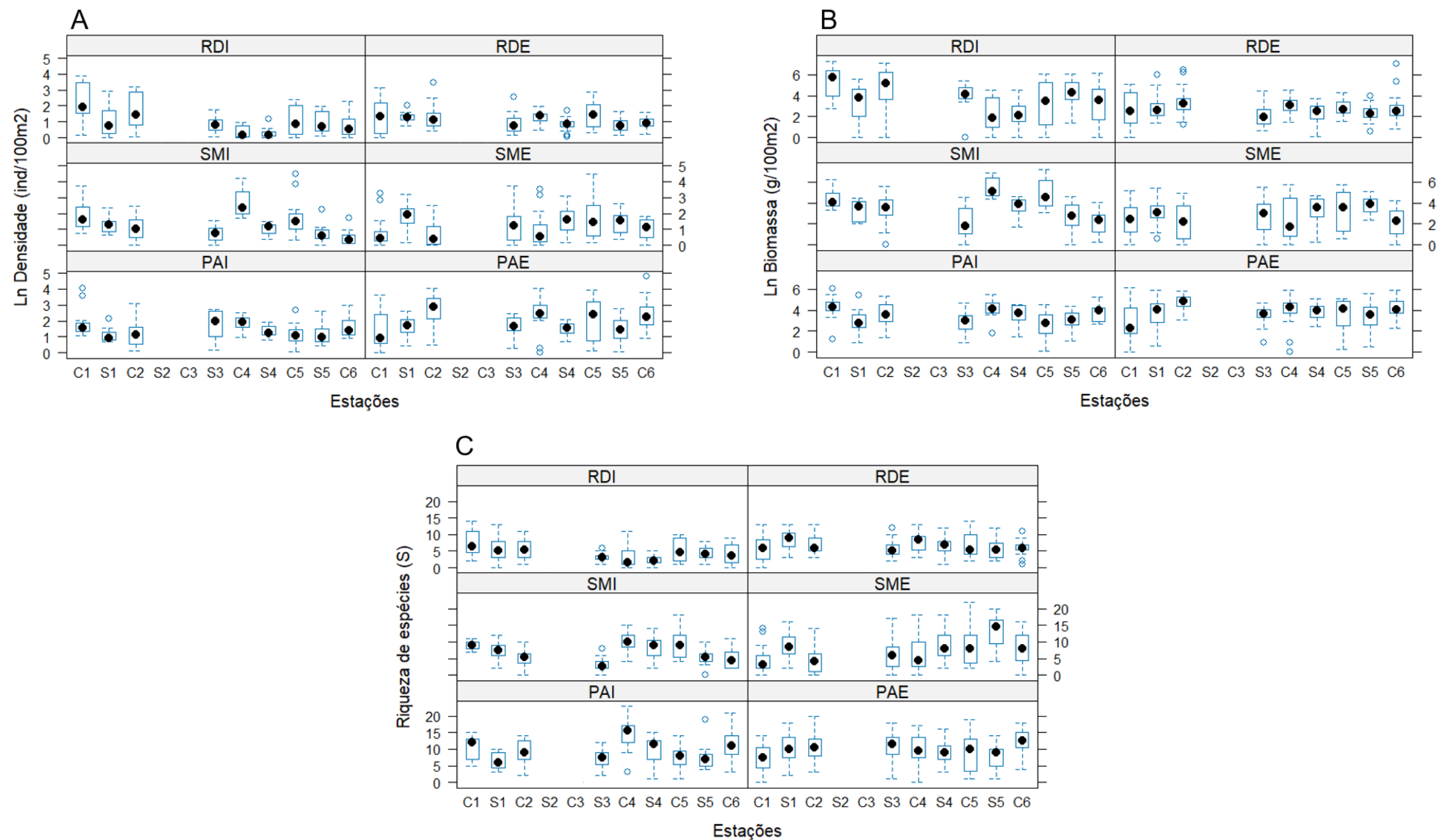
Tabela 6: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m²) e biomassa (g/100m²) transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (Rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Período: chuvosos e secos dos 5 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (mai/2019 e jul/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (mai/2021 e jul/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr/2022 e ago/2022), C5 (out/2022 e jan/2023), S5 (abr/2023 e jul/2023) e C6 (out/2023 e jan/2024). 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	30,522	1,0653	0,4902*	12,798	0,51808	0,6029*	24,036	1,6351	0,414*
Período	8	35,194	1,1732	0,4002	65,73	0,75024	0,6584	5,8261	0,34786	0,927
Estuário (Local)	1	28,651	5,0586	0,1088*	24,703	0,68136	0,4643*	14,701	3,6375	0,1471*
Local x Período	8	34,61	1,1537	0,4209	88,133	1,006	0,4945	8,6338	0,51551	0,8319
Área (Estuário (Local))	3	16,991	9,6044	0,0001	108,77	21,284	0,0001	12,124	13,787	0,0001
Estuário (Local) x Período	8	29,999	0,96502	0,4828	87,612	1,2242	0,3247	16,748	1,4813	0,2184
Área (Estuário (Local)) x Período	24	93,26	6,5895	0,0001	214,69	5,2515	0,0001	33,92	4,8213	0,0001
Resíduo	918	541,35			1563,7			269,1		
Total	971	831,27			2171			388,05		

Com base nos resultados não significativos da interação entre os fatores Local x Período (Tabela 6), não houve diferenças nos indicadores densidade, biomassa e riqueza entre os estuários, durante os períodos analisados, demonstrando que o Rio Doce e estuários indiretamente impactados apresentaram distribuições espaço-temporais similares destes indicadores ao longo dos cinco anos de monitoramento. Por outro lado, os testes *a posteriori* demonstraram haver diferenças significativas entre as áreas internas e externas de cada estuário nos indicadores densidade (Piraquê-Açu) e biomassa (nos três estuários), mas apenas o Rio Doce exibiu diferenças significativas na riqueza de espécies.

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). Porém, ainda que os peixes apresentem mobilidade e possam mudar de habitat de acordo com as flutuações ambientais, é provável que a estrutura da comunidade de peixes estuarinos esteja sendo afetada pela lama de rejeitos. Os deslocamentos populacionais dos peixes refletem em mudanças na composição e na estrutura das comunidades (MOLINA et al., 2020), porém, ao longo do PMBA/Fest estas mudanças foram mais conspícuas entre as áreas (interna e externa) de cada estuário (Figura 8). Os impactos antropogênicos eliminam *taxa* mais sensíveis, deixando espaço para a dominância de espécies mais tolerantes (ATTRILL & DEPLEDGE, 1997). No presente monitoramento, na área interna do Rio Doce, foi observada a ampla dominância em densidade e biomassa do bagre *Genidens genidens*, uma espécie resiliente, utilizada como espécie sentinela por ser residente em estuários, cuja dominância indica um local impactado por ações antropogênicas (SILVA-JUNIOR et al., 2013).

Figura 8: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m²), (B) biomassa (g/100m²) e (C) riqueza de espécies (S) de peixes estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM - São Mateus e PA - Piraquê-Açú); Períodos: chuvosos (C) e secos (S) dos 5 anos de monitoramento, sendo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (mai e jun/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido 'a pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e jul/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022), C5 (out/2022 e jan/2023), S5 (abr/2023 e jul/2023) e C6 (out/2023 e jan/2024). Área: Interna (I – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no *boxplot* indica o valor médio.



Apesar da ausência de diferenças significativas na PERMANOVA na comparação entre o Rio Doce e locais indiretamente impactados (Tabela 6), o teste *a posteriori* demonstrou que os valores de densidade, biomassa e riqueza apresentaram tendência significativa ($p < 0,05$) à diminuição entre C1 e S4 na área interna do Rio Doce (RDI, Figura 8). A partir de C5, período de chuvas intensas nas áreas monitoradas, houve tendência ao aumento na densidade e biomassa nesta área. Nas áreas internas dos locais indiretamente impactados (Piraquê-Açu e São Mateus) também foram observadas diferenças significativas entre as estações, com eventuais aumentos ou diminuições, entretanto, sem tendências sazonais significativas, como foi o caso do Rio Doce. Quanto às áreas externas, os valores também variaram significativamente entre as estações tanto no Rio Doce quanto nos estuários impactados indiretamente, mas sem tendência sazonal conspícua, e apenas o Piraquê-Açu exibiu médias significativamente maiores de densidade e biomassa na área externa. Quanto à riqueza das áreas internas, houve tendência à queda nos valores médios entre o primeiro (C1) e o último período analisado (C6) no Rio Doce. Os estuários indiretamente impactados apresentaram tendência à queda apenas entre C1 e S3, com pico em C4 e posterior diminuição até o último período analisado.

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, seria então esperado que o estuário do Rio Doce apresentasse menores valores dos indicadores densidade, biomassa e riqueza (CONDINI et al., 2022), em comparação com os estuários indiretamente impactados. Além disso, flutuações espaço-temporais eram esperadas nos estudos de comunidades, porém o declínio nos valores dos indicadores observado no rio Doce ao longo do tempo, pode ser consequência dos efeitos do rejeito de minério proveniente do rompimento da barragem de Fundão, como já foi observado por FERNANDES et al. (2020) na comunidade zooplânctônica costeira. CONDINI et al. (2022) já haviam observado menores valores de riqueza, porém, como não há estudos anteriores ao rompimento, apenas com o monitoramento dos últimos anos está sendo possível observar as tendências sazonais 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). Como não há estudos anteriores ao rompimento na área interna do Rio Doce (RDI), o declínio observado nos indicadores 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, propiciando o emprego de indicadores integrativos (PINNA et al., 2023) e, posteriormente, medidas de restauração.

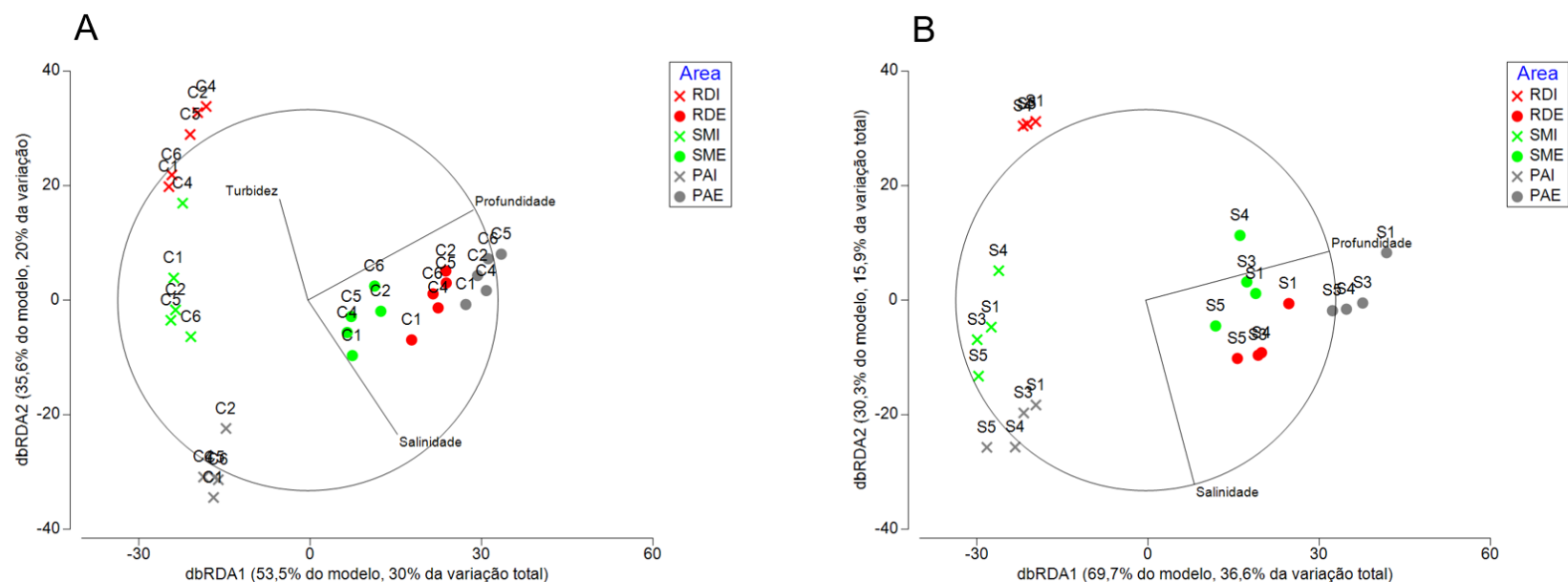
Tabela 7: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultado da seleção para o melhor modelo de regressão linear baseado em distância (DistLM) para análise das relações entre a estrutura de comunidade (composição e densidade transformada em raiz quarta) de peixes estuarinos, e as variáveis abióticas preditoras para cada período (ver Figura 9).

Período chuvoso			Período seco		
Variáveis selecionadas	AICc	R ²	Variáveis selecionadas	AICc	R ²
Salinidade, turbidez, profundidade	205,06	0,56	Salinidade, profundidade	168,41	0,52
Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	205,71	0,59	Salinidade, turbidez, profundidade	168,51	0,58
pH, salinidade, turbidez, profundidade	206,06	0,59	Oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	169,83	0,55
Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	206,53	0,58	pH, salinidade, profundidade	170,06	0,55
Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	207,04	0,62	Temperatura, salinidade, profundidade	170,11	0,55
Temperatura, salinidade, profundidade	207,34	0,53	Temperatura, salinidade, turbidez, profundidade	170,21	0,60
Temperatura, pH, salinidade, turbidez, profundidade	207,52	0,61	Oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	170,28	0,60
Salinidade, profundidade	207,6	0,48	pH, salinidade, turbidez, profundidade	170,33	0,60
pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez, profundidade	207,94	0,61	Temperatura, oxigênio dissolvido, salinidade, profundidade	171,66	0,58
pH, salinidade, profundidade	208,4	0,51	Temperatura, pH, salinidade, profundidade	171,74	0,58

As variáveis ambientais temperatura, pH, salinidade, turbidez e profundidade, avaliadas nas interações com a estrutura das comunidades de peixes estuarinos durante o período chuvoso, apresentaram correlação significativa ($p < 0,05$) com os padrões de distribuição espaço-temporal da densidade. No período seco, apenas pH, salinidade e profundidade apresentaram correlação significativa com a densidade. Porém, o conjunto de salinidade, turbidez e profundidade, indicado pelo menor valor de AICc apresentou maior correlação com a distribuição da densidade no período chuvoso (56%). No período seco, o conjunto de salinidade e profundidade apresentou maior correlação com a densidade (52%), conforme apontado pela DistLM (Tabela 7). Destaca-se que a turbidez havia sido observada como fator de menor importância na distribuição espaço-temporal da ictiofauna no relatório anual de 2022 (análises até agosto de 2022, FEST, 2023). Porém, a significância desta variável no período analisado no presente documento, provavelmente se deu devido às intensas chuvas observadas no período chuvoso C5 (mais de 1400 mm acumulados entre outubro/22 e janeiro/23, Fonte: CEMADEN – Estação Linhares Centro - <http://www2.cemaden.gov.br>).

Salinidade é uma variável conhecidamente limitante na distribuição espaço-temporal das comunidades ictiofaunísticas em locais onde a amplitude de temperatura menos é menor, como em estuários tropicais (MOLINA et al., 2020). Sendo uma variável influenciada pela entrada de água doce e salgada nos estuários, constitui uma barreira fisiológica para peixes. Por outro lado, a profundidade é uma variável que pode influenciar na distribuição espacial ontogenética, onde os juvenis ocupam águas mais rasas enquanto os adultos são mais observados em águas mais profundas (JAUREGUIZAR et al., 2016). A profundidade vem influenciando a distribuição de robalos-peva (*Centropomus parallelus*), peixes de importância comercial que têm sido observados mais associados a águas mais profundas do Rio Doce, o que não foi observado no rio São Mateus (área indiretamente impactada) (FEST, 2023). Além disso, no primeiro ano do presente estudo, VILAR et al. (2022) observaram que as variáveis influenciadas diretamente pelo rompimento (por exemplo, turbidez, oxigênio dissolvido e pH) influenciaram mais na estruturação das comunidades ictiofaunísticas do Rio Doce, do que aquelas que variam sazonalmente. Desta forma, a ausência de estudos ictiofaunísticos anteriores ao rompimento, somada às evidências de declínio dos indicadores, notadamente no estuário do Rio Doce, reforçam a necessidade de um monitoramento espaço-temporal amplo e de longo prazo, visando conhecer as flutuações naturais da ictiofauna estuarina/marinha na área afetada pelo rompimento.

Figura 9: 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 predictoras 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, incluindo: C1 (dez/2018 e fev/2019), S1 (mai e jun/2019), C2 (nov-dez/2019 e fev/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (jan/21, excluído das análises por não ter réplica), S3 (mai/2021 e jul/2021), C4 (nov/2021 e fev/2022), S4 (abr e ago/2022), C5 (out/2022 e jan/2023), S5 (abr/2023 e jul/2023) e C6 (out/2023 e jan/2024), relacionando as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez (log x+1) e profundidade) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento *Best* e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m²) e frequência de ocorrência.



No período chuvoso (Figura 9A), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 89,1% do modelo, e 50% da variação total. Neste período, destaca-se a turbidez como fator preponderante na similaridade da área interna do Rio Doce (RDI) em todas as estações, o que foi observado apenas no estuário indiretamente impactado do rio São Mateus, em C4. Neste período, as estações das áreas externas aparecem mais distantes entre si do que foi observado no período seco, indicando menor similaridade. No período seco (Figura 9B), os dois primeiros eixos da análise de redundância capturaram 100% do modelo, e 52,5% da variação total dos dados de densidade. Foi possível observar que na área interna do Rio Doce, as estações secas amostradas foram mais similares entre si do que as estações chuvosas. Isso ocorre porque nos períodos chuvosos, há maior oscilação nas variáveis ambientais, como turbidez e salinidade, refletindo em maiores diferenças na distribuição da densidade.

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

As variações espaço-temporais dos indicadores da ictiofauna não são conhecidas antes do rompimento, então não é possível afirmar que o decréscimo dos valores dos indicadores observados no monitoramento na área interna do Rio Doce seja diferente do esperado. Por outro lado, o monitoramento permitiu observar este decréscimo nos indicadores na área interna do Rio Doce, e esta área, dentre as analisadas, foi a mais atingida diretamente pelo rejeito. Nas demais áreas (indiretamente impactadas), não foram observadas tais tendências sazonais, indicando que a área interna do Rio Doce apresentou variações espaço-temporais diferentes das demais áreas estudadas.

Tabela 8: Composição e estrutura de comunidades e populações. Análise de Similaridade de Percentagens (SIMPER), destacando as cinco espécies de peixes estuarinos/marinhos que mais contribuíram (%) para a dissimilaridade média entre as áreas do estuário diretamente impactado (RD – Rio Doce) e dos estuários indiretamente impactados (SM – São Mateus e PA – Piraquê-Açú), utilizando-se a média de densidade (ind./100m²). 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 = 97,80%	RDI	RDE		
<i>Genidens genidens</i> (bagre-guri/caçari)	26,19	0	13,45	13,45
<i>Stellifer brasiliensis</i> (cangoá)	1,82	15,15	7,68	21,14
<i>Symphurus plagusia</i> (língua-de-mulata/linguado)	0	13,29	7,11	28,25
<i>Paralonchurus brasiliensis</i> (Maria-Luíza)	0	8,42	4,5	32,75
<i>Genidens barbatus</i> (bagre branco)	7,47	0,05	3,85	36,6
Dissimilaridade média - SMI x SME = 96,88%	SMI	SME	Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
<i>Achirus lineatus</i> (linguado)	12,35	0,06	6,79	6,79
<i>Lycengraulis grossidens</i> (manjubão)	11,19	0,22	6,18	12,96
<i>Chloroscombrus chrysurus</i> (palombeta)	3,84	5,22	4,21	17,17
<i>Chirocentodon bleekermanus</i> (sardinha-mole)	0,09	6,96	3,71	20,88
<i>Haemulopsis corvinaeformis</i> (coró)	0,68	5,67	3,26	24,14
Dissimilaridade média - PAI x PAE = 96,08%	PAI	PAE	Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
<i>Eucinostomus argenteus</i> (escrivão/carapicú)	12,18	0,7	6,52	6,52
<i>Anchoa januaria</i> (manjuba)	11,28	0	5,92	12,44
<i>Chirocentodon bleekermanus</i> (sardinha-mole)	0,87	9,05	4,74	17,18
<i>Achirus lineatus</i> (linguado)	9,09	0,28	4,72	21,9
<i>Stellifer brasiliensis</i> (cangoá)	0,13	8,24	4,26	26,16

As análises de Similaridade de Percentagens (SIMPER) (Tabela 8) da densidade (ind./100m²), 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 (20 espécies), São Mateus (31) e Piraquê-Açu (29). A dominância de poucas espécies é esperada para regiões estuarinas (MAGURRAN & HENDERSON, 2003), porém o valor mais baixo (13 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 estes valores foram maiores, 24 e 27 espécies, respectivamente. Na área interna do Rio Doce, destaca-se a contribuição do bagre-guri *Genidens genidens*, que exibiu ampla dominância, com a densidade média mais de três vezes maior que o bagre-branco *Genidens barbatus*, a segunda espécie dominante. Devido a características fisiológicas e morfológicas, os peixes da família Ariidae a qual pertencem *G. genidens* e *G. barbatus*, são naturalmente abundantes em estuários (VILAR et al., 2022), porém *G. genidens* é uma espécie resiliente e tolerante a ações antropogênicas, sendo abundante em estuários impactados, onde espécies menos tolerantes são desfavorecidas (SILVA-JÚNIOR et al., 2013). Portanto, a dominância de *G. genidens* pode ser considerada um indicador de ambiente antropicamente impactado, ainda que esta dominância possa ou não estar relacionada ao impacto causado pela lama de rejeito oriundo do rompimento.

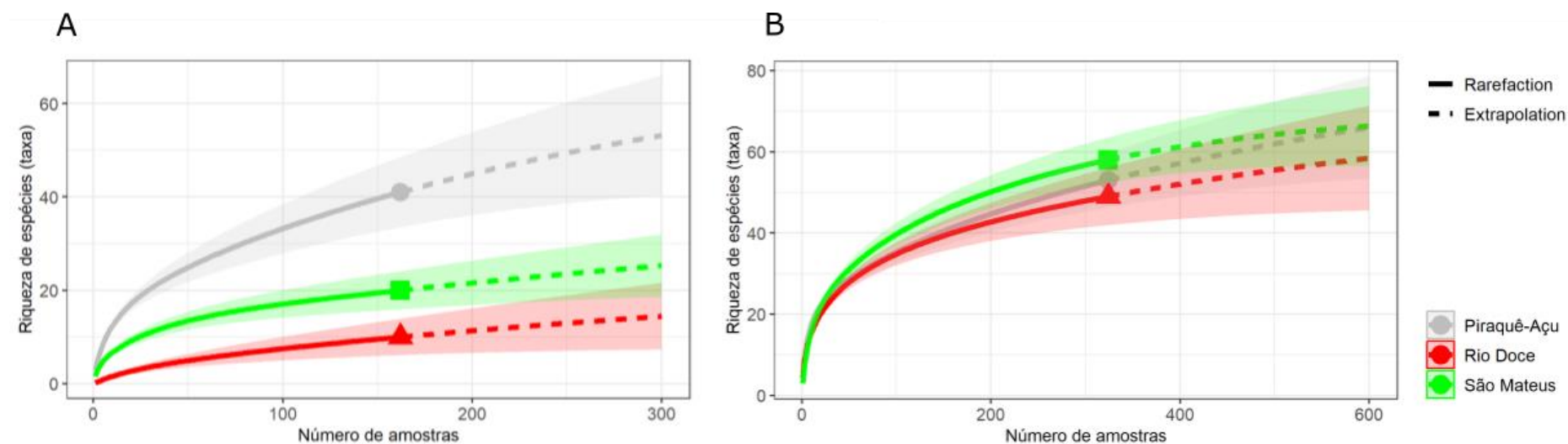
As áreas internas dos estuários indiretamente impactados São Mateus e Piraquê-Açu, apresentaram espécies dominantes diferentes daquelas observadas na área interna do Rio Doce. Por outro lado, na área externa, *S. brasiliensis* foi dominante no Rio Doce e a segunda dominante no rio Piraquê-Açu.

As espécies dominantes neste estudo, apontadas pela SIMPER, são comumente capturadas nos arrastos de fundo voltados à pesca do camarão sete-barbas (BARRETO et al., 2018). Dentre estas, os bagres *G. genidens* e *G. barbatus*, além dos linguados *Achirus lineatus* e *S. plagusia*, são apontados por CONDINI et al. (2022) como espécies indicadas para monitoramento, pois são espécies que 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 a *G. barbatus* é classificada como “Em Perigo” (FRAGA et al., 2019).

Carcinofauna estuarina/marinha

Figura 10: 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 – 162 amostras por área) e externas (B – 324 amostras por área) dos rios Piraquê-Açu (a), Doce (b) e São Mateus (c) entre outubro/2018 e janeiro/2024.

As áreas sombreadas representam o intervalo de confiança.



As curvas de rarefação das três áreas amostradas (Figura 10) ainda não atingiram a assíntota, indicando que outras espécies de crustáceos ainda não registradas ao longo do monitoramento possam vir a ser coletadas com o aumento do esforço amostral. De fato, houve um aumento contínuo no número de espécies capturadas a medida em que novas campanhas de coleta foram realizadas. A área interna do Rio Doce representou a área de menor riqueza de espécies (10 espécies) e uma curva mais próxima da assíntota semelhante àquela observada para a área interna do rio São Mateus (Figura 10). Isto indica que o esforço realizado pelo PMBA/Fest já cobriu quase a totalidade das espécies da macrofauna bentônica de crustáceos que ocorre atualmente nestas áreas, e que o aumento no esforço de coletas poderá resultar no registro de espécies mais raras. Um total de 172106 indivíduos da macrofauna de crustáceos foi coletado nas três áreas ao longo de todo monitoramento. Até o último período chuvoso de amostragem (C6 = out/2023-jan/2024), foram coletados 34.091 indivíduos pertencentes a 45 espécies identificadas (54 táxons) no estuário do Rio Doce e sua área marinha adjacente. No estuário e área marinha adjacente do rio São Mateus foram coletados 53.245 indivíduos pertencentes a 50 espécies (63 táxons). No estuário e área marinha adjacente do rio Piraquê-Açu foram coletados 84.770 indivíduos pertencentes a 49 espécies (64 táxons). A família Portunidae (9 espécies) foi a mais representativa, seguida de Penaeidae (7 espécies) e Panopeidae (6 espécies)

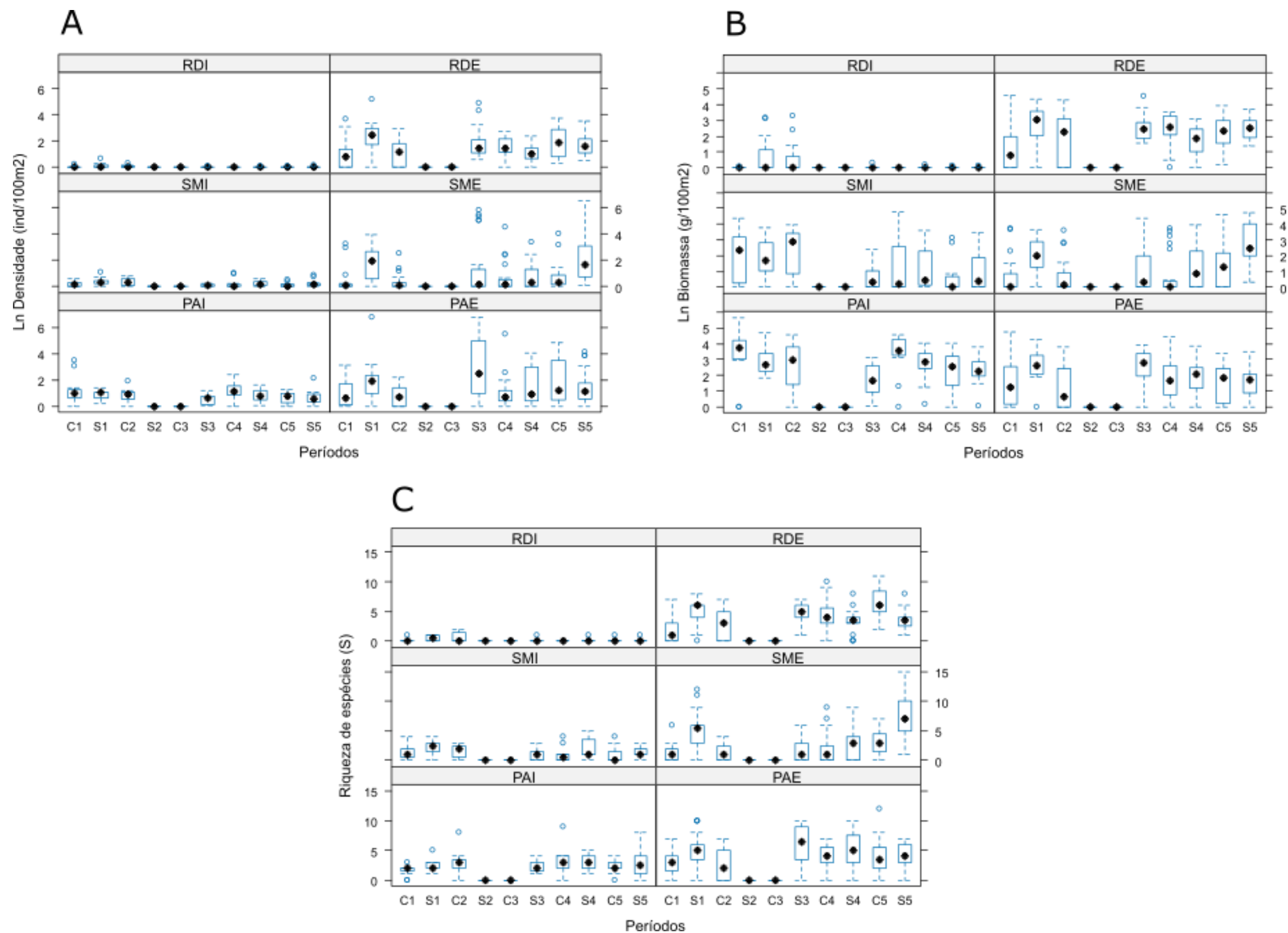
Tabela 9: Composição e estrutura de comunidades e populações. Resultados da Análise de Variância Permutacional (PERMANOVA) univariada baseada na matriz de Distância Euclidiana dos dados de densidade (ind./100m²) e biomassa (g/100m²) de crustáceos estuarinos/marinhos transformados pelo logaritmo natural (x+1), e riqueza de espécies (S) marinhos. Local: I = estuário diretamente impactado (Rio Doce), ID = estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú), Período: chuvosos e secos dos 5 anos de monitoramento, incluindo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023) e C6 (outubro/2023 e janeiro/2024). 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).

Fatores	Densidade (ind/100m ²)				Biomassa g/100m ²			Riqueza (S)		
	GL	SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p	SQ	Pseudo-F	p
Local: I vs ID	1	8,65	1,0243	0,4966*	25,28	2,0524	0,3957*	3,46	0,0147	0,9258*
Período	8	42,06	3,7161	0,0391	38,55	2,2819	0,1308	158,05	1,2571	0,3891
Estuário (Local)	1	8,45	0,1527	0,7335*	12,32	0,5883	0,5000	235,11	0,5172	0,5747
Local x Período	8	36,89	3,2599	0,0592	19,08	1,1296	0,4292	70,35	0,5596	0,5212*
Área (Estuário (Local))	3	165,99	56,7270	0,0001	62,81	13,1480	0,0001	1363,70	83,9670	0,0001
Estuário (Local) x Período	8	11,32	0,3634	0,9210	16,89	0,5741	0,7892	125,72	1,0043	0,4616
Área (Estuário (Local)) x Período	24	93,43	3,9914	0,0001	88,28	2,3101	0,0007	375,54	2,8904	0,0001
Resíduos	918	895,36			1461,70			4969,80		
Total	971	1340,60			1772,10			7920,50		

As análises da variação espaço-temporal da densidade, biomassa e riqueza de espécies de crustáceos mostraram que não houve diferença significativa entre a área impactada (Rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açu) ao longo de todo monitoramento, o que é evidenciado pela ausência de significância na interação dos fatores Local x Período (Tabela 9). A variação espaço-temporal da comunidade de crustáceos, baseada nos índices ecológicos calculados, é principalmente influenciada pela interação Área x Período, indicando que a variabilidade nas áreas internas e externas dos estuários é dependente dos períodos chuvosos e secos dos anos amostrados. A visualização gráfica dos resultados está apresentada na Figura 11.

Este padrão geral tem sido observado ao longo de todo monitoramento, tal como reportado no último relatório anual do PMBA/Fest (RRDM, 2022). Embora a variação da comunidade de crustáceos no estuário e na área marinha adjacente do Rio Doce não tenha apresentado diferença significativa em relação àquelas que ocorrem no São Mateus e Piraquê-Açu, a heterogeneidade de habitat e as flutuações sazonais de variáveis ambientais são fatores que reconhecidamente afetam a dinâmica da composição e estrutura das comunidades de crustáceos (RAMOTH et al., 2023), o que pode explicar as diferenças espaciais e temporais observadas.

Figura 11: Composição e estrutura de comunidades e populações. Variação espaço-temporal da (A) densidade (ind./100m²), (B) biomassa (g/100m²) e (C) riqueza de espécies (S) de crustáceos estuarinos/marinhos coletados no estuário diretamente impactado (RD – Rio Doce) e nos estuários indiretamente impactados (SM – São Mateus e PA – Piraquê-Açú); Períodos: chuvosos (C) e secos (S) dos 5 anos de monitoramento, sendo: C1 (dezembro/2018 e fevereiro/2019), S1 (maio/2019 e julho/2019), C2 (novembro-dezembro/2019 e fevereiro/2020), S2 (período não amostrado devido à pandemia de COVID-19), C3 (janeiro/2021, excluído das análises por não ter réplica), S3 (maio/2021 e julho/2021), C4 (novembro/2021 e fevereiro/2022), S4 (abril/2022 e agosto/2022), C5 (outubro/2022 e janeiro/2023), S5 (abril/2023 e julho/2023) e C6 (outubro/2023 e janeiro/2024). Área: I (Interna – estuário) e Externa (E – plataforma rasa adjacente ao estuário). Ponto preto no boxplot indica o valor médio.



Tal como apresentado na Tabela 9, as análises mostraram que a variação da densidade (ind./100m^2) de crustáceos (Figura 11A) foi semelhante na área impactada (Rio Doce) e nas áreas indiretamente impactadas (Rio São Mateus e Rio Piraquê-Açu), com as áreas internas (estuarinas) apresentando sempre menores médias em relação às áreas externas. Vale lembrar que os períodos referentes à S2 e C3 correspondem aos meses da pandemia de Covid e não foram incluídos nas análises. Ainda assim, baixos valores de densidade foram obtidos na área interna dos três rios monitorados, com pouca variabilidade e média próxima a zero no Rio Doce. Na área externa (zona marinha adjacente), a média da densidade foi maior em relação à área interna, tal como esperado na comparação entre a zona marinha costeira e os ambientes estuarinos amostrados (OLIVEIRA-FILHO et al., 2023). A variação da densidade de crustáceos foi semelhante em todos os locais monitorados nos três primeiros períodos amostrados, tendo sido observado um aumento significativo da média no período seco (S2). Embora isto indique uma homogeneidade na dinâmica espaço-temporal das comunidades na região, este padrão não se manteve ao longo dos anos de monitoramento, dado principalmente ao leve aumento dos valores médios nos períodos chuvosos. Porém, a média da densidade de crustáceos se manteve semelhante desde o período S3 até o último período amostral (C6).

Os resultados das análises da biomassa (g/100m^2) de crustáceos (Figura 11B) demonstraram o mesmo padrão obtido para a densidade, com uma variação semelhante na área impactada e nas áreas indiretamente impactadas, com as áreas internas apresentando menores médias em relação às áreas externas. Para este índice, os menores valores foram obtidos no estuário do Rio Doce, com alguma variação entre os períodos S1 e C2, e média geral também próxima a zero. Nas áreas externas, a variação da biomassa foi também semelhante nos três primeiros períodos em todos os locais amostrados. Assim, a partir do período S3 até o último período chuvoso (C6) vem sendo observado um padrão diferenciado entre os estuários, e no Rio Doce um valor médio menos variável.

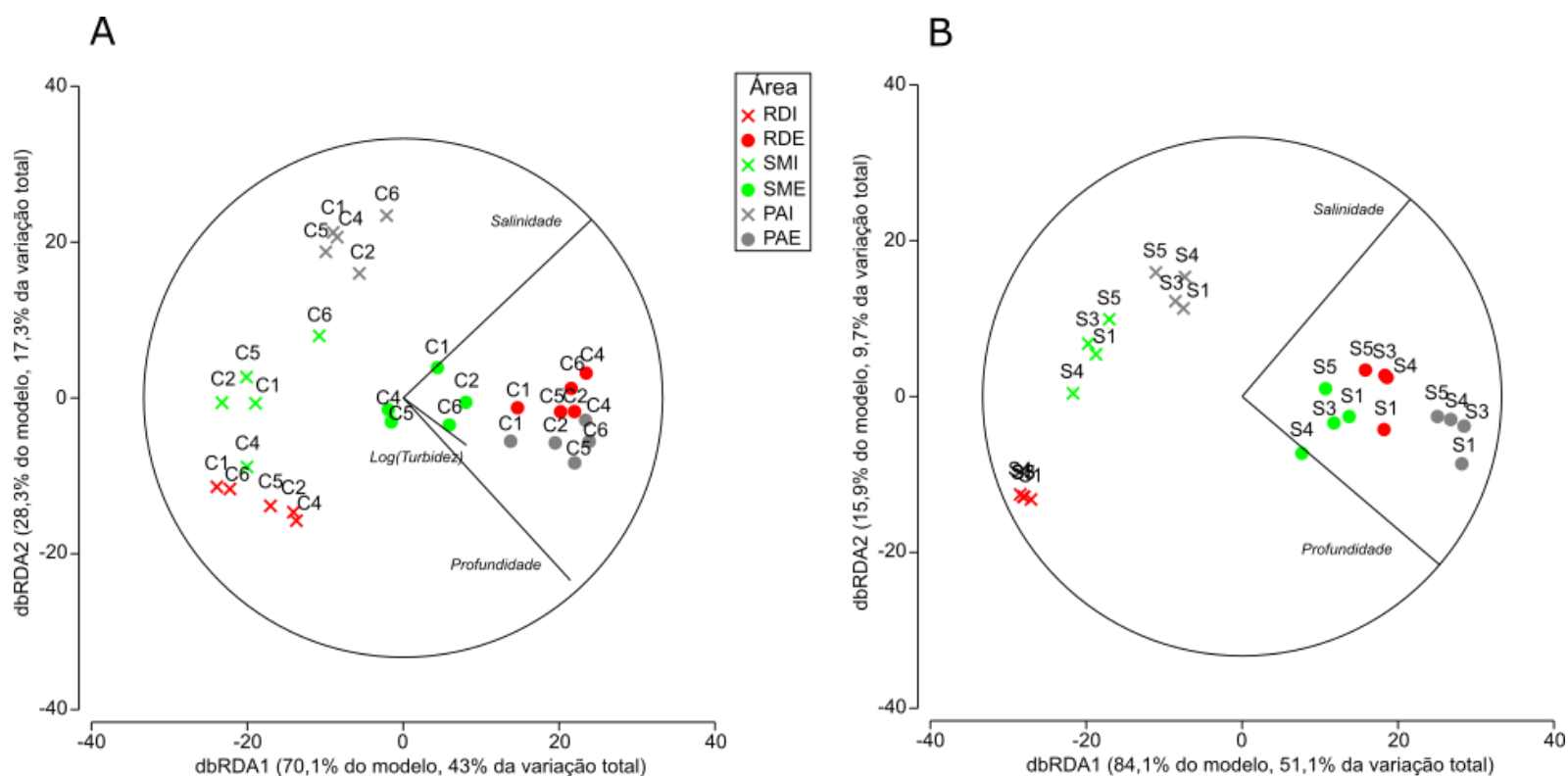
Quanto à riqueza de espécies (S) de crustáceos (Figura 11C), as análises também mostraram uma variação semelhante entre a área impactada e áreas indiretamente impactadas, com as áreas internas apresentando menores médias em relação às áreas externas, e os menores valores obtidos na área interna (estuário) do Rio Doce, com média próxima a zero. As áreas externas apresentaram para a riqueza de espécies o mesmo padrão da densidade e biomassa entre as localidades amostradas nos três primeiros períodos, e a partir do período S3 até o último período chuvoso (C6) o valor médio tem sido semelhante entre as localidades e mantida a tendência 'a estabilidade da média entre 4 e 6 espécies por amostra.

Tabela 10: 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 12).

Período Chuvoso			Período Seco		
Seleção	AICc	R ²	Seleção	AICc	R ²
Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	174,91	0,61	Salinidade, Profundidade	144,78	0,61
Temperatura, Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	175,03	0,65	Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	145,56	0,64
Salinidade, Profundidade	175,91	0,56	Temperatura, Salinidade, Profundidade	146,54	0,63
pH, Salinidade, Log (Turbidez), Profundidade	176,40	0,63	pH, Salinidade, Profundidade	147,02	0,62
Temperatura, Salinidade, Profundidade	176,42	0,59	Oxigênio dissolvido, Salinidade, Profundidade	147,20	0,62

As análises multivariadas visando determinar as relações espaço-temporais entre as assembleias de crustáceos e as variáveis abióticas foram realizadas separadamente para os períodos chuvosos e secos do monitoramento (Tabela 10). No período chuvoso, o melhor modelo (AICc = 174,91) incluiu três variáveis abióticas (salinidade, turbidez e profundidade), as quais apresentaram uma contribuição acumulada de 68% para os padrões observados da fauna de crustáceos. No período seco, o melhor modelo (AICc = 144,78) incluiu apenas a salinidade e a profundidade, mas ainda assim uma contribuição acumulada de 63%. As análises demonstraram efeito significativo dos fatores ambientais nos padrões de composição e distribuição das espécies de crustáceos na área de abrangência do monitoramento PMBA/Fest, principalmente associado às variações de salinidade e profundidade. A visualização gráfica resultados está apresentada na Figura 12.

Figura 12: 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) e C6 (outubro/2023 e janeiro/2024), relacionando as variáveis ambientais (temperatura, pH, oxigênio dissolvido, salinidade, turbidez e profundidade) previamente normalizadas, selecionadas pelo procedimento Best e critério de seleção AICc sobre a matriz de similaridade de Bray-Curtis da densidade (ind./100m²) e frequência de ocorrência.



No período chuvoso (Figura 12A), os dois primeiros eixos do gráfico dbRDA (análise de redundância baseada em distância) capturaram 98,4% da variação ajustada ao modelo e 60,3% da variação total dos dados analisados. Isto indica que grande parte da variação da composição e distribuição da fauna de crustáceos nas áreas e períodos amostrados é determinada pelos fatores mensurados, enquanto o percentual restante (cerca de 40%) pode estar relacionado à influência de outros fatores ambientais ou processos ecológicos não mensurados. O mesmo resultado foi obtido para o período seco (Figura 12B), para qual os dois eixos apresentaram um ajuste de 100% ao modelo e 60,8% da variação total dos dados.

De modo geral, salinidade e profundidade foram as variáveis ambientais preditoras mais importantes na estruturação das comunidades de crustáceos em ambos os períodos (Figura 12). Particularmente no período chuvoso, a comunidade de crustáceos das áreas externas é também influenciada pelo aumento nos níveis de turbidez da água de fundo (Figura 12A). As áreas externas, com maior salinidade, apresentam uma homogeneidade na composição e distribuição da fauna de crustáceos independente do período (OLIVEIRA_FILHO et al., 2023). As áreas externas dos Rio Doce e Piraquê-Açu possuem mais semelhanças faunísticas entre si, enquanto a fauna que ocorre na área externa do São Mateus apresenta alguma semelhança com a área externa do Rio Doce durante o período seco, que se deve ao menor volume de drenagem de água doce dos rios. As áreas internas dos três estuários monitorados apresentam padrões de composição da comunidade de crustáceos claramente diferentes das áreas externas, o que, portanto, está também relacionado ao fato de serem mais rasas. Além disso, as comunidades de crustáceos das áreas internas são ainda diferentes entre si, o que está diretamente relacionado às variações de salinidade de cada local: Rio Doce com baixos níveis de salinidade, rio São Mateus com influência intermediária da drenagem fluvial e do influxo da cunha salina proveniente da área marinha adjacente, e rio Piraquê-Açu com grande influência marinha.

A variação de salinidade constitui um dos principais fatores ambientais que influenciam a distribuição da macrofauna bentônica em ecossistemas estuarinos e costeiros adjacentes (BERNARDINO et al., 2018), incluindo os crustáceos. Na ausência de dados pretéritos ao impacto do rejeito, as diferenças observadas na área interna do Rio Doce (estuário) não podem ser exclusivamente atribuídas ao impacto, uma vez que a baixa salinidade da área pode refletir naturalmente em menores valores de densidade, biomassa e riqueza de espécies quando comparados aos ambientes marinhos adjacentes ou mesmo outros ambientes estuarinos sujeitos a maior influência marinha (OLIVEIRA-FILHO et al., 2023). É, portanto, fundamental e necessária a continuidade do monitoramento a longo prazo, visando compreender a dinâmica das variações espaço-temporais da fauna de crustáceos na área impactada pelo rompimento, para que sirva de subsídio à elaboração e avaliação de medidas de mitigação dos efeitos causados pelo impacto.

Tabela 11: Composição e estrutura da comunidade de crustáceos estuarinos e marinhos. Análise do percentual de similaridade (SIMPER) da contribuição das espécies de crustáceos entre as áreas internas (I) e externas (E) dos rios Doce (RD), São Mateus (SM) e Piraquê-Açu (PA) baseada nos dados de densidade transformados pela raiz quarta usando o índice de similaridade de Bray-Curtis.

Espécies	Densidade média		Contribuição individual %	Contribuição acumulada %
	RDI	RDE		
Dissimilaridade média - RDI x RDE = 99,15				
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0,00	0,99	29,39	29,39
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0,00	0,62	18,34	47,73
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,03	0,33	9,90	57,63
<i>Nematopalaemon schmitti</i> (barriga branca)	0,00	0,34	8,55	66,17
<i>Exhippolysmata oplophoroides</i> (camarão espinho)	0,00	0,26	6,79	72,96
Dissimilaridade média - SMI x SME = 94,53	SMI	SME	Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,17	0,32	14,11	14,11
<i>Callinectes danae</i> (siri azul)	0,28	0,02	11,84	25,95
<i>Farfantepenaeus paulensis</i> (camarão rosa)	0,18	0,07	10,45	36,40
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0,00	0,47	9,94	46,34
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0,00	0,27	7,36	53,70
<i>Peisos petrunkevitchi</i> (mossoroca)	0,00	0,33	5,56	59,26
<i>Callinectes sapidus</i> (siri azul)	0,10	0,00	4,43	63,69
<i>Rimapenaeus constrictus</i> (camarão ferrinho)	0,01	0,16	4,13	67,82
<i>Leander paulensis</i> (camarão)	0,00	0,18	3,89	71,71
Dissimilaridade média - PAI x PAE = 87,23	PAI	PAE	Contribuição individual (%)	Contribuição acumulada (%)
<i>Callinectes danae</i> (siri azul)	0,70	0,09	15,58	15,58
<i>Xiphopenaeus kroyeri</i> (camarão sete-barbas)	0,19	0,68	13,15	28,73
<i>Sicyonia dorsalis</i> (camarão pedra)	0,10	0,49	9,28	38,02
<i>Farfantepenaeus paulensis</i> (camarão rosa)	0,37	0,13	8,98	46,99
<i>Callinectes ornatus</i> (siri)	0,21	0,35	8,14	55,13
<i>Peisos petrunkevitchi</i> (mossoroca)	0,02	0,51	7,25	62,39
<i>Rimapenaeus constrictus</i> (camarão ferrinho)	0,08	0,17	3,73	66,11
<i>Litopenaeus schmitti</i> (camarão branco)	0,10	0,12	3,60	69,71
<i>Hepatus pudibundus</i> (caranguejo baú)	0,00	0,21	3,40	73,12

A análise do percentual de dissimilaridade entre as áreas internas e externas dos três estuários monitorados indica que cinco espécies (*Xiphopenaeus kroyeri*, *Sicyonia dorsalis*, *Callinectes danae*, *Callinectes ornatus* e *Farfantepenaeus paulensis*) desempenharam uma importante contribuição na estrutura da macrofauna de crustáceos (Tabela 11). No Rio Doce, cinco espécies apresentaram uma contribuição acumulada de 72,96% para a diferença entre as áreas interna e externa, sendo a ocorrência do camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) (29,39%) um fator determinante devido a sua alta densidade média na área externa e completa ausência na área interna – destacando que é um dos mais importantes recursos pesqueiros na região (MUSIELLO-FERNANDES et al., 2020). No São Mateus, duas espécies de siris (*C. danae* e *C. ornatus*) foram mais abundantes e frequentes ao longo de todo monitoramento, com a contribuição acumulada de 25,95% para os padrões observados, sendo também relevante a contribuição do camarão rosa (*Farfantepenaeus paulensis* = 10,45%) que também possui relevante interesse comercial. No Piraquê-Açu, o siri azul (*C. danae*) e o camarão sete-barbas apresentaram um padrão inverso de densidade e frequência de ocorrência nas áreas interna e externa, o qual resultou na contribuição acumulada de 28,73% para a diferença entre as áreas.

Ichthyofauna recifal

Tabela 12: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) na área norte (zona Impacto, C1-C4) comparando a biomassa, abundância, composição e diversidade de alfa (0D , 1D , 2D) dos peixes recifais entre o tempo (T), as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), e os setores (S) estudados. Legenda: GL = grau de liberdade, Pseudo-F = estatística F; P(perm) = valor de significância. Valores significativos em negrito.

Fontes de variação	GL	Biomassa		Abundância		Composição		0D		1D		2D	
		Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)
T	4	4.1032	0.004	8.2648	0.001	3.5384	0.001	8.2648	0.001	6.7699	0.002	6.9803	0.001
Z	4	5.5896	0.006	2.2406	0.116	6.3692	0.001	2.2406	0.116	4.5172	0.014	3.686	0.016
I vs. C	1	0.2062	0.768	1.7371	0.269	8.0679	0.001	1.7371	0.269	2.5119	0.21	1.6137	0.266
S (Z)	25	3.0089	0.001	7.7437	0.001	4.7085	0.001	7.7437	0.001	3.3634	0.001	3.2622	0.001
S (I vs. C)	10	4.0306	0.001	7.8527	0.001	3.7901	0.001	7.8527	0.001	4.3412	0.001	4.0033	0.001
T(Z)	15	1.8041	0.041	1.6596	0.068	1.8734	0.001	1.6596	0.068	1.1919	0.307	1.0037	0.457
T(I vs. C)	4	1.4413	0.243	0.5726	0.649	2.3621	0.008	0.5726	0.649	1.9193	0.158	1.1933	0.331
T(S(Z))	82	1.6451	0.001	1.9289	0.001	1.8264	0.001	1.9289	0.001	1.5712	0.003	1.4105	0.013
T(S(I vs. C))	27	2.9315	0.001	1.9594	0.003	1.8053	0.001	1.9594	0.003	1.4776	0.039	1.4015	0.079
Resíduo	607												
Total	760												

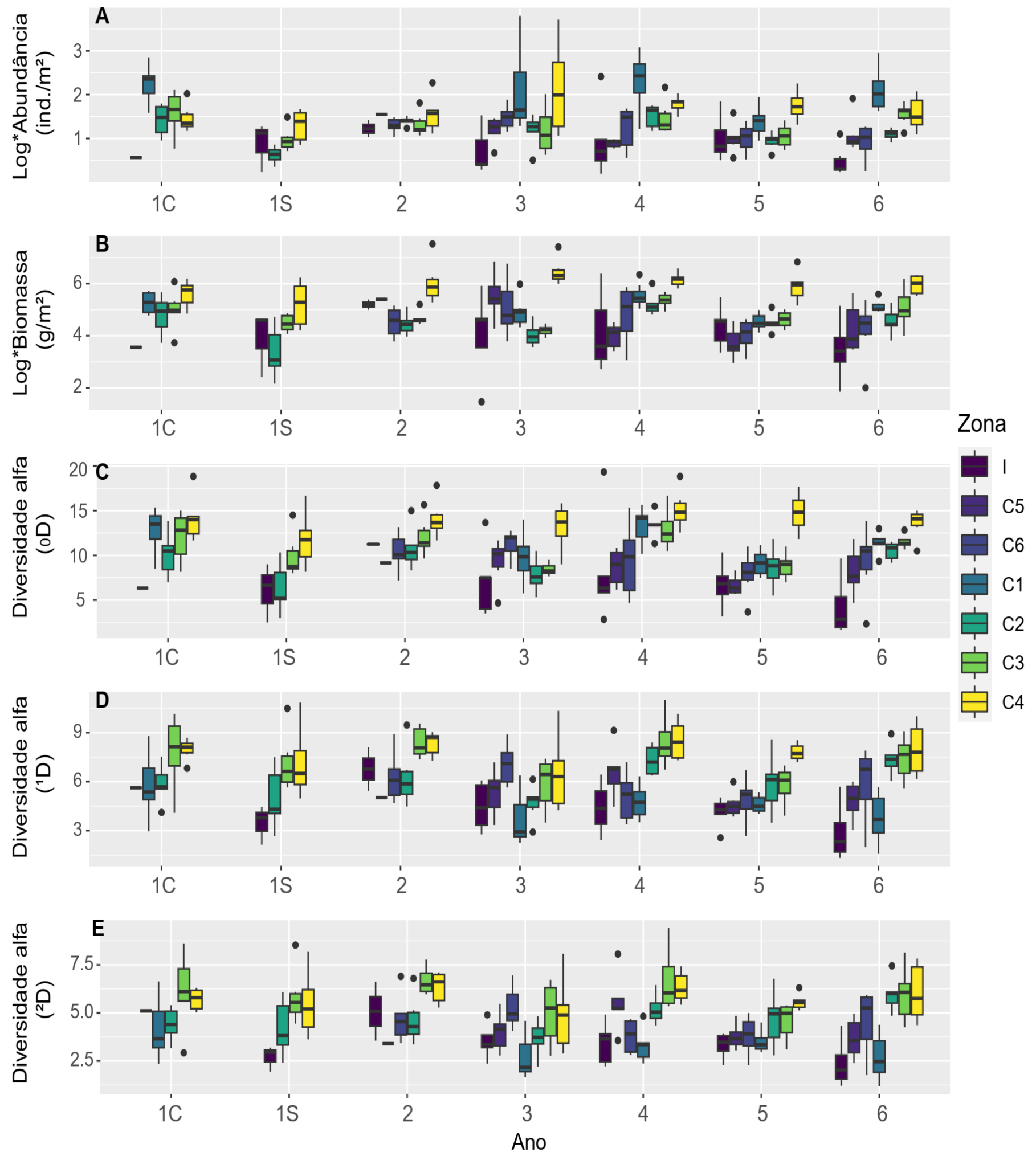
Para a área norte, as assembleias de peixes recifais amostradas na zona Impacto apresentaram diferenças significativas para abundância, composição de espécies e diversidade alfa 0D (menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras) quando comparadas com as zonas Controle C1-C4, indicado pelo contraste (I vs. C). Especificamente, a zona Impacto possui uma menor quantidade de peixes e uma composição diferenciada de espécies, sendo essa caracterizada por uma menor quantidade de espécies raras devido ao valor significativamente menor de diversidade alfa 0D (Figura 13C). A biomassa de peixes não apresentou diferenças significativas na zona Impacto quando comparada às zonas Controle C1-C4 (contraste I vs. C), indicando que, o tamanho corporal dos peixes promove valores de biomassa similares entre a zona Impacto e as zonas Controle quando analisado todos os anos de forma conjunta. No entanto, a significância na interação do contraste I vs. C com os setores (S (I vs. C)) indica que a diferença de biomassa entre a zona Impacto e as zonas Controle depende do setor (S). Os valores de diversidade alfa 1D (valores de diversidade verdadeira) e 2D (maior peso para espécies dominantes) não apresentaram diferenças significativas para o contraste I vs C, apesar dos menores valores destes dois indicadores serem observados na zona Impacto (Figura 13, E). Todos os indicadores (biomassa, abundância, composição de espécies e diversidade alfa 0D , 1D e 2D) apresentaram diferenças significativas entre os anos (T), indicando contínuas mudanças destes indicadores ao longo do tempo.

Tabela 13: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) na área sul (zona Impacto, C5-C6) comparando a biomassa, abundância, composição e diversidade de alfa (0D , 1D , 2D) dos peixes recifais entre o tempo (T), as zonas (Z), incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), e os setores (S) estudados. Legenda: GL = grau de liberdade, Pseudo-F = estatística F; P(perm) = valor de significância. Valores significativos em negrito.

Fontes de variação	GL	Biomassa		Abundância		Composição		0D		1D		2D	
		Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)	Pseudo-F	P(perm)
T	3	0.7138	0.525	0.47974	0.688	2.984	0.001	2.4399	0.083	3.7134	0.037	2.9387	0.055
Z	2	1.9355	0.146	6.3662	0.016	2.5955	0.001	6.9526	0.008	1.9126	0.188	1.018	0.349
I vs. C	1	2.4418	0.143	2.41	0.158	2.6051	0.001	3.7451	0.087	0.65507	0.438	3.28E-02	0.885
S (Z)	15	2.6845	0.001	3.7262	0.001	2.4985	0.001	2.8865	0.001	2.2406	0.003	2.1056	0.009
S (I vs. C)	10	2.5833	0.004	4.2459	0.001	1.4139	0.047	3.7663	0.001	2.3544	0.009	1.7898	0.071
T(Z)	6	0.9520	0.46	1.9077	0.113	1.7461	0.021	0.62544	0.678	2.4696	0.065	3.6124	0.014
T(I vs. C)	3	2.5941	0.084	2.4909	0.082	2.2171	0.001	1.1996	0.315	2.131	0.145	3.0594	0.045
T(S(Z))	32	2.3523	0.001	2.1791	0.001	2.0441	0.001	2.2645	0.001	1.348	0.11	1.0757	0.388
T(S(I vs. C))	23	2.423	0.001	1.6768	0.019	2.984	0.001	2.1091	0.002	1.4928	0.064	1.0984	0.333
Resíduo	249												
Total	330												

Para a área sul, onde estão as zonas mais próximas à zona Impacto, foram detectadas diferenças significativas em todos os indicadores: biomassa, abundância, composição de espécies, diversidade alfa 0D (menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras), 1D (valores de diversidade verdadeira) e 2D (maior peso para espécies dominantes) entre a zona Impacto e as zonas Controle C5-C6 (contraste I vs. C). Especificamente, a zona Impacto possui uma menor quantidade de peixes e uma composição diferenciada de espécies, sendo essa caracterizada por uma baixa diversidade alfa 0D , 1D e 2D (Figura 13C, D, E). Apenas a composição de espécies apresentou diferença significativa entre os anos (T), indicando uma contínua mudança deste indicador ao longo do tempo.

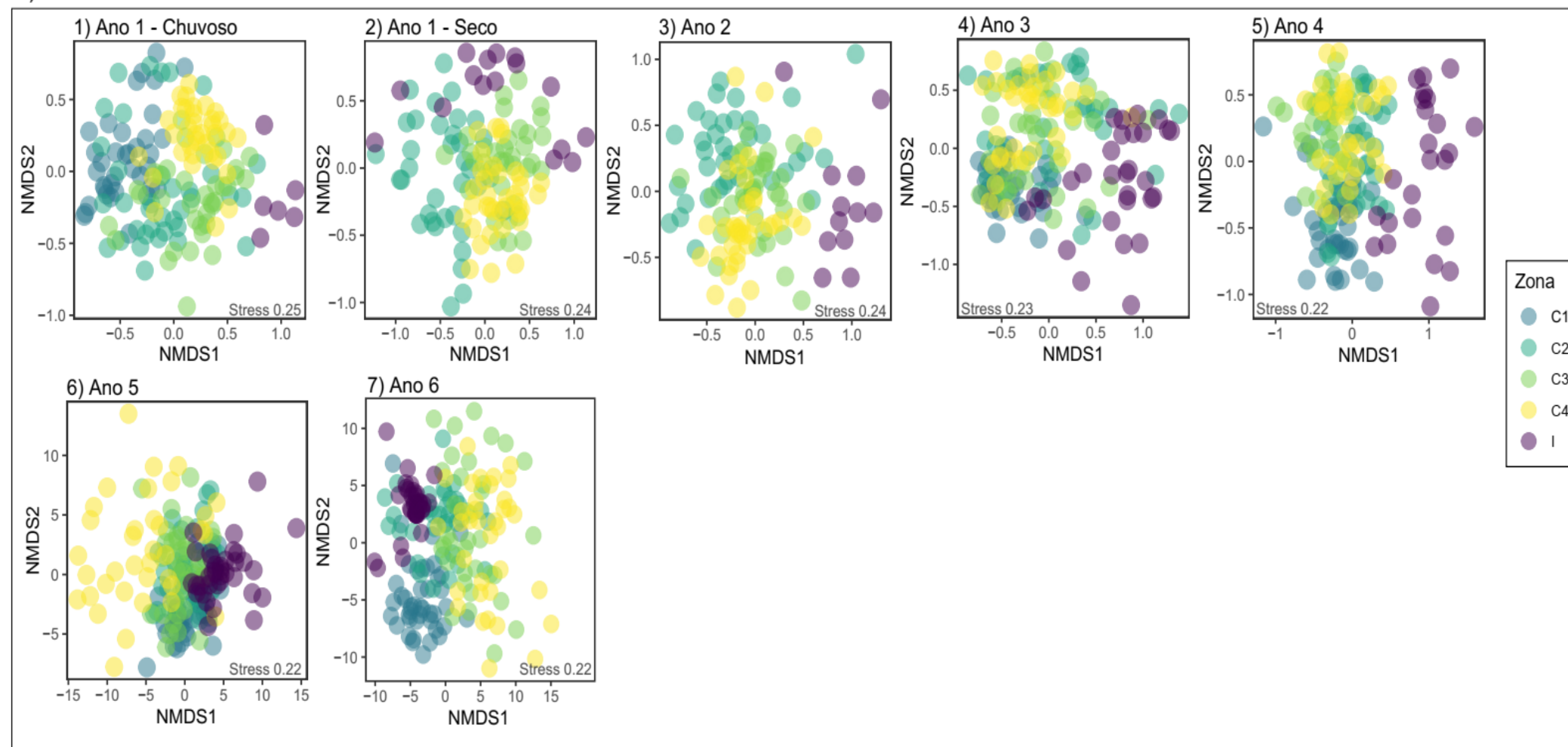
Figura 13: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Abundância (A), biomassa (B), e diversidade alfa (D α ; C-E) de peixes recifais nas zonas amostradas durante as campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 1S (Estação seca Ano 1), 2 (Estação chuvosa Ano 2), 3 (Estação chuvosa Ano 3), 4 (Estação chuvosa Ano 4), 5 (Estação chuvosa Ano 5) e 6 (Estação chuvosa Ano 6). C) ⁰D – Menor peso para espécies abundantes e maior peso para as espécies raras; D) ¹D – Valores de diversidade verdadeira; E) ²D – Maior peso para espécies dominantes, calculadas para as seis zonas estudadas. I= Impacto-APA Costa das Algas, C1= Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3= Paredes, C4= Abrolhos, C5 = Vitória e C6= Guarapari. A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante.



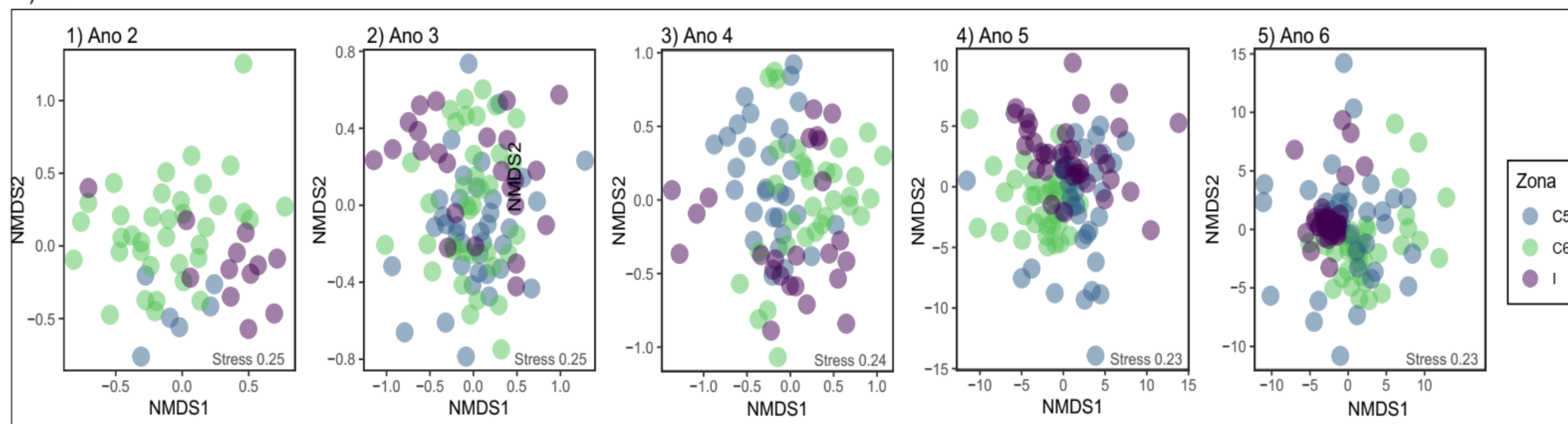
No geral, a zona Impacto e as zonas mais próximas à zona de Impacto (C5 e C6) apresentaram os menores valores de abundância, biomassa, e diversidade alfa para espécies raras (⁰D), espécies no geral (¹D) e espécies dominantes (²D), de peixes recifais, padrão que se manteve ao longo dos seis anos de amostragem.

Figura 14: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Distribuição das assembleias de peixe recifal em espaço multi-dimensional (Non-metric multi dimensional scaling) nas zonas amostradas na área norte (A) e sul (B), mostrando as campanhas 1) Estação chuvosa Ano 1; 2) Estação seca Ano 1; 3) Estação chuvosa Ano 2; 4) Estação chuvosa Ano 3; 5) Estação chuvosa do Ano 4; 6) Estação chuvosa do Ano 5; e 7) Estação chuvosa do Ano 6. Não houve coleta nas zonas C5 e C6 (área sul) no Ano 1. Cada ponto representa uma réplica (UVC). Quanto mais perto um ponto do outro, mais parecido em composição de comunidade. I= Impacto-APA Costa das Algas, C1= Recifes Esquecidos, C2= Cassurubá, C3= Paredes, C4= Abrolhos, C5 = Vitória e C6= Guarapari.

A) Norte

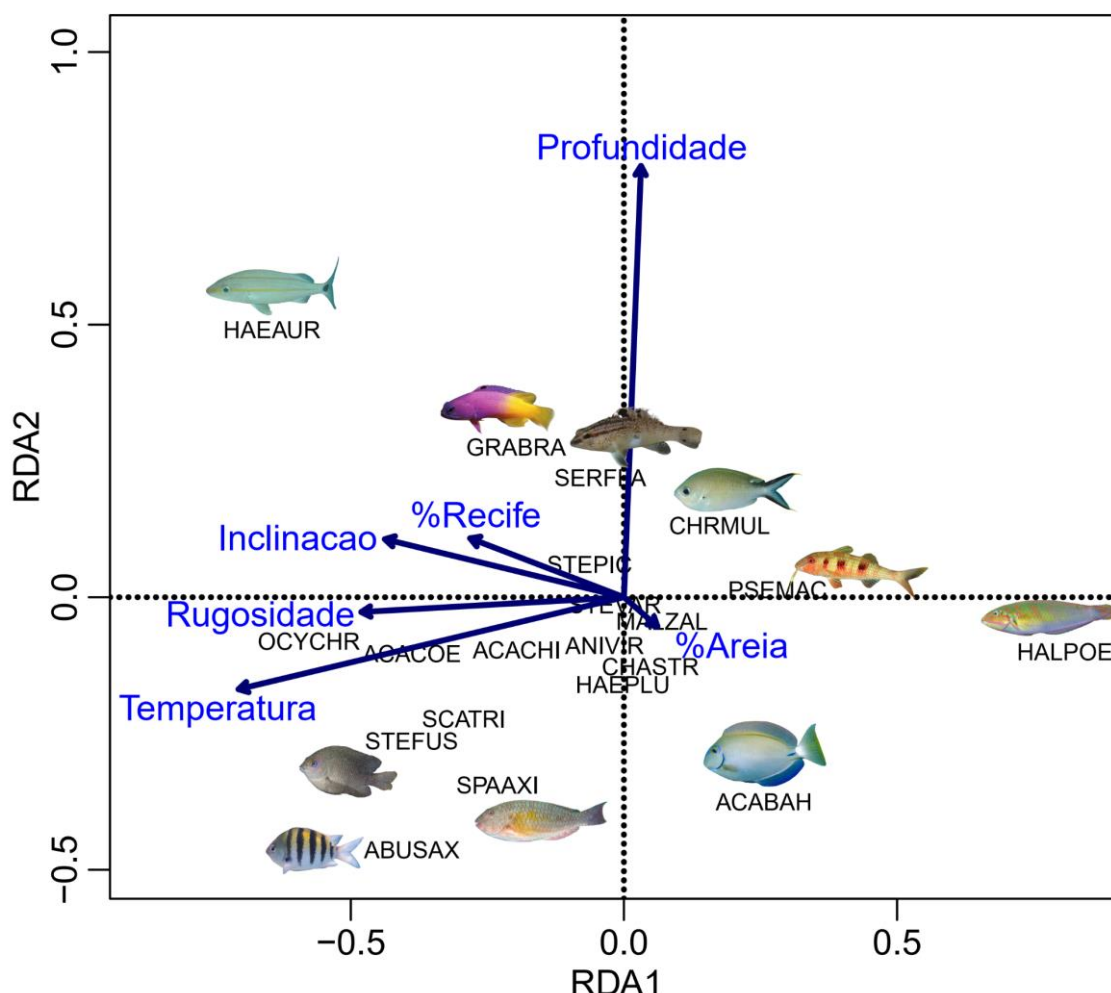


B) Sul



Considerando a composição das assembleias de peixes recifais, a zona Impacto (círculos roxos) permaneceu mais homogênea entre si na área norte (A) em comparação às zonas controle C1-C4, e relativamente homogênea com as demais zonas na área sul (B) em comparação com as zonas controle C5-C6, padrão que se manteve ao longo dos seis anos de amostragem.

Figura 15: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais (influência das variáveis ambientais). Distribuição das espécies de peixe recifal e das variáveis abióticas nas seis zonas amostradas visualizadas em espaço multi-dimensional. Os vetores mostram as variáveis preditoras significativas para o modelo final ($p < 0,05$). O comprimento do vetor indica o peso da variável. Apenas as espécies de peixes que foram influenciadas pelas variáveis preditoras foram incluídas na figura. ABUSAX = *Abudefduf saxatilis*, ACABAH = *Acanthurus bahianus*, ACACHI = *Acanthurus chirurgus*, ACACOE = *Acanthurus coeruleus*, ANIVIR = *Anisotremus virginicus*, CHASTR = *Chaetodon striatus*, CHRMUL = *Chromis multilineata*, GRABRA = *Gramma brasiliensis*, HAEAUR = *Haemulon aurolineatum*, HAEPLU = *Haemulon plumieri*, HALPOE = *Halichoeres poeyi*, MALZAL = *Malacoctenus zualari*, OCYCHR = *Ocyurus chrysurus*, PSEMAC = *Pseudupeneus maculatus*, SCATRI = *Scarus trispinosus*, SERFLA = *Serranus flaviventris*, SPAAXI = *Sparisoma axillare*, STEFUS = *Stegastes fuscus*, STEPIC = *Stegastes pictus*, STEVAR = *Stegastes variabilis*.



As variáveis de temperatura, profundidade, rugosidade, inclinação, porcentagem de substrato recifal e porcentagem de substrato de areia foram importantes preditoras da diversidade de peixes recifais considerando todas as zonas em conjunto. Nas zonas amostradas, umas das espécies mais comuns, *Halichoeres poeyi* (Labridae) e *Acanthurus bahianus* (Acanthuridae) foram influenciadas positivamente pela cobertura de Areia; *Sparisoma axillare* (Labridae: Scarinae), *Abudefduf saxatilis* (Pomacentridae)

e *Stegastes fuscus* (Pomacentridae) foram influenciadas positivamente pela temperatura e rugosidade; o também abundante *Haemulon aurolineatum* (Haemulidae) foi influenciado principalmente pela cobertura de substrato recifal e pela inclinação do recife, assim como a espécie *Serranus flaviventris* (Serranidae), que junto com a espécie *Chromis multilineata* (Pomacentridae) foram influenciadas positivamente pela profundidade.

Tabela 14: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) comparando a abundância e a biomassa dos grupos tróficos piscívoro/cefalópode, herbívoro-detritívoro, herbívoro de macroalga, invertívoro móvel, invertívoro-piscívoro, invertívoro sésil, invertívoro móvel e sésil, onívoro, onívoro-planctívoro e planctívoro de peixes recifais entre o tempo (T), as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), e os setores (S) estudados na área norte (zona I e C1-C4).

Legenda: Pseudo F = estatística F. * = Significância estatística.

Fontes de variação	GL	Piscívoro/cefalópode		Herbívoro-detritívoro		Herbívoro macroalga		Invertívoro móvel		Invertívoro-piscívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	5	1.9841	2.465*	5.5844*	3.255*	4.7931*	2.0569	2.2061*	4.1091*	0.2037	0.6068
Z	4	4.7298*	13.174*	9.1505*	6.0275*	11.965*	10.787*	6.5318*	0.78588	1.9512	2.2904
I vs. C	1	11.967*	0.3372	2.1888	0.0282	17.143*	24.724*	49.891*	4.4264	0.3052	0.251
S (Z)	25	3.6102*	1.6926*	4.7697*	3.8979*	8.1148*	6.6151*	7.6209*	4.0497*	2.4512*	1.8349*
S (I vs. C)	10	4.9261*	0.9634	4.3018*	3.7971*	4.3148*	2.1959*	4.6646*	3.7186*	1.8232	1.2294
T(Z)	19	0.8469	0.9462	2.6292*	2.913*	2.2413*	2.0216*	1.2912	1.7012*	1.3945	1.007
T(I vs. C)	5	0.9865	1.1445	6.2644*	4.3048*	2.8877	1.7747	0.7823	3.2569*	0.7442	1.0507
T(S(Z))	109	1.3118*	1.6452*	2.6563*	3.0436*	1.3602*	1.1688	2.2668*	1.9463*	1.5036*	1.2575*
T(S(I vs. C))	39	1.3239	1.2399	3.8284*	4.1408*	1.6225*	1.0989	2.4445*	2.7233*	1.1374	1.0233
Resíduo	796										
Total	966										

Fontes de variação	GL	Invertívoro sésil		Invertívoro móvel-sésil		Onívoro		Onívoro-planctívoro		Planctívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	5	1.8662	3.9365*	2.818*	1.9467	2.2322*	1.9192	1.3336	1.8823	1.3841	1.3265
Z	4	6.7526*	6.2976*	35.201*	25.525*	2.3231	1.4746	2.464	1.782	1.3603	1.6756
I vs. C	1	9.232*	15.067*	1.923	0.4352	0.2646	4.2078	0.0381	0.45904	7.5382*	10.061*
S (Z)	25	3.2602*	3.9562*	2.316*	1.9689*	4.0278*	3.3812*	4.8992*	5.674*	4.5326*	4.568*
S (I vs. C)	10	3.166*	5.3835*	3.0072*	3.4307*	3.8194*	2.323*	2.2321*	2.4091*	9.7817*	9.4335*
T(Z)	19	1.5613	1.4087	1.0554	1.3565	1.7467*	2.5733*	1.2503	2.2765*	1.756*	1.542
T(I vs. C)	5	1.1112	1.7221	2.2136	1.4261	0.8692	0.7017	1.2335	0.79701	2.4067	2.8823
T(S(Z))	109	2.0108*	1.7772*	1.3912*	1.1307	1.1463	1.2432	2.6446*	2.839*	1.755*	1.9393*
T(S(I vs. C))	39	2.0921*	1.9793*	1.1006	1.0703	1.4479*	1.6996*	1.8706*	1.9332*	3.9001*	4.1254*
Resíduo	796										
Total	966										

Para a área norte, os grupos tróficos que apresentaram diferenças significativas na zona Impacto foram piscívoro/cefalópode para abundância, Herbívoro de macroalga para abundância e biomassa, Invertívoro móvel para abundância, Invertívoro sésil para abundância e biomassa, e Planctívoro para abundância e biomassa, indicadas pelo contraste I vs. C. Os grupos Piscívoro/cefalópode, Herbívoro de macroalga e Invertívoro móvel, considerados grupos tróficos-chave para os ambientes recifais (i.e., predadores de topo, herbívoros e consumidores secundários de alta biomassa, respectivamente), apresentaram menores valores de abundância na zona Impacto (Figura 16A, C, D). Quando observada a interação entre setores e contraste (S (I vs. C)), todos os grupos tróficos diferiram significativamente em abundância e/ou biomassa, com exceção dos grupos pouco diversos Invertívoro-piscívoro, indicando que as diferenças entre a zona Impacto e as zonas Controle C1-C4 depende dos setores analisados

Tabela 15: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Resultado da Análise de Variância por Permutação (PERMANOVA) comparando a abundância e a biomassa dos grupos tróficos piscívoro/cefalópode, herbívoro-detritívoro, herbívoro de macroalga, invertívoro móvel, invertívoro-piscívoro, invertívoro sésil, invertívoro móvel e sésil, onívoro, onívoro-planctívoro e planctívoro de peixes recifais entre o tempo (T), as zonas (Z, incluindo o contraste entre Impacto vs Controles (I vs. C)), e os setores (S) estudados na área sul (zona I e C5-C6).

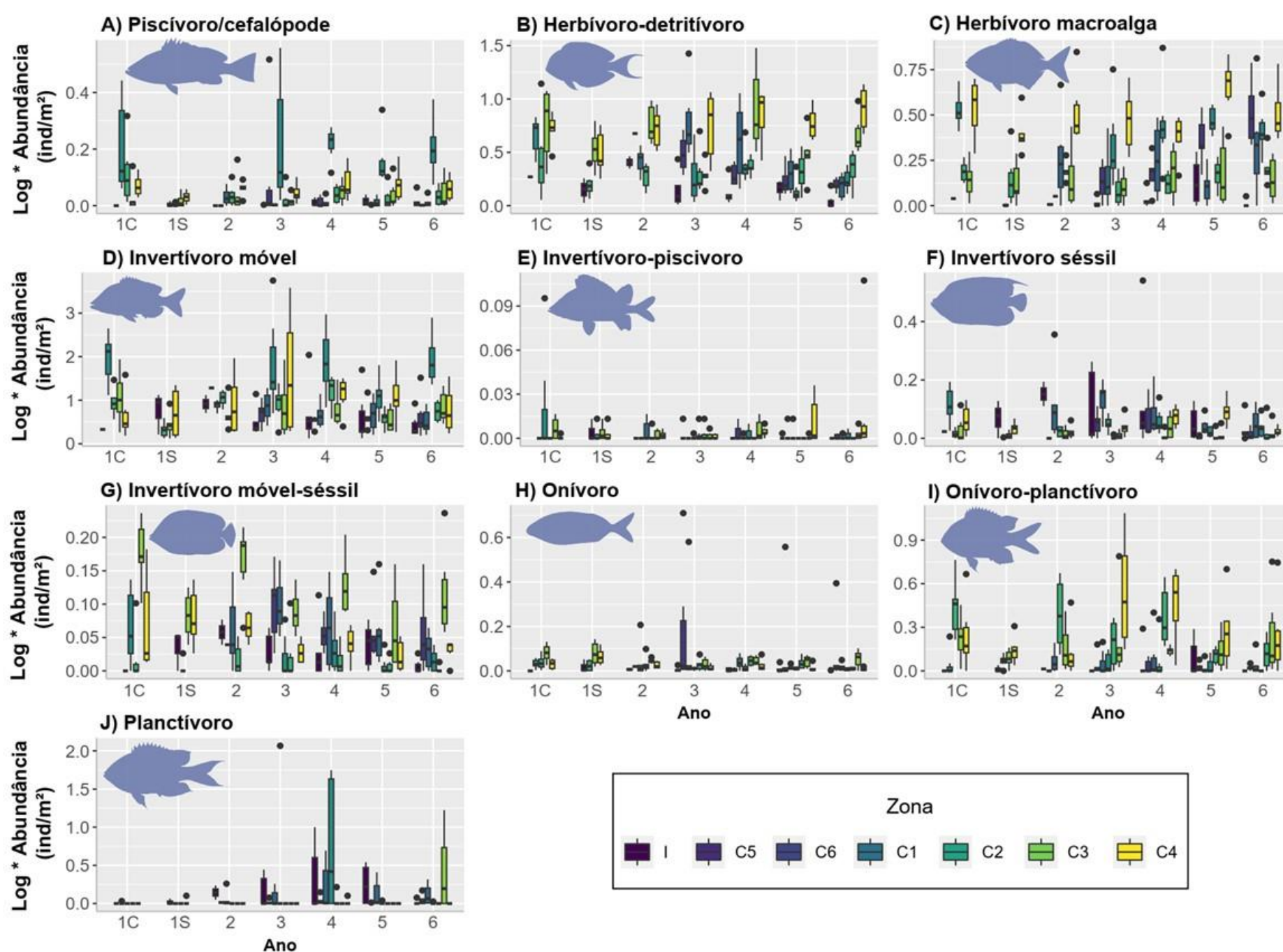
Legenda: Pseudo-F = estatística F. * = Significância estatística.

Fontes de variação	GL	Piscívoro/cefalópode		Herbívoro-detritívoro		Herbívoro macroalga		Invertívoro móvel		Invertívoro-piscívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	4	0.5718	0.1508	3.4231*	1.447	1.9216	1.2963	1.6627	2.3392	0.5024	0.4785
Z	2	4.117	1.0824	7.6931*	4.1237*	3.4395	1.8578	2.0965	4.1396*	0.1002	0.3672
I vs. C	1	8.0419*	1.6679	12.713*	5.9866*	6.9487*	3.0482	1.8389	3.0168	0.7083	1.0273
S (Z)	15	1.6985	1.2053	2.075*	2.8314*	3.0847*	3.7486*	2.5311*	2.2271*	1.0011	1.1553
S (I vs. C)	10	2.0339*	1.3228	1.5113	2.5725*	4.2663*	4.7863*	3.3767*	2.289*	0.6756	0.8412
T(Z)	8	1.6181	1.4232	1.3603	1.3028	1.8277	1.2143	0.8974	1.6807	1.0675	0.7744
T(I vs. C)	4	3.1309*	3.6589*	1.8386	1.9013	2.9375*	1.8953	0.6295	2.3286	1.0752	0.8298
T(S(Z))	48	1.4405*	1.665*	3.5197*	3.2028*	2.4141*	2.8758*	2.7245*	3.2982*	0.8741	0.8792
T(S(I vs. C))	34	1.1252	0.1508	3.1786*	2.6574*	1.8388*	2.0981*	2.3776*	2.7449*	0.9334	0.7059
Resíduo	378										
Total	463										

Fontes de variação	GL	Invertívoro sésil		Invertívoro móvel-sésil		Onívoro		Onívoro-planctívoro		Planctívoro	
		Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa	Pseudo-F Abundância	Pseudo-F Biomassa
T	4	2.4939	0.4642	1.193	0.6491	0.4472	0.86857	0.3662	0.2735	0.6352	0.4137
Z	2	17.628*	11.495*	4.375*	5.7162*	2.8702	2.3549	0.7090	0.5470	2.1826	1.1394
I vs. C	1	13.213*	4.1973	8.6526*	9.044*	18.338*	12.721*	0.6454	0.1052	3.4952	1.6651
S (Z)	15	1.5935	2.203*	2.4874*	3.0133*	1.5475	1.1584	1.3207	1.3989	1.3954	3.1686*
S (I vs. C)	10	1.2568	3.1321*	2.1063*	2.5889*	1.0273	0.819	1.3326	1.757	1.2204	3.8063*
T(Z)	8	0.783	0.7644	1.1922	2.3312	0.9633	1.2846	0.9647	1.1208	0.6850	1.0352
T(I vs. C)	4	1.1363	1.3712	1.5943	2.3654	1.0931	1.2128	1.7428	1.3982	1.4738	0.8871
T(S(Z))	48	2.4216*	1.9092*	1.4305*	1.5032*	1.2726	1.0698	1.7818*	2.3063*	1.9832*	1.5184*
T(S(I vs. C))	34	3.2694*	2.3833*	1.0559	1.3112	1.3918	1.2605	2.2325*	3.0066*	2.5019*	1.865*
Resíduo	378										
Total	463										

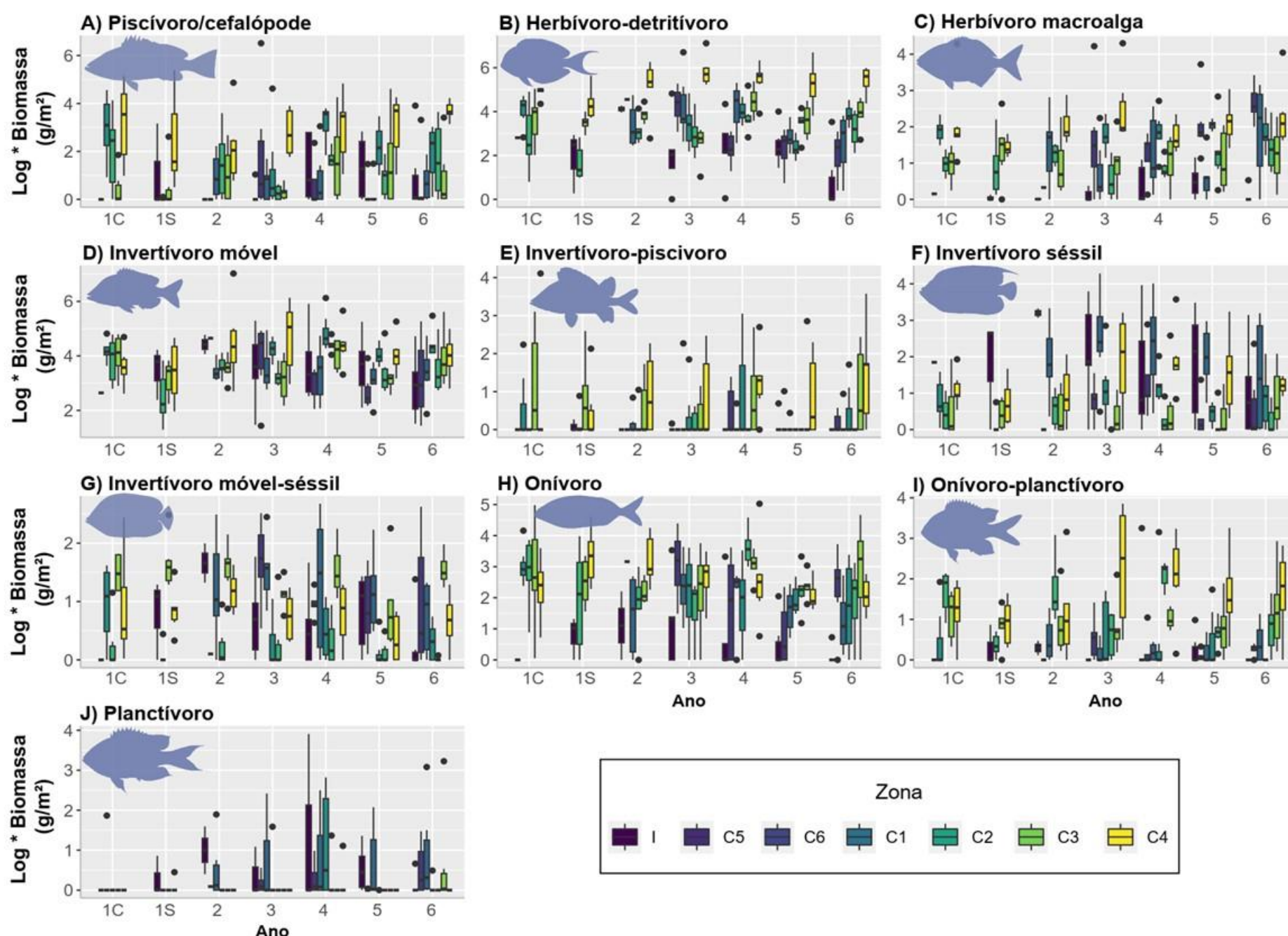
Para a área sul, os grupos tróficos que apresentaram diferenças significativas na zona Impacto foram Piscívoro/cefalópode para abundância, Herbívoro-detritívoro para abundância e biomassa, Herbívoro de macroalga para abundância, Invertívoro sésil para biomassa, Invertívoro móvel-sésil para abundância e biomassa e Planctívoro para biomassa, indicadas pelo contraste I vs. C. No geral, os grupos apresentaram baixos valores de abundância e/ou biomassa na zona Impacto. Quando observada a interação entre setores e contraste (S (I vs. C)), os grupos tróficos Piscívoro/cefalópode, Herbívoro-detritívoro, Herbívoro de macroalga, Invertívoro móvel, Invertívoro sésil, Invertívoro móvel e sésil e Planctívoro diferiram significativamente em abundância e/ou biomassa, indicando que as diferenças entre a zona Impacto e as zonas Controle C5-C6 depende dos setores analisados.

Figura 16: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Abundância (log(ind./m²)) dos grupos tróficos A) Piscívoros; B) Herbívoros-detritívoros; C) Herbívoros de macroalga; D) Invertívoros móveis; E) Invertívoros móveis-Piscívoros; F) Invertívoros sésseis; G) Invertívoros sésseis-móveis; H) Onívoros; I) Onívoros-Planctívoros; e J) Planctívoros nas zonas de controle e impacto mostrado campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 2S (Estação seca Ano 1), 3 (Estação chuvosa Ano 2), 4 (Estação chuvosa Ano 3), 5 (Estação chuvosa Ano 4), 6 (Estação chuvosa Ano 5), e 7 (Estação chuvosa Ano 6). Abreviações: I = APA Costa das Algas, C1 = Recife dos Esquecidos, C2 = Cassurubá, C3 = Paredes, C4 = PARNA Abrolhos, C5 = Vitória e C6 = Guarapari). As linhas horizontais representam a média e as caixas o erro padrão. A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante.



Todos os grupos tróficos apresentaram menores valores médios de abundância na zona Impacto (barras roxas) em comparação com as zonas controle, com exceção dos Invertívoros sésseis, grupo formado por uma baixa diversidade de espécies, incluindo espécies do gênero *Acanthostracion*, *Holacanthus* e *Holocentrus*, e do grupo Planctívoros no ano 2, 3 e 5. O grupo trófico Invertívoro móvel, o qual apresenta a maior diversidade de espécies, apresentou uma diferença significativamente menor na abundância de peixes na zona Impacto quando comparado o contraste com as zonas controle da área norte (I vs. C; Tabela 15). Este padrão se manteve ao longo dos seis anos de amostragem.

Figura 17: Composição e estrutura de comunidades e populações de peixes recifais. Biomassa ($\log(g/m^2)$) dos grupos tróficos A) Piscívoros; B) Herbívoros-detritívoros; C) Herbívoros de macroalga; D) Invertívoros móveis; E) Invertívoros móveis-Piscívoros; F) Invertívoros sésseis; G) Invertívoros sésseis-móveis; H) Onívoros; I) Onívoros-Planctívoros; e J) Planctívoros nas zonas de controle e impacto mostrado campanhas: 1C (Estação chuvosa Ano 1), 2S (Estação seca Ano 1), 3 (Estação chuvosa Ano 2), 4 (Estação chuvosa Ano 3), 5 (Estação chuvosa Ano 4), 6 (Estação chuvosa Ano 5), e 7 (Estação chuvosa Ano 6).. Abreviações: I = APA Costa das Algas, C1 = Recife dos Esquecidos, C2 = Cassurubá, C3 = Paredes, C4 = PARNA Abrolhos, C5 = Vitória e C6 = Guarapari). As linhas horizontais representam a média e as caixas o erro padrão. A legenda da figura está representada por ordem de distância da zona de impacto I, sendo Vitória (C5) a zona mais próxima e Abrolhos (C4) a zona mais distante.



No geral, os grupos tróficos apresentaram menores valores médios de biomassa na zona Impacto (barras roxas) em comparação com as zonas controle, com exceção do grupo Invertívoro sésil no ano 1 (amostragem no período seco) e no ano 5; e dos planctívoros no ano 1 (seco), ano 2 e ano 4. Os valores de biomassa dos grupos tróficos flutuaram de forma considerável ao longo dos anos, contudo, os padrões temporais dos grupos mais diversos (Piscívoro/cefalópode e Invertívoro móvel) se mantiveram mais estáveis, com menores valores na zona Impacto e/ou nas zonas mais próximas ao Impacto (C5 e C6). Para o ano 5, a biomassa média do grupo Invertívoro móvel foi mais similar entre todas as zonas amostradas, contudo, para o ano 6, a biomassa média do grupo se manteve mais baixa na zona de impacto.

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

Tabela 16: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Abundância total por espécie (taxa) de pós-larvas de peixe capturada com armadilha de luz nas referidas zonas marinhas (Impacto= Rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) durante as campanhas (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, janeiro/2022, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/2023 e dezembro/2023).

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Acanthuridae	<i>Acanthurus bahianus</i>					2											2		2
Albulidae	<i>Albula</i> sp.	1															1		1
	<i>Albula vulpes</i>				8				1	2					4	6	1		11
Apogonidae	<i>Astrapogon puncticulatus</i>				9	1		1	1	2			2	3	9	3	3	4	19
	<i>Astrapogon stellatus</i>				1		1								1		1		2
	<i>Phaeoptyx pigmentaria</i>					1									1				1
Ariidae	<i>Genidens genidens</i>						1								1				1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Atherinopsid ae	<i>Atherinella brasiliensis</i>						25		5		208		7	16	15	1	36	209	261
	<i>Atherinella</i> sp.	2		10						10		2			2			22	24
	<i>Atherinomorus stipes</i>		3			8									1		3	7	11
	Atherinopsida e spp.				1										1				1
	<i>Membras dissimilis</i>								4									4	4
Balistidae	<i>Canthidermis maculata</i>										1				1				1
Batrachoidid ae	<i>Porichthys porosissimus</i>													1	1				1
Blenniidae	Blenniidae spp.	3				3							1		1	3		3	7
	<i>Entomacrodus vomerrinus</i>									1							1		1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Hypleurochilus pseudoaequipinnis</i>					1				1								2	2
	<i>Hypleurochilus</i> sp.				2							6			8				8
	<i>Hypsoblennius invemar</i>					1	4	1				19		7	14	4	9	5	32
	<i>Hypsoblennius</i> sp.				1									1	1		1		2
	<i>Parablennius marmoreus</i>	4		4		3		3			1				2	7	1	5	15
	<i>Scartella cristata</i>	2			5						1		1		2	1	5	1	9
Bothidae	<i>Bothus lunatus</i>	1					3								4				4
	<i>Bothus ocellatus</i>	4				1	8								12		1		13
	<i>Bothus</i> sp.					1						2	2	1	6				6
Carangidae	Carangidae spp.						1			2	1				4				4

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Caranx bartholomaei</i>		28	2	3	30				19	1	12	2	11	1	2	67	38	108
	<i>Caranx crysos</i>				87			1	1	21		63	16		21	82	76	10	189
	<i>Caranx hippos</i>		1		1	7		1		3					3	6	3	1	13
	<i>Caranx latus</i>	1	2			13					2	1			3	10	5	1	19
	<i>Caranx ruber</i>				1				2			2					5		5
	<i>Caranx sp.</i>													22	5	2	14	1	22
	<i>Chloroscombrus chrysurus</i>	274	13	8		48	568	43	235		39		5		23	277	879	54	1233
	<i>Decapterus macarellus</i>				2			1							1	2			3
	<i>Decapterus punctatus</i>					2									1	1			2
	<i>Decapterus sp.</i>									2				1	1		2		3
	<i>Naucrates ductor</i>								1						1		0		1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Oligoplites saurus</i>				1	9						1			10		1		11
	<i>Oligoplites</i> sp.									2							1	1	2
	<i>Selene vomer</i>					2								4	6				6
	<i>Trachinotus goodei</i>								1					1	2				2
Centropomidae	<i>Centropomus undecimalis</i>	1													1				1
Clupeidae	Clupeidae spp.	3060	418	35	1281	400 3	9	57	10		13	155		76	53	80	428 0	470 4	911 7
	<i>Harengula clupeola</i>										10			2	2	1		9	12
	<i>Sardinella aurita</i>										2	9				2	9		11
Congridae	<i>Ariosoma</i> sp.																		0
	Congridae spp									1	3				4				4
	Conger sp.												1		1				1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Coryphaenid ae	<i>Coryphaena equiselis</i>										1					1			1
Cynoglossid ae	<i>Symphurus plagusia</i>	1	5		63				1	4					63	5	1	5	74
	<i>Symphurus sp.</i>					2									0	2			2
Dactylopteri dae	<i>Dactylopterus volitans</i>		2												0	1	1		2
Dorosomatid ae	<i>Opisthonema oglinum</i>													1	1				1
Eleotridae	<i>Eleotris pisonis</i>				2					2	4				6	2			8
Elopidae	<i>Elops saurus</i>							7			1	6	5	11	25	2	2	1	30
	<i>Elops sp.</i>	3				4			4						8	1	2		11
Engraulidae	<i>Anchoa filifera</i>									29	19				1	17	3	27	48
	<i>Anchoa cubana</i>										2				1	1			2
	<i>Anchoa marini</i>											3			0	1		2	3

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Anchoa tricolor</i>										65				2	55		8	65
	<i>Anchoa sp.</i>									5								5	5
	<i>Anchoviella lepidentostole</i>									2								2	2
	Engraulidae spp.	400	195	129	1725	992 7	7		132	2	386	82	31	37	136	484	105 47	188 6	130 53
	<i>Lycengraulis grossidens</i>												6	11	4	3	4	6	17
Ephippidae	<i>Chaetodipterus faber</i>				1		4								4		1		5
Exocoetidae	<i>Parexocoetus brachypterus</i>									4						4			4
Fistularidae	<i>Fistularia petimba</i>						1			1						2			2
	<i>Fistularia tabacaria</i>					1	2	1				2			3	3			6

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Gerreidae	Gerreidae spp.	2310	223	174	352	277	80	57	263	1	59	26	357	53	758	765	223 2	477	423 2
	<i>Eucinostomus</i> sp.										1	20			4	3	8	6	21
	<i>Diapterus</i> <i>rhombeus</i>											3			0	0	3		3
Gobiidae	<i>Bathygobius</i> sp.						1	2							1	0	2		3
	Gobiidae spp.	1					1								2				2
	<i>Gobiossoma</i> <i>hemigymnum</i>									1								1	1
	<i>Gobius</i> sp.								1	1					2				2
	<i>Gobionellus</i> sp						2								2				2
Gonostomati dae	<i>Gonostoma</i> sp.	2													1	1			2
Haemulidae	Haemulidae spp.												1	1	2				2
	<i>Haemulon</i> sp.					1						1		21			21	2	23

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Orthopristis chrysoptera</i>	1								2					3				3
Hemiramphidae	<i>Hemiramphus brasiliensis</i>			1		4								1	3		3		6
	<i>Hyporhamphus</i> sp.					1				9							10		10
Kyphosidae	<i>Kyphosus sectatrix</i>		1												1				1
Labridae	<i>Doratonotus megalepis</i>					1	1								2				2
	<i>Halichoeres brasiliensis</i>	1													0	1			1
	<i>Halichoeres poeyi</i>			1	2							2			1	3		1	5
	<i>Halichoeres</i> sp.				1							7		4	10		2		12
	Labridae spp.				2	2				1				6	7		4		11

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Labrisomidae	<i>Gobioclinus kalisherae</i>			1	3					1					5				5
	<i>Labrisomus nuchipinnis</i>	3		1	3	2						7		5	8	5	5	3	21
	<i>Malaccoctenus delalandii</i>					3				3		2			3			5	8
	<i>Malaccoctenus zaluari</i>	3			5	1	1	1							5	1	4	1	11
Lutjanidae	<i>Lutjanus alexandrei</i>					9					1				1	1	1	7	10
	<i>Lutjanus analis</i>					6			1	3		1		5	2		4	10	16
	<i>Lutjanus cyanopterus</i>							1							1				1
	<i>Lutjanus griseus</i>	2					1								0		1	2	3
	<i>Lutjanus jocu</i>				1	8		1							0	5	1	4	10
	<i>Lutjanus sp.</i>	1	18		2		1					5	4		2	5	18	6	31

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Lutjanus synagris</i>				1	2		1	3			5	1	7	10	3		7	20
	<i>Ocyurus chrysurus</i>			1	1	11			1	1			3		2	3	1	12	18
Megalopidae	<i>Megalops atlanticus</i>											1						1	1
Microdesmid ae	<i>Microdesmus bahianus</i>		1														1		1
Monacanthid ae	<i>Aluterus heudeloti</i>									3					2		1		3
	<i>Aluterus monocerus</i>					1												1	1
	<i>Aluterus schoepfi</i>					1										1			1
	<i>Aluterus scriptus</i>						2	2		1						2		3	5
	<i>Cantherhines macrocerus</i>						4	2	3						1	8			9
	<i>Cantherhines pullus</i>					3	1	3	44						4	46	1		51

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Stephanolepis hispidus</i>						1		3		8			5	3	4	4	6	17
Mugilidae	<i>Mugil brevirostris</i>								1								1		1
	<i>Mugil curema</i>	14		5	41	101	6	2				17			20	161	2	3	186
	<i>Mugil sp.</i>	29	3	13	14	64					7		6	15	74	31	38	8	151
Mullidae	<i>Mulloidichthys martinicus</i>					1			1			2		1	4	1			5
	<i>Mullus auratus</i>					1											1		1
	<i>Pseudupeneus maculatus</i>	2				9									4	3	2	2	11
Muraenidae	<i>Gymnothorax moringa</i>						1		1	2					4				4
	<i>Gymnothorax nigromarginatus</i>					1			1						2				2
	<i>Gymnothorax ocellatus</i>					2	1								3				3

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Gymnothorax</i> sp.	2			12	2							1	1	18				18
Ophichthida e	<i>Ahlia egmontis</i>						3					1	1	1	4	2			6
	<i>Myrophis</i> <i>punctatus</i>					2			1				3		6				6
	Ophichthidae spp.		1											3	4				4
Ostraciidae	<i>Acanthostracio</i> <i>n polygonius</i>			1											1				1
	<i>Acanthostracio</i> <i>n quadricornis</i>					1									1				1
	<i>Acanthostracio</i> <i>n sp.</i>	1			28	34	17		5						63	9	9	4	85
	Ostraciidae spp.									2					2				2
Paralichthyd ae	<i>Citharichthys</i> sp.											6	1	9	15		1		16
	<i>Etropus</i> <i>crossotus</i>						1			2					3				3

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Paralichthyida</i> e spp.					3					4				5	2			7
Pempherida e	<i>Pempheris</i> <i>schomburgkii</i>				1										1				1
Pimelodidae	Pimelodidae spp.									1			1		1	1			2
Polynemidae	<i>Polydactylus</i> <i>oligodon</i>		2							1								3	3
	<i>Polydactylus</i> <i>virginicus</i>	1	1	3	5	8					1	1		1	2	1	4	14	21
Pomacanthi dae	<i>Pomacanthus</i> <i>paru</i>		1				1			1		1				1	1	2	4
	<i>Pomacanthida</i> e spp.													1	1				1
Pomacentrid ae	<i>Abudefduf</i> <i>saxatilis</i>	1		8		16								4	11	3	13	2	29
	<i>Chromis</i> <i>flavicauda</i>			1						1				1		1	2		3
	<i>Stegastes</i> sp.											1			1				1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Pomatomida e	<i>Pomatomus saltatrix</i>									5					2		3		5
Pristigasterid ae	<i>Chirocentrodo n bleekermanus</i>									5	4				2	2	0	5	9
	<i>Odontognathu s mucronatus</i>								6	4					10				10
	<i>Pellona harroweri</i>								38		10	9	19	26	57	12	25	8	102
Rachycentri dae	<i>Rachycentron canadum</i>						1			1					2				2
Sciaenidae	<i>Corvula batabana</i>						8	2							8		2		10
	<i>Cynoscion</i> sp.						1	2	10						13				13
	<i>Isopisthus parvipinnis</i>						2		2				28		28		4		32
	<i>L. breviceps</i>		1							4					5				5

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Lonchurus elegans</i>					1	1	1		2					3		2		5
	<i>Macrodon ancylodon</i>										182				182				182
	<i>Menticirrhus americanus</i>					2									1	1			2
	<i>Menticirrhus</i> sp.							1							1				1
	<i>Micropogonias</i> sp.				1					1					2				2
	<i>Odontoscion dentex</i>					1									1				1
	<i>Paralonchurus brasiliensis</i>						2	1							1	1	1		3
	Sciaenidae spp.					7	2		16		3		47	1	71		5		76
	<i>Stellifer rastrifer</i>												11		11				11
	<i>Stellifer</i> sp.	5				1		2	17	6			75		102	3	1		106

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Umbrina coroides</i>								3						3				3
Scombridae	<i>Euthynnus alletteratus</i>									4								4	4
	<i>Sarda sarda</i>			4		15	2			4							19	6	25
	<i>Scomberomorus brasiliensis</i>	9	52			1											60	2	62
	<i>Scomberomorus cavalla</i>					7				1	3			1			7	5	12
	<i>Scomberomorus regalis</i>						1			4							5		5
	<i>Scomberomorus</i> sp.								1		3				3			1	4
	<i>Scombridae</i> sp.			1							4				4		1		5
Scorpaenidae	<i>Scorpaena plumieri</i>					1				1	1				1	2			3
	<i>Scorpaena</i> sp.								1						1				1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
Serranidae	<i>Epinephelus morio</i>						2								2				2
	<i>Diplectrum</i> sp.						1					1			2				2
Sparidae	<i>Archosargus probatocephalus</i>								2		2				2			2	4
	<i>Archosargus</i> sp.	1	1							1						2	1		3
	<i>Calamus</i> sp.										3							3	3
	<i>Diplodus argenteus</i>										1							1	1
	Sparidae spp.									2					2				2
Stromateidae	<i>Peprilus paru</i>				1					2						3			3
	<i>Peprilus</i> sp.	4														4			4
Syngnathidae	<i>Anarchopterus</i> sp.						1								1				1
	<i>Bryx dunkeri</i>							1							1				1

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Cosmocampus elucens</i>											1		4	4		1		5
	<i>Hippocampus erectus</i>	2								1					3				3
	<i>Hippocampus reidi</i>			1	6						1				4	2		2	8
	Syngnathidae spp.									1							1		1
Synodontidae	<i>Saurida caribbaea</i>	2								1								3	3
	<i>Synodus foetens</i>	10			2	9						1					15	7	22
	<i>Synodus intermedius</i>	1							1									2	2
	<i>Synodus</i> sp.			1								3			1	1	2		4
Tetraodontidae	<i>Lagocephalus laevigatus</i>								1					2	3				3

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	<i>Lagocephalus lagocephalus</i>			1														1	1
	<i>Sphoeroides</i> sp.					12			2					14	24	3	1		28
	<i>Sphoeroides spengleri</i>			2			1			7					10				10
Trichiuridae	<i>Trichiurus lepturus</i>										1				1				1
Triglidae	<i>Prionotus punctatus</i>	21	8			11	1			33	1	2	153	14	198	10	2	1	211
	<i>Prionotus roseus</i>	9													9				9
	Triglidae spp.						1										1		1
Tripterygiidae	<i>Enneanectes altivelis</i>					1									1				1
Uranoscopidae	<i>Astroscopus ygraecum</i>										3				3				3
	Total	6195	980	408	3678	147 17	787	198	828	210	1063	491	791	413	236 7	219 3	185 28	766 9	307 57

Família	Espécie	Campanha													Localidade				
		dez/ 18	mai/ 19	dez/ 19	dez/ 20	fev/2 1	abr/ 21	jul/2 1	dez/ 21	mar/ 22	mai/ 22	jan/ 23	jul/2 3	dez/ 23	I	C1	C2	C3	Tota I
	Riqueza	40	22	24	39	66	48	27	41	60	41	40	29	44	153	78	88	71	196

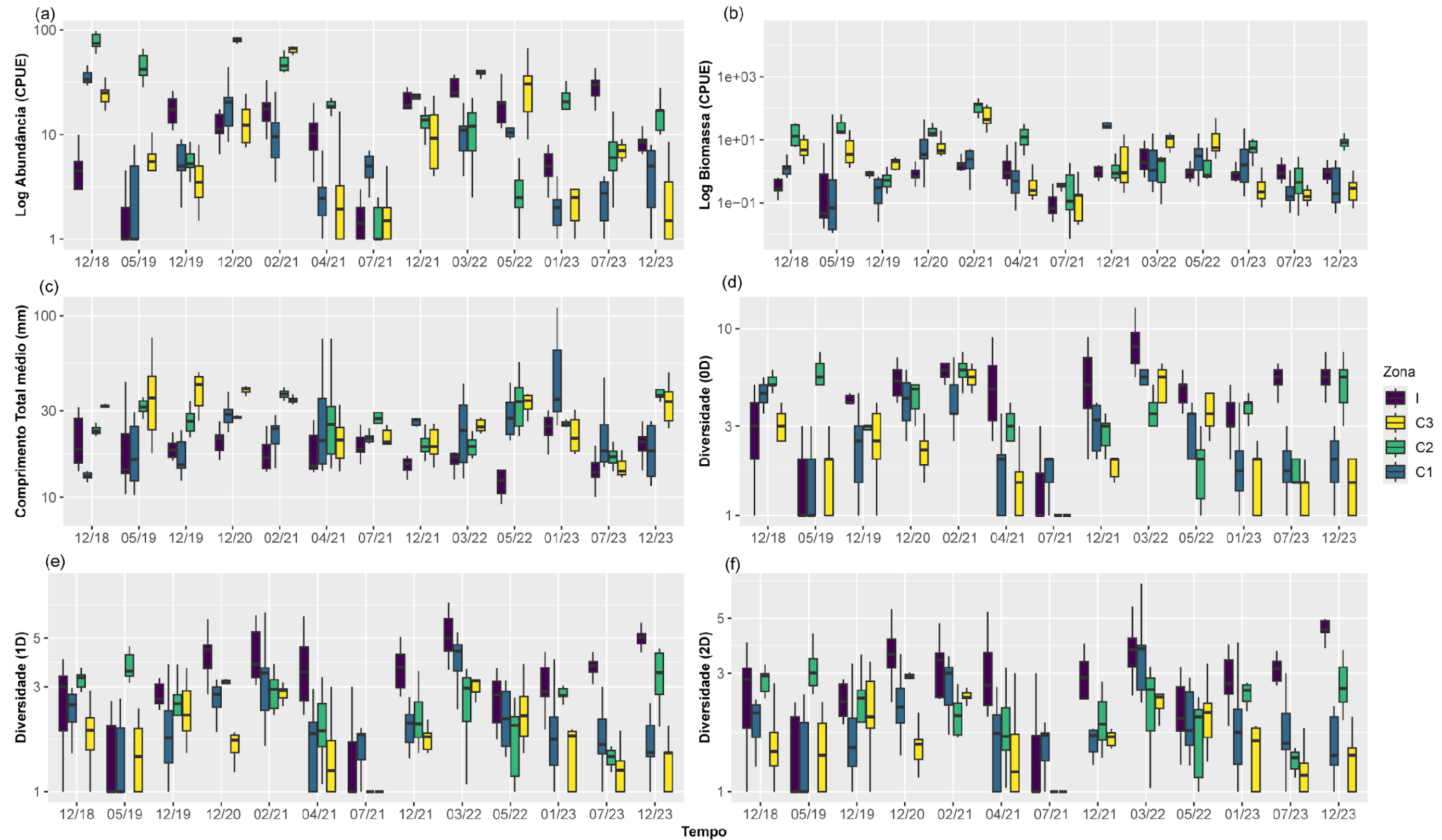
Durante os anos de monitoramento nos ambientes estuarinos foram realizadas 13 campanhas, as quais somaram 30.757 indivíduos (classe Actinopterygii), distribuídas em 196 espécies (*taxa*) pertencentes a 62 famílias, sendo as famílias Engraulidae, Clupeidae e Gerreidae as mais abundantes. A área controle 2 segue sendo a localidade com a maior abundância de pós-larvas (18.528), enquanto a área controle 1 contém o menor número de indivíduos registrados (2.193). Temporalmente, a maior abundância ocorreu na amostragem de fevereiro/2021, onde foram coletadas 14.717 indivíduos e a menor na amostragem de julho/2021, com 198 pós-larvas. Entretanto, o maior valor de riqueza absoluta de espécies (153) foi registrado na localidade Impacto, seguido da área controle 2 (88), área controle 1 (78) e área controle 3 (71). Apesar dos altos valores de turbidez atuando como um fator limitante para o desenvolvimento dos primeiros estágios de vida dos peixes marinhos, aproximadamente 78,1% das espécies identificadas no monitoramento foram registradas na zona de impacto (Rio Doce). A região funciona como um ecótono, havendo contribuições de diferentes tipos de peixes associados a distintos regimes de salinidades (fauna estuarina e marinha) e habitats (lamoso, arenoso e recifal), promovendo uma maior diversidade de espécies de pós-larvas (RRDM - RT39, 2023)

Tabela 17: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Resultado da análise de variância por permutação entre as zonas marinhas (Impacto= Rio Doce, Controle 1= rio Piraquê-Açú, Controle 2= rio São Mateus e Controle 3= rio Mucuri) e períodos de amostragem (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/2023 e dezembro/2023), 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; Valores significativos (P < 0,05) em negrito.

Fatores	GL	Composição			Abundância			Biomassa			Comprimento			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
Tempo (Te)	12	5.30E+05	35.6	0.001	56424	37.106	0.001	77717	26.267	0.001	2186	11.087	0.001	81990	25.38	0.001	35611	15.46	0.001	20991	10.397	0.001
Zona (Zo)	3	92288	26.037	0.001	10021	19.685	0.145	34363	4.406	0.011	2181.5	8.588	0.002	33214	56.002	0.004	26693	89.982	0.001	19363	82.858	0.001
I vs C	1	39633	29.926	0.008	57.009	2.99E-02	0.915	14865	75.528	0.015	1703.3	40.048	0.001	18091	80.246	0.010	17884	15.261	0.001	13092	14.285	0.002
Te x Zo	36	4.36E+05	97.494	0.001	64946	14.237	0.001	99366	11.195	0.001	3215.7	54.365	0.001	75362	7.776	0.001	37554	54.344	0.001	29543	48.777	0.001
Te x IvsC	12	1.65E+05	86.627	0.001	24745	10.589	0.001	25349	56.094	0.001	534.44	21.796	0.012	29131	70.196	0.001	15089	54.912	0.001	11782	50.123	0.001
Resíduos	834	1.03E+06			90604			1.76E+05			11748			1.92E+05			1.37E+05			1.20E+05		
Total	885	2.12E+06			2.23E+05			4.04E+05			19953			3.91E+05			2.45E+05			1.96E+05		

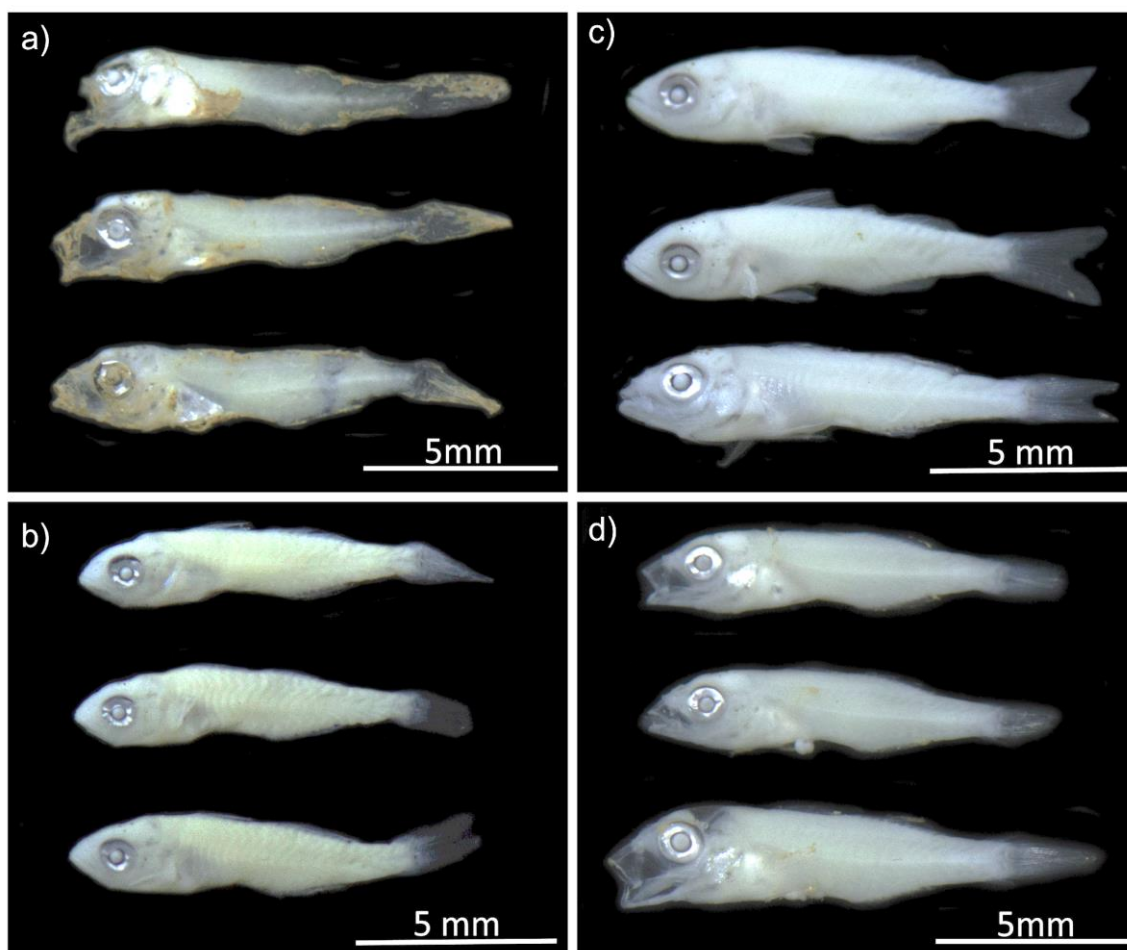
Por meio das análises de variância dos índices ecológicos foi possível identificar uma resposta significativa do impacto [I vs C] do rompimento da Barragem de Fundão sobre a composição de espécies, biomassa e na diversidade de espécies, raras, comuns e dominantes na área marinha do Rio Doce, enquanto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

Figura 18: 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 – Valores de diversidade verdadeira; (f) 2D– Maior peso para espécies dominantes. de pós-larvas de peixes nas zonas marinhas (I= Rio Doce, C1= Piraquê-Açú, C2= São Mateus e C3= rio Mucuri) e períodos (Tempo) de amostragem (dezembro/2018, maio/2019, dezembro/2019, dezembro/2020, fevereiro/2021, abril/2021, julho/2021, dezembro/2021, março/2022, maio/2022, janeiro/2023, julho/23 e dezembro/2023). CPUE= Captura por unidade de esforço.



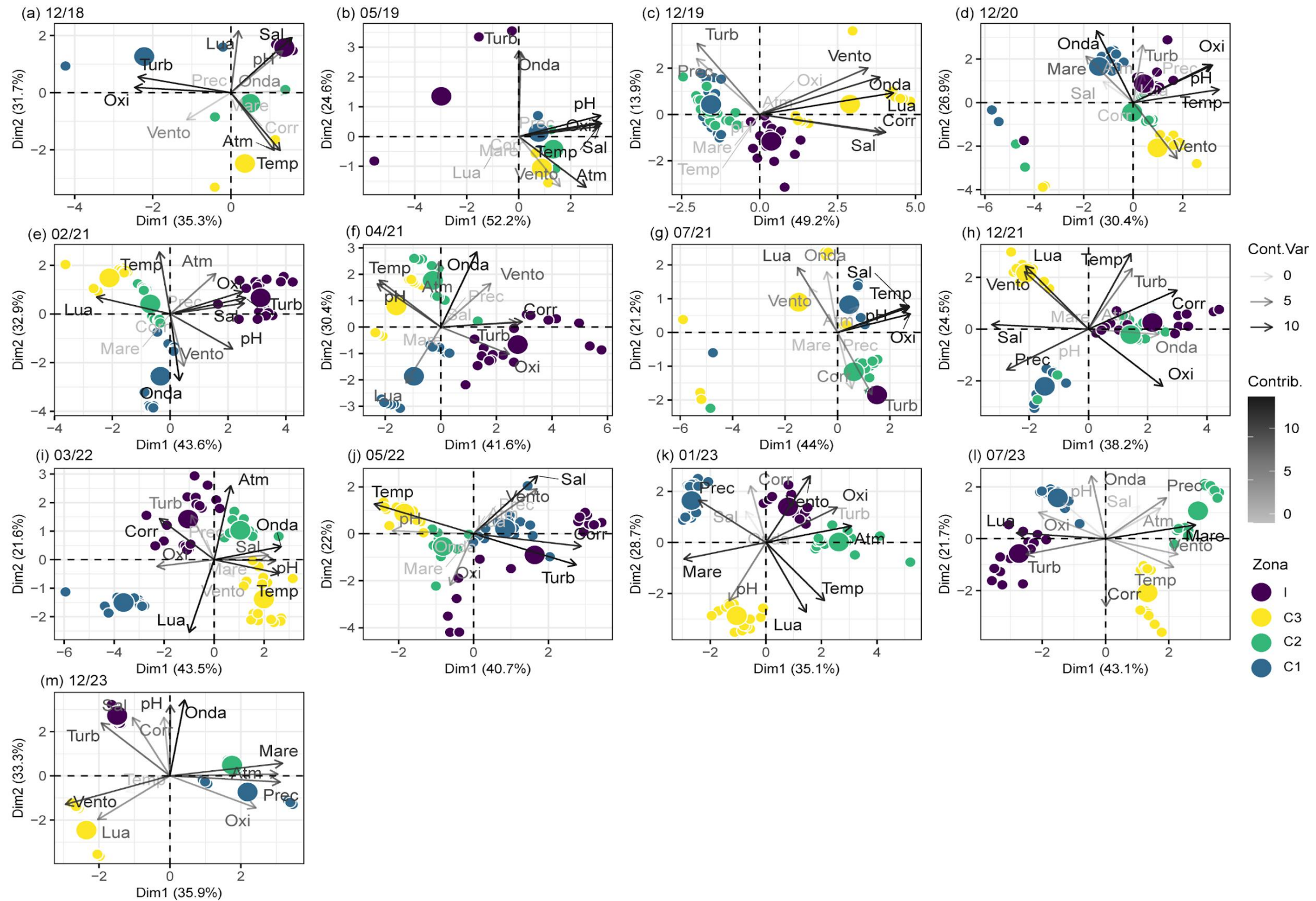
Em Dezembro de 2023 observou-se maiores valores de abundância na zona marinha do São Mateus (Controle C2) e dos índices de diversidade verdadeira (0D, 1D e 2D) na zona de impacto. Nesse contexto, o aumento dos índices de diversidade alfa na área de impacto aponta uma tendência de recuperação das assembleias de pós-larvas nas áreas amostradas, que se iniciou nos anos 3 e 4 e que se manteve nas campanhas recentes. O maior número de espécies e indivíduos nas zonas amostradas ocorreram, em média, durante os verões. Contudo a abundância não apresentou diferenças significativas entre as zonas. Ainda é observada a tendência de larvas de menores tamanhos na zona de impacto quando comparado aos controles (I vs C), como já citado nos relatórios anteriores, principalmente durante os meses de maior recrutamento (12/18, 12/19, 12/20, 02/21), onde em média a biomassa e os comprimentos totais médios foram significativamente menores na zona de impacto. 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). Apesar de uma tendência de recuperação da diversidade de pós-larvas ao longo dos anos 3, 4 e 5 na zona de impacto, , nota-se, até o momento, um efeito temporal significativo em todos os descritores, especialmente quando analisados pelo contraste (I vs C x Te) e pela interação (Zo x Te), o que demonstra a importância do contínuo monitoramento desses indicadores.

Figura 19: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Pós-larvas de Gerreidae (*Eucinostomus* sp.) capturadas na Zona impacto (a), e nas áreas controles: rio Piraquê-Açu (b), rio São Mateus (c) e rio Mucuri (d).



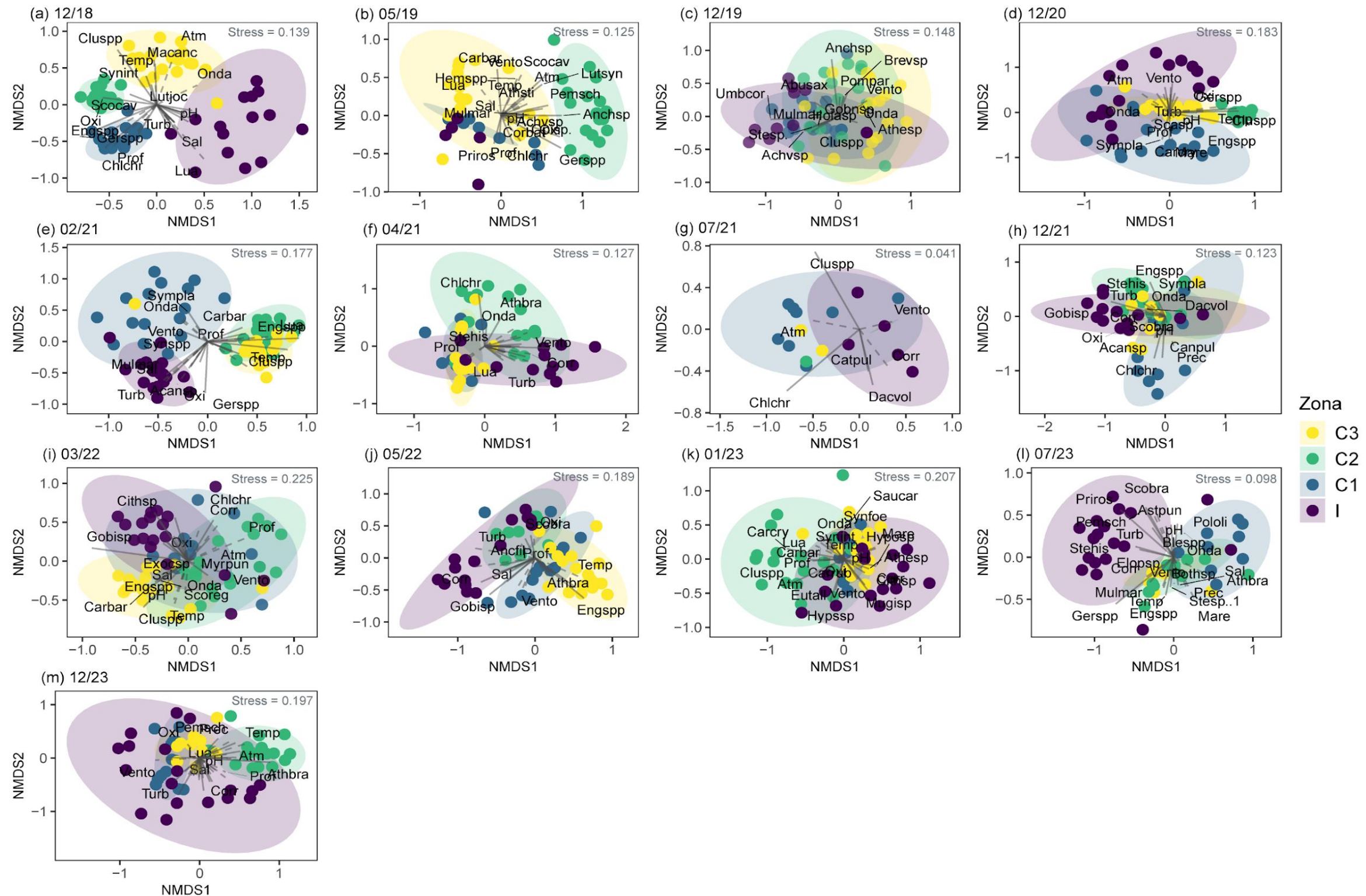
Ainda é recorrente a presença de lama aderida na superfície corpórea de alguns exemplares que, somado aos outros indicadores testados, evidenciam seus efeitos sobre a assembleia de pós-larvas de peixes coletados na área marinha do Rio Doce e adjacências. Neste relatório apresentamos registros de pós-larvas da família Gerreidae, evidenciando a persistência do efeito da lama de rejeito ao longo do desenvolvimento larval. Contaminantes tóxicos, como os níveis elevados de metais, representam um potencial estressor das assembleias de larvas de peixes, como já registrado para a região marinha do estuário do Rio Doce e Costa das Algas (BONECKER et al., 2022). Nesses locais, larvas de Sciaenidae, Tetraodontidae, Monacanthidae, Carangidae, Pomacentridae e Serranidae foram coletadas com deformidades e trato digestório destruído (RT-19H RRDM, 2019). Níveis elevados de metais na área marinha do Rio Doce também induziram respostas negativas na comunidade zooplânctônica, com perda de diversidade e aumento na abundância de espécies oportunistas (RRDM – RT39, 2022). Em relatórios anteriores foram apresentadas pós-larvas das famílias Monacanthidae (i.e., *Catherhines pullus*) e Gerreidae, assim como ovos não identificados, com lama aderida à superfície, corroborando os efeitos encontrados para o Ictioplâncton, evidenciando a persistência do efeito da lama de rejeito ao longo do desenvolvimento larval (RRDM – RT43, 2023).

Figura 20: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Ordenação de componentes principais (PCA) das variáveis ambientais amostradas nas regiões marinhas da zona Impacto (Rio Doce), Controle 1 (rio Piraquê-Açú), Controle 2 (rio São Mateus) e Controle 3 (rio Mucuri) ao longo do período de amostragem - dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), fevereiro/2021 (e), abril/2021 (f), julho 2021 (g), dezembro/2021 (h), março/2022 (i), maio/2022 (j), janeiro/2023 (k), julho/23 (l) e dezembro/2023 (m), indicando a contribuição de cada variável (Cont.Var) para a ordenação das amostras. Códigos: Temperatura superficial da água (sst), Clorofila (clo), claridade da água (KD490), Salinidade (sal), Oxigênio dissolvido (oxi), Turbidez (turb), Intensidade corrente (corr), Altura de onda (onda), Iluminação da lua (lua), Pressão atmosférica (atm) e Intensidade vento (vento).



A turbidez que demonstrava grande contribuição para a caracterização da zona de impacto nos primeiros anos, e que apresentou uma baixa contribuição para as diferenças ambientais nos anos mais recentes (principalmente o Ano 4 e início do ano 5), voltou a ser representativa para a separação dos ambientes, como visto na análise de componentes principais (PCA, sendo associada principalmente as áreas marinhas do Rio Doce (Zona de impacto) e do Rio Piraquê-Açu (Controle 1)). Em geral, zonas controles, as variáveis mais representativas foram temperatura superficial da água, salinidade, oxigênio, corrente, maré e precipitação. Os altos valores de turbidez registrados nas zonas de impacto e Controle 1 são ocasionados principalmente pelas partículas em suspensão na água em consequência de um contínuo aporte de lama de rejeito ao sistema costeiro que, influenciados pelas correntes, contribuem com o deslocamento da pluma sedimento. A turbidez é relevante para o monitoramento ambiental, já que faz o papel de indicador de poluição, pois o aporte fluvial e a variação da maré podem contribuir com o deslocamento de sedimentos para todas as direções.

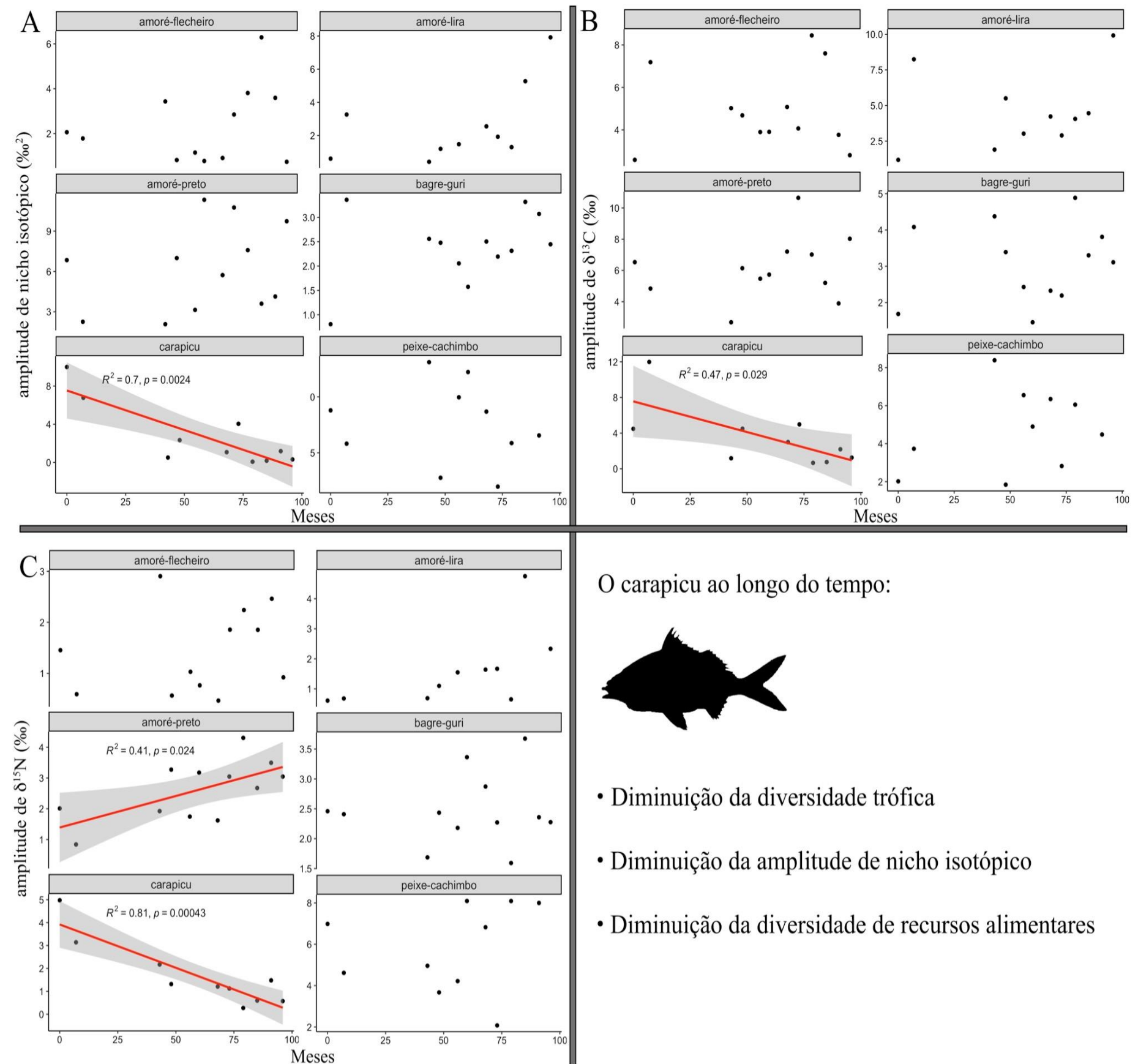
Figura 21: Composição de espécies de pós-larvas de peixes estuarinos. Ordenação de escalonamento multidimensional não-métrico (NMDS) da composição e abundância de espécies de pós-larvas de peixes baseado na matriz de similaridade de Bray-Curtis, com as correlações (r^2) significativas (envfit, $p < 0,01$) das variáveis ambientais (linha pontilhada) e espécies (linha sólida) com os eixos da ordenação para dezembro/2018 (a), maio/2019 (b), dezembro/2019 (c), dezembro/2020 (d), fevereiro/2021 (e), abril/2021 (f), julho/2021 (g), dezembro 2021 (h), março 2022 (i), maio 2022 (j), janeiro 2023 (k), julho 2023 (l), dezembro 2023 (m). 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*, carbat = *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*.



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

3.3 PADRÕES TEMPORAIS DA DIVERSIDADE TRÓFICA/ISOTÓPICA

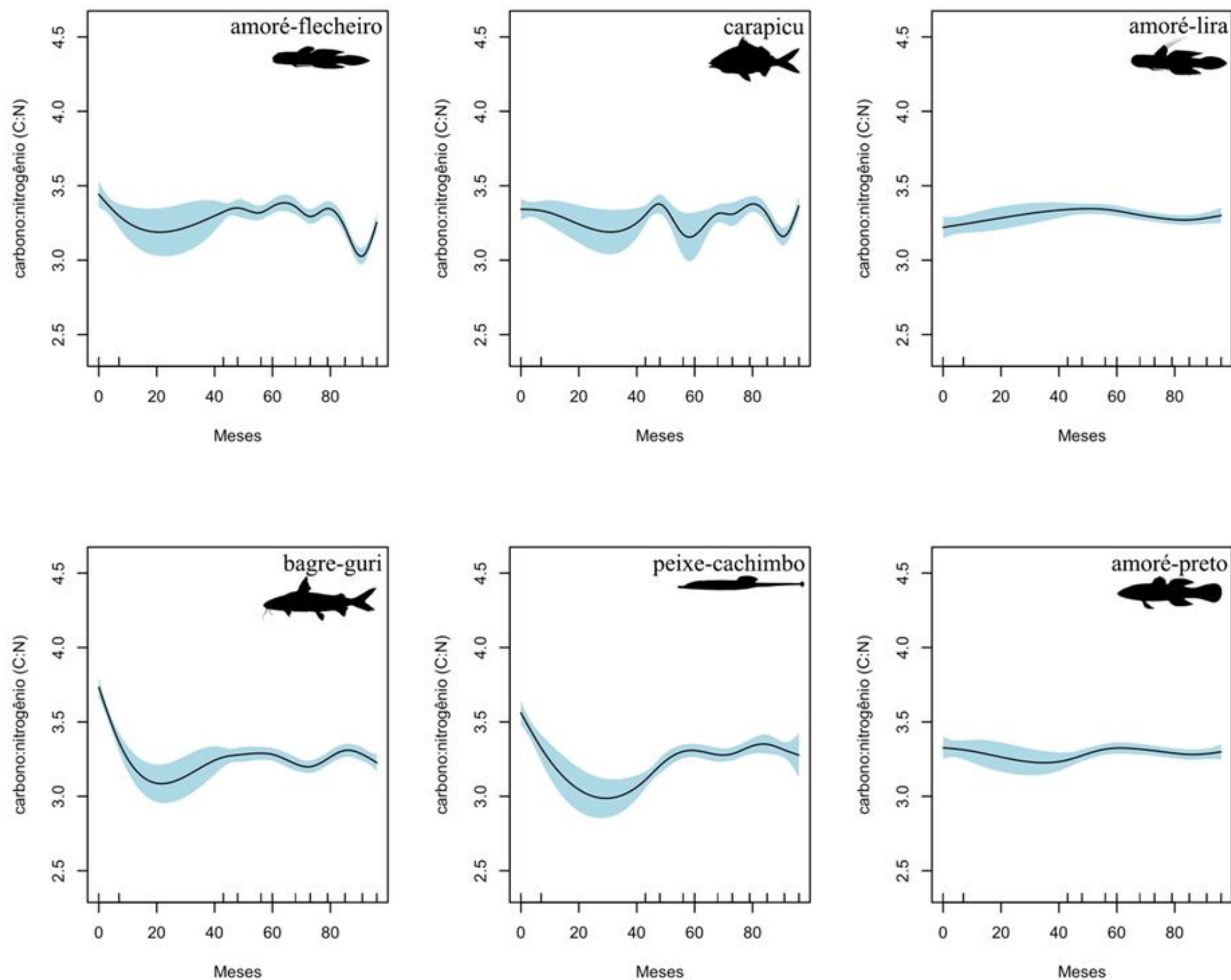
Figura 22: Padrões temporais da diversidade trófica/isotópica. Variação da (A) amplitude do nicho isotópico (área da elipse corrigida), (B) amplitude de $\delta^{13}\text{C}$ e (C) amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ de cinco espécies de peixes estuarinos do Rio Doce ao longo do período de monitoramento (meses). O mês "0" corresponde às coletas realizadas no intervalo de 1–2 dias antes da chegada da lama de rejeitos no estuário do Rio Doce (novembro de 2015). Correlações significativas estão com linha de tendência vermelha e respectivos valores de R^2 e p .



Entre as seis espécies estuarinas monitoradas, o carapicu (*Eucinostomus argenteus*) apresentou tendência significativa de diminuição do nicho isotópico, amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ e amplitude de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo do período de monitoramento. O amoré-preto apresentou uma tendência de aumento da amplitude de $\delta^{15}\text{N}$. 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, conseqüentemente, pela contaminação de metais em escalas aguda e crônica (GOMES et al., 2017; COPPO et al., 2023). Por exemplo, vários táxons de poliquetas que habitavam o estuário do Rio Doce no período pré-impacto, não foram registrados após a chegada da lama de rejeitos (GOMES et al., 2017). Portanto, a diminuição da amplitude do nicho e da diversidade isotópica dos recursos consumidos pelo carapicu pode estar relacionada à escassez dos recursos-alvo da espécie no estuário do Rio.

3.4 PADRÕES TEMPORAIS DA CONCENTRAÇÃO DE LIPÍDEOS

Figura 23: 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 da lama de rejeitos no estuário do Rio Doce (novembro de 2015).

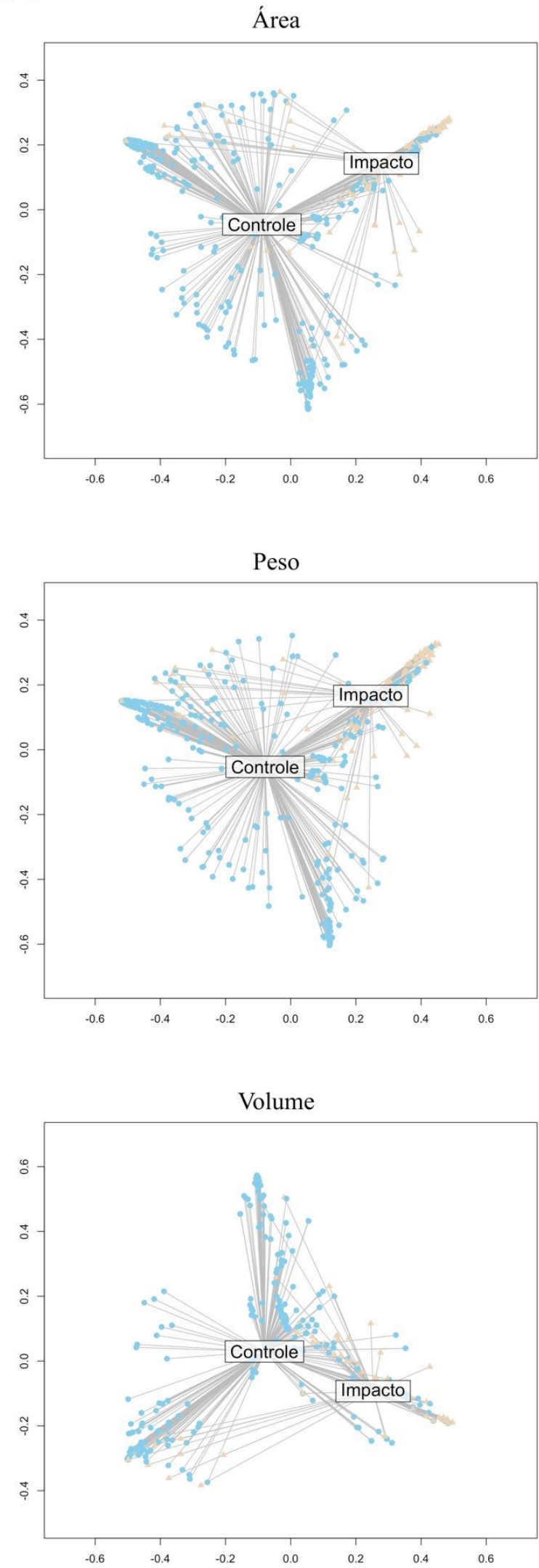


A razão C:N é um parâmetro bioquímico que serve como indicador da concentração de lipídeos em tecidos de peixes e outros animais. O modelo mais parcimonioso explicou 56,5 % da desviância (*deviance*, em inglês) com um R^2 ajustado de 0,53. Dessa forma, o modelo indicou uma diminuição das concentrações de lipídeos em função do tempo (i.e., amostragens) extremamente significativa ($p < 0,001$) para o amoré-flecheiro, carapicu, bagre-guri e o peixe-cachimbo e significativa ($p < 0,05$) para o amoré-lira. Tal diminuição pode estar associada a um efeito crônico do rompimento da Barragem de Fundão na estocagem de energia (lipídeos) por essas espécies de peixes. Isso pode ocorrer em função de menor disponibilidade de presas “ótimas” no estuário do Rio Doce ao longo do tempo. Adicionalmente, a estação do ano teve efeito sobre as concentrações de lipídeos ao longo do tempo de maneira significativa para o amoré-preto, muito significativa para o amoré-flecheiro ($p < 0,001$) e extremamente significativa para o bagre-guri ($p < 0,001$).

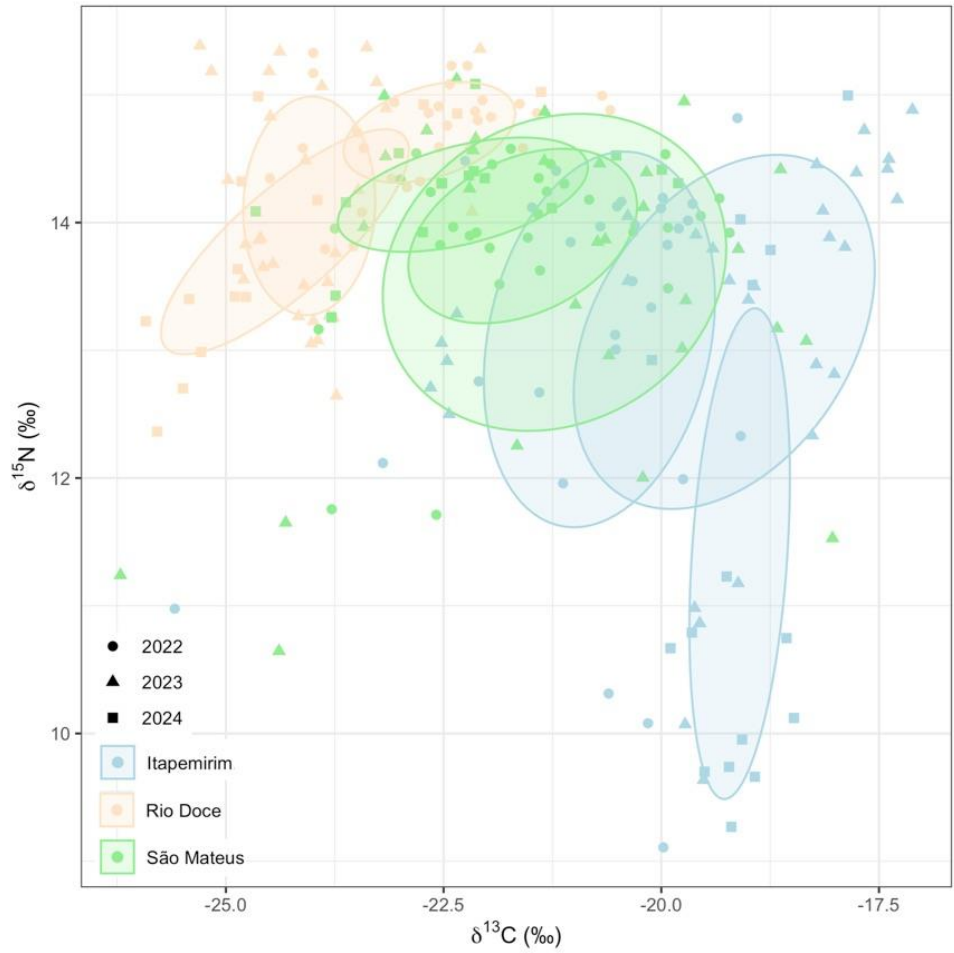
3.5 PADRÕES ESPACIAIS DA ECOLOGIA TRÓFICA E CONDIÇÃO CORPORAL

Figura 24: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. A) Amplitude do nicho alimentar baseado na área ocupada, peso e volume das presas consumidas pelo bagre-guri no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022, 2023 e 2024. Número de estômagos analisados: 62 em 2022, 65 em 2023 e 36 em 2024 no rio Itapemirim; 12 em 2022, 62 em 2023 e 26 em 2024 no Rio Doce; e 86 em 2022, 32 em 2023 e 33 em 2024 no São Mateus. (B) Amplitude do nicho isotópico baseado na área da elipse corrigida (%²). (C) Breve sumário dos achados deste relatório para a espécie sentinela bagre-guri (*Genidens genidens*), baseados nos indicadores dieta (1 e 2), diversidade trófica/isotópica (3) e índice de repleção (4).

(A) Nicho alimentar



(B) Nicho isotópico



(C) Panorama geral



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

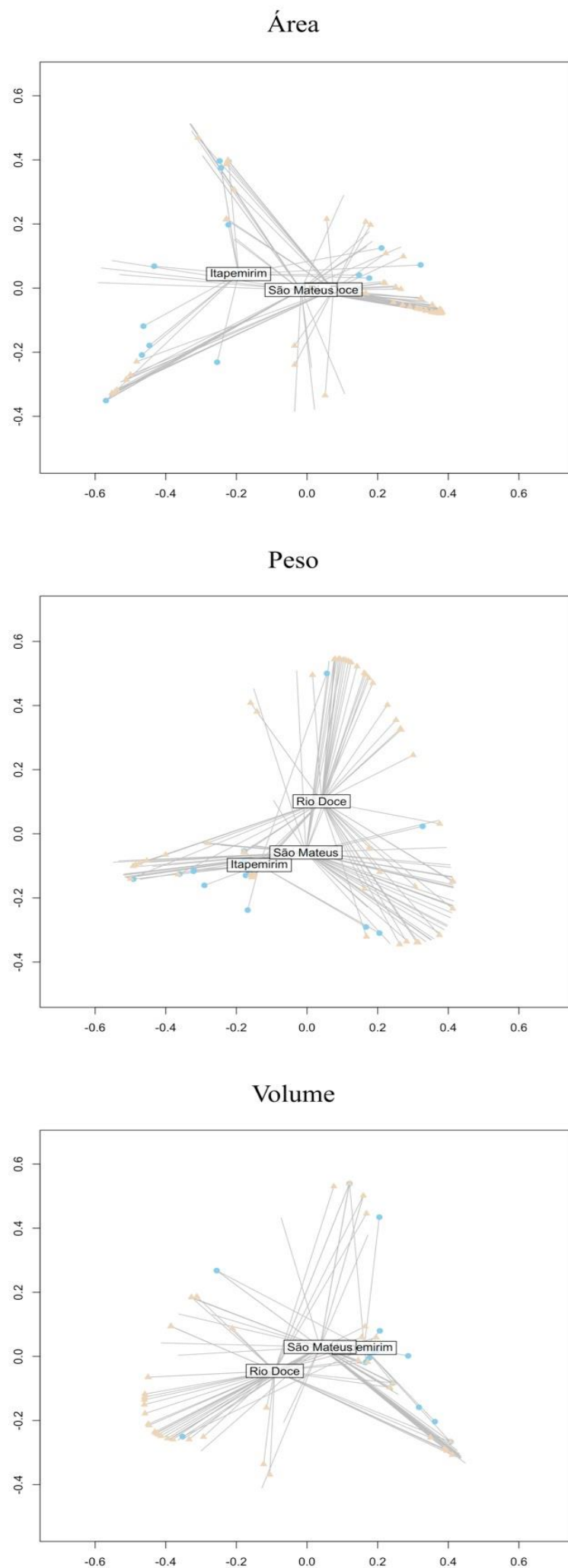
- Dieta pobre em recursos¹
- Menor amplitude do nicho alimentar²
- Menor amplitude do nicho isotópico³
- Menor atividade alimentar⁴

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

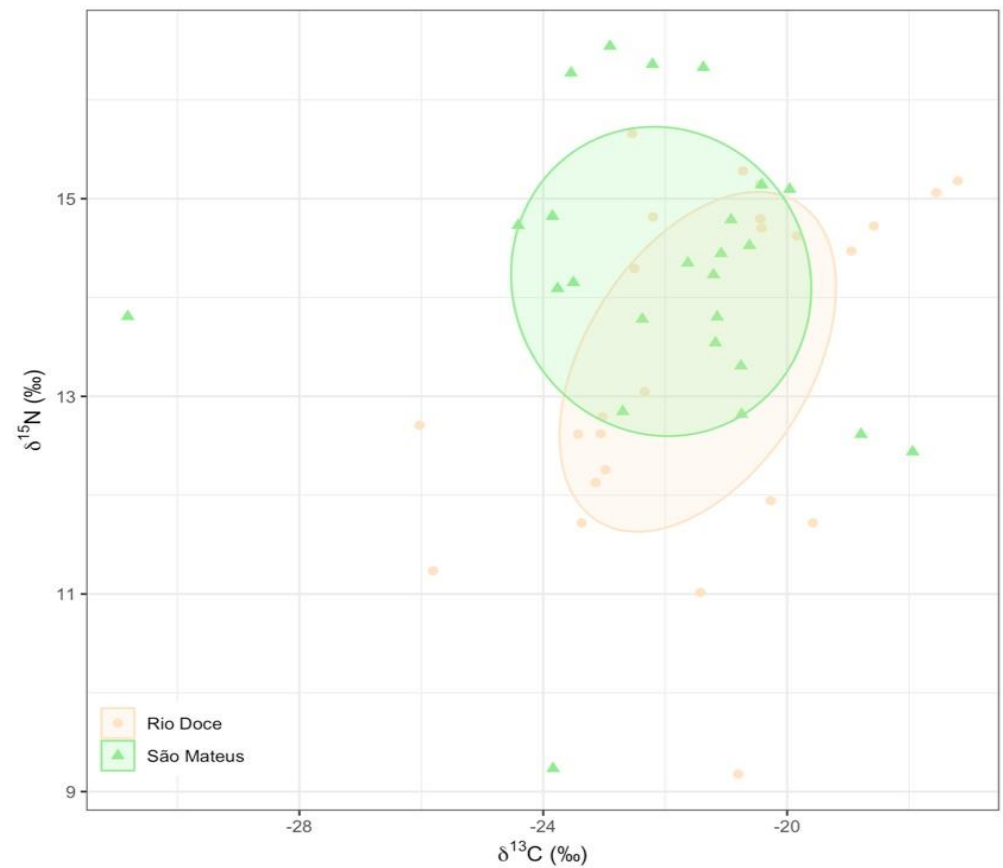
Após a inclusão dos dados de 2024, a composição da dieta do bagre-guri variou de forma consistente com os resultados descritos no relatório anterior. Houve uma variação significativa entre o local impactado e os controles, seja considerando a área (PERMANOVA: $F = 3,314$; $P(\text{MC}) = 0,056$), o peso (PERMANOVA: $F = 3,595$; $P(\text{MC}) = 0,026$) ou o volume (PERMANOVA: $F = 3,434$; $P(\text{MC}) = 0,033$) das presas. Além disso, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) no local impactado foi significativamente menor do que nos controles, com base nas três métricas analisadas: área (PERDISP: $F = 47,186$; $P = 0,0002$), peso (PERDISP: $F = 30,041$; $P = 0,0002$) e volume (PERDISP: $F = 113,440$; $P = 0,0002$). Similarmente, a amplitude do nicho isotópico no Rio Doce foi menor do que nos controles em todos os anos analisados (2022, 2023 e 2024), exceto entre São Mateus e Rio Doce em 2024. A amplitude do nicho isotópico (‰^2 , área da elipse corrigida) do bagre-guri para o Rio Doce, Itapemirim e São Mateus, respectivamente, foram 1,15, 6,07 e 2,68 em 2022, 2,06, 7,15, 7,71 em 2023 e 2,45, 3,49 e 1,87 em 2024. Os resultados apresentados 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 pelos rejeitos de mineração.

Figura 25: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. A) Amplitude do nicho alimentar baseado na área ocupada, peso e volume das presas consumidas pelo robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2024. Número de estômagos analisados: 15 no rio Itapemirim; 51 no Rio Doce; e 65 no São Mateus. (B) Amplitude do nicho isotópico baseado na área da elipse corrigida (%²). (C) Breve sumário dos achados deste relatório para a espécie sentinela robalo-peva (*Centropomus parallelus*), baseados nos indicadores dieta (1 e 2), diversidade trófica/isotópica (3) e índice de repleção (4).

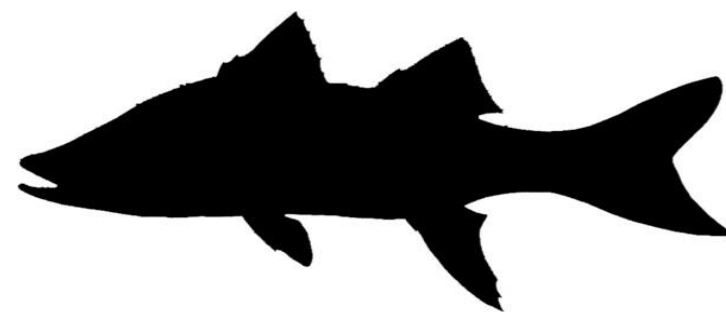
(A) Nicho alimentar



(B) Nicho isotópico



(C) Panorama geral



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

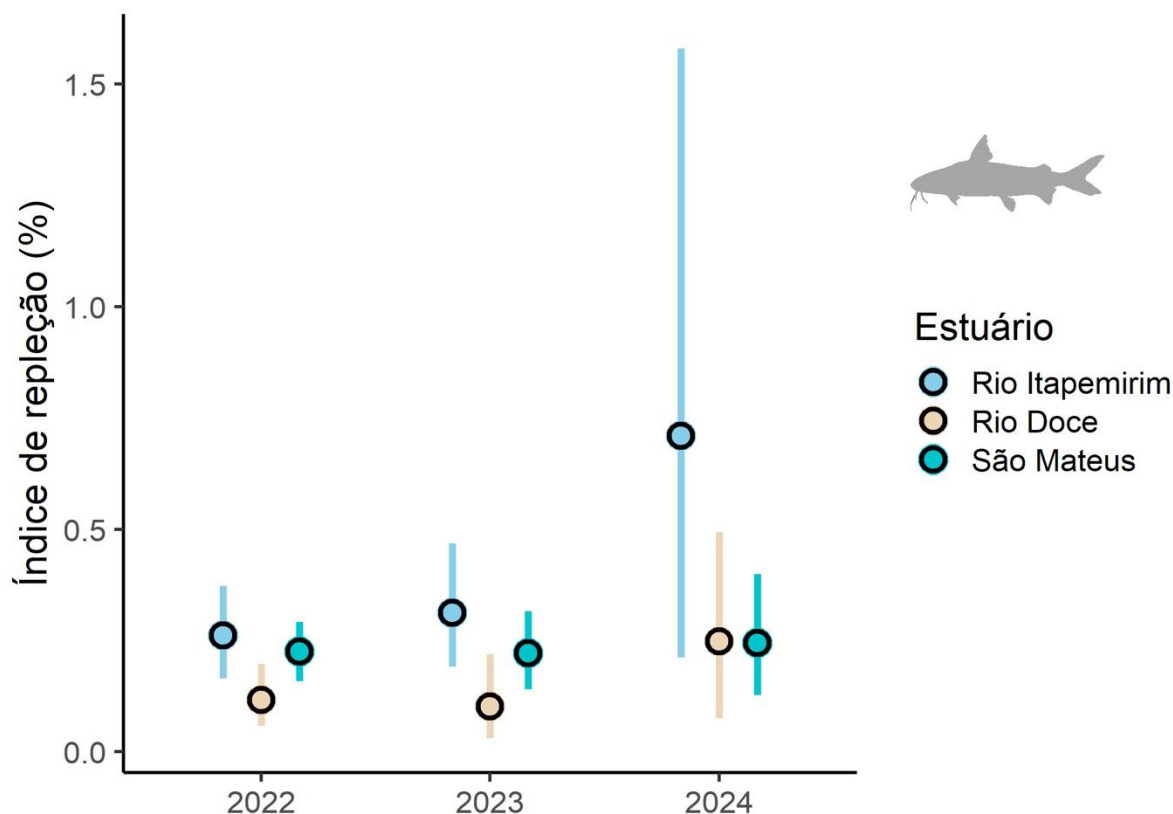
- Dieta similar em recursos consumidos¹
- Amplitude do nicho alimentar similar²
- Menor amplitude do nicho isotópico³
- Atividade alimentar similar⁴

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

Em contraste aos resultados observados para o bagre-guri, não foram identificadas diferenças significativas na dieta do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) entre o Rio Doce e os controles, tanto para a área (PERMANOVA: $F = 0,543$; $P(\text{MC}) = 0,768$) quanto para o peso (PERMANOVA: $F = 0,621$; $P(\text{MC}) = 0,758$) e o volume (PERMANOVA: $F = 0,972$; $P(\text{MC}) = 0,536$) das presas. Por outro lado, a dieta foi significativamente diferente entre os controles, considerando os três parâmetros analisados ($P < 0,001$ em todas as comparações), o que deve ter contribuído para a falta de significância estatística nas comparações entre o local impactado e os demais estuários.

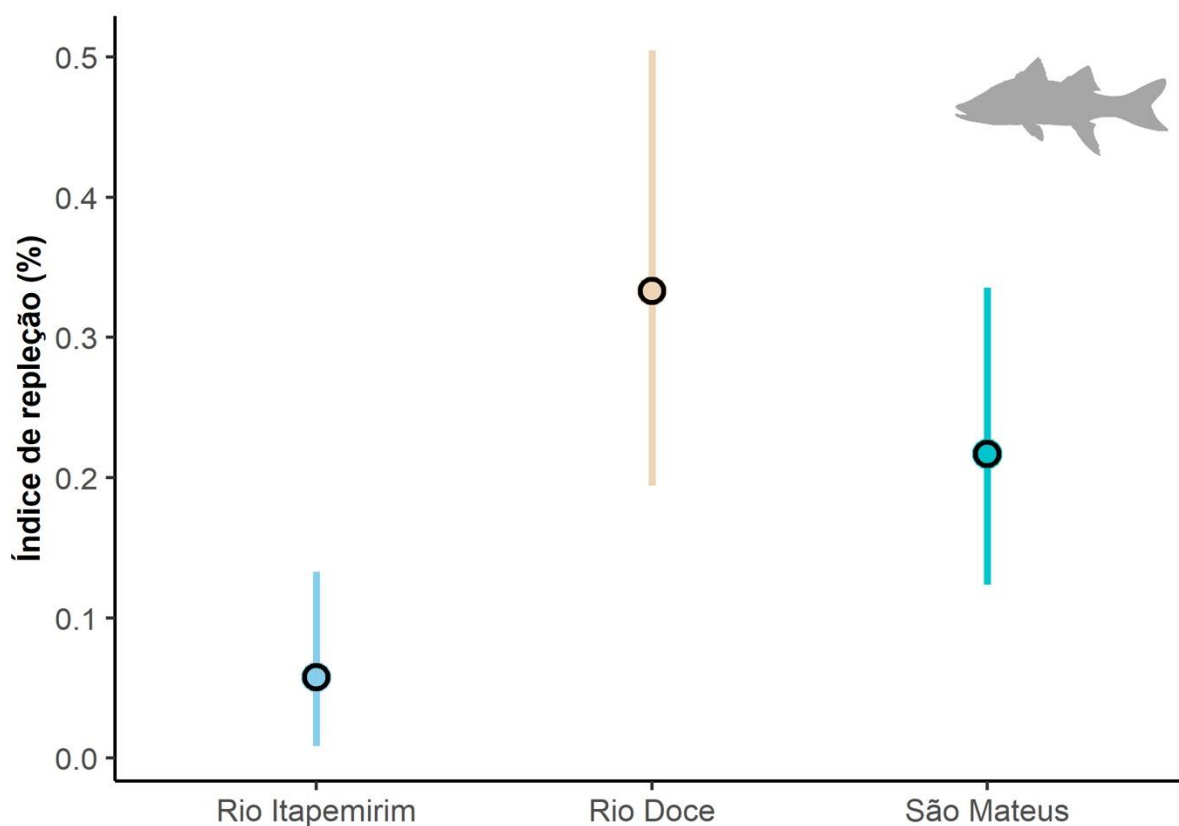
Adicionalmente, a amplitude do nicho alimentar (i.e., distância média do centróide) do robalo-peva também não diferiu entre o local impactado e os controles, com base na área (PERDISP: $F = 2,326$; $P = 0,242$), no peso (PERDISP: $F = 1,539$; $P = 0,292$) ou no volume (PERDISP: $F = 3,395$; $P = 0,102$) das presas. A partir dos resultados encontrados, foi rejeitada a hipótese que a dieta do robalo-peva no Rio Doce é diferente daquela observada em estuários não impactados pelo rompimento da Barragem de Fundão. No entanto, a amplitude do nicho isotópico ($\% \text{‰}^2$, área da elipse corrigida) do robalo-peva é menor no estuário do Rio Doce (11,25) quando comparado ao estuário do São Mateus (12,36), 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.

Figura 26: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do bagre-guri (*Genidens genidens*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022, 2023 e 2024. Número de indivíduos analisados: 85 em 2022, 125 em 2023 e 44 em 2024 no rio Itapemirim; 58 em 2022, 95 em 2023 e 31 em 2024 no Rio Doce; e 120 em 2022, 85 em 2023 e 38 em 2024 no São Mateus.



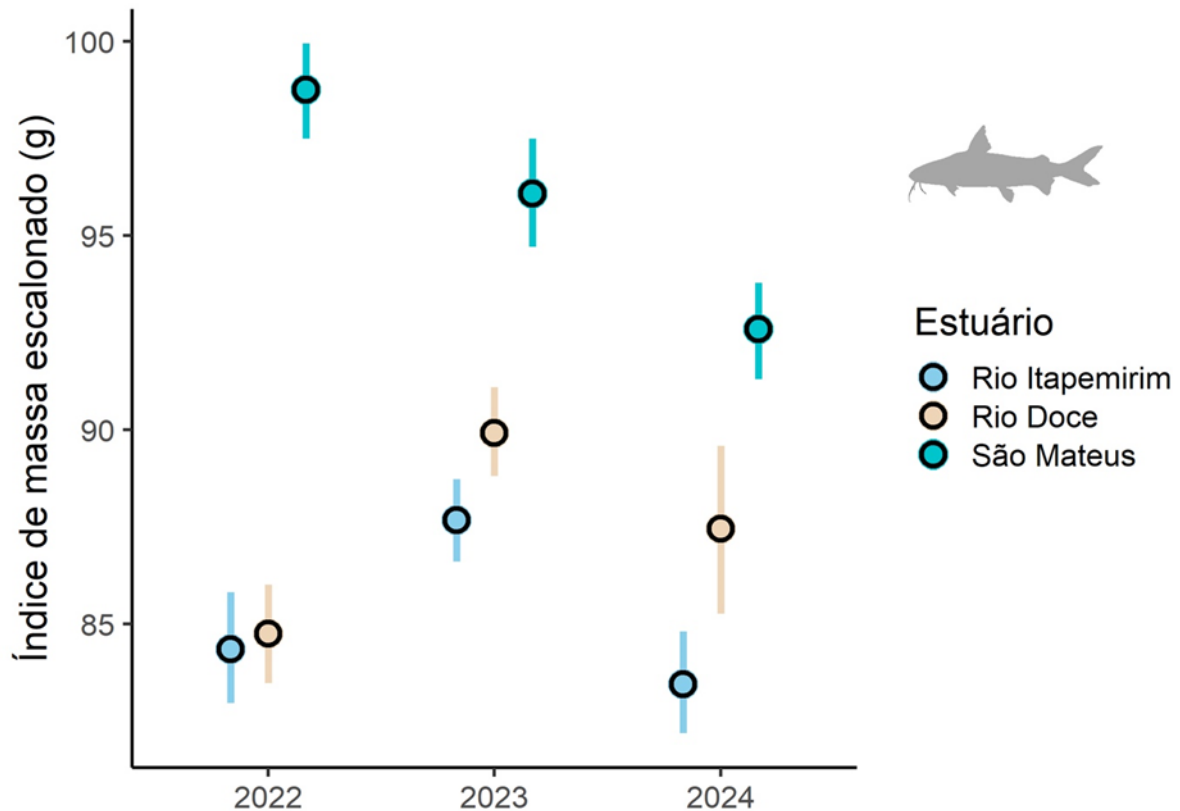
O Índice de repleção mede a quantidade de alimento no estômago de cada indivíduo, ponderada pela sua respectiva massa, e foi utilizado para investigar o potencial efeito da poluição por rejeitos de mineração na atividade alimentar do bagre-guri. O valor médio do índice no Rio Doce foi significativamente menor do que nos controles (PERMANOVA: $F = 15,612$; $P(\text{MC}) = 0,040$) ao longo do período estudado (PERMANOVA, interação Ano x Local: $F = 0,114$; $P(\text{MC}) = 0,893$), sugerindo que a intensidade alimentar do bagre-guri (*Genidens genidens*) no estuário pode ter sido afetada pelo aporte de rejeitos. Por outro lado, não houve diferença significativa entre os controles (PERMANOVA: $F = 0,804$; $P(\text{MC}) = 0,360$) nem entre os anos (PERMANOVA: $F = 1,118$; $P(\text{MC}) = 0,294$). 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.

Figura 27: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) do Índice de repleção do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2024. Número de indivíduos analisados: 40 no rio Itapemirim; 128 no Rio Doce; e 137 no São Mateus.



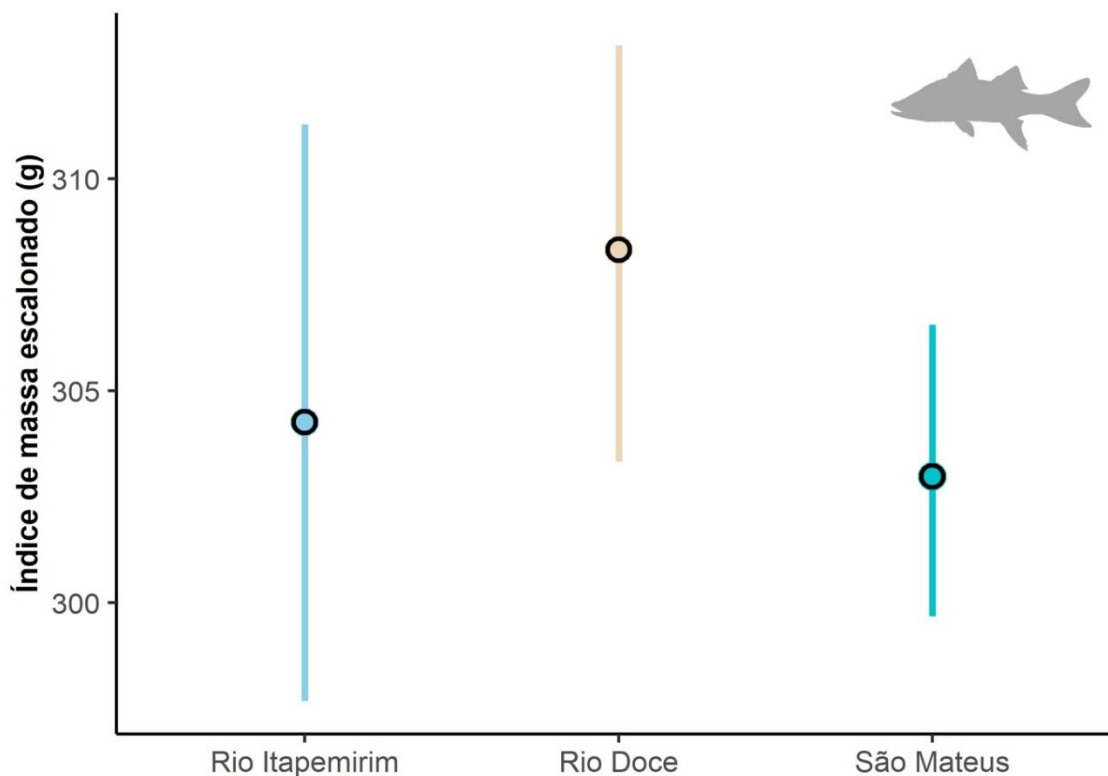
A intensidade alimentar do robalo-peva (*Centropomus parallelus*), mensurada por meio do índice de repleção, foi similar entre o Rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA: $F = 1,188$; $P(\text{MC}) = 0,511$). Além disso, não houve diferença no índice de repleção entre os controles (PERMANOVA: $F = 2,302$; $P(\text{MC}) = 0,127$). Esses resultados indicam que, apesar da perda de potenciais presas em consequência do derramamento de rejeitos no Rio Doce, o robalo-peva mantém um padrão de alimentação estatisticamente equivalente aos observados em estuários não impactados.

Figura 28: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do bagre-guri (*Genidens genidens*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) em 2022 e 2023. Número de indivíduos analisados: 84 em 2022, 195 em 2023 e 118 em 2024 no rio Itapemirim; 90 em 2022, 151 em 2023 e 82 em 2024 no Rio Doce; e 98 em 2022, 122 em 2023 e 131 no São Mateus.



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

Figura 29: Padrões espaciais da ecologia trófica e condição corporal. Média (\pm Intervalo de confiança de 95%) da condição corporal do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) no Rio Doce e nos estuários controles (rio Itapemirim e rio São Mateus) entre 2022 e 2024. Número de indivíduos analisados: 39 no rio Itapemirim; 142 no Rio Doce; e 225 no São Mateus. Os dados de diferentes anos foram agrupados devido à ausência ou baixo número de espécimes em certas ocasiões e locais.

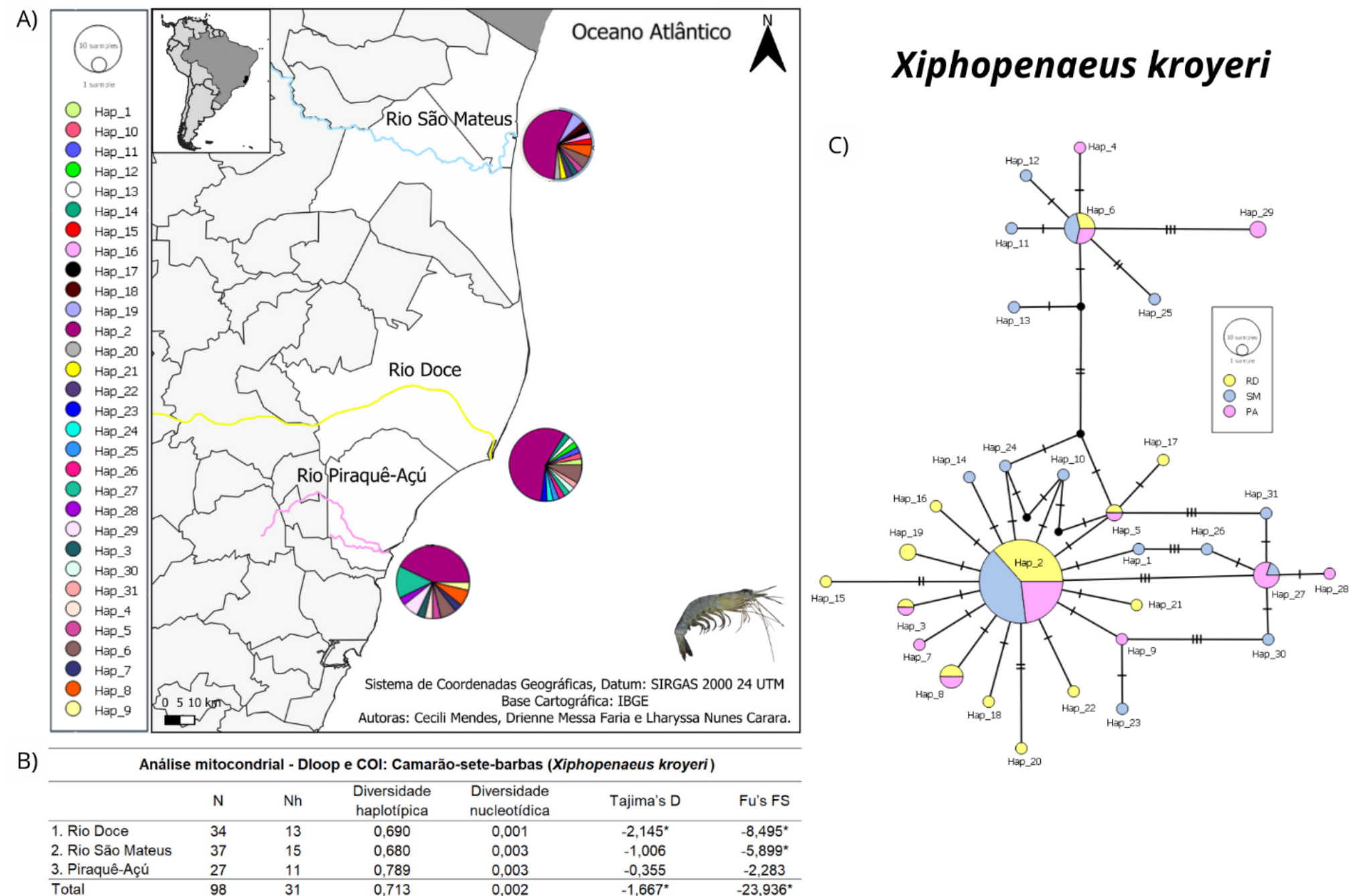


Os resultados das análises da condição corporal do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) são consistentes com aqueles encontrados para o bagre-guri. Não foram encontradas diferenças significativas na condição do robalo entre o Rio Doce e os estuários controles (PERMANOVA: $F = 15,513$; $P(MC) = 0,177$), assim como não foram identificadas diferenças entre os controles (PERMANOVA: $F = 0,094$; $P(MC) = 0,753$). Esses resultados sugerem que o robalo-peva é capaz de manter uma condição corporal similar entre os estuários estudados, apesar das alterações ambientais provocadas pelos rejeitos de mineração na foz do Rio Doce

3.6 ÍNDICES DE DIVERSIDADE E ESTRUTURAÇÃO GENÉTICA

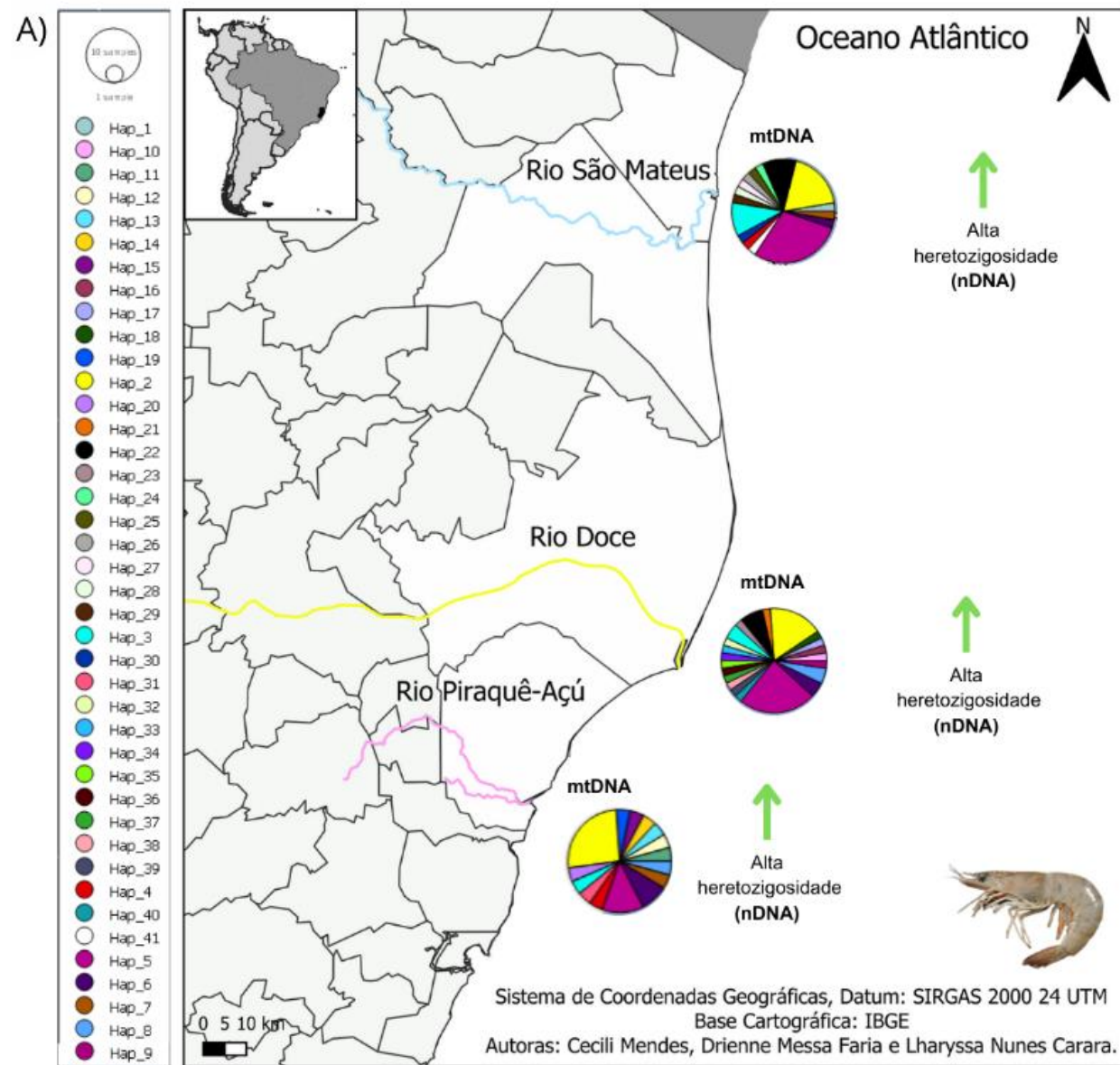
Crustáceos marinhos

Figura 30: Índices de diversidade e estruturação genética populacional mitocondrial de 98 indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) provenientes dos Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) Mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos do DNA mitocondrial (diferentes cores representam os diferentes haplótipos). B) Tabela de diversidade genética e testes de neutralidade do DNA mitocondrial. C) Rede de haplótipos (diferentes cores representam os diferentes rios, o tamanho do haplótipo é proporcional a sua frequência, quanto maior o círculo que representa o haplótipo maior o número de indivíduos que possuem essa sequência. Imagem ilustrativa da espécie (foto de CARVALHO-BATISTA et al. 2019).



Para o DNA mitocondrial, os indivíduos de camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) foram avaliados com os marcadores moleculares COI e 16S rRNA concatenados (1055 pb). Os testes de estruturação (FST par-a-par e AMOVA) indicam fluxo gênico entre as três regiões amostradas, com valor de estruturação significativo (porém baixo) entre os indivíduos do Rio Doce e do rio Piraquê-Açú. Os resultados demonstram valores de diversidade genética moderados, sendo os menores valores encontrados para o rio São Mateus, seguido do Rio Doce. Entretanto, deve-se salientar que os indivíduos dos três rios amostrados representam uma única população com valores de diversidade haplotípica moderados e de diversidade nucleotídica baixos. Para a única população identificada, foram detectados valores negativos e significativos em ambos os testes de neutralidade (D de Tajima e Fs de FU), o que indica uma expansão populacional após um evento gargalo recente (redução populacional em um curto espaço de tempo). O mesmo é indicado pela rede de haplótipos com um formato de estrela. Quanto à rede de haplótipos, é possível observar a presença de 31 haplótipos delimitados nas três localidades, ocorrendo um haplótipo (haplótipo 2), mais frequente, em todas as localidades. Há dois haplótipos comuns compartilhados entre os três rios avaliados e presença de haplótipos exclusivos para todas as localidades.

Figura 31. Índices de diversidade e estruturação genética populacional mitocondrial (N=103) e nuclear (N=9) de indivíduos de camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) provenientes dos Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú. A) Mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos do DNA mitocondrial (diferentes cores representam os diferentes haplótipos). B) Tabela de diversidade genética e testes de neutralidade do DNA mitocondrial. C) Tabela com os resultados dos SNPs do DNA nuclear: número amostral (N); heterozigidade observada (Ho); heterozigidade esperada (He). D) Rede de haplótipos (diferentes cores representam os diferentes rios, o tamanho do haplótipo é proporcional a sua frequência, quanto maior o círculo que representa o haplótipo maior o número de indivíduos que possuem essa sequência. Imagem ilustrativa da espécie (foto de Corbari, L).



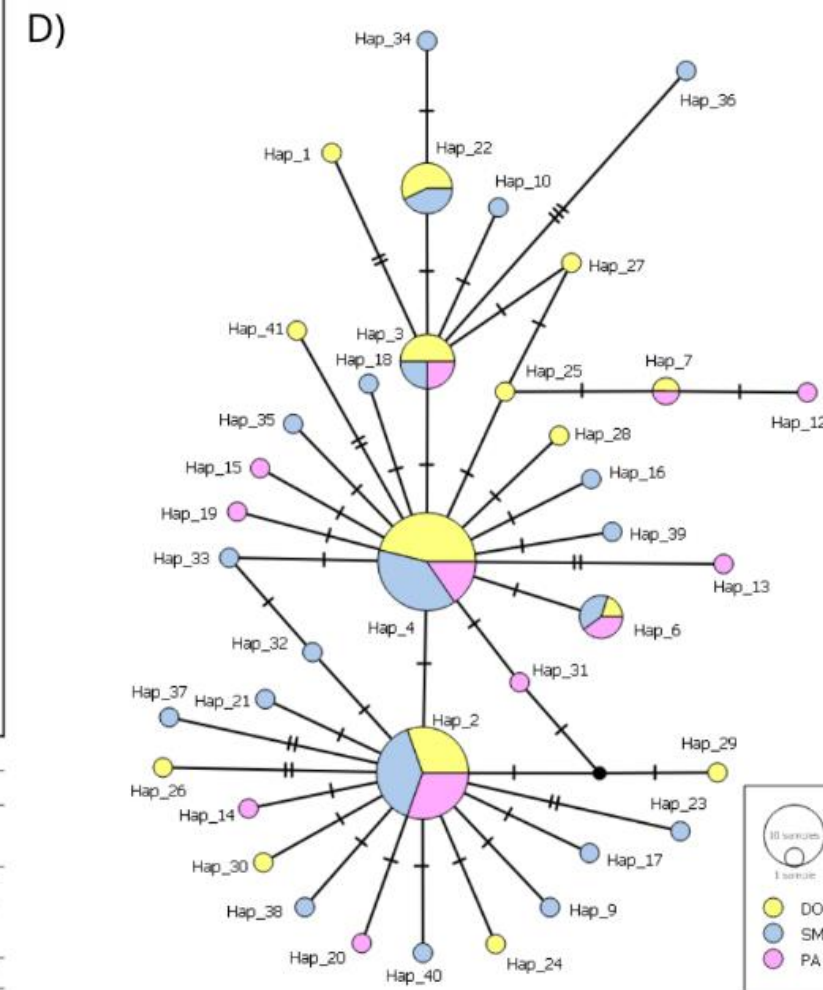
B) **Análise mitocondrial - Dloop e COI: Camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*)**

	N	Nh	Diversidade haplotípica	Diversidade nucleotídica	Tajima's D	Fu's FS
1. Rio Doce	38	16	0,875	0,002	-1,777*	-10,369***
2. Rio São Mateus	42	22	0,916	0,002	-1,931*	-19,593***
3. Piraquê-Açú	23	15	0,925	0,002	-1,656*	4,965***
Total	103	41	0,900	0,051	-1,788*	-13,919***

Farfantepenaeus subtilis

C) **Análise nuclear - SNPs: Camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*)**

	N	Heterozigidade observada (Ho)	Heterozigidade esperada (He)
1. Rio Doce	4	0,222	0,330
2. Rio São Mateus	2	0,455	0,537
3. Piraquê-Açú	3	0,290	0,397
Total	9	0,321	0,423

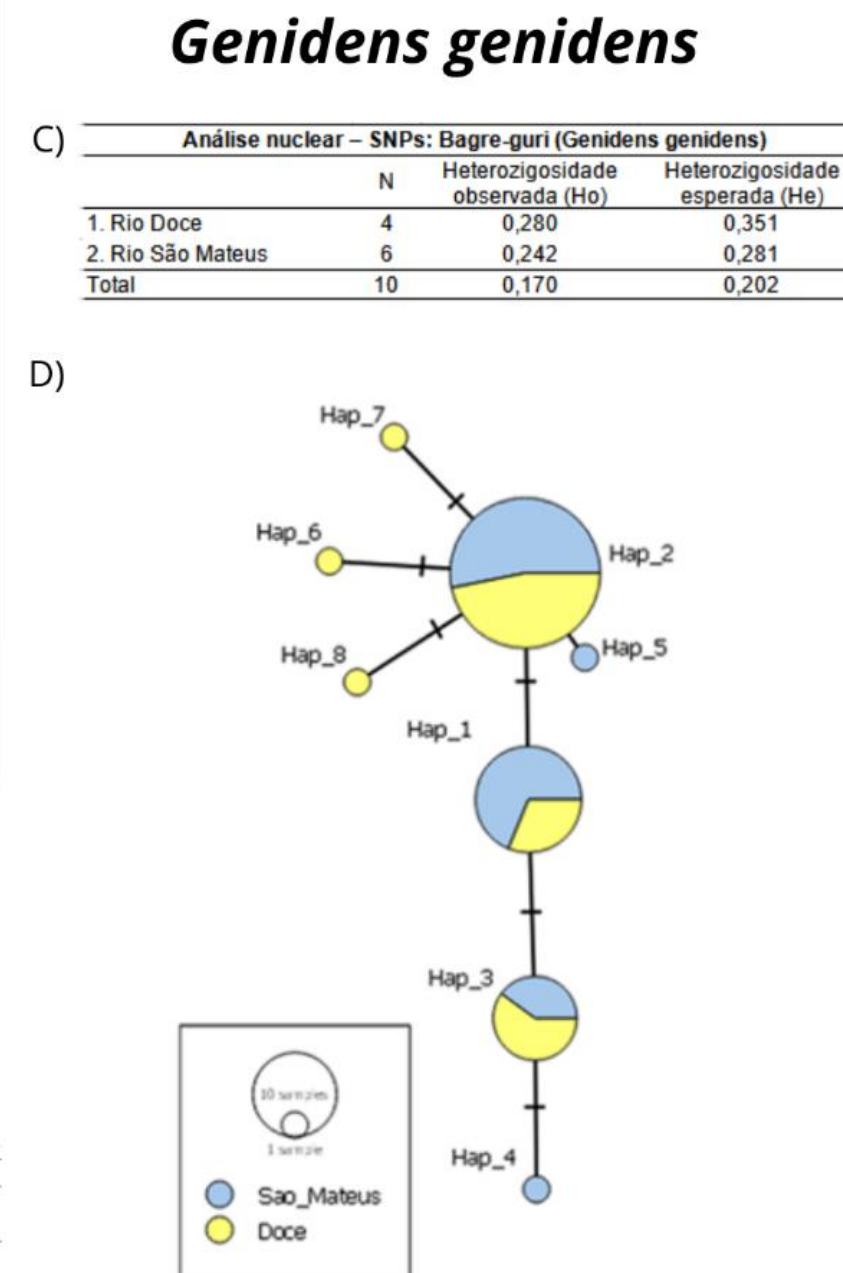
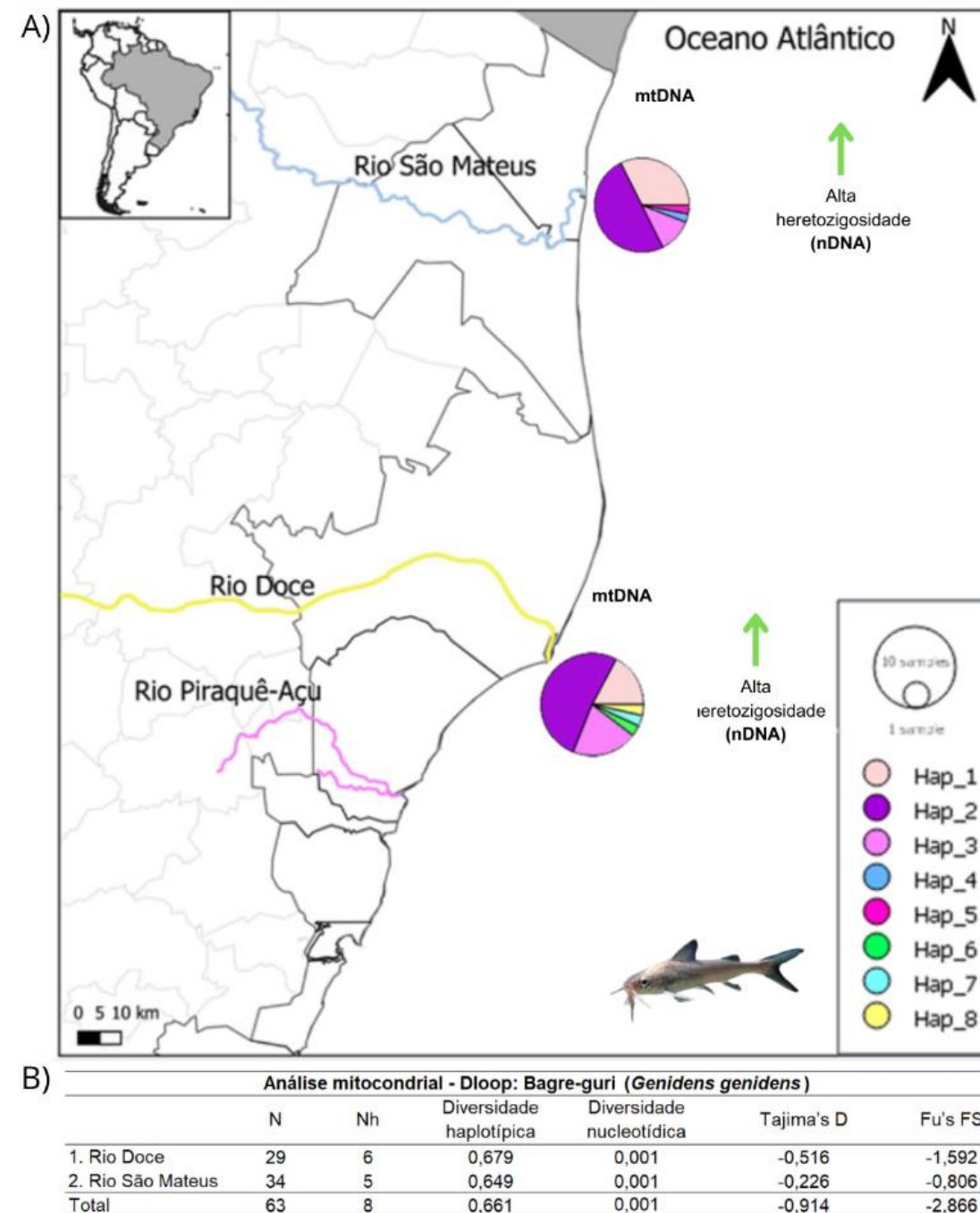


Os Para o DNA mitocondrial, os espécimes do camarão-rosa (*Farfantepenaeus subtilis*) foram avaliados com os marcadores moleculares COI e 16S rRNA concatenados (950pb). Os testes de estruturação AMOVA e FST par-a-par indicam que os camarões-rosa dos três rios apresentam um alto fluxo gênico entre as localidades, com ausência de estruturação entre os rios avaliados. Os valores de diversidade haplotípica foram altos para todas as localidades e de diversidade nucleotídica foram baixos, tendo o Rio Piraquê-Açú os valores de diversidade mais altos e o Rio Doce os valores mais baixos. Contudo, é importante salientar que os espécimes das três localidades se apresentam como única população genética com alto fluxo gênico e valores de diversidade genética altos. Quanto aos testes de neutralidade, considerando uma população, os testes F_s de FU e D de Tajima foram negativos e significativos. Esses valores indicam uma recente expansão populacional após um evento gargalo, o que também é indicado pela rede de haplótipos com formato de estrela. A rede de haplótipos apresentou 41 haplótipos organizados em formato de estrela, ocorrendo maior frequência dos haplótipos 2 e 4 nas três localidades, com muitos haplótipos exclusivos para todas as localidades.

Para os SNPs do DNA nuclear, nove amostras foram analisadas a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de *reads* brutos variou de 298.818 a 578.405 e os *reads* filtrados de 82.762 a 136.632. Todos os *reads* foram padronizados para 27pb. Foi detectado um total de 2.732 SNPs, com ausência de *missing data*. Não foi detectada diferenciação populacional significativa quando comparados os rios São Mateus, Rio Doce e Piraquê-Açú, a partir das análises de F_{st} par-a-par e AMOVA, sendo o maior valor de diferenciação encontrado dentro das populações (93,66%), o que indica um alto fluxo gênico entre as localidades. Além disso, níveis altos de diversidade foram detectados ($H_o=0,321$; $H_e=0,423$), considerando o número de SNPs avaliados. Apesar de ocorrer fluxo gênico entres os rios, é possível observar menores índices de diversidade para o Rio Doce e Piraquê-Açú, mesmo com maior número amostral em comparação ao rio São Mateus..

Peixes estuarinos

Figura 32: Índices de diversidade e estruturação genética populacional mitocondrial (N=63) e nuclear (N=10) dos indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) dos rios São Mateus e Rio Doce. A) Mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos do DNA mitocondrial (diferentes cores representam os diferentes haplótipos). B) Tabela de diversidade genética e testes de neutralidade do DNA mitocondrial. C) Tabela com os resultados dos SNPs do DNA nuclear: número amostral (N); heterozigossidade observada (Ho); heterozigossidade esperada (He). D) Rede de haplótipos (diferentes cores representam os diferentes rios, quanto maior o círculo que representa o haplótipo maior o número de indivíduos que possuem essa sequência. Imagem ilustrativa da espécie (foto de: Sazima, 2001).

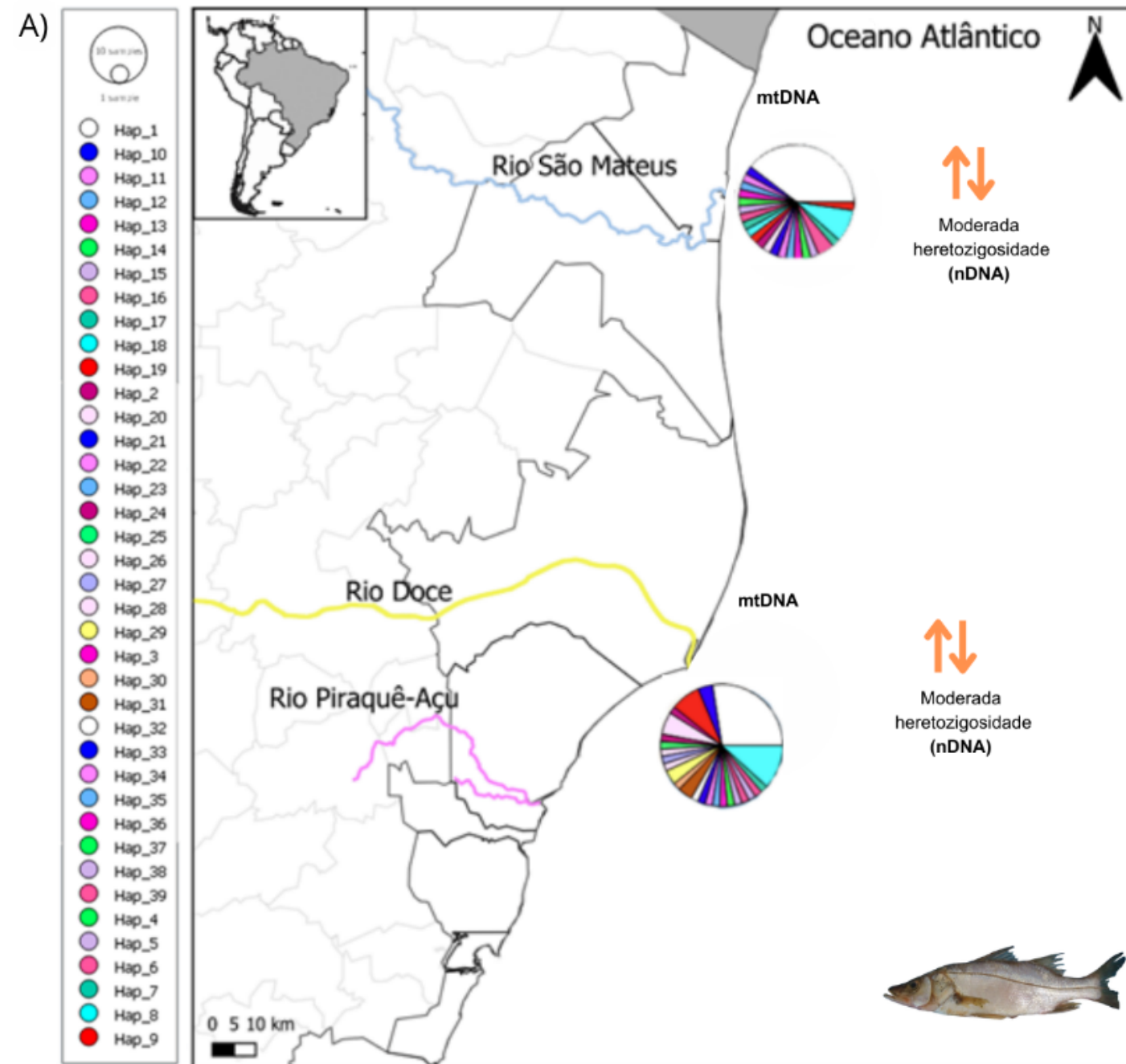


Para o DNA mitocondrial, os indivíduos de bagre-guri (*Genidens genidens*) foram avaliados com o marcador molecular mitocondrial ATPase (823pb). Os resultados de diversidade genética demonstram valores moderados tendo o Rio Doce apresentado maior valor quando comparado ao rio São Mateus. No entanto, os resultados dos testes de estruturação, AMOVA e FST par-a-par, até o momento não evidenciaram diferenciação genética entre as localidades, indicando que os bagres-guri dos rios São Mateus e Rio Doce pertencem a uma única população genética, com diversidade haplotípica total moderada e baixa diversidade nucleotídica (diferença entre os haplótipos, diferentes sequências para ATPase entre os indivíduos). Quanto à rede de haplótipos é possível observar a presença de oito haplótipos, no entanto, com maior frequência para três, presentes em ambos os rios. Verifica-se alguns haplótipos exclusivos para os dois rios. Os testes de neutralidade não apresentaram valores significativos para nenhuma das localidades amostradas ou mesmo quando consideramos a população como um todo, o que indica que a população não se encontra em expansão. Esses dados podem gerar uma preocupação, pois a população não apresenta diversidade genética alta e não há evidências de crescimento populacional. Valores baixos de diversidade genética aumentam a vulnerabilidade da população diminuindo sua capacidade de permanecerem e/ou se reestabelecerem no ambiente após alterações ambientais de origem natural ou antrópica (como o rompimento da barragem de Fundão).

Para os SNPs do DNA nuclear, dez amostras foram analisadas a partir da biblioteca de 2bRAD. O número de *reads* brutos variou de 362.606 a 531.912 por amostra. Após as filtrações, o número total de *reads* mantido variou de 111.346 a 143.180 por amostra e todos os *reads* foram padronizados para 27pb. Após a prospecção de SNPs, o conjunto de dados final resultou em 3.375 SNPs com porcentagem de *missing data* estimada em 5,31%. Não foi possível detectar diferenciação populacional significativa entre os rios São Mateus e Rio Doce nas análises de Fst par-a-par e AMOVA, sendo o maior valor de diferenciação encontrado dentro das populações (95,72%). Portanto, os indivíduos dos rios São Mateus e Rio Doce possuem alto fluxo gênico e representam uma única população. Foram encontrados valores moderados de heterozigosidade observada e esperada ($H_o=0,170$; $H_e=0,202$), considerando o número de SNPs avaliados.

Recomenda-se a continuidade do monitoramento dos índices de diversidade genética nuclear para incremento do número de locos e indivíduos a serem analisados por localidade, principalmente do Rio Doce.

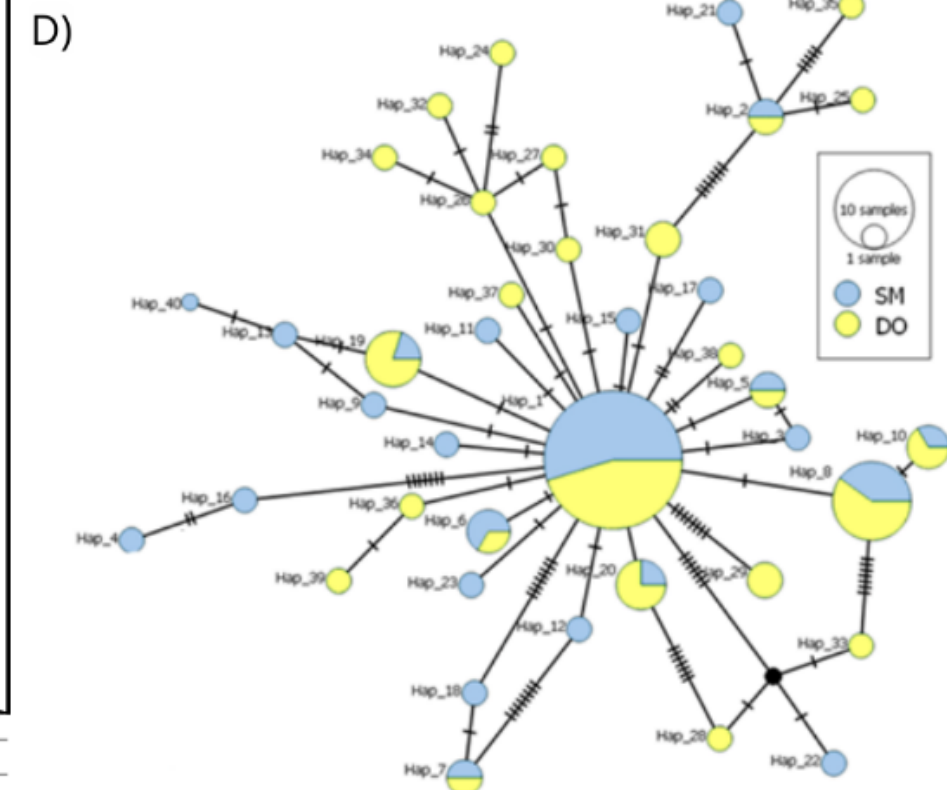
Figura 33: Índices de diversidade e estruturação genética populacional mitocondrial (N=97) e nuclear (N=20) de indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) dos Rio Doce e rio São Mateus. A) Mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos do DNA mitocondrial (diferentes cores representam os diferentes haplótipos). B) Tabela de diversidade genética e testes de neutralidade do DNA mitocondrial. C) Tabela com os resultados dos SNPs do DNA nuclear: número amostral (N); heterozigidade observada (Ho); heterozigidade esperada (He). D) Rede de haplótipos (diferentes cores representam os diferentes rios, quanto maior o círculo que representa o haplótipo maior o número de indivíduos que possuem essa sequência. Imagem ilustrativa da espécie (foto de: Sazima, 2001).



Centropomus parallelus

C) **Análise nuclear - SNPs: Robalo-peva (*Centropomus parallelus*)**

	N	Heterozigidade observada (Ho)	Heterozigidade esperada (He)
1. Rio Doce	10	0,155	0,183
2. Rio São Mateus	10	0,158	0,185
Total	20	0,100	0,114

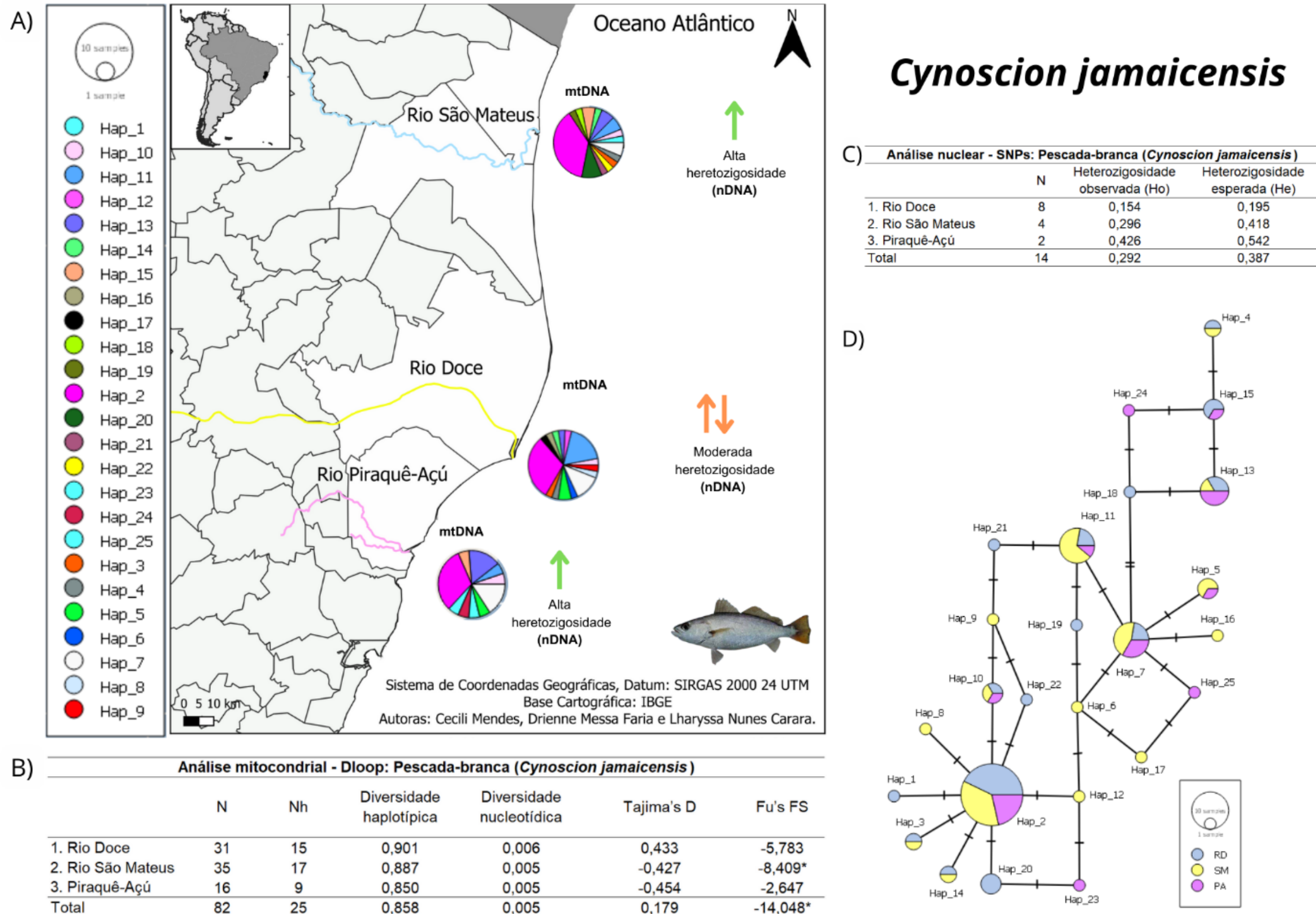


Para o DNA mitocondrial, os indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) foram avaliados com o marcador D-loop (450pb). Não foi evidenciada diferenciação genética entre os indivíduos do Rio Doce e o rio São Mateus de acordo com os valores de Fst par-a-par e de AMOVA, o que indica que os indivíduos desses dois rios compõem uma única população, com alto fluxo gênico entre os três rios. Os resultados de diversidade genética haplotípica e nucleotídica foram altos no total para a população. Levando-se em consideração os dois rios avaliados, os maiores valores foram encontrados para o Rio Doce. Quanto à rede de haplótipos, foram identificados 40 haplótipos no total, ocorrendo em maior frequência o haplótipo 1, compartilhado entre o Rio Doce e o rio São Mateus. Há vários haplótipos compartilhados e exclusivos para as duas localidades. A rede de haplótipos em formato de estrela, com um haplótipo central e vários outros ao redor, indica expansão populacional após em evento de redução demográfica. A expansão populacional também é evidenciada pelos valores significativos de D de Tajima e Fs de Fu dos testes de neutralidade. Esses resultados podem indicar uma recuperação da população após um evento de gargalo (redução).

Para os SNPs do DNA nuclear, o número de *reads* brutos para as 20 amostras analisadas da biblioteca 2bRAD variou de 271.447 a 457.624 por amostra. O número total de *reads* mantido após as filtrações variou de 102.405 a 136.392 por amostra e foram padronizados para 27pb. Após a prospecção de SNPs resultaram 12.848 SNPs com porcentagem 4,25% de *missing data*. Não foi possível verificar diferenciação genética entre os rios São Mateus e Rio Doce, com valor de Fst par-a-par e AMOVA não significativos, sendo assim, os indivíduos amostrados nos rios São Mateus e Rio Doce pertencem a uma única população com alto fluxo gênico. Foram encontrados valores moderados de heterozigidade observada e esperada para ambos os rios ($H_o = 0,100$; $H_e = 0,114$), considerando que esta espécie possui maior número de SNPs avaliados.

Recomenda-se a continuidade do monitoramento dos índices de diversidade genética nuclear para incremento do número de locos e indivíduos a serem analisados por localidade.

Figura 34: Índices de diversidade e estruturação genética populacional mitocondrial (N=82) e nuclear (N=14) de indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) dos rios São Mateus, Rio Doce e Piraquê-Açú. A) Mapa da região amostrada e gráficos de pizza demonstrando a proporção e distribuição geográfica dos haplótipos do DNA mitocondrial (diferentes cores representam os diferentes haplótipos). B) Tabela de diversidade genética e testes de neutralidade do DNA mitocondrial. C) Tabela com os resultados dos SNPs do DNA nuclear: número amostral (N); heterozigidade observada (Ho); heterozigidade esperada (He). D) Rede de haplótipos (diferentes cores representam os diferentes rios, o tamanho do haplótipo é proporcional a sua frequência, quanto maior o círculo que representa o haplótipo maior o número de indivíduos que possuem essa sequência (foto de Robertson Ross).



Para o DNA mitocondrial, os indivíduos de pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) foram avaliados para o marcador D-loop (576pb). Não foi detectada estruturação para o teste de FST par-a-par e AMOVA, sendo então os indivíduos de pescada-branca do Rio Doce, rio São Mateus e rio Piraquê-Açú pertencentes a uma mesma população. Foram detectados elevados valores de diversidade haplotípica para a pescada-branca (*Cynoscion jamaicensis*) entre os três rios analisados, sendo o Rio Doce o que apresentou maiores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica. Além disso, observa-se alto valor de diversidade haplotípica para a população no total e baixa diversidade nucleotídica. Quanto à rede de haplótipos é possível observar 25 haplótipos, com maior frequência do haplótipo 2, compartilhado entre os rios São Mateus, Rio Doce e Piraquê-Açú, além da existência de outros quatro haplótipos também compartilhados entre estes três rios (Hap_7, Hap_10, Hap_11, Hap_13). Os resultados do teste de neutralidade demonstraram valores significativos para FS de Fu, o que pode indicar uma tendência de expansão populacional recente.

Para os SNPs do DNA nuclear, o número de reads brutos das 14 amostras analisadas, variou de 316.466 a 458.409 por amostra. Após as filtrações, esses valores variaram de 265.688 a 423.657 por amostra, sendo todos os reads padronizados para 27pb. Foram verificados 2.330 SNPs, com porcentagem de missing data de 13,58%. Não foi detectada diferenciação populacional significativa quando comparados os rios São Mateus, Rio Doce e Piraquê-Açú, a partir das análises de Fst par-a-par e AMOVA, sendo o maior valor de diferenciação encontrado dentro das populações (98,58%), o que indica um alto fluxo gênico entre as localidades. Portanto, os indivíduos dos rios São Mateus, Doce e Piraquê-Açú pertencem a uma única população. Níveis altos de heterozigosidade foram encontrados para esta população ($H_o=0,292$; $H_e=0,387$), considerando o número de SNPs avaliados. Apesar de ocorrer fluxo gênico entre os rios, é possível observar menores índices de diversidade para o Rio Doce, mesmo com maior número amostral em comparação com as outras localidades.

Recomenda-se a continuidade do monitoramento dos índices de diversidade genética nuclear para incremento do número de locos e indivíduos analisados a serem analisados por localidade, principalmente do Piraquê-Açú.

Peixes recifais

Tabela 18: Índices de diversidade e estruturação genética. Médias dos índices de diversidade genética estimados para todas as populações das espécies estuarinas e recifais. Número de amostras genotipadas (N), número de alelos (A), riqueza alélica (Ar), número de alelos efetivos (Ae), número de alelos privados (Ap), heterozigosidades observada (Ho) e esperada (He), coeficiente de endogamia (Fis), tamanho populacional efetivo (Ne) e índice de Garza-Williamson (*M-ratio*). As espécies estuarinas analisadas são *Pellona harroweri*, *Lycengraulis grossidens*, *Trinectes paulistanus*, *Larimus breviceps*, *Conodon nobilis*, *Isopisthus parvipinnis*, *Odontognathus mucronatus* e *Chirocentrodon blekeerianus*. As espécies recifais são: *Lutjanus analis*, *Cephalopholis fulva*, *Epinephelus morio*, *Mycteroperca bonaci*, *Lutjanus jocu*, *Mycteroperca interstitialis* e *Mycteroperca venenosa*. Caravelas = Estuário do rio Caravelas; São Mateus= Estuário do rio São Mateus; Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga; Doce: Estuário do Rio Doce. Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma; Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro.

Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Pellona harroweri</i>				
N	27	26	22	28
A	6,29	7,29	6,14	7
Ar	5,64	6,05	6,08	5,11
Ae	3,41	3,54	4,03	3,38
Ap	2,33	1	4	0,67
Ho	0,61	0,7	0,64	0,66
He	0,68	0,7	0,75	0,68
Fis (95% IC)	0,11 (0,00 - 0,20)	0,00 (-0,10 - 0,11)	0,14 (0,01 - 0,25)	0,03 (-0,07 - 0,12)
Ne (95% IC)	Inf. (59,2 - Inf.)	Inf. (61,8 - Inf.)	67,7 (18,7 - Inf.)	28,7 (16,3 - 70)
<i>M-ratio</i>	0,23	0,22	0,2	0,2
Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Lycengraulis grossidens</i>				
N	19	26	23	30
A	8,86	11,43	9,86	11,14
Ar	7,31	8,63	4,52	8,57
Ae	6,08	6,93	6,02	6,48
Ap	3,57	2,43	0,29	2,43
Ho	0,45	0,54	0,6	0,55
He	0,75	0,79	0,76	0,79
Fis (95% IC)	0,40 (0,26 - 0,53)	0,32 (0,23 - 0,41)	0,27 (0,11 - 0,30)	0,30 (0,21 - 0,38)
Ne (95% IC)	Inf. (65,6 - Inf.)	60,1 (34,9 - 166,7)	454,2,4 (70,1 - Inf.)	Inf. (175,4 - Inf.)
<i>M-ratio</i>	0,17	0,28	0,35	0,31

Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Trinectes paulistanus</i>				
N	24	9	13	17
A	6,18	3,82	5,36	5,45
Ar	4,12	3,31	4,02	4,04
Ae	3,91	3,35	3,41	3,41
Ap	2,09	3	0,73	0,73
Ho	0,5	0,51	0,55	0,57
He	0,59	0,53	0,63	0,58
Fis (95% IC)	0,15 (0,04 - 0,2)	0,02 (-0,18 - 0,17)	0,11(-0,03 - 0,25)	0,01(-0,09 - 0,10)
Ne (95% IC)	87,5 (30 - Inf.)	36,1 (7,6 - Inf.)	239,7 (19 - Inf.)	33,6 (14,8 - 923,7)
M-ratio	0,21	0,17	0,2	0,2
Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Larimus breviceps</i>				
N	28	30	30	30
A	4,42	3,75	3,5	4,42
Ae	3,27	3,34	4,13	4,5
Ar	3,7	3,2	3	3,9
Ap	0,67	0,17	0,67	2,08
Ho	0,32	0,32	0,33	0,33
He	0,39	0,35	0,35	0,52
Fis (95% IC)	0,06 (-0,05 - 0,18)	0,06 (-0,09 - 0,23)	0,19 (0,01 - 0,33)	0,36 (0,26 - 0,46)
Ne (95% IC)	2,2 (1,8-2,6)	8,1 (4,9 -12,6)	13,7 (7,6-27,1)	2,1 (1,8-2,6)
M-ratio	0,33	0,37	0,41	0,35
Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Conodon nobilis</i>				
N	31	29	30	30
A	4,91	4,83	4,08	3,83
Ae	2,18	2,47	1,96	1,99
Ar	4,63	4,7	3,94	3,7
Ap	1	1	0,42	0,5
Ho	0,37	0,41	0,3	0,34
He	0,4	0,53	0,34	0,36
Fis	0,20 (0,10 + 0,30)	0,29 (0,20 + -0,37)	0,26 (0, 18+ -0,35)	0,02 (-0, 07+ -0, 11)
Ne (95% IC)	138,3 (45,9 - Inf.)	54 (27,7 - 382,7)	70,9 (24,9 - Inf)	23,3 (14,4 - 43,6)
M-ratio	0,28	0,26	0,28	0,27

Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Isopisthus parvipinnis</i>				
N	30	32	33	31
A	4,64	4,91	5,64	4,91
Ar	3,91	4,22	4,88	4,18
Ae	1,73	2,22	2,74	2,47
Ap	0,64	2,36	1,73	1,55
Ho	0,17	0,25	0,22	0,25
He	0,35	0,5	0,56	0,47
Fis (95% IC)	0,52 (0,36 - 0,64)	0,49 (0,38 - 0,58)	0,61 (0,52 - 0,69)	0,47 (0,35 - 0,58)
Ne (95% IC)	1,4 (1,1 - 1,6)	2 (1,6 - 2,6)	1,5 (1,3 - 1,7)	1,5 (1,3 - 1,8)
M-ratio	0,34	0,32	0,36	0,35
Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Odontognathus mucronatus</i>				
N	23	30	30	32
A	7,2	9,7	8,9	10,5
Ar	6,04	7,49	7,28	8,19
Ae	1,82	2,2	1,79	1,27
Ap	1,5	1,8	1,1	2,9
Ho	0,29	0,48	0,41	0,41
He	0,69	0,67	0,7	0,76
Fis (95% IC)	0,58 (0,48 - 0,67)	0,29 (0,19 - 0,38)	0,41 (0,31 - 0,50)	0,46 (0,38 - 0,53)
Ne (95% IC)	63,0 (36,4 - 148,7)	56,6 (26,3 - 397,4)	22,7 (14,9 - 36,1)	33,8 (21,5 - 59,6)
M-ratio	0,016	0,19	0,2	0,24
Fator	Rio Doce	Rio Ipiranga	Rio São Mateus	Rio Caravelas
<i>Chirocentrodon bleekermanus</i>				
N	26	23	27	37
A	6,167	3,83	3,83	6,33
Ar	5,22	3,38	3,35	4,73
Ae	2,2	1,85	1,9	2,32
Ap	1,5	0,5	0,33	1,83
Ho	0,31	0,49	0,26	0,46
He	0,47	0,43	0,37	0,51
Fis (95% IC)	0,31 (0,17 - 0,44)	- 0,14 (-0,31 - 0,03)	0,28 (0,12 - 0,43)	0,16 (0,06 - 0,25)
Ne (95% IC)	Inf. (116,5 - Inf.)	5,9 (2,3 - 15,2)	Inf. (15,5 - Inf.)	46 (20,3 - 378,7)
M-ratio	0,09	0,22	0,11	0,05

Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Lutjanus analis</i>				
N	30	28	27	30
A	6,6	8	9,2	8,6
Ar	5,64	6,78	8,06	7,37
Ae	3,28	4,21	5,56	5,24
Ap	0,4	0,8	1,2	1,4
Ho	0,74	0,77	0,71	0,79
He	0,67	0,73	0,77	0,78
Fis (95% IC)	-0,09 (-0,23 - 0,03)	-0,04 (-0,14 - 0,05)	0,08 (-0,00 - 0,17)	-0,01(-0,11 - 0,09)
Ne (95% IC)	5,1 (2,6 - 10)	24,6 (11,7 - 109,1)	51,9 (21,9 - Inf.)	25,9 (14,1 - 68,6)
M-ratio	0,22	0,25	0,33	0,27
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Cephalopholis fulva</i>				
N	33	31	34	6
A	5,67	4,67	4,33	2,67
Ar	2,83	2,61	2,64	2,4
Ae	2,51	2,48	2,52	2,21
Ap	2,33	0,67	0,83	0
Ho	0,45	0,35	0,43	0,47
He	0,46	0,4	0,38	0,35
Fis (95% IC)	0,01 (-0,09 - 0,12)	0,13 (-0,00 - 0,25)	-0,11 (-0,20 - -0,02)	-0,35 (-0,55 - -0,21)
Ne (95% IC)	Inf. (40,9 - Inf.)	80,9 (16,5 - Inf.)	Inf. (35,7 - Inf.)	Inf. (0,8 - Inf.)
M-ratio	0,25	0,19	0,18	0,12
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Epinephelus morio</i>				
N	27	33	25	6
A	7,67	8,11	7	3
Ar	4,27	4,23	4,2	2,57
Ae	4,23	4,29	4,35	2,41
Ap	0,44	1,67	0,22	0,33
Ho	0,46	0,5	0,45	0,41
He	0,73	0,73	0,75	0,5
Fis (95% IC)	0,36 (0,27 - 0,44)	0,31 (0,22 - 0,40)	0,40 (0,30- 0,50)	0,19 (-0,19 - 0,41)
Ne (95% IC)	51,3 (29,1 - 147,7)	25 (18 - 37,3)	27,1 (17,2 - 51,6)	Inf. (1,7 - Inf.)
M-ratio	21	0,21	0,19	0,08
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Mycteroperca bonaci</i>				
N	33	32	29	5
A	12,45	13,09	12,64	3,82
Ar	4,68	4,81	4,91	3,02
Ae	5,49	5,59	5,26	2,77
Ap	0,54	0,73	0,91	0,18

Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
Ho	0,57	0,56	0,58	0,47
He	0,76	0,76	0,77	0,57
Fis (95% IC)	0,25 (0,20-0,30)	0,27 (0,20-0,35)	0,24 (0,17-0,32)	0,17 (-0,21-0,30)
Ne (95% IC)	557,2 (126,9 - Inf.)	74,3 (51,8 - 123,4)	201 (87,4 - Inf.)	Inf. (2,9 - Inf)
M-ratio	0,26	0,31	0,26	0,26
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Lutjanus jocu</i>				
N	26	27	15	-
A	8,4	9,3	7,3	-
Ar	6,27	6,62	6,03	-
Ae	4,64	4,84	4,59	-
Ap	2,1	2,8	2,2	-
Ho	0,43	0,42	0,49	-
He	0,66	0,65	0,71	-
Fis (95% IC)	0,35 (0,25 - 0,46)	0,35 (0,25 - 0,43)	0,30 (0,15 - 0,35)	-
Ne (95% IC)	Inf. (Inf. - Inf.)	130,2 (57,1- Inf.)	76,5 (43,3- 239,6)	-
M-ratio	0,24	0,26	0,22	-
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Mycteroperca interstitialis</i>				
N	2	29	7	30
A	2	9,18	5,73	11,45
Ar	1,59	1,69	1,76	1,74
Ae	1,66	2,4	2,46	2,33
Ap	0,091	2	0,455	3,273
Ho	0,59	0,58	0,49	0,42
He	0,35	0,66	0,71	0,72
Fis (95% IC)	-0,68 (-0,98 - -0,41)	0,12 (0,03 - 0,21)	0,31 (0,05 - 0,46)	0,42 (0,34 - 0,5)
Ne (95% IC)	Inf. (Inf. - Inf.)	27,2 (20,5 - 38)	Inf. (16,1 - Inf.)	16,4 (13,6 - 20,1)
M-ratio	0,25	0,29	0,19	0,25
Fator	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4
<i>Mycteroperca venenosa</i>				
N	-	6	30	-
A	-	5,2	7,3	-
Ar	-	5,37	4,47	-
Ae	-	4,12	4,03	-
Ap	-	1,4	4,9	-
Ho	-	0,58	0,51	-
He	-	0,67	0,6	-
Fis (95% IC)	-	0,13(-0,15+-032)	0,15(0,08+-0,22)	-
Ne (95% IC)	-	Inf. (30,3 - Inf.)	106,4 (51,5 - 1507,3)	-
M-ratio	-	0,31	0,4	-

Os níveis médios de diversidade genética foram estimados a partir de diferentes métricas descritas na literatura: número de alelos, riqueza alélica, número de alelos efetivos, número de alelos privados e heteroziguidade observada e esperada. A riqueza alélica é um indicador importante da diversidade genética de uma população, pois não depende do tamanho populacional e reflete diferentes variantes

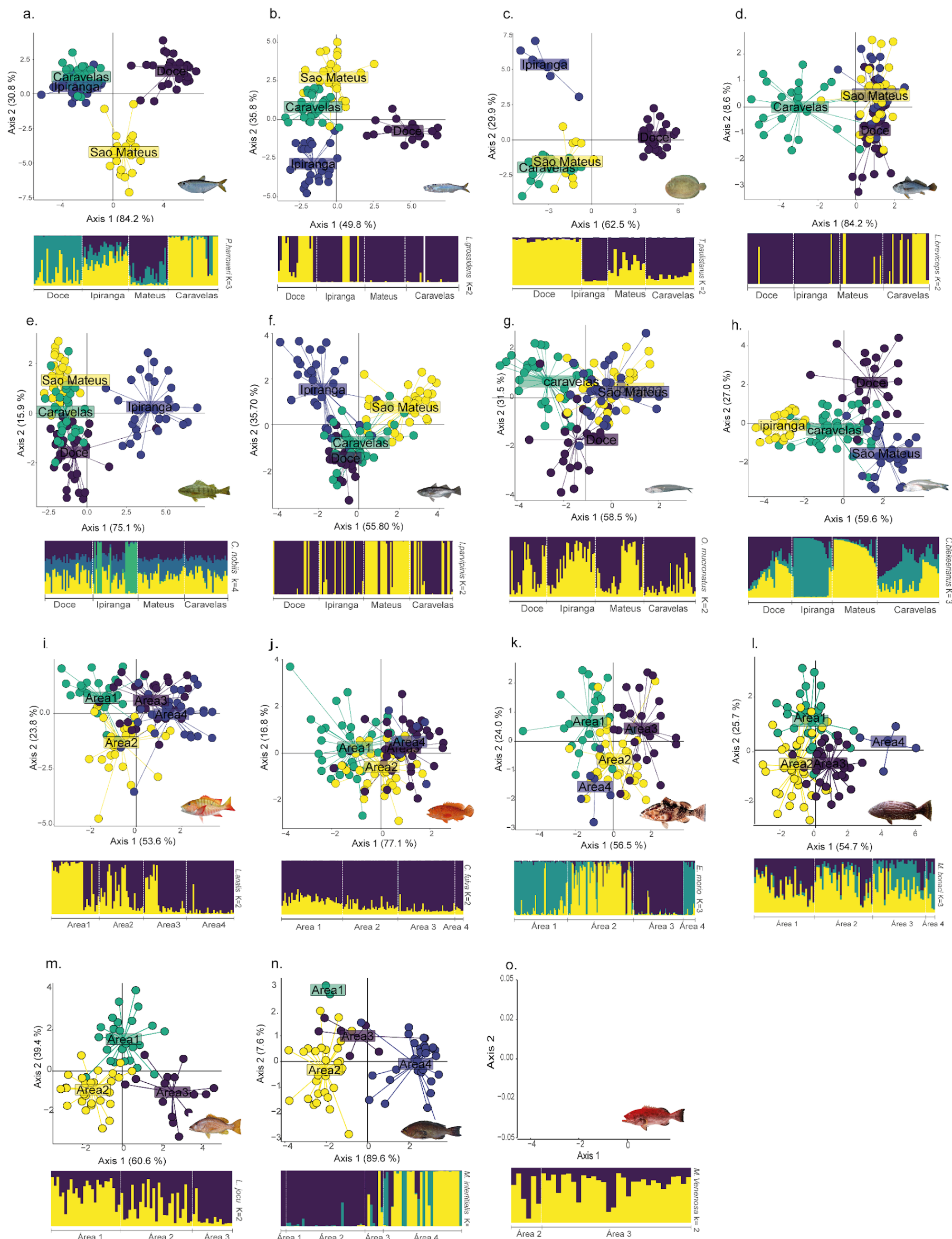
alélicas presentes em um grupo de indivíduos. Quanto maior a riqueza alélica, maior é a diversidade genética. Nesse aspecto, as espécies estuarinas *L. grossidens*, *O. mucronatus*, *P. harroweri*, e as espécies recifais *L. analis*, *L. jocu*, exibem os maiores índices de riqueza alélica registrados. As heterozigosidades observadas (H_o - proporção de heterozigotos observados) e esperadas (H_e - proporção de heterozigotos esperados estimados a partir das frequências alélicas) são consideradas moderadas ($0,5 < x < 0,8$) e indicam um equilíbrio na diversidade genética na população. Para as espécies estuarinas *P. harroweri*, *L. grossidens* (exceto a população do Rio Doce) e *T. paulistanus*, juntamente com as espécies recifais *M. bonaci* (exceto a área 4), *L. analis* e *M. venenosa* apresentam valores maiores de heterozigosidade nas áreas estudadas, refletindo uma alta diversidade genética. Por outro lado, valores de H_o e H_e abaixo de 0,5 observados nas espécies estuarinas *L. breviceps*, *C. nobilis* e *I. parvipinnis*, podem refletir valores historicamente baixos para as espécies como também indicar uma possível redução na diversidade genética. No caso da espécie recifal *C. fulva*, podem ser atribuídos à deficiência de loci microssatélites. Por fim, as espécies estuarinas *O. mucronatus* e *C. bleekermanus*, juntamente com as espécies recifais *E. morio* e *L. jocu*, exibem heterozigosidades observadas menores do que a esperada, o que geralmente é atribuído a endogamia, o que é suportado pelos dados do coeficiente de endogamia (F_{is}). Esse padrão indica um excesso de homozigotos na população, e resulta em problemas para a diversidade genética dessas populações no futuro. Dentro da análise genética da população, o índice F_{is} foi significativamente positivo para as populações de todas as espécies estuarinas, com exceção da população do Rio Ipiranga da espécie *C. bleekermanus* (-0,14). Isso indica um excesso de homozigotos nas populações, possivelmente devido ao acasalamento não aleatório entre os indivíduos. Valores positivos também foram observados para as populações das espécies recifais *E. morio*, *L. jocu*, *M. bonaci*, *M. interstitialis* e *M. venenosa*. Para as populações da área 1, 2 e 4 de *L. analis*, população da área 1 de *M. interstitialis* e populações 3 e 4 de *C. fulva* os valores foram negativos indicando excesso de heterozigotos. Esse excesso pode ser decorrente do acasalamento não aleatório entre indivíduos não relacionados, ou ser consequência de um efeito conhecido como “quebra do isolamento” (mistura entre populações isoladas - WAHLUND, 1928), que geralmente persiste por algumas gerações até um novo equilíbrio ser restabelecido.

Quanto às análises demográficas, foi detectado um tamanho populacional muito baixo para as espécies *L. breviceps*, *I. parvipinnis* e *L. analis*. Além disso, todas as populações amostradas de todas as espécies apresentaram valores de M-ratio abaixo do valor crítico de 0,68. Isto sugere que todas as populações vivenciaram ou estão vivenciando redução recente em seu tamanho populacional, o que inspira cuidados quanto a sua viabilidade.

Os resultados obtidos revelam indícios de que algumas populações, principalmente as estuarinas, enfrentam desafios significativos em termos de diversidade genética e tamanho populacional, destacando a necessidade de medidas que possam garantir a viabilidade dessas espécies no futuro.

Figura 35 : Índices de diversidade e estruturação genética. Estrutura genética das populações estimada a partir da análise discriminante de componentes principais (DAPC) e STRUCTURE.

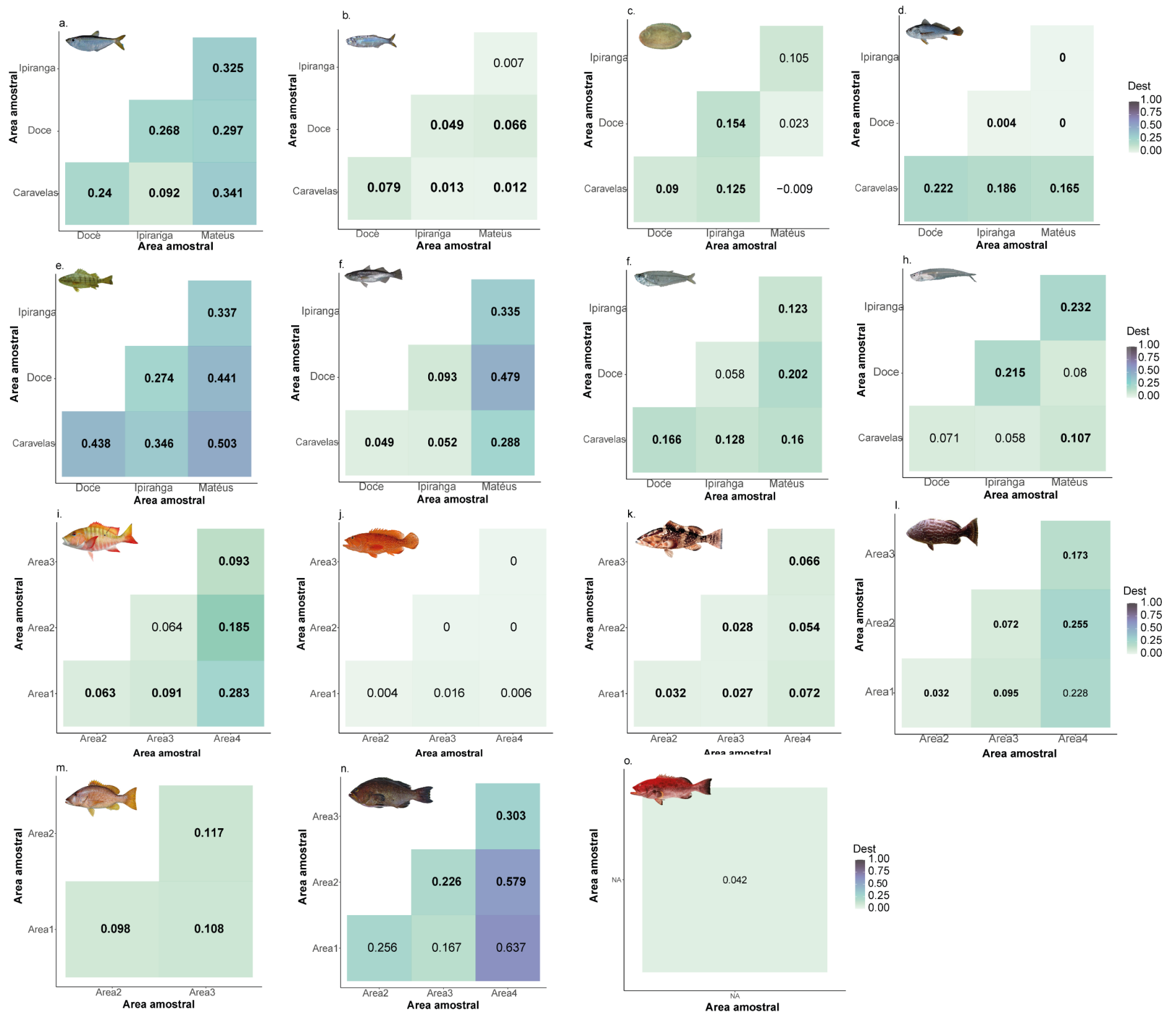
Estrutura genética das populações das espécies estuarinas (a-h) e recifais (i-o). Na DAPC, as cores representam os locais de coleta, enquanto para o STRUCTURE, observamos barras verticais que indicam a proporção de atribuição de cada espécime a um agrupamento genético. O número de grupos genéticos (K),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



A estrutura genética das espécies foi avaliada utilizando diferentes algoritmos como STRUCTURE e Análise discriminante de componentes principais (DAPC). Esses métodos são complementares e garantem uma análise mais abrangente. Enquanto o Structure é útil para identificar clusters genéticos, proporções de mistura genética e calcular a ancestralidade individual, o DAPC utiliza uma estatística multivariada onde a variação na amostra é dividida dentro e entre grupos, a análise minimiza a variação dentro de grupos e maximiza a variação entre grupos resultando em um número mais provável de subgrupos. Desta forma, foi possível inferir que nenhuma espécie estuarina foi considerada panmítica. Ao avaliar os agrupamentos por localidade as espécies estuarinas *P. harroweri*, *L. grossidens*, *T. paulistanus* e *C. blekeerianus* apresentaram três grupos, porém com distinção entre o agrupamento dentre os rios. *Pellona harroweri* (Figura 35a), apresentou os grupamentos divididos em Rio Caravelas/Ipiranga + Doce + São Mateus, enquanto *L. grossidens* (Figura 35b), *T. paulistanus* (Figura 35c) mostraram três grupos divididos em Caravelas/São Mateus + Ipiranga + Doce. Essas três espécies possuem em comum o Rio Doce com distinção moderada entre as populações, fato possivelmente ligado a biologia das espécies que ocorrem em ambientes salobros e fundos lamacentos (CERVIGÓN et al., 1992; CRIALES-HERNANDEZ, 2003; CONTENTE et al., 2009; MAI et al., 2014). *Chirocentrodon blekeerianus* (Figura 35h) apresentou três agrupamentos divididos entre Rio Caravelas/Doce + Ipiranga + São Mateus.

As demais espécies apresentaram dois subgrupos: as amostras do Rio Caravelas se isolaram das demais localidades em *L. breviceps* (Figura 35d); para *C. nobilis* (Figura 35e) a localidade Ipiranga se diferenciou das demais e por fim, *I. parvipinnis* (Figura 35f) evidenciou que as amostras de São Mateus se divergem e segregam das demais. Por fim, *O. mucronatus* (Figura 35g) apresenta as populações do Doce e de Caravelas levemente diferenciadas. Para essa última espécie, embora a população do estuário do rio Ipiranga pareça ser distinta no DAPC, a análise de diferenciação (Figura 36) evidencia a proximidade genética com as populações do Rio Doce, isso se deve possivelmente à proximidade entre os estuários. Entre as espécies recifais, *C. fulva* (Figura 35j) evidenciou uma leve diferenciação entre as amostras da área 1, em relação às áreas 2, 3 e 4, resultado corroborado pela análise de diferenciação genética (Djost Figura 36j). *Lutjanus analis* (Figura 35i) apresentou diferença entre as populações da área 1 e 2 em comparação com as populações encontradas na área 3 e 4. A espécie *E. morio* (Figura 35k) apresentou quatro diferentes grupos moderadamente distintos entre si, sendo que a área 4 possui poucos exemplares coletados até o momento. *Mycteroperca bonaci* (Figura 35l) exibiu três agrupamentos, com a área 1 e 2 diferenciando-se da área 3, e a área 4 sendo distinta das demais. É importante considerar que o número amostral na área 4, relativamente baixo, pode influenciar nos resultados. *Mycteroperca interstitialis* (Figura 35n) apresenta três diferentes grupos, com a área 1 e 2 moderadamente distintas da área 3 e 4, porém devemos ressaltar que as áreas 1 e 3 apresentaram baixo número de indivíduos amostrados, o que pode enviesar o resultado. Deve-se ressaltar que a espécie *M. venenosa* (Figura 35o) teve seus resultados afetados negativamente neste indicador devido ao grande déficit de amostras em três das quatro áreas de coletas.

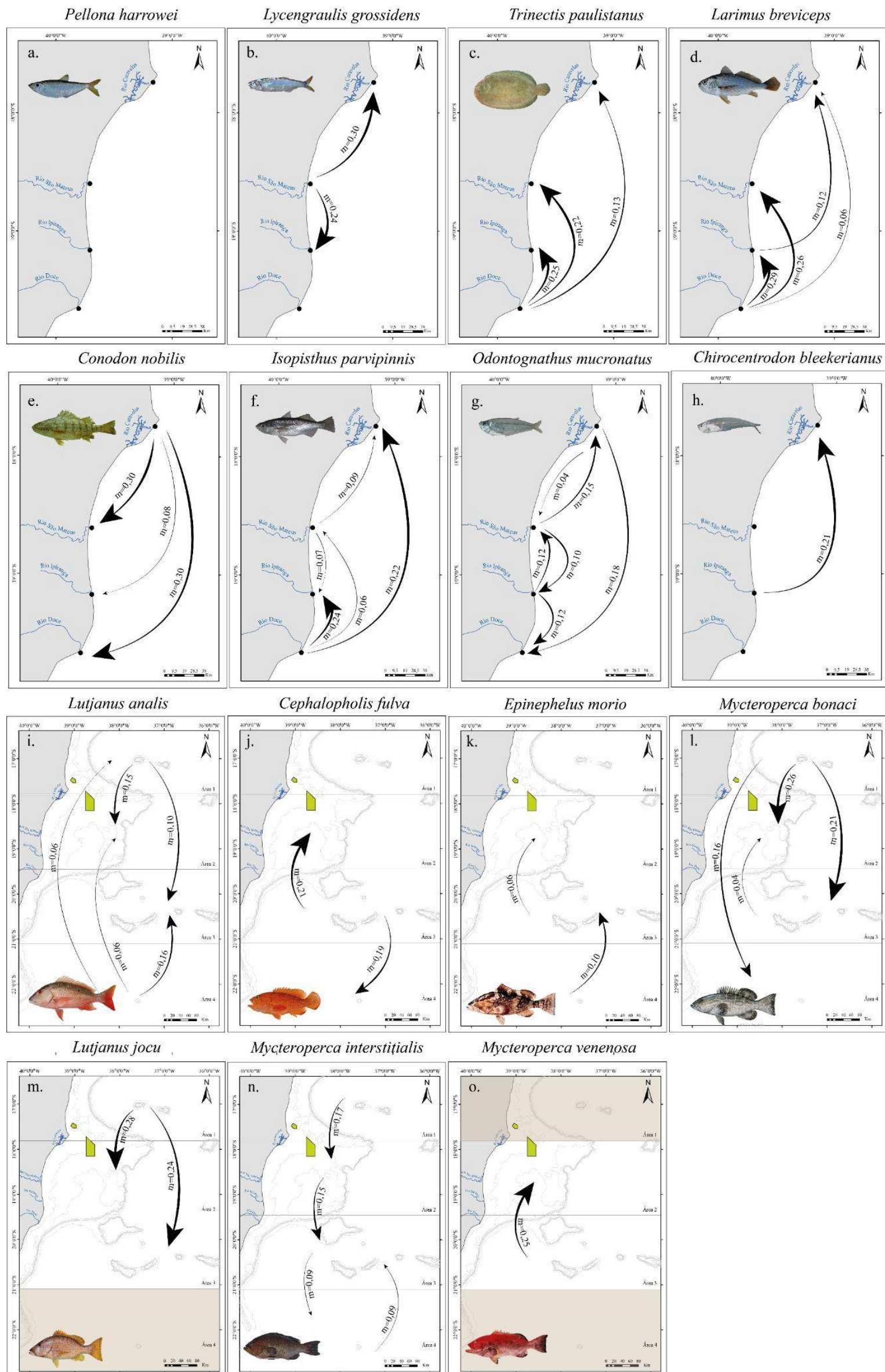
Figura 36: Índices de diversidade e estruturação genética. Gráfico de calor da matriz de diferenciação par-a-par baseado no índice D entre as sete populações estuarinas (a-h) e as sete áreas recifais (i-o). As cores escuras (azul e roxa) refletem alta diferenciação genética e as cores mais claras (verdes e amarelas) refletem baixa diferenciação genética. As espécies estuarinas são: *Pellona harroweri* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e), *Isopisthus parvipinnis* (f), *Odontognathus mucronatus* (g) e *Chirocentodon blekeerianus* (h). As espécies recifais são: *Lutjanus analis* (i), *Cephalopholis fulva* (j), *Epinephelus morio* (k), *Mycteroperca bonaci* (l), *Lutjanus jocu* (m), *Mycteroperca interstitialis* (n) e *Mycteroperca venenosa* (o). Caravelas = Estuário do rio Caravelas; São Mateus= Estuário do rio São Mateus; Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga; Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro. Valores em negrito indicam significância estatística



Empregamos o índice D proposto por Jost e a análise de variância molecular (AMOVA) para avaliar as diferenças espaciais sobre a diversidade genética das espécies avaliadas. Optamos pelo índice D (Dest) em vez do clássico Fst devido ao seu menor viés para marcadores altamente polimórficos, como os microssatélites. Entre as espécies estuarinas, *P. harroweri* (Figura 36a), *C. nobilis* (Figura 36e) e *I. parvipinnis* (Figura 36f) mostraram valores significativos, variando de moderados a altos, entre as populações dos quatro estuários. *Lycengraulis grossidens* (Figura 36b) também exibiu valores altos e significativos, exceto entre as populações de São Mateus e Ipiranga. Já entre as populações de *T. paulistanus* (Figura 36c), apenas as comparações entre Doce e Ipiranga, Doce e Caravelas, e Ipiranga e Caravelas foram significativas. *Larimus breviceps* (Figura 36d) teve valores significativos apenas entre a população do estuário do rio Caravelas e outras áreas. Destacamos para *O. mucronatus* (Figura 36g) que apenas a diferenciação entre Doce vs Ipiranga foi considerada baixa e não significativa, enquanto para *C. bleekerianus* (Figura 36h) a baixa diferenciação e sem significância estatística ocorreu entre Doce vs. Mateus, Caravelas vs. Ipiranga e Caravelas vs. Doce. Para os recifais, a diferenciação populacional foi menor, com exceção de *M. interstitialis* (Figura 36n), cujos valores de Dest foram altos e significativos envolvendo as áreas 2 com 3 e 4, e as áreas 3 e 4. *Lutjanus analis* (Figura 36i) e *E. morio* (Figura 36k) apresentaram valores significativos e baixos entre as populações das quatro áreas, enquanto *C. fulva* (Figura 36j) teve valores significativos entre a área 1 e 3 e 1 e 4. *Mycteroperca bonaci* (Figura 36l) mostrou maior diferenciação entre as áreas 1 e 4, e 2 e 4, enquanto para *L. jocu* (Figura 36m), as áreas 1, 2 e 3 foram significativamente diferentes entre si. Não houve diferenciação significativa entre as únicas áreas amostradas, 2 e 3, para *M. venenosa* (Figura 36o). Esses resultados são consistentes com a análise de estrutura populacional.

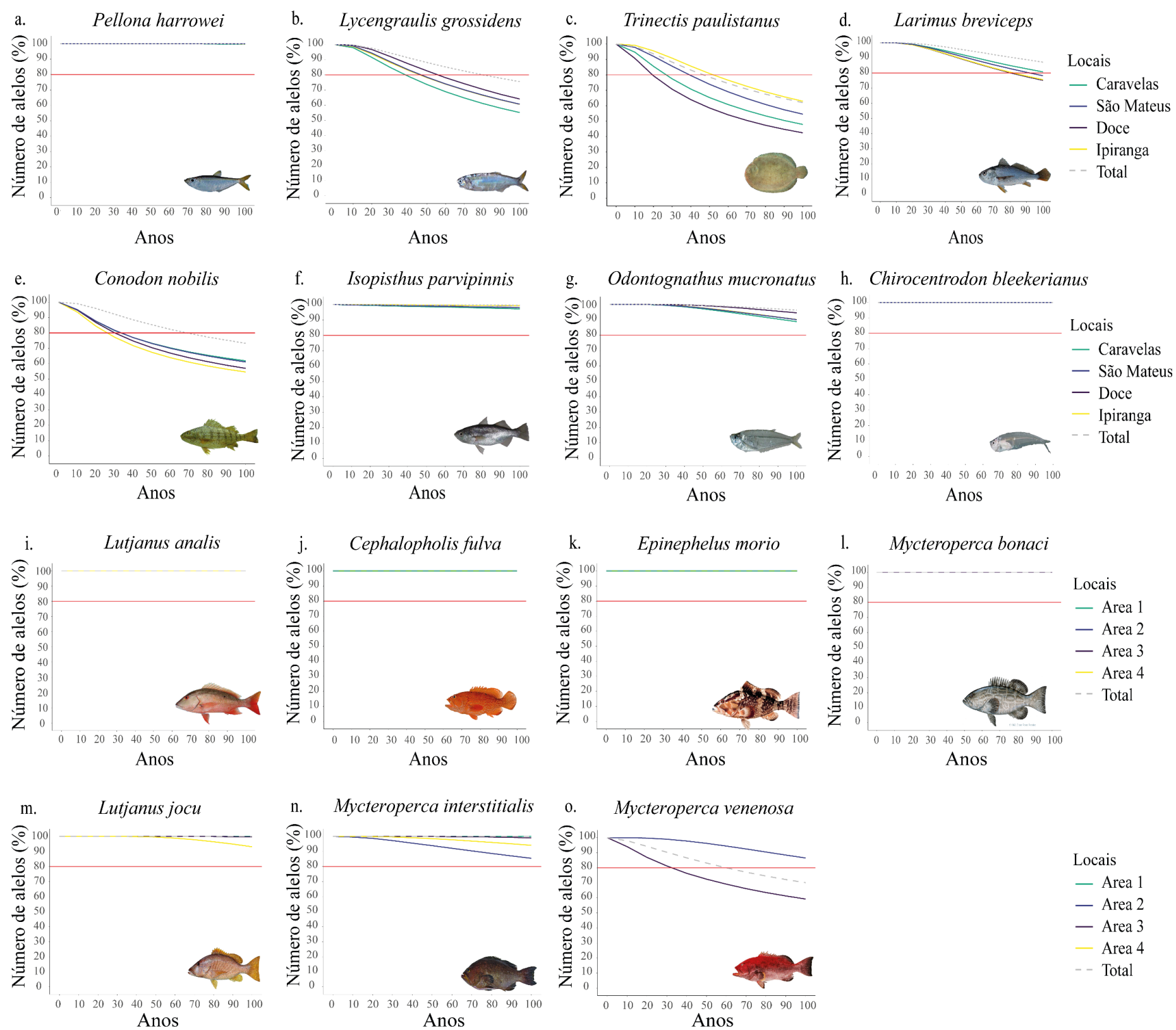
A análise AMOVA foi significativa apenas para *T. paulistanus*, *L. breviceps*, *C. nobilis*, *I. parvipinnis*, *O. mucronatus* e *C. bleekerianus* que apresentaram uma alta variação genética dentro das populações (81,43%, 88,99%, 93,01%, 84,33%, 95,92% e 92,73% respectivamente) e moderada a baixa diferenciação genética entre as populações (18,57%, 11,01%, 6,99%, 15,67%, 4,98% e 7,27% respectivamente). A moderada diferenciação entre as populações dessas espécies é resultado do fluxo gênico, conforme será visto no próximo indicador (Figura 37). Ao examinarmos as espécies recifais, constatamos que *L. analis*, *E. morio*, *M. bonaci* e *L. jocu* demonstraram baixa variação genética significativa entre as populações, registrando percentuais de 1,1%, 8,49%, 2,8%, 2,5% respectivamente, exceto para *M. interstitialis* que foi considerada moderada (15,08%). Ao examinarmos as espécies recifais, exceto por *M. interstitialis*, constatamos que *L. analis*, *E. morio*, *M. bonaci* e *L. jocu* demonstraram baixa variação genética significativa entre as populações quando comparada com as estuarinas. O teste de Mantel foi realizado e não revelou quaisquer correlações entre a distância genética e geográfica para nenhuma das espécies, sugerindo que a divergência genética observada entre as populações não está diretamente relacionada com a distância geográfica entre elas.

Figura 37: Índices de diversidade e estruturação genética. Fluxo gênico entre as populações das espécies estuarinas (a-h) e recifais (i-o) estimado no software BayesAss v3.04. Apenas as taxas e a direção da migração que foram significativas (com intervalos de confiança acima de zero) estão sendo evidenciadas. A intensidade da seta indica a taxa de migração entre as áreas sendo classificada de baixa ($<0,1$), moderada ($0,1 < x < 0,2$) e alta ($>0,2$). As espécies estuarinas são: *Pellona harrowei* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e), *Isopisthus parvipinnis* (f), *Odontognathus mucronatus* (g) e *Chirocentron bleekermanus* (h). As espécies recifais são: *Lutjanus analis* (i), *Cephalopholis fulva* (j), *Epinephelus morio* (k), *Mycteroperca bonaci* (l), *Lutjanus jocu* (m), *Mycteroperca interstitialis* (n) e *Mycteroperca venenosa* (o). Caravelas = Estuário do rio Caravelas; São Mateus = Estuário do rio São Mateus; Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga; Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos (Evidenciado no mapa); Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro. As áreas em destaque para as espécies *L. jocu* e *M. venenosa* não apresentam espécimes.



O fluxo gênico é um importante componente a ser avaliado em genética de populações devido a sua importância na manutenção do potencial evolutivo de uma espécie, regulando a sua diversidade genética, evitando a diferenciação populacional ou os padrões de adaptação local e propagando genes adaptativos entre as populações. Nenhuma das espécies analisadas apresentou o mesmo padrão de taxa e direção do fluxo gênico, possivelmente devido às particularidades de suas histórias de vida, habitat e nicho ecológico. Com relação a intensidade do fluxo, esta é maior entre populações adjacentes do que aquelas mais distantes (salvo algumas exceções, como *C. nobilis* (Figura 37e), *I. parvipinnis* (Figura 37f), *O. mucronatus* (Figura 37g) e *C. bleekermanus* (Figura 37h). No contexto geral, em três das sete espécies estuarinas *T. paulistanus* (Figura 37c), *L. breviceps* (Figura 37d) e *I. parvipinnis* (Figura 37f) analisadas, é possível evidenciar a importância do estuário do Rio Doce como populações fonte. Como a análise pode detectar assinatura de fluxo gênico atual ou de poucas gerações atrás é necessário utilizar outros algoritmos para identificar se esse padrão é histórico ou se foi uma consequência das alterações sofridas pela área de impacto que podem estar repelindo as espécies da região. Entre as espécies recifais, *L. analis* (Figura 37i) foi a que apresentou maior número de populações envolvidas no fluxo gênico estimado, sendo a área 4 considerada fonte. Tanto para *C. fulva* (Figura 37j) quanto *E. morio* (Figura 37k) observamos fluxo gênico entre as populações da área 3 (área de impacto) com as áreas 2 e 4. A diferença entre elas está na intensidade do fluxo, maior para *C. fulva*, e na direção da troca de indivíduos entre as áreas 3 e 4. *Mycteroperca venenosa* (Figura 37o) também apresentou fluxo gênico originado na área 3 para área 2. Tanto *M. bonaci* (Figura 37l) quanto *L. jocu* (Figura 37m) apresentam a área 1 como fonte para as demais áreas analisadas. Por fim, na espécie *M. interstitialis* foi estimado um fluxo gênico de baixo a moderado entre as áreas 1 e 2, 2 e 3, e 3 e 4, sendo esse último bidirecional. De forma geral, esperava-se um fluxo gênico maior entre as espécies recifais do que as estuarinas, uma vez que a diferenciação genética foi menor nas espécies recifais. Essa resposta provavelmente decorre da sub amostragem da área 4 para as espécies *C. fulva*, *E. morio*, *L. jocu* e *M. venenosa*, além das áreas 1 e 3 para *M. interstitialis*, afetando as estimativas de fluxo gênico.

Figura 38: Índices de diversidade e estruturação genética. Viabilidade genética por meio do número de alelos observados. Por meio do software BottleSim v.2.6 é avaliado a porcentagem de retenção da diversidade genética (número de alelo) nos próximos 100 anos. Valores teóricos apontam que as populações são capazes de persistirem se manterem pelo menos 80% da diversidade genética atual (linha vermelha). Cada população apresenta uma cor diferente. A linha pontilhada cinza representa o cenário de uma única população. As espécies estuarinas são: *Pellona harroweri* (a), *Lycengraulis grossidens* (b), *Trinectes paulistanus* (c), *Larimus breviceps* (d), *Conodon nobilis* (e), *Isopisthus parvipinnis* (f), *Odontognathus mucronatus* (g) e *Chirocentrodon bleekermanus* (h). As espécies recifais são: *Lutjanus analis* (i), *Cephalopholis fulva* (j), *Epinephelus morio* (k), *Mycteroperca bonaci* (l), *Lutjanus jocu* (m), *Mycteroperca interstitialis* (n) e *Mycteroperca venenosa* (o). Caravelas = Estuário do rio Caravelas; São Mateus = Estuário do rio São Mateus; Ipiranga = Estuário do rio Ipiranga; Doce = Estuário do Rio Doce (Área de Impacto). Área 1 = Norte de Abrolhos e Royal Charlotte; Área 2 = Sul do banco de Abrolhos; Área 3 = Plataforma estreita entre Linhares e Piúma (Área Impacto); Área 4 = Marataízes e norte do Rio de Janeiro.



A diversidade genética é um componente vital para a sobrevivência a longo prazo das espécies. A sua diminuição pode afetar a aptidão e a habilidade das populações se adaptarem a mudanças ambientais (REED & FRANKHAM, 2003). A magnitude e a velocidade da redução da aptidão, dependem do tamanho populacional efetivo e do padrão da variabilidade genética associada com a população original (AGUILAR et al., 2008). Entre os vários índices de diversidade genética a serem avaliados, a diversidade alélica (número de alelos) está associada com o potencial adaptativo da população, uma vez que a capacidade de evolução a longo prazo da população depende da presença de loci polimórficos (ALLENDORF, 1986). Considerando que estudos teóricos de viabilidade populacional focam em manter pelo menos 80% dos atuais níveis de diversidade genética nos próximos 100 anos (FRANKHAM et al., 2010), os resultados das simulações (Figura 38), com base no número de alelos, revelaram que, com algumas exceções (*P. harrowei* - Figura 38a, *I. parvipinnis* - Figura 38f, *O. mucronatus* - Figura 38g e *C. bleekermanus* - Figura 38h) nenhuma das populações das espécies estuarinas alcançará esse objetivo sem planos de mitigação. Cenário diferente daqueles simulados para as populações das espécies recifais (exceto para a Área 3, zona de impacto, da espécie *M. venenosa* - Figura 38o) que evidenciaram leve declínio da diversidade genética não afetando o potencial adaptativo das populações a longo prazo. A diferença de padrões provavelmente seja decorrente das histórias de vida das espécies. As espécies recifais apresentam a idade de maturidade sexual mais tardia que as espécies estuarinas; isso pode indicar que os indivíduos amostrados para essa análise representam a geração daqueles do momento do impacto e, portanto, não apresentam sinais de alterações do padrão de diversidade genética. Além disso, as espécies recifais apresentam maior longevidade, o que nas simulações resulta em menos gerações sofrendo as consequências genéticas fruto da deriva genética (7 gerações para *M. venenosa*, espécie que apresentou maior declínio de retenção de diversidade genética, e 3 gerações para as demais espécies). Isso quer dizer que, embora não tenham sido detectados sinais de declínio acentuado de diversidade genética, exceto para *M. venenosa*, as espécies recifais não estão isentas do impacto promovido pelo rompimento da Barragem de Fundão, porém é necessário mais tempo para a sua detecção. Ressaltamos que as simulações estão baseadas em cenários que não consideram a redução do tamanho populacional, porém, os dados genéticos aqui apresentados indicam que todas as populações estão vivenciando reduções (Tabela 18), logo os cenários de declínio de diversidade genética podem ser mais severos.

Diante desses resultados, ações futuras de conservação devem visar melhorar a variabilidade genética atual (promover fluxo gênico é uma sugestão) usando as projeções avaliadas neste monitoramento como guia. Além disso, é necessário estimar e monitorar as consequências demográficas e genéticas do impacto causado pelo rompimento da Barragem de Fundão.

3.7 USO DE HABITAT DO ROBALO-PEVA

Tabela 19: Uso de habitat do robalo-peva. Informações gerais de todos os indivíduos marcados durante o monitoramento por telemetria passiva e ativa, entre os Anos 1 a 5 nos Rios Doce e São Mateus. Siglas: CENPAR, *Centropomus parallelus*; SD, sem detecção; RD, Rio Doce; SM, rio São Mateus.

Espécie/ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	Nº total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR01	15/03/2019	Contínuo	RD	42,5	10439	23/03/2019	8	0,88	-	5,31	0,041	0,001	0,012
CENPAR02	15/03/2019	Codificado	RD	34,5	347	17/03/2019	3	0,67	0,26	-	-	-	-
CENPAR03	16/03/2019	Codificado	RD	29,5	32260	12/01/2020	303	0,85	0,35	-	-	-	-
CENPAR04	16/03/2019	Contínuo	RD	29,5	5369	23/03/2019	8	0,88	-	7,31	0,181	0,017	0,082
CENPAR05	16/03/2019	Contínuo	RD	35,5	10075	23/03/2019	8	0,75	-	11,05	0,589	0,158	0,745
CENPAR06	17/03/2019	Contínuo	RD	36,0	11920	23/03/2019	7	0,86	-	5,52	0,013	0,000	0,004
CENPAR07	17/03/2019	Contínuo	RD	30,0	4750	21/03/2019	5	0,80	-	10,11	1,740	0,426	1,874
CENPAR08	17/03/2019	Contínuo	RD	30,0	5164	21/03/2019	7	0,71	-	5,63	0,220	0,021	0,182
CENPAR09	18/03/2019	Codificado	RD	30,0	416	20/03/2019	3	1,00	0,28	-	-	-	-
CENPAR10	19/03/2019	Codificado	RD	30,0	795	19/04/2019	32	0,44	0,06	2,28	-	0,001	0,014
CENPAR11	27/05/2019	Contínuo	RD	40,0	17178	07/06/2019	11	0,82	-	14,54	0,465	0,048	0,358
CENPAR12	27/05/2019	Contínuo	RD	41,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR13	30/05/2019	Contínuo	RD	31,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR14	01/06/2019	Contínuo	RD	31,0	6114	05/06/2019	5	0,80	-	4,41	0,207	0,001	0,012
CENPAR15	02/06/2019	Codificado	RD	36,0	6141	05/02/2020	248	0,33	0,07	92,00	4,200	0,139	0,891
CENPAR16	02/06/2019	Codificado	RD	43,5	2978	16/06/2019	15	0,93	0,43	44,68	0,602	0,449	2,326
CENPAR17	02/06/2019	Codificado	RD	37,5	1962	08/08/2019	68	0,56	0,09	45,71	4,802	0,100	0,781
CENPAR18	02/06/2019	Codificado	RD	34,5	2354	27/07/2019	56	0,50	0,10	37,41	4,200	0,672	2,956
CENPAR19	02/06/2019	Codificado	RD	34,0	665	12/07/2019	41	0,61	0,08	3,05	-	0,099	0,586
CENPAR20	06/07/2019	Contínuo	SM	31,0	3977	09/07/2019	4	0,50	-	3,36	0,526	0,139	0,870
CENPAR21	06/07/2019	Contínuo	SM	30,6	5295	10/07/2019	5	0,80	-	8,92	1,144	0,007	0,077

Espécie/ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	Nº total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR22	06/07/2019	Contínuo	SM	30,5	1236	07/07/2019	2	0,50	-	0,44	0,002	0,001	0,004
CENPAR23	06/07/2019	Contínuo	SM	29,5	9065	15/07/2019	10	0,70	-	14,03	2,262	0,114	0,672
CENPAR24	06/07/2019	Contínuo	SM	31,5	11048	13/07/2019	8	0,88	-	5,90	0,010	0,000	0,003
CENPAR25	07/07/2019	Codificado	SM	33,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR26	07/07/2019	Codificado	SM	32,5	1717	14/07/2019	8	0,75	0,35	12,56	3,242	0,700	4,933
CENPAR27	07/07/2019	Codificado	SM	34,0	4953	31/01/2020	209	0,08	0,03	11,19	2,352	0,012	0,089
CENPAR28	14/07/2019	Codificado	SM	50,0	89	22/08/2019	40	0,13	0,01	2,07	-	0,056	0,345
CENPAR29	14/07/2019	Codificado	SM	49,5	4776	03/02/2020	205	0,61	0,15	165,52	2,352	0,169	0,884
CENPAR30	14/07/2019	Codificado	SM	46,5	39	18/07/2019	5	0,60	0,06	2,41	-	0,285	1,506
CENPAR31	02/09/2019	Codificado	SM	39,7	202	07/09/2019	6	0,83	0,16	7,93	2,352	2,001	9,760
CENPAR32	21/09/2019	Contínuo	SM	34,8	11566	30/09/2019	10	0,90	-	14,36	1,165	0,075	0,359
CENPAR33	21/09/2019	Contínuo	SM	36,0	1268	21/09/2019	1	100,00	-	11,72	0,684	-	0,002
CENPAR34	21/09/2019	Contínuo	SM	38,0	11463	30/09/2019	10	0,90	-	9,74	0,204	0,015	0,088
CENPAR35	22/09/2019	Contínuo	SM	29,5	11796	30/09/2019	9	1,00	-	7,80	0,195	0,004	0,032
CENPAR36	22/09/2019	Contínuo	SM	31,0	10764	30/09/2019	9	1,00	-	7,02	0,548	0,163	0,692
CENPAR37	22/09/2019	Contínuo	SM	30,5	2676	24/09/2019	3	0,67	-	1,19	0,018	0,007	0,031
CENPAR38	28/09/2019	Codificado	SM	28,0	106	09/10/2019	12	0,33	0,04	4,66	2,352	2,229	10,573
CENPAR39	28/09/2019	Codificado	SM	28,5	25	29/09/2019	2	1,00	0,08	4,66	2,352	4,145	16,889
CENPAR40	29/09/2019	Codificado	SM	35,0	523	03/02/2020	128	0,11	0,02	18,65	2,352	1,861	7,718
CENPAR41	30/04/2021	Contínuo	RD	37,0	25594	27/05/2021	29	1,00	-	28,64	1,412	0,073	0,878
CENPAR42	30/04/2021	Contínuo	RD	36,0	28568	27/05/2021	29	1,00	-	25,45	1,064	0,089	0,722
CENPAR43	01/05/2021	Contínuo	RD	41,0	10871	27/05/2021	27	1,00	-	16,27	1,476	0,010	0,434
CENPAR44	01/05/2021	Contínuo	RD	46,0	33948	27/05/2021	27	1,00	-	52,11	7,968	0,063	-
CENPAR45	02/05/2021	Contínuo	RD	34,0	28375	27/05/2021	26	1,00	-	30,88	1,478	0,113	0,981
CENPAR46	29/03/2022	Codificado	RD	37,0	327	17/08/2022	142	0,10	0,01	9,40	0,785	0,024	0,136

Espécie/ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	Nº total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR47	30/03/2022	Codificado	RD	28,5	82	27/09/2022	182	0,11	0,01	11,33	0,766	0,526	2,833
CENPAR48	05/04/2022	Codificado	RD	34,0	72	28/03/2023	358	0,04	0,00	5,91	0,043	0,020	0,098
CENPAR49	12/04/2022	Codificado	RD	37,5	113	05/05/2022	24	0,54	0,06	2,63	0,809	0,109	0,803
CENPAR50	12/04/2022	Codificado	RD	38,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR51	12/04/2022	Codificado	RD	30,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR52	12/04/2022	Codificado	RD	29,0	10	27/10/2022	200	0,03	0,00	0,85	0,006	0,014	0,054
CENPAR53	12/04/2022	Codificado	RD	29,5	35	01/03/2023	322	0,04	0,00	5,39	0,066	0,089	-
CENPAR54	12/04/2022	Codificado	RD	28,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR55	12/04/2022	Codificado	RD	30,0	8	27/10/2023	158	0,03	0,00	0,66	0,007	0,030	-
CENPAR56	10/05/2022	Codificado	RD	38,5	1976	24/01/2023	260	0,36	0,05	25,79	2,746	0,036	0,244
CENPAR57	10/05/2022	Codificado	RD	32,5	6	10/05/2022	1	1,00	0,01	-	-	-	-
CENPAR58	10/05/2022	Codificado	RD	28,5	218	14/05/2022	5	1,00	0,39	2,69	-	-	-
CENPAR59	09/11/2022	Contínuo	SM	35,0	1111	23/11/2022	15	0,26	-	1,83	0,027	0,002	0,014
CENPAR60	09/11/2022	Contínuo	SM	43,8	770	11/11/2022	3	1,00	-	4,36	0,418	0,075	0,422
CENPAR61	09/11/2022	Contínuo	SM	33,8	3039	23/11/2022	15	0,46	-	10,91	0,854	0,004	0,049
CENPAR62	09/11/2022	Contínuo	SM	30,5	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR63	10/11/2022	Contínuo	SM	39,7	2343	18/11/2022	9	0,66	-	10,88	1,998	0,461	2,405
CENPAR64	09/11/2022	Codificado	SM	42,3	24	22/03/2023	114	0,08	0,01	8,33	1,400	2,027	8,376
CENPAR65	09/11/2022	Codificado	SM	37,9	295	25/11/2023	17	0,41	0,09	6,23	1,050	0,014	0,074
CENPAR66	10/11/2022	Codificado	SM	36,3	22396	23/01/2023	75	0,80	0,32	104,51	4,181	0,169	1,438
CENPAR67	10/11/2022	Codificado	SM	38,0	3	10/11/2023	1	1,00	0,04	0,23	-	-	-
CENPAR68	10/11/2022	Codificado	SM	33,3	21911	28/03/2023	139	0,71	0,33	814,17	4,254	0,460	2,387
CENPAR69	22/03/2023	Codificado	SM	39,0	108	23/03/2023	2	1,00	0,18	4,63	1,810	0,900	4,730
CENPAR70	22/03/2023	Codificado	SM	45,0	410	21/04/2023	31	0,26	0,10	17,85	0,667	0,485	2,206
CENPAR71	22/03/2023	Codificado	SM	41,0	8	22/03/2023	1	1,00	0,16	-	-	-	-

Espécie/ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	Nº total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR72	22/03/2023	Codificado	SM	43,0	2565	02/08/2023	134	0,26	0,06	51,46	0,730	0,263	1,187
CENPAR73	22/03/2023	Codificado	SM	46,5	2230	27/04/2023	37	0,43	0,17	54,17	4,040	1,046	5,309
CENPAR74	21/05/2023	Codificado	RD	44,0	175	08/07/2023	48	0,08	0,01	9,21	7,863	3,264	20,840
CENPAR75	21/05/2023	Codificado	RD	28,1	30	12/12/2023	206	0,02	0,00	6,35	0,132	1,174	-
CENPAR76	21/05/2023	Codificado	RD	38,5	341816	26/01/2024	251	0,97	0,89	31,47	-	-	-
CENPAR77	21/05/2023	Codificado	RD	-	11656	10/11/2023	174	0,11	0,06	1,55	0,126	-	-
CENPAR78	21/05/2023	Codificado	RD	34,0	84086	26/12/2023	220	0,93	0,45	12,22	-	-	-
CENPAR79	22/05/2023	Codificado	RD	28,5	33741	18/01/2024	243	0,03	0,14	5,02	0,240	-	-
CENPAR80	22/05/2023	Codificado	RD	-	496	02/01/2024	228	0,04	0,00	1,79	0,103	0,006	0,032
CENPAR81	23/05/2023	Codificado	RD	40,5	221	12/12/2023	207	0,04	0,00	7,80	0,207	0,189	1,173
CENPAR82	23/05/2023	Codificado	RD	28,5	14	23/05/2023	1	1,00	0,04	-	-	-	-
CENPAR83	23/05/2023	Codificado	RD	29,5	183	11/06/2023	20	0,50	0,04	2,50	0,083	0,005	0,023
CENPAR84	29/05/2023	Codificado	SM	31,2	10822	12/07/2023	45	0,77	0,42	5,13	0,053	-	-
CENPAR85	29/05/2023	Codificado	SM	39,6	34153	16/01/2024	233	0,39	0,26	68,52	3,680	0,013	0,094
CENPAR86	29/05/2023	Codificado	SM	33,1	5195	15/11/2023	171	0,25	0,07	196,42	15,160	10,990	47,502
CENPAR87	29/05/2023	Codificado	SM	29,1	6714	14/09/2023	109	0,65	0,19	48,73	0,860	0,034	0,216
CENPAR88	29/05/2023	Codificado	SM	30,6	2926	25/09/2023	120	0,28	0,05	65,87	17,014	6,356	28,029
CENPAR89	29/05/2023	Codificado	SM	31,0	538	12/06/2023	15	0,80	0,15	-	-	-	-
CENPAR90	29/05/2023	Codificado	SM	32,1	5639	04/07/2023	37	0,81	0,41	17,15	-	0,180	-
CENPAR91	29/05/2023	Codificado	SM	33,5	11584	22/08/2023	86	1,00	0,29	117,49	3,010	0,256	2,037
CENPAR92	29/05/2023	Codificado	SM	30,0	9923	22/08/2023	86	0,85	0,26	145,69	2,803	0,430	2,344
CENPAR93	06/07/2023	Codificado	RD	30,5	151820	23/01/2024	202	0,96	0,73	7,12	-	-	-
CENPAR94	06/07/2023	Codificado	RD	32,4	17	01/09/2023	58	0,03	0,00	0,29	0,002	0,002	0,015
CENPAR95	06/07/2023	Codificado	RD	36,2	2	04/08/2023	30	0,06	0,00	0,06	-	-	-
CENPAR96	19/07/2023	Codificado	RD	28,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-

Espécie/ID	Data Marcação	Transmissor	Local	CT (cm)	Nº total detecções	Data última detecção	Período de detecção (dias)	Índice de residência	Índice de fidelidade	Distância (Km)	MCP (Km²)	KUD50 (Km²)	KUD95 (Km²)
CENPAR97	19/07/2023	Codificado	RD	37,2	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR98	19/07/2023	Codificado	RD	39,0	378	14/08/2023	27	0,55	0,17	57,80	48,115	13,249	86,035
CENPAR99	19/07/2023	Codificado	RD	37,2	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR100	19/07/2023	Codificado	RD	43,6	128	04/08/2023	17	0,18	0,01	36,94	0,689	52,787	323,581
CENPAR101	04/08/2023	Codificado	RD	32,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR102	04/08/2023	Codificado	RD	39,0	17	04/10/2023	62	0,03	0,00	0,75	0,005	0,006	0,028
CENPAR103	04/08/2023	Codificado	RD	39,7	23	12/12/2023	131	0,02	0,00	1,03	0,005	0,011	0,040
CENPAR104	04/08/2023	Codificado	RD	41,6	236	04/01/2024	154	0,03	0,00	6,52	0,410	0,089	0,499
CENPAR105	04/08/2023	Codificado	RD	42,6	20	18/01/2024	29	0,02	0,00	0,74	0,014	0,018	0,083
CENPAR106	04/08/2023	Codificado	RD	38,0	65509	26/01/2024	176	0,89	0,50	4,13	0,030	0,000	0,001
CENPAR107	04/08/2023	Codificado	RD	37,8	2592	01/09/2023	29	0,52	0,18	3,28	0,071	0,004	0,023
CENPAR108	04/08/2023	Codificado	RD	34,0	87840	26/01/2024	176	0,98	0,77	7,09	-	-	-
CENPAR109	04/08/2023	Codificado	RD	33,8	30	09/12/2023	128	0,04	0,00	6,47	0,105	2,064	12,419
CENPAR110	04/08/2023	Codificado	RD	33,6	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR111	04/08/2023	Codificado	RD	34,0	72	12/08/2023	9	0,22	0,08	-	-	-	-
CENPAR112	04/08/2023	Codificado	RD	33,6	3	01/09/2023	29	0,03	0,00	0,08	-	-	-
CENPAR113	24/10/2023	Codificado	SM	29,4	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR114	09/11/2023	Codificado	RD	33,6	1	18/01/2024	69	0,01	0,00	-	-	-	-
CENPAR115	09/11/2023	Codificado	RD	48,5	4	10/11/2023	2	0,50	0,02	0,18	-	-	-
CENPAR116	09/11/2023	Codificado	RD	29,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR117	09/11/2023	Codificado	RD	28,4	10	12/12/2023	32	0,06	0,00	1,78	0,074	0,947	-
CENPAR118	14/12/2023	Codificado	SM	31,0	314	26/01/2024	43	0,09	0,01	-	-	-	-
CENPAR119	14/12/2023	Codificado	SM	35,5	1411	24/01/2024	42	0,024	0,02	31,33	1,941	0,201	1,061
CENPAR120	14/12/2023	Codificado	SM	35,7	SD	-	-	-	-	-	-	-	-
CENPAR121	14/12/2023	Codificado	SM	35,0	SD	-	-	-	-	-	-	-	-

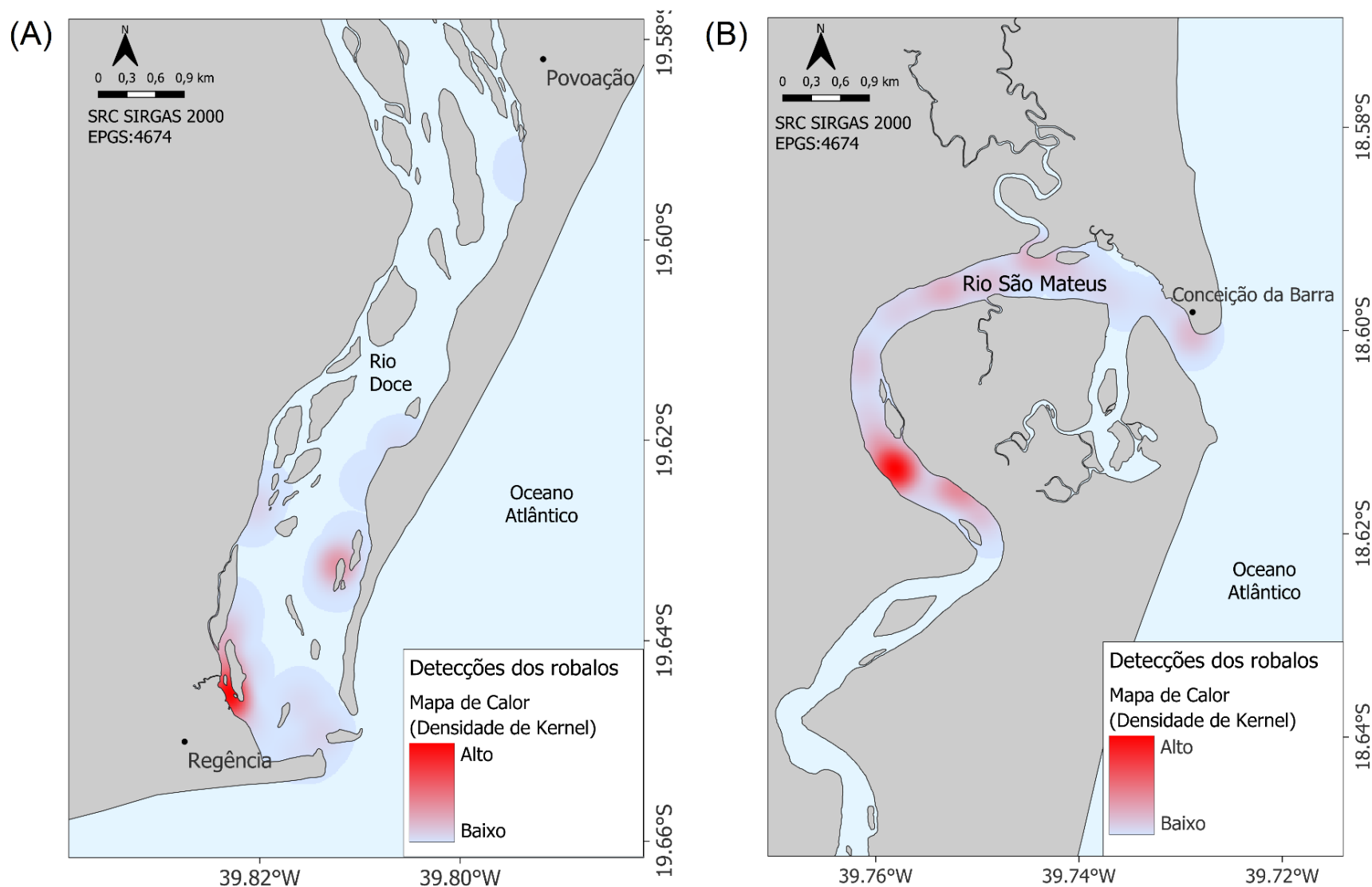
Durante todo o período de monitoramento por telemetria acústica, um total de 121 indivíduos de robalo-peva (*Centropomus parallelus*) foram marcados com transmissores acústicos, sendo 71 no Rio Doce e 50 no rio São Mateus. O comprimento total médio dos robalos marcados foi de 34,9 cm ($\pm 0,6$ cm erro padrão) no Rio Doce e 35,4 cm ($\pm 0,8$ cm erro padrão) no rio São Mateus. O período de detecção dos indivíduos marcados variou de 1 a 358 dias no Rio Doce e de 1 a 233 dias no rio São Mateus. Ao longo de todo o estudo, onze robalos marcados no Rio Doce e cinco marcados no rio São Mateus nunca foram detectados. Este número proporcionalmente maior de indivíduos marcados e não detectados no Rio Doce é provavelmente ocasionado pelas características físicas deste rio. A grande quantidade de bancos de areia que se espalham ao longo do leito do Rio Doce atuam como uma barreira física à captação do sinal acústico, fazendo com que alguns indivíduos possam não ser detectados dependendo da sua posição em relação ao receptor.

Em cada um dos rios estudados, houve dois indivíduos marcados (CENPAR12 e CENPAR81 no Rio Doce, e CENPAR30 e CENPAR90 no rio São Mateus) que foram capturados e abatidos por pescadores e tiveram os transmissores acústicos devolvidos após contato com os pesquisadores. Esta informação de recaptura de um robalo marcado é de extrema importância em trabalhos de telemetria (BROWNSCOMBE et al., 2019) e reflete a divulgação feita junto às comunidades e pescadores locais com o intuito de divulgar a pesquisa.

Os índices de residência e fidelidade, assim como os atributos de uso de habitat (i.e., distância percorrida, MCP, KUD 50 e 95) variaram entre os indivíduos analisados em ambos os rios estudados e serão apresentados e discutidos na Figura 40. Vale ressaltar que para alguns indivíduos não foi possível calcular a distância percorrida (e.g., quando o indivíduo foi detectado apenas em um único ponto), e/ou o MCP, KUD 50 e 95 (e.g., quando o indivíduo foi detectado em menos de cinco pontos distintos).

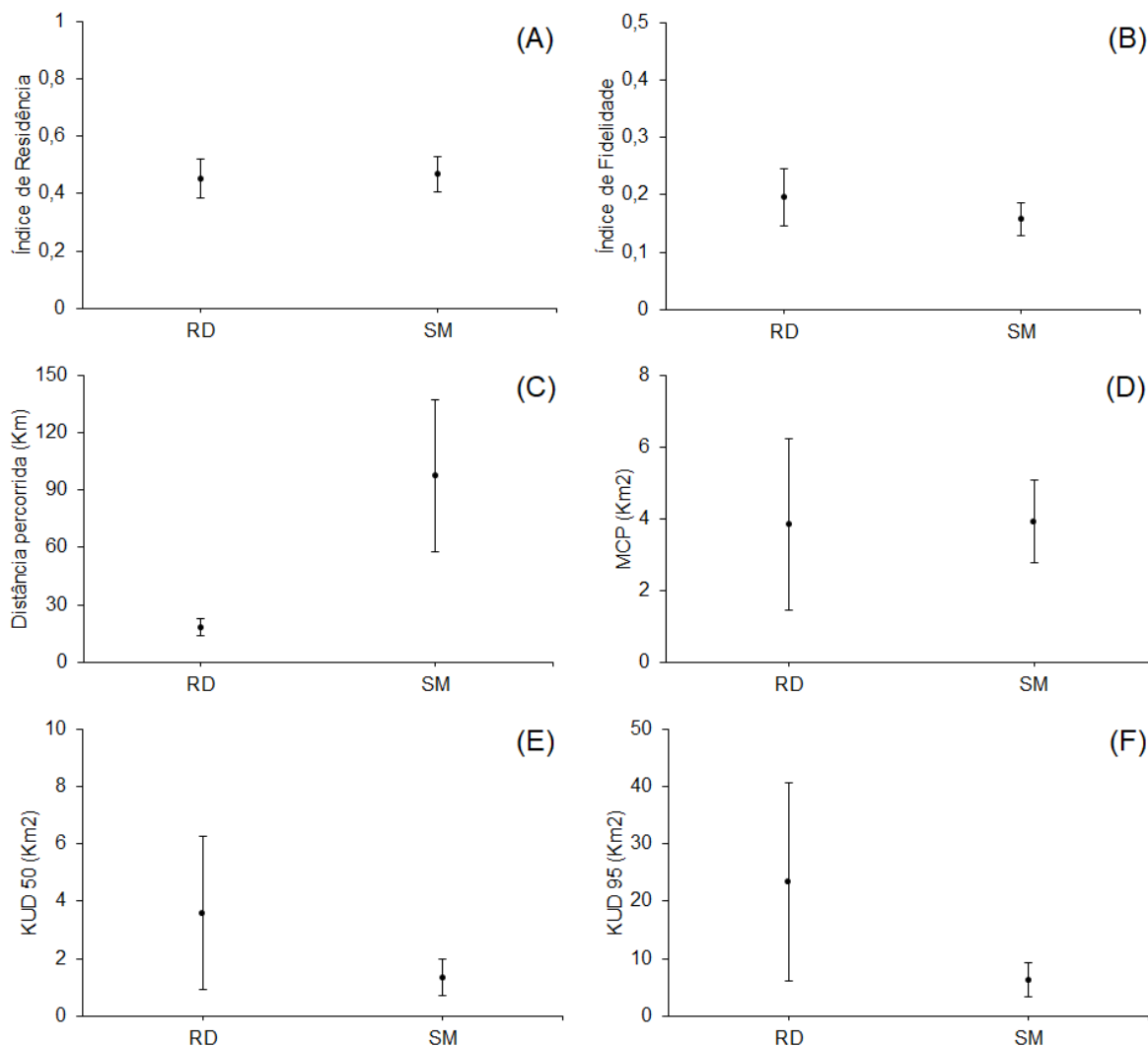
.

Figura 39: Uso de habitat do robalo-peva. Mapas de calor indicando as densidades de detecções por telemetria ativa, monitoramento mensal, dos robalos marcados acusticamente no Rio Doce (A) e São Mateus (B) entre março de 2022 e janeiro de 2024. A densidade das detecções (Kernel) também é apresentada.



A diferença do uso de habitats dos robalos entre o Rio Doce e o rio São Mateus é evidenciada pelos distintos padrões nas densidades de detecções obtidas através do rastreamento ativo mensal, um trajeto de aproximadamente 16 km que cobre as regiões estuarinas destes rios. Os resultados foram plotados nos mapas de calor (manchas vermelhas) (Figura 39). Ao longo de todo o estudo, os robalos na região estuarina do Rio Doce apresentaram uma distribuição espacial reduzida, permanecendo restritos nos canais profundos (acima de 2 m de profundidade) e geralmente associados a estruturas (troncos e galhadas) próximos à margem. Fato notável, é que os robalos nunca foram detectados na calha central do Rio Doce, que em sua maior parte é assoreada e coberta por bancos de areia e lama. De modo geral, na região estuarina do Rio Doce os robalos ocorreram principalmente no canal em frente ao porto de Regência; próximos às saídas do Rio Preto e Entre Rios; no entorno de algumas ilhas próximas à margem norte; e com menos frequência próximos a desembocadura do rio. Por outro lado, no rio São Mateus os robalos apresentam uma distribuição espacial mais homogênea e distribuída ao longo de toda região estuarina, ocupando desde a desembocadura, o leito central do rio e margens. Esta diferença no padrão de ocorrência e uso de habitats dos robalos provavelmente se deve ao fato da maior parte da região estuarina do Rio Doce estar assoreada e coberta por bancos de areia, o que diminuí a disponibilidade de habitats adequados para a espécie. Além disso, a menor disponibilidade de habitats é um fator que possivelmente potencializa a captura dos robalos na região, e está diretamente relacionado à diminuição de população de diversas espécies de peixes estuarinos (COWLEY et al., 2022).

Figura 40: Uso de habitat do robalo-peva. Valores médios dos atributos dos robalos marcados com transmissores acústicos codificados no Rio Doce (RD) e Rio São Mateus (SM) durante o período de monitoramento de março de 2019 a janeiro de 2024. (A) Índice de residência, (B) Índice de fidelidade, (C) Distância percorrida, (D) MCP - Mínimo Polígono Convexo, (E) KUD 50 e (F) KUD 95.



De modo geral, os índices de residência (i.e., frequência de ocorrência em dias) e fidelidade (i.e., frequência de ocorrência em horas) dos robalos não diferiram entre os rios estudados (Figura 40A e B), assim como também não diferiram os atributos de área de vida estimados MCP, KUD50 e 95 (Figura 40D, E e F). Entretanto uma diferença significativa na distância percorrida pelos indivíduos ($P = 0,003$; teste de Mann-Whitney) foi constatada entre o Rio Doce e o rio São Mateus. Em média os robalos no rio São Mateus percorreram distâncias cinco vezes maiores que no Rio Doce (Figura 40C). O fato dos robalos no Rio Doce percorrerem menores distâncias indica uma restrição na movimentação dos indivíduos, provavelmente imposta pelo assoreamento do rio, corroborando com o padrão de detecção evidenciado acima no monitoramento ativo (Figura 39).

Um outro aspecto importante, que também indica uma restrição na movimentação dos robalos no Rio Doce, é que durante todo o período de monitoramento com receptores fixos, nenhum dos indivíduos marcados na região estuarina foi detectado a montante, ou seja, os robalos marcados não subiram o

rio. O fato dos robalos no Rio Doce aparentemente não migrarem rio acima, difere do padrão de movimentação esperado para espécie (BOUCEK et al., 2019). Por exemplo, no rio São Mateus três indivíduos (CENPAR30, CENPAR86 e CENPAR88) subiram rio acima, pelo menos até a região da Pedra D'água em São Mateus, cerca de 30 km a montante.

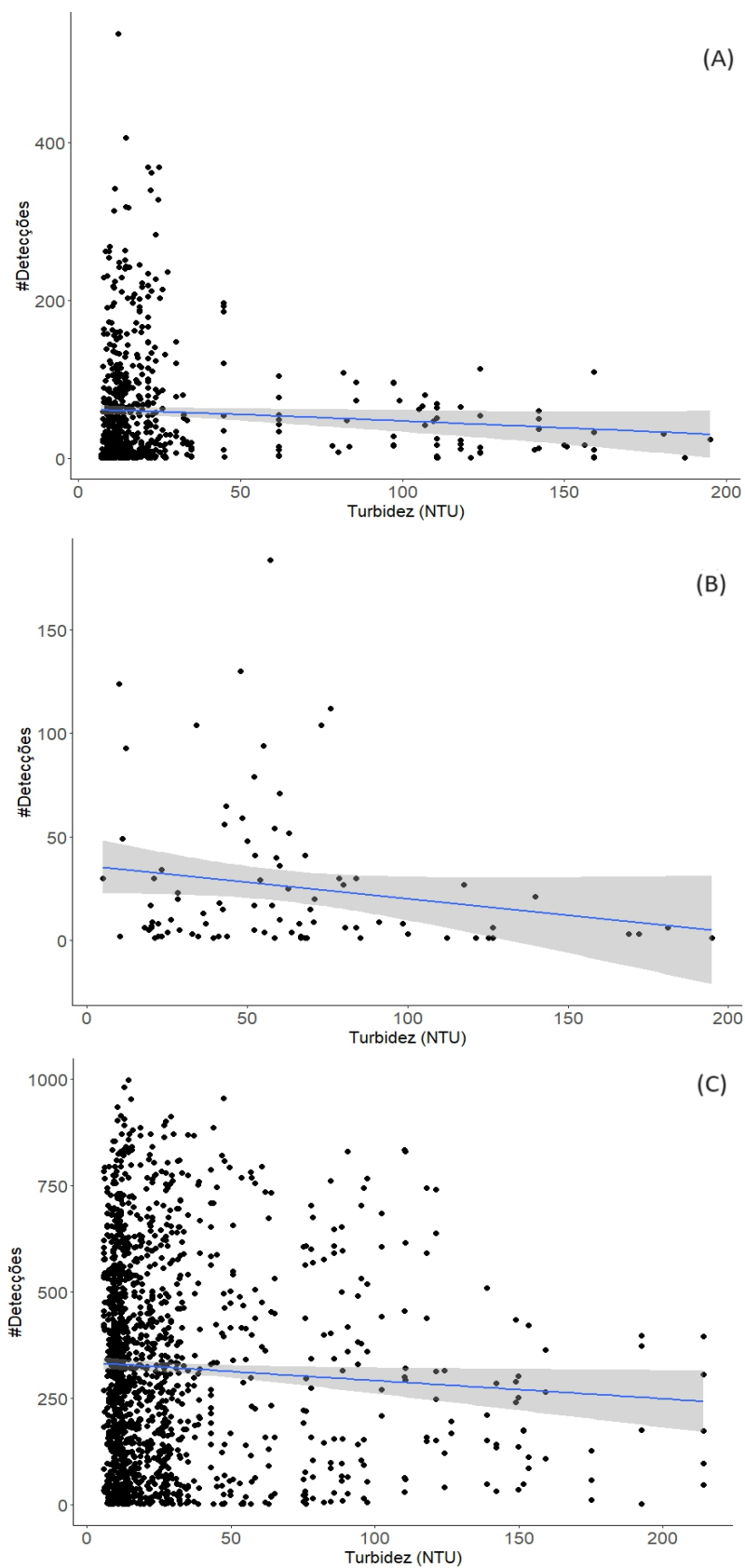
Um ponto interessante com relação ao Rio Doce, é que em julho de 2023 foram capturados e marcados cinco robalos (CENPAR96 a 100) acima da ponte de Linhares (mais de 40 km acima da foz), para avaliar se os indivíduos desta região desciam em algum momento para a região estuarina. Destes, dois indivíduos (CENPAR98 e CENPAR100), ou seja 40% dos robalos marcados nesta região, foram detectados posteriormente na região estuarina. Demonstrando a importância que o estuário do Rio Doce desempenha para a espécie, inclusive para indivíduos de populações residentes em outros trechos do rio.

Tabela 20: Uso de habitat do robalo-peva. Resultado da seleção de modelos onde foram investigadas as variáveis, indivíduo e Turbidez. Siglas: K: O número de parâmetros no modelo. AICc: A pontuação de informação do modelo (o 'c' minúsculo indica que o valor foi calculado a partir do teste AIC corrigido para amostras pequenas). Quanto menor o valor do AIC, melhor será o ajuste do modelo. Delta_AICc: A diferença na pontuação AIC entre o melhor modelo e o modelo que está sendo comparado. AICcWt: Peso AICc, que é a proporção da quantidade total de poder preditivo fornecido pelo conjunto completo de modelos contidos no modelo que está sendo avaliado. Cum.Wt: A soma dos pesos AICc. LL: Log-probabilidade. Este é o valor que descreve a probabilidade do modelo.

	K	AICc	Delta_AICc	AICcWt	Cum.Wt	LL
Turbidez + Indivíduo	30	28711,76	0	0,5	0,5	-14325,48
Turbidez + Indivíduo + Ano	30	28711,76	0	0,5	1	-14325,48
Indivíduo	29	28746,16	34,4	0	1	-14343,71
Indivíduo + Ano	29	28746,16	34,4	0	1	-14343,71
Turbidez + Ano	5	29271,86	560,1	0	1	-14630,92
Ano	4	29282,11	570,35	0	1	-14637,05
Turbidez	3	30268,84	1557,09	0	1	-15131,42

Modelos lineares generalizados (GLMs), com Critério de Informação de Akaike corrigido para amostras pequenas (AICc) e pesos de Akaike (pesos AICc, proporção da quantidade total de poder preditivo fornecido pelo conjunto completo de modelos contidos no modelo) foram utilizados para investigar quais modelos melhor explicam a variação no número de detecções dos robalos no Rio Doce. Os modelos testados continham as variáveis (a) Ano, (b) identidade do indivíduo e (c) turbidez (obtida na boia RD016 – PMQQS). Outros modelos contendo as combinações entre estas variáveis (ex. Turbidez + Ano; indivíduo + turbidez; etc.) também foram testados. Sendo assim, um total de 7 modelos foram investigados. O modelo de melhor ajuste foi definido como o modelo com menor valor de AIC, e modelos com até 2 valores de $\Delta AICs$ foram considerados equiprováveis (ANDERSON, 2008). Os resultados apontam que a turbidez combinada com identidade do indivíduo representou o modelo que mais explicou a variação nos dados de detecção (com intercepto significativo: $z = 91.02$; $p < 0.001$), já a turbidez combinada com a identidade do indivíduo e o ano de amostragem foi o segundo modelo selecionado ($z = 92.04$; $p < 0.001$).

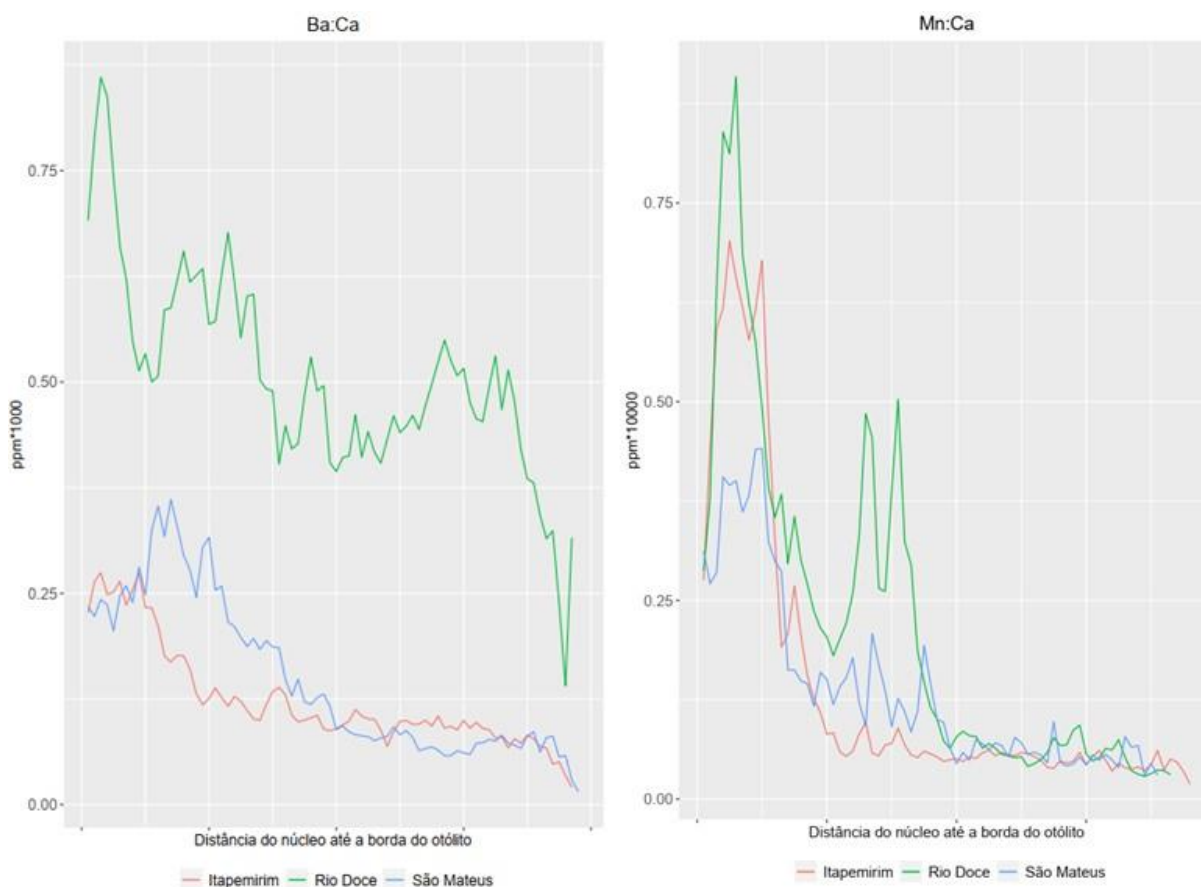
Figura 41: Uso de habitat do robalo-peva. Relação entre turbidez (NTU) e número de detecções de robalos no Rio Doce. Entre os Anos 1 e 2 (A), Ano 4 (B) e Ano 5 (C). Área cinza corresponde ao intervalo de confiança com 95%.



Relação entre o efeito da turbidez (NTU) e as detecções dos robalos na região estuarina do Rio Doce entre os Anos 1 e 2, Ano 4, Ano 5. As previsões foram baseadas na presença-ausência dos robalos e nas médias de turbidez em uma base diurna-noturna (~12h). A linha azul representa o modelo linear com melhor ajuste, enquanto a área cinza corresponde ao intervalo de confiança com 95%. Os resultados obtidos pela Telemetria Estuarina indicam que durante todos os anos de amostragem a probabilidade de detecção dos robalos é negativamente influenciada por níveis elevados de turbidez, especialmente durante o período chuvoso quando a quantidade de matéria dissolvida na água atinge o pico. Os níveis elevados de sedimento em suspensão no Rio Doce podem afetar a eficiência de predadores visuais (SNOW et al., 2018), como os robalos. Visto que atualmente uma fase de impacto crônico ocorre durante os períodos de maior vazão, ressuspensando rejeitos assentados ao longo do leito do Rio Doce (HATJE et al., 2017; AGUIAR et al., 2020), é importante compreender como tais eventos influenciam o comportamento e o movimento dos robalos em médio e longo prazo.

3.8 MICROQUÍMICA DE OTÓLITOS

Figura 42: Microquímica de otólitos. Perfis cronológicos das razões médias elementos:Ca nos otólitos de *Genidens genidens* adultos coletados nos estuários dos Rios Doce, Itapemirim e São Mateus.



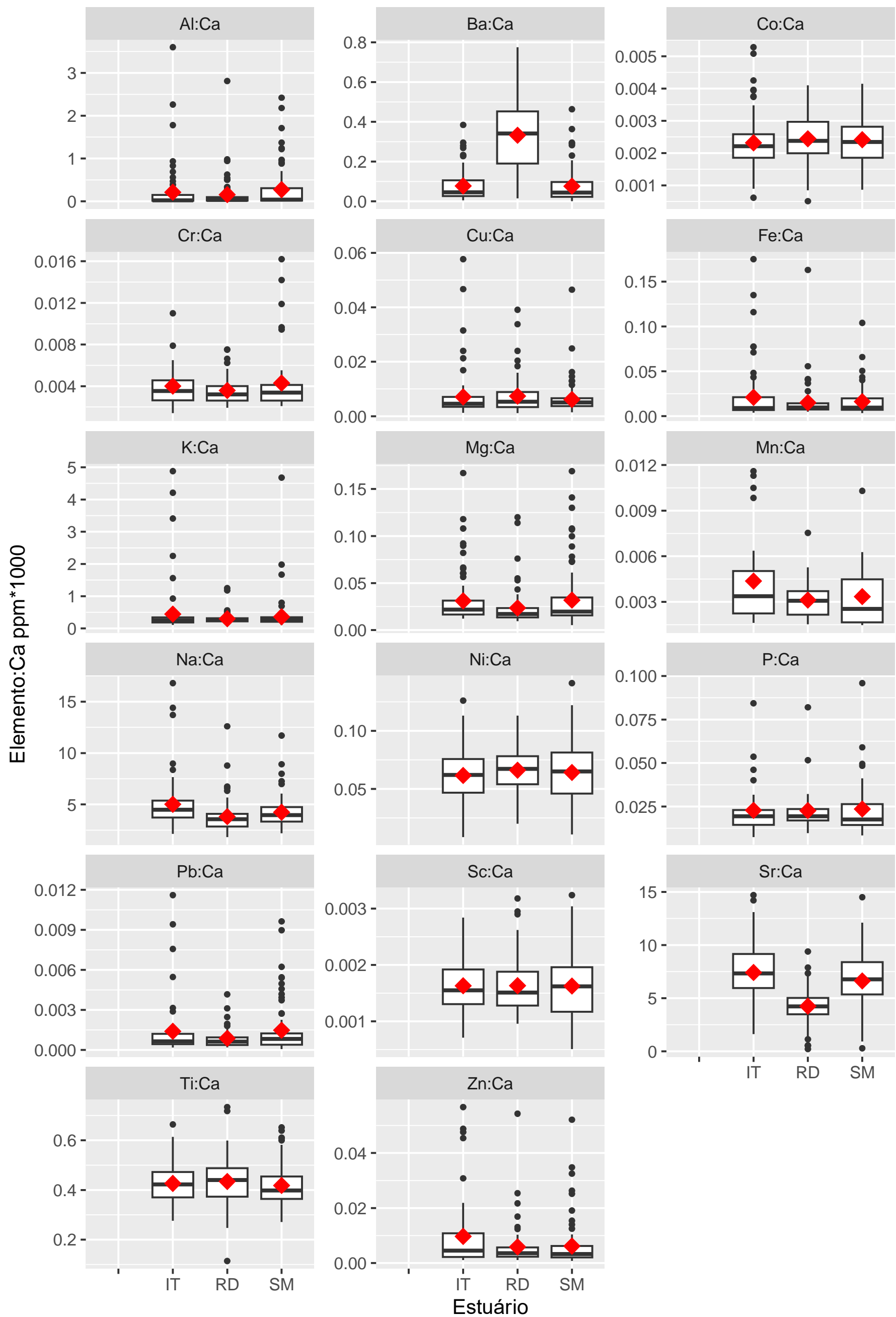
Através das análises de dados obtidos entre outubro de 2022 e agosto de 2023, foi possível observar através dos perfis cronológicos dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), as concentrações de alguns elementos químicos indicativos da presença da lama de rejeito da Barragem do Fundão. Através das análises cronológicas das matrizes dos otólitos do bagre-guri (*G. genidens*), entre o núcleo e a borda, foi possível observar que as razões 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 na lama do rejeito, apareceu de forma consistente, através de dois picos de elevadas concentrações, sendo que o primeiro pico ocorreu próximo ao núcleo, sendo esse referente a transferência materna na fase de óvulo, o que é comumente encontrado em diversas espécies de peixes (STURROCK et al., 2015), no entanto, o segundo pico, provavelmente, se faz referente ao evento de rompimento da barragem em 2015. Além de refletir a concentração presente no ambiente, o aumento do manganês pode estar relacionado a hipóxia, ou seja, a falta de oxigênio no ambiente aquático (LIMBURG et al., 2015), gerado pelo abrupto acúmulo de sedimento na desembocadura do Rio Doce. Por fim, o bário (Ba) é comumente utilizado em estudos com microquímica de otólito como indicador água doce (ELSDON et al., 2005; SOETH et al., 2020), uma vez que é um elemento químico proveniente da lixiviação do leito dos rios. Nos bagres analisados na região do Rio Doce apresentou um aumento acentuado de bário nos perfis dos otólitos analisados, sendo superior as médias das razões encontradas nos rios Itapemirim e São Mateus, indicando assim, provavelmente, a presença da chegada da lama na foz do Rio Doce. 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*.

Tabela 21: Microquímica de otólitos. Média \pm 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 do rio Itapemirim, Rio Doce e São Mateus, entre outubro de 2022 e agosto de 2023. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes.

	Média \pm SD			χ^2	df	p
	Itapemirim	Rio Doce	São Mateus			
Al:Ca	0.211 \pm 0.550	0.155 \pm 0.390	0.272 \pm 0.390	2.85	2	0.24
Ba:Ca	0.077 \pm 0.076 ^b	0.332 \pm 0.183 ^a	0.076 \pm 0.183 ^b	94.44	2	0.00
Co:Ca	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	1.97	2	0.37
Cr:Ca	0.004 \pm 0.002	0.003 \pm 0.001	0.004 \pm 0.001	0.96	2	0.62
Cu:Ca	0.007 \pm 0.008	0.007 \pm 0.007	0.006 \pm 0.006	1.24	2	0.54
Fe:Ca	0.021 \pm 0.030	0.015 \pm 0.021	0.016 \pm 0.021	0.20	2	0.91
K:Ca	0.444 \pm 0.782	0.299 \pm 0.182	0.360 \pm 0.182	0.17	2	0.92
Mg:Ca	0.031 \pm 0.027 ^a	0.023 \pm 0.019 ^b	0.032 \pm 0.019 ^{ab}	9.43	2	0.01
Mn:Ca	0.004 \pm 0.003	0.003 \pm 0.001	0.003 \pm 0.001	3.79	2	0.15
Na:Ca	5.014 \pm 2.371 ^a	3.817 \pm 1.619 ^c	4.243 \pm 1.619 ^b	24.64	2	0.00
Ni:Ca	0.061 \pm 0.023	0.066 \pm 0.019	0.064 \pm 0.019	1.74	2	0.42
P:Ca	0.023 \pm 0.015	0.022 \pm 0.012	0.023 \pm 0.012	1.00	2	0.61
Pb:Ca	0.001 \pm 0.002	0.001 \pm 0.001	0.001 \pm 0.001	0.92	2	0.63
Sc:Ca	0.002 \pm 0.005	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	0.11	2	0.95
Sr:Ca	7.413 \pm 2.760 ^a	4.243 \pm 1.643 ^b	6.623 \pm 1.643 ^a	62.00	2	0.00
Ti:Ca	0.426 \pm 0.081	0.434 \pm 0.101	0.418 \pm 0.101	2.49	2	0.29
Zn:Ca	0.001 \pm 0.013	0.006 \pm 0.008	0.006 \pm 0.008	4.08	2	0.13

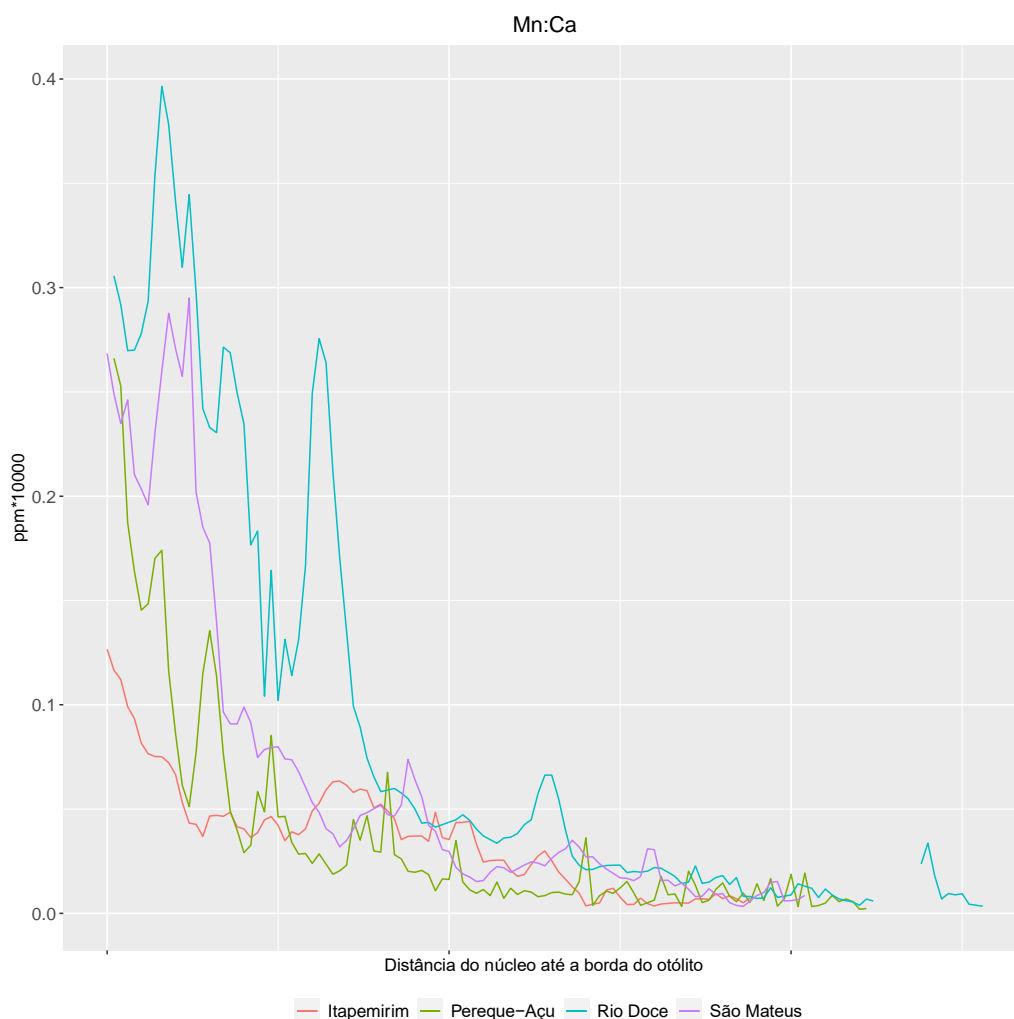
Os resultados dos testes não-paramétricos de Kruskal Wallis apresentaram valores estatisticamente significativos apenas para as médias das razões Ba:Ca, Mg:Ca, Na:Ca e Sr:Ca. As demais razões elemento:Ca apresentaram médias estatisticamente semelhantes entre os estuários.

Figura 43: Microquímica de otólitos. 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, RD = Rio Doce e SM = Rio São Mateus.



Através das razões elemento:Ca da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) do bagre-guri, *Genidens genidens*, representa o local de onde os exemplares foram coletados. Foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Rio Doce, Itapemirim e São Mateus), onde as razões médias de Ba:Ca, Mg:Ca, Na:Ca e Sr:Ca apresentaram diferenças estatísticas entre os locais ($X^2 = 94,44$; $df = 2$; $p \text{ valor} < 0,05$, $X^2 = 9,43$; $df = 2$; $p \text{ valor} = 0,01$, $X^2 = 24,64$; $df = 2$; $p \text{ valor} < 0,05$ e $X^2 = 62,00$; $df = 2$; $p \text{ valor} < 0,05$ respectivamente). O estuário do Rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, apresentou a maior média apenas na razão Ba:Ca, elemento este, relacionado com o aporte da lama de rejeito da barragem no Rio Doce. Já as médias das razões de Mg:Ca, Na:Ca e Sr:Ca foram maiores no Rio Itapemirim (Tabela 21). 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 42.

Figura 44: 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.



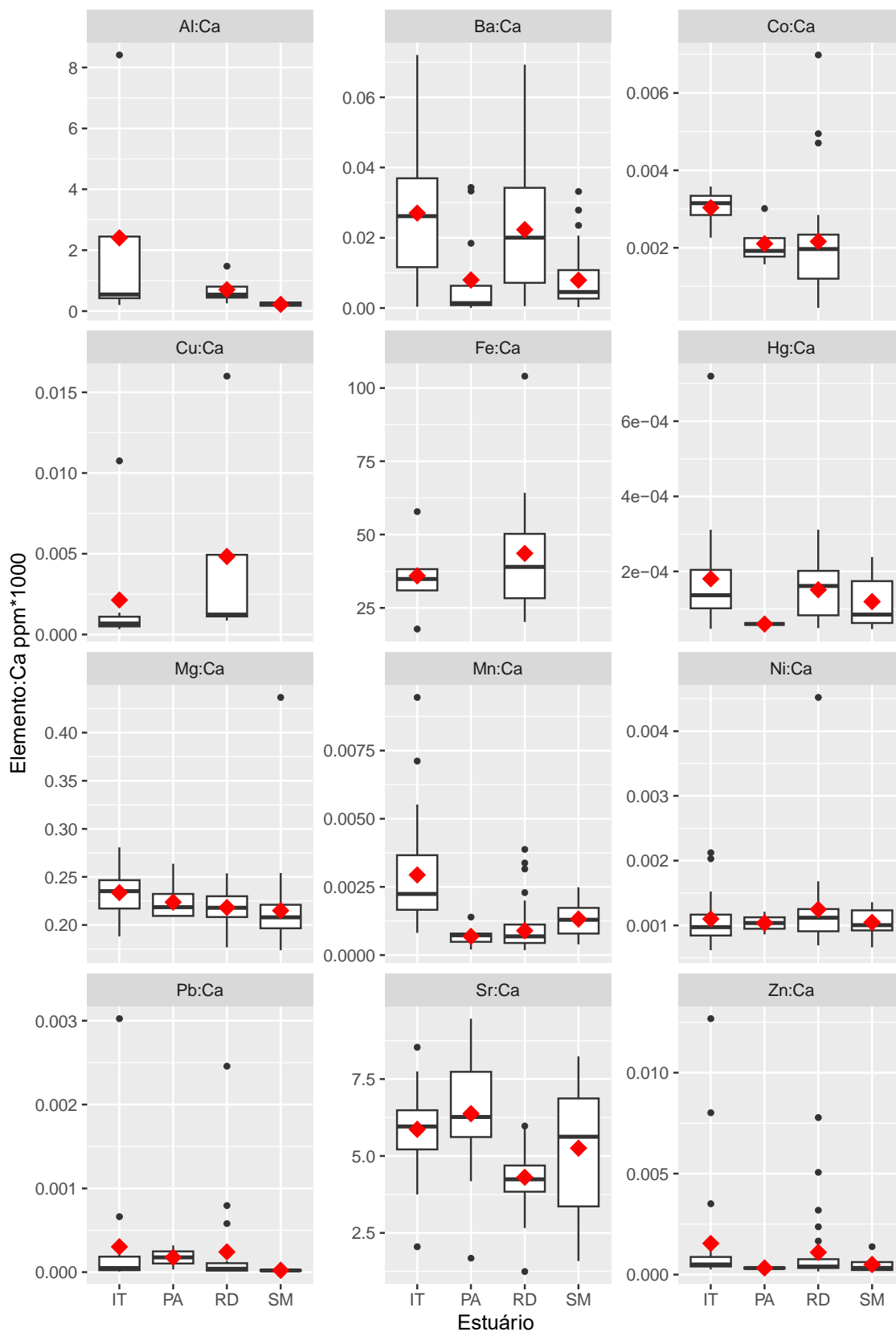
As análises microquímicas dos otólitos de robalo-peva obtidos entre agosto de 2023 e janeiro de 2024, mostraram através do perfil cronológico dos otólitos, entre sua região do núcleo (região relacionado ao início da vida do peixe, região natal, onde há as primeiras deposições dos elementos químicos no otólito) e da borda (região referente ao final da vida do peixe, últimas deposições dos elementos químicos), a concentração de manganês (Mn), presente na lama de rejeito da Barragem do Fundão. 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 na lama do rejeito, 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.

Tabela 22: Média \pm 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-Açú, Rio Doce e São Mateus, entre agosto de 2023 e janeiro de 2024. Em negrito apresentam valores estatisticamente significativos ($p < 0,05$), e letras (sobrescritas) iguais apresentam médias estatisticamente semelhantes. Dados faltantes apresentaram concentrações abaixo do limite de detecção.

Elementos	Itapemirim	Piraquê-Açú	Rio Doce	São Mateus	χ^2	df	p
Al:Ca	2.40 \pm 3.48		0.70 \pm 0.53	0.22 \pm 0.1	3.79	2	0.15
Ba:Ca	0.027 \pm 0.02 ^a	0.008 \pm 0.01 ^b	0.022 \pm 0.02 ^a	0.008 \pm 0.01 ^b	41.57	3	0.00
Co:Ca	0.003 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001	0.002 \pm 0.002		4.58	2	0.1
Cu:Ca	0.002 \pm 0.004		0.005 \pm 0.007		2.28	1	0.13
Fe:Ca	35.93 \pm 14.49		43.58 \pm 23.42		0.54	1	0.46
Hg:Ca	0.0002 \pm 0.0001	0.0001 \pm 0.0000	0.0001 \pm 0.00007	0.0001 \pm 0.00007	5.05	3	0.17
Mg:Ca	0.234 \pm 0.02 ^a	0.224 \pm 0.02 ^{ab}	0.218 \pm 0.015 ^b	0.215 \pm 0.044 ^b	31.82	3	0.00
Mn:Ca	0.003 \pm 0.02 ^a	0.001 \pm 0.0003 ^c	0.001 \pm 0.001 ^c	0.001 \pm 0.001 ^b	68.03	3	0.00
Ni:Ca	0.001 \pm 0.0004	0.001 \pm 0.0002	0.001 \pm 0.001	0.001 \pm 0.0002	0.99	3	0.8
Pb:Ca	0.0003 \pm 0.001	0.0002 \pm 0.0002	0.0002 \pm 0.001	0.00002 \pm 0.00001	2.95	3	0.4
Sr:Ca	5.87 \pm 1.17 ^a	6.38 \pm 2.12 ^a	4.31 \pm 0.75 ^b	5.25 \pm 1.90 ^a	58.05	3	0.00
Zn:Ca	0.001 \pm 0.03	0.0003 \pm 0.00008	0.001 \pm 0.002	0.0005 \pm 0.0004	5.3	3	0.15

Os resultados dos testes não-paramétricos de Kruskal Wallis apresentaram valores estatisticamente significativos apenas para as médias das razões Ba:Ca, Mg:Ca, MnCa e Sr:Ca. As demais razões elemento:Ca apresentaram médias estatisticamente semelhantes entre os estuários.

Figura 45: 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.

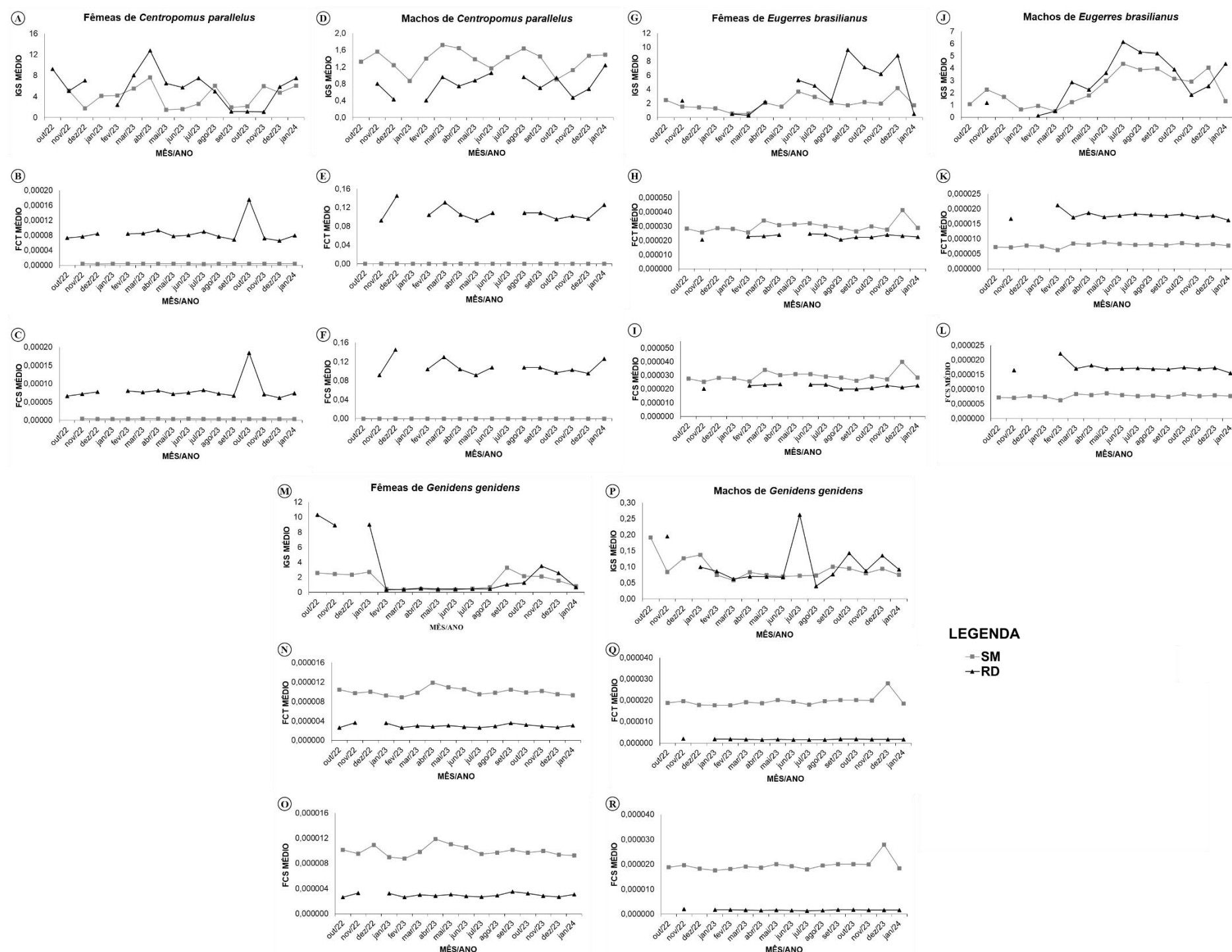


Através das razões elemento:Ca da borda dos otólitos (últimas camadas formadas) do robalo-peva, *Centropomus parallelus*, representa o local de onde os exemplares foram coletados. Foi observado uma variação nos elementos analisados entre os pontos de amostragem (estuários do Itapemirim, Piraquê-Açú, Rio Doce e São Mateus), onde as razões médias de Ba:Ca, Mg:Ca, Mn:Ca e Sr:Ca apresentaram diferenças estatísticas entre os locais ($X^2 = 41.57$; $df = 3$; $p \text{ valor} < 0,05$, $X^2 = 31.82$; $df = 3$; $p \text{ valor} = 0,01$, $X^2 = 68.03$; $df = 3$; $p \text{ valor} < 0,05$ e $X^2 = 58.05$; $df = 3$; $p \text{ valor} < 0,05$ respectivamente). O estuário do Rio Doce, área diretamente afetada pelo rompimento da Barragem de Fundão, apresentou a maior média, juntamente com o rio Itapemirim, apenas na razão Ba:Ca. Já as médias das razões de Mg:Ca, Mn:Ca foram maiores no Rio Itapemirim e Sr:Ca no rio Piraquê-Açú (Tabela 22). 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 45.

3.9 BIOLOGIA REPRODUTIVA

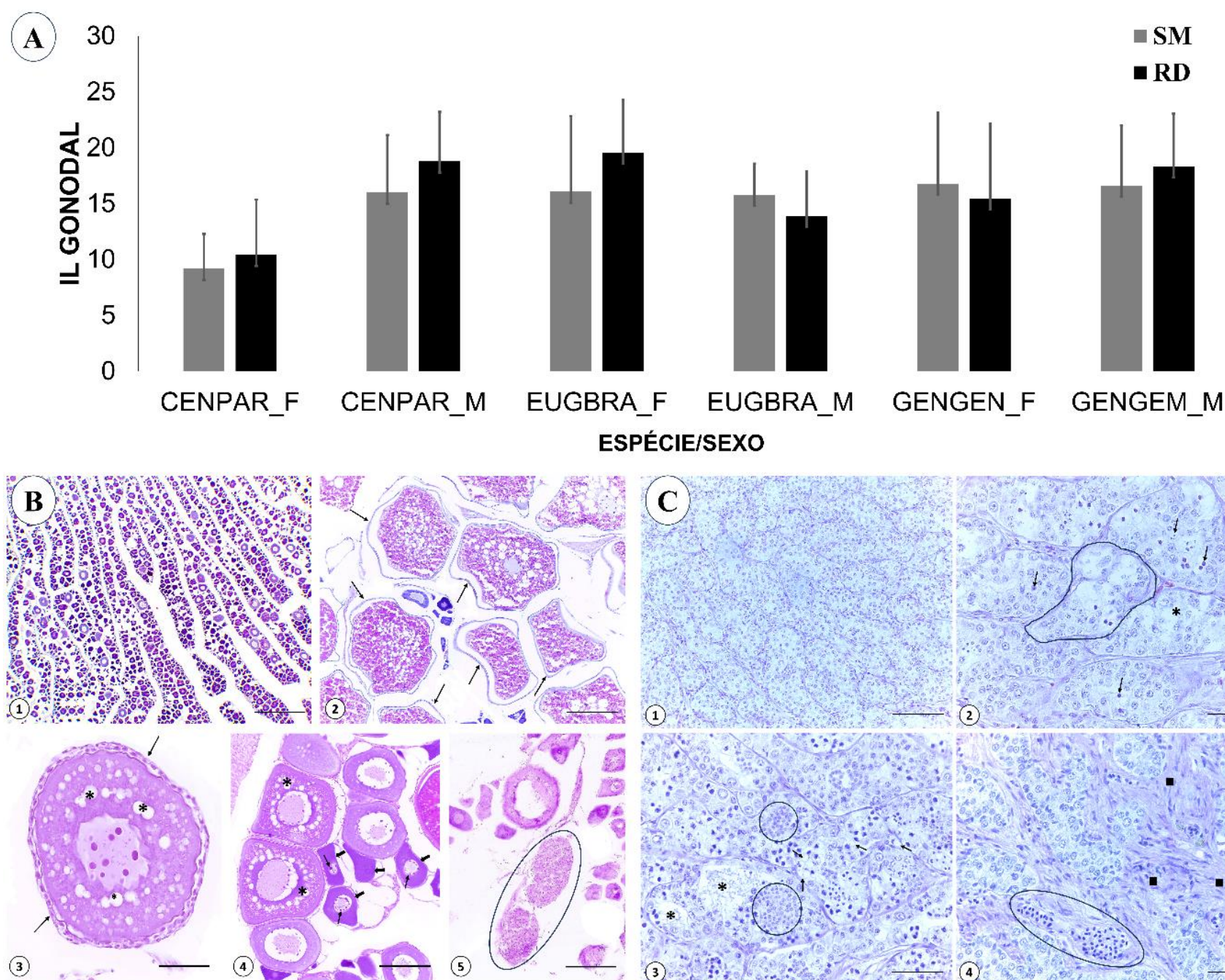
Peixes estuarinos/marinhos

Figura 46: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Sômático) das espécies de peixes estuarinos/marinhos *Centropomus parallelus* (Robalo A-F); *Eugerres brasiliensis* (Carapeba G-L) e *Genidens genidens* (Bagre M-R) 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 e out/23-jan/24) e seco (abr-set/23) do ano 5 de monitoramento. A legenda dos gráficos mostra os valores médios mensais dos indicadores avaliados em fêmeas e machos ao longo do tempo (linhas com os marcadores) As lacunas apresentam ausência de captura mensal dos espécimes.



De modo geral, as espécies de peixes apresentaram atividade reprodutiva em ambos os setores, mesmo na ausência de captura em alguns meses. As lacunas são decorrentes das chuvas torrenciais que acometem a região amostrada no período chuvoso no final de 2022 e início de 2023 e impossibilitaram as capturas, tanto pela impossibilidade de acesso as regiões de coleta no mês de dezembro, e também por oscilações naturais na abundância dos peixes em decorrência da intensidade das chuvas, que dificultaram e/ou impediram as capturas. O IGS constitui um importante indicador do estado funcional das gônadas, e a sua variação temporal permite estimar o período reprodutivo das espécies (VAZZOLER, 1996). As maiores médias de IGS apresentadas pelas espécies avaliadas, em ambos os sexos, foi no período seco, com exceção das fêmeas de *G. genidens*, no período chuvoso, em Rio Doce. Somente os machos de *C. parallelus* obtiveram maiores médias de IGS em São Mateus nos dois períodos (seco e chuvoso). Os indicadores FCT e FCS, que estimam o bem-estar momentâneo dos peixes durante o ciclo de maturação sexual do indivíduo, podem ser influenciados pela variação no peso das gônadas e gordura celomática (VAZZOLER, 1996). O FCT e o FCS apresentaram o mesmo padrão de comportamento entre as espécies, sexo e setor; sendo que as maiores médias foram registradas em Rio Doce para ambos os períodos, com exceção de *E. brasiliensis* (fêmea) e *G. genidens* (macho e fêmea) em São Mateus.

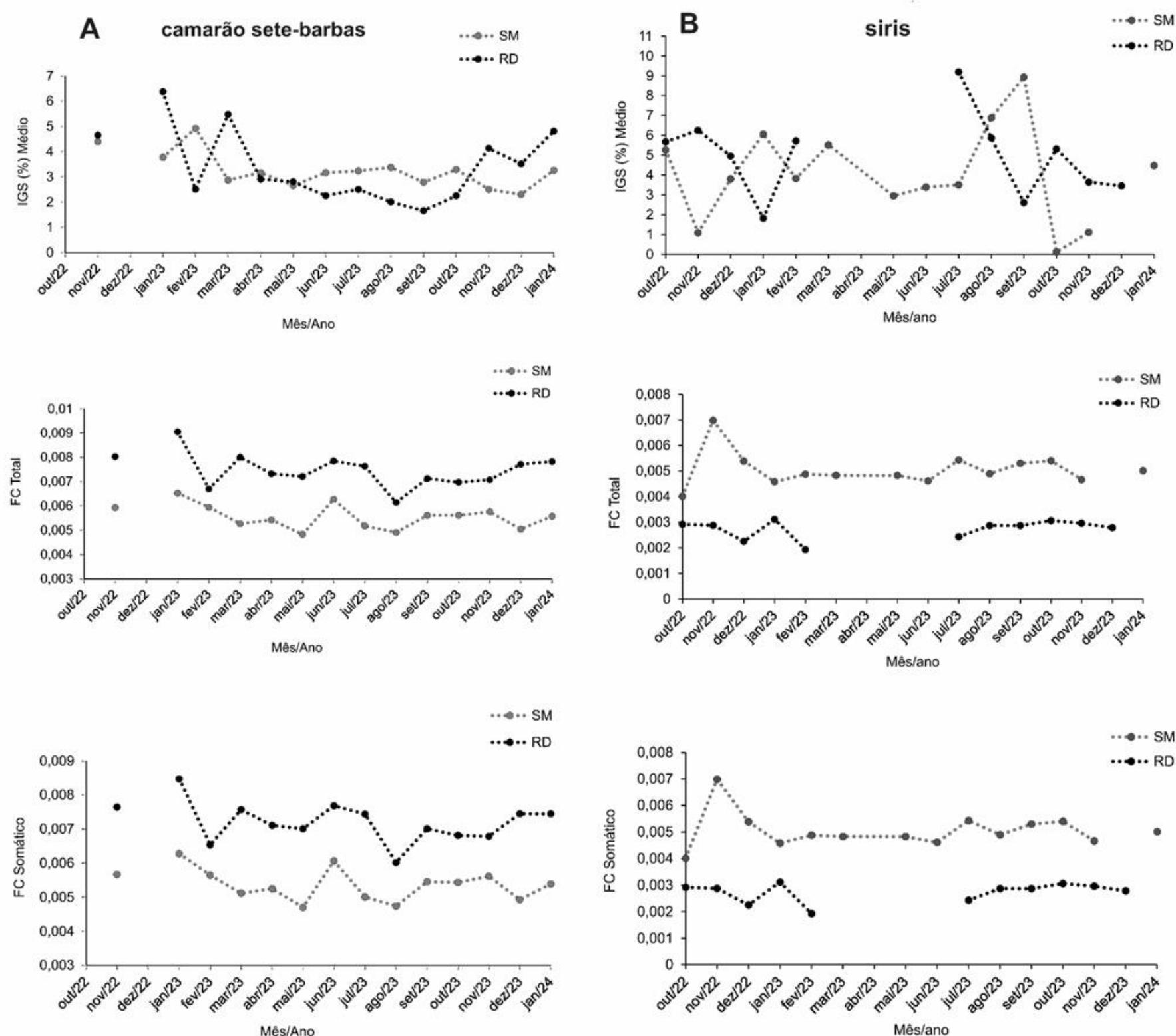
Figura 47: Biologia reprodutiva. Índice de lesão gonadal (IL) (1) das espécies de peixes estuarinos/marinhos *Centropomus parallelus* (Robalo); *Eugerres brasiliensis* (Carapeba) e *Genidens genidens* (Bagre) e, histopatologia do órgão reprodutivo de fêmeas (2) e machos (3) coletados no estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e no estuário indiretamente impactado (SM - São Mateus) no ano 5 de monitoramento. O gráfico mostra o valor médio e o desvio padrão do índice avaliado nas gônadas dos peixes fêmeas e machos, sendo: CENPAR_F (*Centropomus parallelus* fêmea); CENPAR_M (*Centropomus parallelus* macho); EUGBRA_F (*Eugerres brasiliensis* fêmea); EUGBRA_M (*Eugerres brasiliensis* macho); GENGEN_F (*Genidens genidens* fêmea) e GENGEN_M (*Genidens genidens* macho). As fotomicroscopias apresentam uma visão geral das lesões histopatológicas mais frequentes nos órgãos reprodutores (fêmeas e machos) das espécies de peixes coletadas. 2A: Aspecto normal do ovário (órgão reprodutor de teleósteos fêmeas); 2B: Deslocamento de membrana do ovócito (seta); 2C: Hiperplasia das células foliculares do ovócito (seta) e vacuolização (asterisco) dos ninhos oogoniais; 2D: Alterações nucleares dos ovócitos (seta fina), atresia ovocitária (seta grossa) e vacuolização (asterisco) dos ninhos oogoniais e 2E: Infiltrado de macrófagos no espaço intersticial (contorno) do ovário. 3A: Aspecto normal do testículo (órgão reprodutor de teleósteos machos); 3B: Alteração nuclear das células germinativas (seta), alteração estrutural (contorno) e necrose (asterisco) dos túbulos seminíferos; 3C: Vacuolização citoplasmática (seta) das células germinativas, atrofia celular (círculo) e necrose (asterisco) dos túbulos seminíferos e 3D: Hiperplasia do tecido intersticial (quadrado) e congestão do vaso sanguíneo (círculo) do cisto. Barra: 50 µm (2A, 2C e 3A); 100 µm (2B, 2D, 2E, 3B, 3C e 3D).



As espécies de peixe *C. parallelus* (macho e fêmea), *E. brasiliensis* (fêmea) e *G. genidens* (macho) coletadas no Rio Doce apresentaram valores médios maiores de IL gonadal (Figura 47A). A análise histopatológica do tecido gonadal de fêmea e macho de teleósteo, mostrou que as alterações encontradas consistem em respostas regressivas que podem indicar má ou até mesmo perda de funcionalidade do órgão (BERNET et al., 1999). Assim, as lesões presentes no ovário com maiores frequências (Figura 47B), em fêmeas, foram: alterações nucleares, deslocamento de membrana, hiperplasia das células foliculares, atresia, vacuolização (vacúolos claros e vazios no epitélio germinativo) dos ninhos oogoniais e infiltrado de macrófagos no espaço intersticial do ovário. Nos machos, as lesões presentes nos cistos/túbulos seminíferos (Figura 47C) com maiores frequências foram: atrofia, alteração nuclear e vacuolização citoplasmática das células germinativas, alteração estrutural e necrose dos túbulos seminíferos, congestão do vaso sanguíneo e hiperplasia do tecido intersticial do cisto.

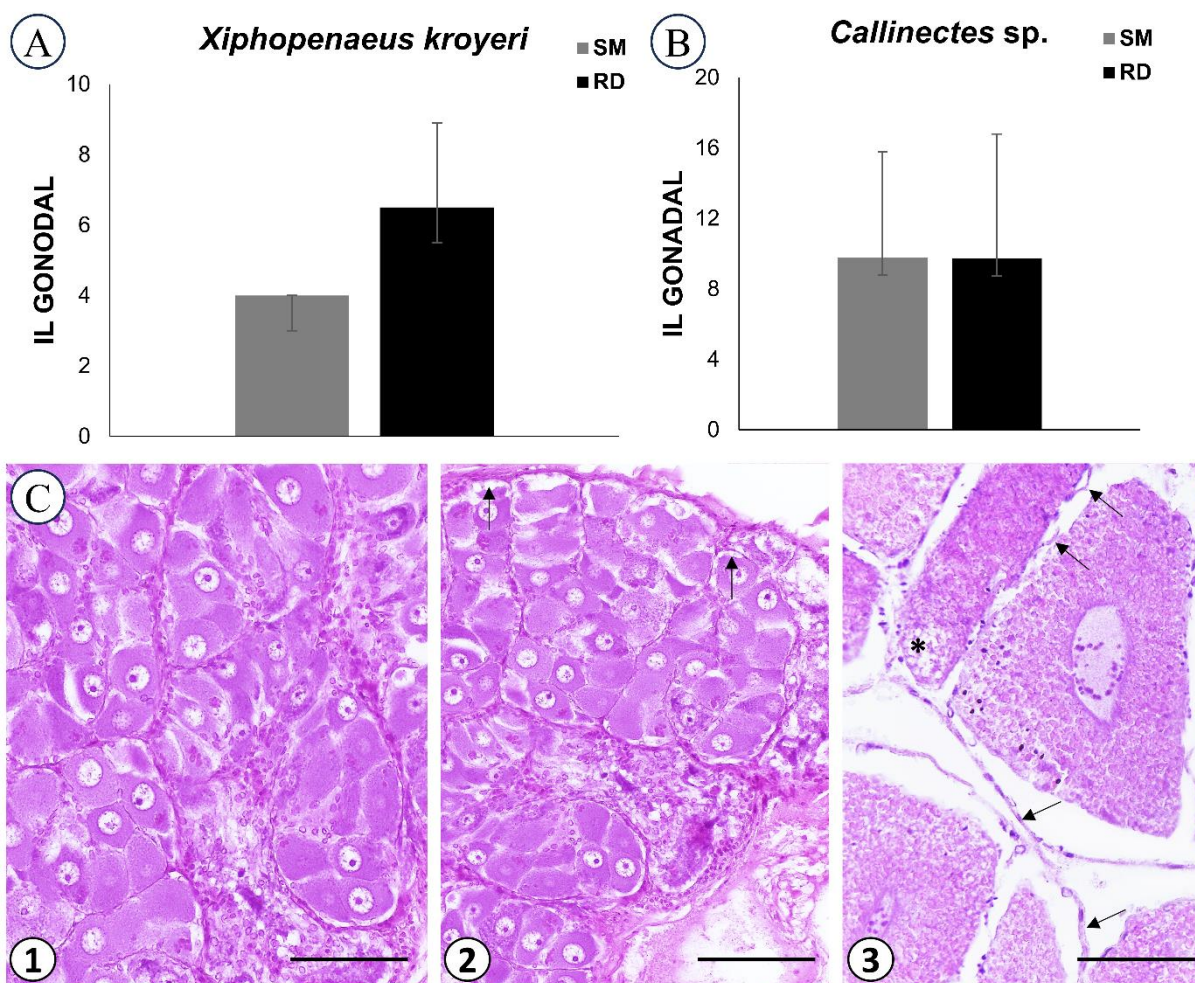
Crustáceos estuarinos/marinhos

Figura 48: Biologia reprodutiva. IGS (Índice Gonodossomático), FCT (Fator de Condição Total) e FCS (Fator de Condição Somático) das espécies de crustáceos marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) e estuarinos (sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) coletados mensalmente na região interna e externa do estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23 e out/23-jan/24) e seco (abr-set/23) do ano 5 de monitoramento. Variação mensal dos valores médios dos indicadores avaliados em fêmeas de *Xiphopenaeus kroyeri* (A) e sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus* (B) ao longo do tempo. As lacunas indicam a ausência de captura mensal dos espécimes.



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

Figura 49: Biologia reprodutiva. Índice de lesão gonadal (IL) das espécies de crustáceos marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) (1) e estuarinos (sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) (2) coletados mensalmente na região interna e externa do estuário diretamente impactado (RD - Rio Doce) e indiretamente impactado (SM - São Mateus) durante o período chuvoso (out/22-mar/23 e out/23-jan/24) e seco (abr-set/23) do ano 5 de monitoramento. Os gráficos mostram os valores médios e desvio padrão do índice avaliados nas gônadas das fêmeas do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* e sirís das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*. As fotomicroscopias apresentam uma visão geral das lesões histopatológicas mais frequentes no órgão reprodutor de fêmeas das espécies de crustáceos coletadas. 3A: Aspecto normal do ovário; 3B: Vacuolização (asterisco) dos ninhos oogoniais e 3C: Deslocamento de membrana do ovócito (seta) e vacuolização (asterisco) dos ninhos oogoniais. Barra: 50 µm (3A e 3B); 100 µm (3C).



O camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) apresentou valor médio maior do IL gonadal na região externa diretamente impactada (RD), enquanto os siris (*Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) não apresentaram diferença entre as regiões analisadas. As análises histopatológicas do tecido gonadal das fêmeas dos crustáceos (*Xiphopenaeus kroyeri* e os siris *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) apresentaram uma frequência maior de lesões regressivas do tipo: vacuolização dos ninhos oogonais e deslocamento de membrana, como indicativo de possível disfuncionalidade do órgão. A continuidade do monitoramento deste indicador poderá esclarecer se a possível disfuncionalidade das gônadas das espécies analisadas influenciará na saúde reprodutiva das espécies e no declínio dos estoques populacionais.

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

Peixes estuarinos/marinhos: Não foi detectada diferença significativa na variação na composição e estrutura das assembleias de peixes estuarino/marinhos entre a área diretamente impactada (Rio Doce) e as áreas indiretamente impactadas (São Mateus e Piraquê-Açú). No Rio Doce, foi observada dominância do bagre-guri (*Genidens genidens*), tanto em biomassa quanto em abundância, sobretudo na área interna. Nas áreas indiretamente impactadas, a ictiofauna foi dominada pela sardinha-dentuça (*Chirocentron bleekermanus*) e pelo cangoá (*Stellifer brasiliensis*). Cabe ressaltar, que o bagre-guri é uma espécie particularmente resiliente a ambientes impactados. As diferenças mais conspícuas na ictiofauna ocorreram entre as áreas interna e externa de cada estuário, influenciadas pela sazonalidade das variáveis ambientais, principalmente o conjunto de salinidade, turbidez e profundidade, tanto na estação chuvosa quanto na seca. A ictiofauna das áreas externas, demonstrou maior similaridade entre as áreas externas dos três estuários, do que entre as áreas interna e externa de cada estuário, o que é esperado, pois as áreas internas sofrem maiores variações ambientais. Na área interna do Rio Doce, chama a atenção o declínio observado nas médias de densidade e riqueza até a estação chuvosa S4, fato menos conspícuo nas áreas internas dos estuários indiretamente impactados. As diferenças observadas entre o Rio Doce e os estuários indiretamente impactados são complexas, mas o monitoramento dos indicadores indicou a perturbação, sobretudo na área interna do Rio Doce.

Crustáceos estuarinos/marinhos: A comunidade de crustáceos na área de monitoramento é caracterizada pela ocorrência de sete espécies particularmente abundantes e frequentes, com destaque para o camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus* spp.) e camarão rosa (*Farfantepenaeus* spp.) que são importantes recursos pesqueiros na região. Por outro lado, espécies mais raras continuam sendo capturadas à medida em que novas campanhas de coletas são realizadas. A composição e estrutura da comunidade de crustáceos na área monitorada é influenciada por diferentes fatores ambientais a depender do período do ano: período chuvoso, temperatura, salinidade, turbidez e profundidade; período seco, salinidade e profundidade. Os índices de densidade, biomassa e riqueza de espécies de crustáceos não apresentaram diferenças significativas entre o Rio Doce e os estuários indiretamente impactados (São Mateus e Piraquê-Açú). A variabilidade destes índices ao longo dos 5

anos de amostragem indica que a fauna é principalmente determinada pelas diferenças entre as áreas internas e externas dos estuários e dependente do período (chuvoso ou seco) do ano. A área interna (estuário) do Rio Doce representou a área cujos valores médios foram sempre menores e próximos a zero para os três índices, indicando um número muito reduzido de espécies e de indivíduos por espécie. Por outro lado, sua área externa apresentou valores mais elevados de abundância, biomassa e riqueza de espécies, além de mais semelhanças faunísticas em termos de composição e estrutura da comunidade com a área externa do Piraquê-Açu, por estarem localizadas ao sul do banco de Abrolhos, onde as temperaturas são mais frias e sofrem mais influência das correntes marítimas vindas do sul.

Ichtiofauna recifal: Ao separar os recifes em Norte do Rio Doce, Zona de Impacto e Sul do Rio Doce foi possível observar que nos recifes conhecidos como Banco dos Abrolhos (zonas controle ao norte do Rio Doce), as comunidades de peixes recifais mostraram diferenças significativas em termos de abundância e composição de espécies quando comparadas à zona de impacto. Para os recifes localizados em Guarapari e Vitória (zonas controle ao sul do Rio Doce), foram observadas diferenças significativas na composição e diversidade de espécies menos comuns (OD) em comparação com a zona de impacto (I vs C). Já a área diretamente afetada pelo deságue do Rio Doce, denominada zona de impacto, apresentou significativamente menor abundância, biomassa e diversidade de peixes recifais, especialmente das espécies menos comuns, em comparação com as zonas controle adjacentes ao sul (C5-Vitória e C6-Guarapari) e ao norte da foz do Rio Doce (C1-Esquecidos, C2-Cassuruba, C3-Paredes e C4-PARNA Abrolhos). Quando avaliados os setores analisados observou-se diferenças entre a zona de impacto e as áreas de controle (Norte e Sul), com setores mais próximos da foz do Rio Doce exibindo valores significativamente menores em todos os indicadores, além de uma composição de espécies diferenciada. Sendo estes padrões consistente ao longo de todo o período de amostragem, sugerindo que o deságue do Rio Doce tende a gerar impactos negativos nos ecossistemas recifais, afetando a abundância, biomassa, diversidade e composição de espécies de peixes nessas áreas e setores.

Recrutamento: Ao longo do período de monitoramento, 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 correlacionados a eventos de ressuspensão e frentes meteoceanográficas. A biomassa de pós-larvas foi estatisticamente menor na zona de impacto em relação à média dos controles (I vs C), indicando que a dinâmica de ressuspensão da lama pode exercer efeitos adversos sobre esse indicador. 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. A persistente presença de espécimes com lama aderida à superfície corpórea, provenientes da foz do Rio Doce, sugere um contínuo efeito da lama sobre o recrutamento de espécies marinhas. No entanto, esses efeitos só

podem ser comprovados por meio do monitoramento temporal das coortes dessas espécies, juntamente com análises fisiológicas ou histológicas. Por outro lado, o aumento nos índices de diversidade na zona de impacto ao longo dos anos sugere uma recuperação gradual dessa área para o recrutamento larval.

Ecologia Trófica: Os resultados obtidos ao longo do monitoramento reforçam o valor dos indicadores relacionados à ecologia trófica, para entender os impactos dos rejeitos de mineração 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 pelos rejeitos. A atividade alimentar desta espécie também foi menor no Rio Doce do que nos estuários controles. No que concerne aos indicadores tróficos isotópicos, as mudanças temporais foram particularmente claras para o carapicu, *Eucinostomus argenteus*, no qual ocorreu uma redução substancial do nicho isotópico, amplitude de $\delta^{15}\text{N}$ e amplitude de $\delta^{13}\text{C}$ ao longo do monitoramento. A diminuição desses indicadores sugere uma perda de recursos alimentares consumidos pelo carapicu no estuário, o que é consistente com os resultados publicados na literatura para a fauna de invertebrados associada ao sedimento.

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

Genética populacional:

Peixes estuarinos e crustáceos marinhos: O indicador “Índices de diversidade e estruturação genética de peixes estuarinos e crustáceos” foi incluído a partir do Ano 4 em 2022. De modo geral, para as espécies de peixes (*Genidens genidens*, bagre-guri; *Centropomus parallelus*, robalo-peva; *Cynoscion jamaicensis*, pescada-branca) e crustáceos avaliadas (*Farfantepenaeus subtilis*, camarão-rosa; *Xiphopenaeus kroyeri*, camarão-sete-barbas) foram identificados índices moderados a altos de diversidade genética e presença de fluxo gênico entre as unidades amostrais (diferentes rios). Para a maioria das espécies, foram identificados indícios de expansão, o que sugere que as populações sofreram um evento de gargalo populacional recente e que poderiam ter uma diversidade maior do que a observada atualmente. A redução da diversidade genética aumenta a vulnerabilidade da população diminuindo sua capacidade de permanência e/ou restabelecimento no ambiente após alterações ambientais de origem natural ou antrópica (como o rompimento da barragem de Fundão).

Peixes recifais e estuarinos (Microssatélites): A análise dos indicadores relacionados à meta Genética de Populações de peixes marinhos (estuarinos e recifais) engloba parâmetros como: diversidade e estruturação genética, fluxo gênico, redução populacional e viabilidade a longo prazo. Esses indicadores revelaram que a resposta das diferentes espécies - recifais e estuarinas - dependem de fatores como habitat e história de vida, sendo os efeitos do impacto mais severos sobre as espécies estuarinas, que demonstraram ser mais suscetíveis à influência da lama de rejeito. Este fenômeno

aponta para um impacto específico da região da Foz do Rio Doce sobre as características genéticas das espécies estudadas, sugerindo que este ambiente pode desempenhar um papel crucial em fatores que moldam a variabilidade genética local. Contudo, é importante ressaltar que não podemos estabelecer uma relação direta de causa e efeito. De acordo com os dados apresentados, as populações na região do Rio Doce podem estar enfrentando desafios genéticos específicos associados ao histórico de impactos ambientais, como o rompimento da barragem de Fundão, e que resultam em uma baixa viabilidade genética e resiliência adaptativa frente às pressões ambientais contínuas. No contexto das espécies recifais, as análises genéticas revelaram padrões distintos, indicando que fatores ambientais específicos (preferências de habitat e condições ambientais) contribuem para a dinâmica genética populacional dessas espécies em diferentes regiões geográficas. Não se pode afirmar, com clareza, que a Área 3, que engloba a Foz do Rio Doce, tenha uma influência determinante nas variações genéticas identificadas neste estudo para as espécies recifais.

Telemetria Estuarina: Os padrões de uso de habitat e movimentação do robalo-peva (*Centropomus parallelus*) verificados durante os cinco anos de monitoramento estão diretamente associados ao impacto do rejeito da lama ainda presente na região estuarina do Rio Doce. O assoreamento do Rio Doce diminui a disponibilidade de habitats adequados, restringindo os robalos aos canais profundos, como por exemplo em frente ao porto de Regência e no entorno de algumas ilhas, geralmente associados a estruturas submersas, como troncos e galhadas. Não ocorreram detecções dos robalos em áreas rasas e assoreadas. O acúmulo de lama ao longo de todo o leito do Rio Doce parece estar alterando a movimentação dos robalos para montante. Nenhum dos robalos marcados e monitorados na região estuarina do Rio Doce migrou rio acima, destoando do padrão esperado para a espécie. Além disso, picos de elevada turbidez da água, ocasionados pela ressuspensão da lama assentada no fundo do Rio Doce, principalmente durante a estação chuvosa, diminuem a ocorrência dos robalos na região estuarina.

Microquímica de otólitos: Além das informações obtidas através das análises habituais em monitoramentos ambientais utilizando a ictiofauna, os otólitos, presentes no ouvido interno dos peixes ósseos, mostrou-se um excelente bioindicador de ações antrópicas, principalmente cronológico, que no caso, demonstrando o aumento da concentração de alguns elementos químicos presentes na lama de rejeito da Barragem de Fundão, ao longo da história de vida de adultos, nascidos antes de 2015, das espécies *Genidens genidens* (bagre-guri) e *Centropomus parallelus* (robalo-peva). Isso é possível, pois os otólitos crescem continuamente de forma concêntrica e são inertes, mineralizando além do cálcio, carbono e oxigênio, ou elementos presentes na água. Nossos resultados, onde os indicadores são as concentrações dos elementos químicos presentes nos otólitos (apresentados como razão elemento:Ca) utilizando dois períodos de amostragens (2019 e 2022/2023), mostraram a mesma tendência com relação as concentrações de Mn e Ba nos estuários estudados.

Biologia Reprodutiva: A Biologia reprodutiva de peixes estuarinos (*Centropomus parallelus*, *Eugerres brasiliensis* e *Genidens genidens*) e crustáceos estuarinos (siris das espécies *Callinectes bocourti*, *C. sapidus*, *C. danae* e *C. exasperatus*) e marinhos (camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*) foi implementada somente no ano 5 e as análises compreendem o período de outubro de 2022 a janeiro

de 2024 em duas regiões Rio Doce (diretamente afetada) e Rio São Mateus (indiretamente afetada). Assim, o período de 12 meses não contempla todo o ciclo de vida das espécies que estão em contato direto com o ambiente impactado e sob efeito crônico do rejeito. Para avaliar as consequências dos maiores índices de IGS, FCT, FCS e IL observados para o setor Rio Doce, tanto para peixes quanto para o camarão sete-barbas, que possuem importância comercial, o período de análises precisa ser mais longo aliado ao monitoramento das populações estuarinas e marinhas, para elucidação dos efeitos nos estoques populacionais das espécies avaliadas e a relação destes resultados com o impacto do rejeito.

5 ITENS PREVISTOS E NÃO REALIZADOS: JUSTIFICATIVAS

Todos os itens previstos foram cumpridos para o Tema.

6 REFERÊNCIAS

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

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.

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

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

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

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

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

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

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.

BLAXTER, J. H. S.; HUNTER, J. R. The Biology of the Clupeoid Fishes. **Advances in Marine Biology**, v. 20, p. 1–223, 1982.

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

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

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

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

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

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.

- BROWNSCOMBE, J. W.; LÉDÉE, E. J.; RABY, G. D.; STRUTHERS, D. P.; GUTOWSKY, L. F.; NGUYEN, V. M.; YOUNG, N.; STOKESBURY, M. J. W.; HOLBROOK, C. M.; BRENDEN, T. O.; VANDERGROOT, C. S.; MURCHIE, K. J.; WHORISKEY, K.; FLEMMING, J. M.; KESSEL, S. T.; KRUEGER, C. C.; COOKE, S. J. Conducting and interpreting fish telemetry studies: Considerations for researchers and resource managers. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 29, p. 369-400, 2019.
- BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: HOELZEL, A. R. (Ed). **Molecular genetic analyses of populations: A Practical Approach**. Oxford: IRL Press, 1992, p. 219–225.
- BULLOCK, L. H.; MURPHY, M. D. Aspects of the life history of the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, in the eastern Gulf of Mexico. **Bulletin of Marine Science**, v. 55, n. 1, p. 30-45, 1994.
- BURTON, M. L. Age, growth and mortality of mutton snapper, *Lutjanus analis*, from east coast of Florida, with a brief discussion of management implications. **Fisheries Research**, v. 59, p. 31-34, 2002.
- CABALLERO-ARANGO, D.; BRULE, T.; MONTERO-MUÑOZ, J. L.; COLÁS-MARRUFO, T. Temporal variation in the red grouper, *Epinephelus morio*, demographic structure from southern Gulf of Mexico. *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, v. 2, p. 39-52, 2010.
- CAI, Z.; CAO, W.; CHEN, J.; DAI, J.; DING, G.; GRAY, S.; HAO, J.; JIANG, X.; LI, B. B.; LI, Y.; LI, Z. B. Microsatellite records for volume 9, issue 4. **Conservation Genet Resour**, v. 9, p. 677–686, 2017.
- CATALÁN, I. A.; DUNAND, A. NASH, R. An evaluation of sampling methodology for assessing settlement of temperate fish in seagrass meadows. **Mediterranean Marine Science**, v. 15, n. 2, p. 338–349, 2014.
- CATCHEN, Julian M. et al. Stacks: building and genotyping loci de novo from short-read sequences. **G3: Genes| genomes| genetics**, v. 1, n. 3, p. 171-182, 2011.
- CERVIGÓN, F.; CIPRIANI, R.; FISCHER, W.; GARIBALDI, L.; HENDRICKX, M.; LEMUS, A.; MÁRQUEZ, R.; POUTIERS, J.; ROBAINA, G. B.; RODRIGUEZ, B. Fichas FAO de identificación de especies para los fines de la pesca. **Guía de campo de las especies comerciales marinas y de aguas salobres de la costa septentrional de Sur América**. Rome -Italy: FAO, 1992.
- CHAO, A.; CHIU, C. H.; VILLÉGER, S.; SUN, I. F.; THORN, S.; LIN, Y. C.; CHIANG, J.-M.; SHERWIN, W. B. An attribute-diversity approach to functional diversity, functional beta diversity, and related (dis)similarity measures. **Ecological Monographs**, v. 89, e01343, 2019.
- CHAPA, C. **Early life history and resurgence of Snook (family Centropomidae) in Texas**. 2012. Tese de Doutorado. Texas A & M University.
- CHAPUIS, M. P.; ESTOUP, A. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, n.3, p.621–631. 2007.

CLARO, R., L. M.; SIERRA-SIERRA; J. P.; GARCÍA-ARTEGA, J. P. Biología del jocu, *Lutjanus jocu* (Bloch y Schneider, 1801) (Pisces: Lutjanidae) em las zonas NE y SW de la plataforma cubana, II. Alimentación, edad y crecimiento. **Revista Investigaciones Marinas**, v. 20, p. 30-38, 1999.

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

CLEMENTS, S.; JEPSEN, D.; KARNOWKI, M. Optimization of an acoustic telemetry array for detecting transmitter-implanted fish. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 25, p. 429-436, 2005.

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

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

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

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

CRABTREE, R. E.; BULLOCK, L. H. Age, growth, and reproduction of black grouper, *Mycteroperca bonaci*. Florida waters. **Fishery Bulletin**, v. 96, n. 4, p.735-753, 1998.

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.

CUMMINGS, N. J. (2007). Important aspects of the life history of the yellowfin grouper, *Mycteroperca venenosa*, with emphasis on populations in the Caribbean. In SEDAR-14 Data Workshop Report.

DE ABREU RODRIGUES PONTE, I.; DE VASCONCELOS FILHO, J. E.; FEITOSA, C. V.; FERREIRA, B. P. Demography of the black grouper, *Mycteroperca bonaci* (Poey, 1860) (Teleostei: Epinephelidae) from the North Brazil Shelf. **Journal of Fish Biology**, v. 101, n. 1, p. 190-203, 2022.

DOS SANTOS, H. L.; SANTANA, F.; GONÇALVES, F.; DEDA, M.; SILVA CARVALHO, A.; PAIXÃO, P.; ABE, H. Length-weight relationship, and condition factor of the nine fish species of bycatch from Northeast Brazilian Coast. **Aceh Journal of Animal Science**, v. 7., n. 1, 2002.

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

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.

FÉLIX-HACKRADT, F.C., HACKRADT, C.W., TREVIÑO-OTÓN, J., PÉREZ-RUZAFÁ, Á., GARCÍA-CHARTON, J.A. Habitat use and ontogenetic shifts of fish life stages at rocky reefs in the South-western Mediterranean Sea. **Journal of Sea Research**, 88, 67-77, 2014.

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 - Síntese Integrativa entre Ambientes. RT-43. Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia**, 2023B. 193p.

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.

FRANCINI-FILHO, R.B., MOURA, R.C. Evidence for spillover of reef fishes from a no-take marine reserve: An evaluation using the before-after control-impact (BACI) approach. **Fisheries Research**, 93, 346-356, 2008

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

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

GARCÍA-CAGIDE. Reproductive patterns of fishes of the Cuban shelf. In R. Claro, K.C. Lindeman & L.R. Parenti (eds.). **Ecology of the marine fishes of Cuba** (pp. 73-114). Smithsonian Institution, Washington D.C., USA. 2001.

GIACOMETTI, A. C.; VIEIRA, J. P. Review and consideration on habitat use, distribution and life history of *Lycengraulis grossidens* (Agassiz, 1829) (Actinopterygii, Clupeiformes, Engraulididae). **Biota Neotropica**, v. 13, n. 3, p. 121-130, 2013.

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.

GRANDCOURT, E. M.; FRANCIS, F. AND AL SHAMSI, A. (2013). Stock Assessment of Eshnenuh, Marjaan & Dhil'e in Abu Dhabi. Terrestrial & Marine Biodiversity Sector. Environment Agency – Abu Dhabi.

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

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

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

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

HOFF, N. T.; DIAS, J. F.; PINTO, E.; ALMEIDA, A.; SCHROEDER, R.; CORREIA, A. T. Past and contemporaneous otolith fingerprints reveal potential anthropogenic interferences and allows refinement

of the population structure of *Isopisthus parvipinnis* in the South Brazil Bight. **Biology (Basel)**, v. 11, n. 7, p. 1005, 2022.

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.

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

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

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

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

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

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

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

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

KOSKI, R. T. (1978). Age, growth, and maturity of the hogchoker, *Trinectes maculatus*, in the Hudson River, New York. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 107, n. 3, p. 449-453, 1978.

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.

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

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.

LIRA, A.; VIANA, A.; EDUARDO, L.; LUCENA-FREDÓU, F.; FRÉDOU, T. Population structure, size at first sexual maturity, and feeding ecology of *Conodon nobilis* (Actinopterygii: Perciformes: Haemulidae) from the coasts of Pernambuco, north-eastern Brazil. **Acta Ichthyologica et Piscatoria**, v. 49, n. 4, p. 389-398, 2019.

LOPES, C. A.; REYNALTE-TATAJE, D. A.; NUÑER, A. P. D. O. Reproductive dynamics of *Lycengraulis grossidens* (Clupeiformes: Engraulidae) and *Platanichthys platana* (Clupeiformes: Clupeidae) in a subtropical coastal lagoon. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 3, p. 477-486, 2017.

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

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

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

MANICKCHAND-HEILEMAN, S. C.; PHILLIP, D. A. T. Age and growth of the yellowedge grouper, *Epinephelus flavolimbatus*, and the yellowmouth grouper, *Mycteroperca interstitialis*, off Trinidad and Tobago. **Fishery Bulletin**, v. 2, 2000.

MANSUETI, R. J.; PAULY, R. Age and growth of the northern hogchoker, *Trinectes maculatus maculatus*, in the Patuxent river, Maryland. **Copeia**, v. 1, p. 60, 1956.

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.

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

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

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

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

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

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

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.

NELSON, M. D.; KOENIG, C. C.; COLEMAN, F. C.; MANN, D. A. Sound production of red grouper (*Epinephelus morio*) on the West Florida Shelf. **Aquatic Biology**, v. 12, p. 97–108, 2011.

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

OLIVEIRA, E. C. D.; FÁVARO, L. F. Reproduction of the flatfish *Achirus lineatus* (Pleuronectiformes: Achiridae) in Paranaguá bay, state of Paraná, a subtropical region of Brazil. **Zoologia (Curitiba)**, v. 27, n. 4, p. 523-532, 2010.

OLIVEIRA, M. R.; COSTA, E. F. S.; ARAÚJO, A. S.; PESSOA, E. K. R.; CARVALHO, M. M., CAVALCANTE, L. F. M. CHELLAPPA, S. Sex Ratio and Length-Weight Relationship for Five Marine Fish Species from Brazil. **Journal of Marine Biology & Oceanography**, v. 1, p. 2. 2012.

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.

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>

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.

POMBO, M.; DENADAI, M. R.; BESSA, E. SANTOS, F. B.; DE FARIA, V. H.; TURRA, A. The barred grunt *Conodon nobilis* (Perciformes: Haemulidae) in shallow areas of a tropical bight: spatial and temporal distribution, body growth and diet. *Helgoland marine research*, v. 68, p. 271–279, 2104.

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.

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

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

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

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

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-RRDM – Ambiente Marinho. RT-36D, Programa de Monitoramento da Biodiversidade Aquática, Fundação Espírito-santense de Tecnologia**. 2020. 1600 p.

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

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

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.

SOARES, S. S. G.; HOSTIM-SILVA, M. **Boletim estatístico da pesca do Espírito Santo-Ano 2011**. 2011.

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

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

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.

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-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*, v. 29, p. 1297-1303, 2013.

SNOW, R.A.; SHOUP, D.E.; PORTA, M.J. Effects of Turbidity on Prey Selection and Foraging Rate of HatcheryReared Juvenile Tiger Muskellunge. **North American Journal of Fisheries Management**, v. 38, p. 487-492, 2018.

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.

THOMPSON, R.; MUNRO, J. L. The biology, ecology and bionomics of the hinds and groupers, Serranidae. In: **Caribbean Reef Fishery Resources** (pp. 59-81), 2nd Edition. J.L. Munro (Ed.), International Center for Living and Aquatic Resources Management, Manila, Philippines 1983.

TROTT, T. M. (2006). Preliminary analysis of age, growth, and reproduction of coney (*Cephalopholis fulva*) at Bermuda. AquaDocs <http://hdl.handle.net/1834/29792>

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

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

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

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

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

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

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

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

VICENTINI, R. N.; ARAÚJO, F. G. Sex ratio and size structure of *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823) (Perciformes, Sciaenidae) in Sepetiba bay, Rio de Janeiro, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, n. 4, p. 559–566, 2003.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

YOUNG, J. M.; YEISER, B. G.; AULT, E. R.; WHITTINGTON, J. A.; DUTKA-GIANELLI, J. Spawning site fidelity, catchment, and dispersal of common snook along the East Coast of Florida. **Transactions of the American Fisheries Society**, v. 145, p. 400-415, 2016.

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

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